



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
DOUTORADO EM AGRONOMIA**

VANUSA SUELMA VIANA DOS SANTOS

**SELEÇÃO E CAUSA DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE
FEIJÃO-CAUPI AO CARUNCHO (*Callosobruchus maculatus*)**

**TERESINA-PI
2025**

VANUSA SUELMA VIANA DOS SANTOS

**SELEÇÃO E CAUSA DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI AO
CARUNCHO (*Callosobruchus maculatus*)**

Tese apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, na área de Manejo de Espécies Vegetais, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Orientador

Dr. Maurisrael de Moura Rocha

Coorientadores

Dr^a Antônia Elenir Amâncio Oliveira

Dr. Paulo Henrique Soares da Silva

**TERESINA-PI
2025**

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Divisão de Representação da Informação

S237s Santos, Vanusa Suelma Viana dos.
Seleção e causa da resistência de genótipos de feijão-caupi ao
Caruncho (*Callosobruchus maculatus*) / Vanusa Suelma Viana dos
Santos. – 2025.
115 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Programa
de Pós-Graduação em Agronomia, Teresina, 2025.
“Orientador: Dr. Maurisrael de Moura Rocha”.

1. *Vigna unguiculata*. 2. Resistência de plantas. 3. Antibiose.
4. Proteínas de ligação à quitina. I. Rocha, Maurisrael de Moura.
II. Título.

CDD 635.659 2

Bibliotecária: Francisca das Chagas Dias Leite – CRB3/1004

VANUSA SUELMA VIANA DOS SANTOS

SELEÇÃO E CAUSA DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI AO CARUNCHO
(*Calosobruchus maculatus*)

Tese apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

APROVADA em 29 de janeiro de 2025

Comissão Julgadora

Documento assinado digitalmente
 **ANTONIA ELENIR AMÂNCIO OLIVEIRA**
Data: 03/02/2025 12:22:11-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dr^ª. Antônia Elenir Amâncio Oliveira – UENF

Documento assinado digitalmente
 **DOUGLAS RAFAEL E SILVA BARBOSA**
Data: 06/02/2025 11:41:50-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Douglas Rafael e Silva Barbosa – IFMA

Documento assinado digitalmente
 **MARIA TERESA DO REGO LOPES**
Data: 06/02/2025 15:08:12-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dr^ª. Maria Teresa do Rêgo Lopes – Embrapa Meio-Norte

Documento assinado digitalmente
 **VERONICA BRITO DA SILVA**
Data: 06/02/2025 15:29:14-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dr^ª. Verônica Brito da Silva - UFPI/Membro Interno

Documento assinado digitalmente
 **LUIZ EVALDO DE MOURA PADUA**
Data: 04/02/2025 11:23:19-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Luiz Evaldo de Moura Pádua – UFPI/Membro Externo

Documento assinado digitalmente
 **MAURISRAEL DE MOURA ROCHA**
Data: 03/02/2025 11:19:24-0300
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Maurisrael de Moura Rocha – Embrapa Meio-Norte
(Orientador)

TERESINA-PI
2025

Aos meus pais Emílio Sousa Santos (In memoriam) e Marly Viana dos Santos, em cuja simplicidade residem suas maiores riquezas. Ao meu esposo Flávio e Minha filha Sara pela paciência e companheirismo em todos os momentos e a todos os meus familiares pela cumplicidade e incentivo constante.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pela sua infinita misericórdia por me ajudar em todo o processo e alcance desse objetivo;

À Universidade Federal do Piauí e ao Programa de Pós- Graduação em Agronomia-Produção Vegetal, pela oportunidade em fazer o curso;

Ao meu pai Emílio Sousa Santos (*in memoriam*) por todos os conselho e princípios morais repassados e vivenciados e pelo apoio incondicional em vida;

A minha mãe Marly Viana dos Santos pelos conselhos, orações e apoio dispensados, que me ajudaram em todo o decurso dessa jornada;

A minha filha Sara pelo apoio, amor, conselhos, carinho e compreensão quando mais precisei nesse caminho trilhado;

Ao meu esposo, Flavio pela dedicação paciência e companheirismo partilhado durante as etapas por que passei dessa jornada;

Aos meus irmãos pela ajuda, carinhos e apoio diário e pelas palavras que me confortaram a alma e afagaram o meu ego quando me senti fragilizada pelos percalços encontrados;

À Embrapa Meio Norte pela oportunidade em realizar parte dos experimentos na área de campo e finalizá-los no Laboratório de Entomologia;

Ao meu Orientador Dr. Maurisrael pela orientação e condução nessa jornada, bem como, proporcionar-me novos horizontes do saber científico, pela paciência, compreensão durante esse caminho;

Ao meu coorientador Dr. Paulo Henrique Soares da Silva pelo apoio, amizade, atenção, conhecimentos partilhados, paciência, conselhos e por todo bem que contribuíram para o alcance desse objetivo;

A minha coorientadora Professora Dr^a Antônia Elenir Amâncio Oliveira pela coorientação na segunda parte da tese, que foi de suma importância para finalização dessa pesquisa, informações repassadas, dúvidas tiradas e conselhos para a vida;

Ao Dr. Cândido Athayde Sobrinho pelas palavras, conselhos, ajudas que contribuíram grandemente para a lapidação dessa pesquisa;

Aos colegas do Laboratório do Feijão-caupi Emanuel, França, Silvestre, que me ajudaram nas atividades de campo, pelos conhecimentos partilhados, os momentos de descontração e a amizade construída;

Aos colegas de laboratório da Universidade Estadual do Norte Fluminense- UENF- Campo dos Goytacazes- RJ- BRASIL, em especial Sara e Kayan pela dispensação de atenção, ajuda na condução das atividades e vivências compartilhadas;

A todos que de alguma forma, contribuíram de maneira direta ou indireta para o alcance desse objetivo.

Eterna gratidão!

“A essência do conhecimento consiste em aplicá-lo, uma vez possuído”

Confúcio

RESUMO GERAL

O feijão - caupi é cultivado em regiões tropicais e subtropicais no mundo devido a sua importância sócioeconômica. No seu armazenamento, o caruncho causa danos que podem chegar a 100% em pouco tempo, inviabilizando para consumo, semeio e comercialização. O controle do caruncho é realizado com produto químico, fosfina, altamente tóxico. Como alternativa ao uso de químico, tem-se buscado por métodos mais sustentáveis como a resistência de plantas. O objetivo deste trabalho foi selecionar e identificar a causa da resistência de genótipos de feijão- caupi ao caruncho *Calosobruchus maculatus*. 60 genótipos de feijão-caupi foram utilizados em teste sem chance de escolha, avaliando-se total de ovos, ovos viáveis, ovos inviáveis, viabilidade de ovos (%), insetos emergidos, percentual de insetos emergidos, período de ovo a adulto, massa consumida (g) e emergência precoce de larvas. Com base nesses resultados foram selecionados 06 genótipos com os quais foram realizados experimentos sem chance de escolha: com sementes naturais onde foram avaliados total de ovos por sementes, sobrevivência larval(%), massa larval (mg), comprimento larval (mm) e feito registro fotográfico; no experimento com sementes artificiais a partir das farinhas dos cotilédones dos genótipos de feijão-caupi foram avaliados sobrevivência larval (%), massa larval (mg), comprimento larval (mm), total de adultos emergidos (%) e emergência de adultos (dias) e registro fotográfico das larvas. Posteriormente, foram isoladas as proteínas de ligação à quitina destes genótipos para avaliar a toxicidade sobre *C. maculatus* em experimento sem chance de escolha com sementes artificiais contendo a fração de proteínas que se ligam à quitina a 1% e a 5%, avaliando-se sobrevivência larval (%), massa larval (mg), comprimento larval e feito registro fotográfico das larvas. Os genótipos IT81D-1045, IT86D-716-1, IT85F-2687, Monteiro, MNC11-1020E-16 e MNC05828B-3-15 apresentaram antibiose a *C. maculatus*, pois reduziram a emergência de insetos e viabilizaram uma redução de emergência acima de 40%. Em experimento com sementes naturais os genótipos Monteiro e IT85F-2687 reduziram a sobrevivência larval, os genótipos IT85F-2687 e MNC11-1020E-16 reduziram a massa larval e os genótipos MNC11-1020-16 e IT85F-2687 reduziram o comprimento larval. Em sementes artificiais com farinha de cotilédones dos genótipos, o genótipo IT85F-2687 apresentou a maior sobrevivência larval (100%), o maior comprimento larval foi encontrado no genótipo Monteiro, todavia, a emergência de insetos foi reduzida pelo genótipo IT85F-2687 e os maiores atrasos na emergência de insetos ocorreram nos genótipos IT86D716-1 e IT85F-2687. No experimento com sementes artificiais a fração proteica de 5% foi tóxica às larvas de *C. maculatus*, causando 100% de mortalidade, enquanto a fração proteica de 1% dos genótipos MNC05-828B-3-15; IT86D-716-1, IT85F-2687 e MNC11- 1020E-16 reduziu a massa e comprimento larval. Os genótipos selecionados IT85F-2687, IT86D-716-1, MNC11-1020E-16 e MNC05828-3-15 apresentam resistência a *C. maculatus*, que está relacionada com proteínas que se ligam à quitina e são tóxicas ao referido inseto.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*, resistência de plantas, antibiose, proteínas de ligação à quitina.

GENERAL ABSTRACT

Cowpea bean is cultivated in tropical and subtropical regions of the world due to its socioeconomic importance. During its storage, the weevil causes damage that can reach 100% in a short period of time, making it unviable for consumption, sowing and marketing. Weevil control is made with phosphine, a highly toxic Chemical. As an alternative to the use of chemicals, more sustainable methods have been sought, such as plant resistance. The objective of this work was to select and identify the cause of resistance of cowpea bean genotypes to the weevil *Calosobruchus maculatus*. 60 cowpea genotypes were used in a no-choice test, evaluating total eggs, viable eggs, nonviable eggs, egg viability (%), emerged insects, percentage of emerged insects, period from egg to adult, mass consumed (g) and premature emergence of larvae. Based on these results, 6 genotypes were selected in which no-choice experiments were made: the total number of eggs per seed, larval survival (%), larval mass (mg), and larval length (mm) of natural seeds were evaluated, and photographic records were made; in the experiment with artificial seeds from cotyledon flours of cowpea genotypes, larval survival (%), larval mass (mg), larval length (mm), total number of emerged adults (%) and adult emergence (days), were evaluated and photographic records of the larvae were made. Subsequently, the chitin-binding proteins of these genotypes were isolated to evaluate their toxicity on *C. maculatus* in a no-choice experiment with artificial seeds containing the fraction of proteins that bind to chitin at 1% and 5%, evaluating larval survival (%), larval mass (mg), larval length and photographic records of the larvae. The genotypes IT81D-1045, IT86D-716-1, IT85F-2687, Monteiro, MNC11-1020E-16 and MNC05828B-3-15 showed antibiosis to *C. maculatus*, as they reduced insect emergence and enabled an emergence reduction above 40%. In an experiment with natural seeds, the genotypes Monteiro and IT85F-2687 reduced larval survival, the genotypes IT85F-2687 and MNC11-1020E-16 reduced larval mass, and the genotypes MNC11-1020-16 and IT85F-2687 reduced larval length. In artificial seeds with cotyledon flour of the genotypes, the IT85F-2687 genotype showed the highest larval survival (100%), the greatest larval length was found in the Monteiro genotype; however, insect emergence was reduced by the IT85F-2687 genotype, and the greatest delays in insect emergence occurred in the IT86D716-1 and IT85F-2687 genotypes. In the experiment with artificial seeds, the 5% protein fraction was toxic to *C. maculatus* larvae, causing 100% mortality, while the 1% protein fraction of the genotypes MNC05-828B-3-15; IT86D-716-1, IT85F-2687 and MNC11-1020E-16 reduced larval mass and length. The selected genotypes IT85F-2687, IT86D-716-1, MNC11-1020E-16 and MNC05828-3-15 present resistance to *C. maculatus*, which is related to proteins that bind to chitin and are toxic to the insect.

Key-words: *Vigna unguiculata*, plant resistance, antibiosis, chitin-binding proteins.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação dos 60 genótipos de feijão-caupi utilizados no ensaio experimental de resistência a <i>Callosobruchus maculatus</i>	50
Tabela 2. Média($\pm$ DP) total de ovos, ovos viáveis, ovos inviáveis e viabilidade de ovos de <i>C. maculatus</i> em diferentes genótipos de feijão-caupi	54
Tabela 3. Média($\pm$ DP) de adultos emergidos, percentagem de adultos emergidos e período de ovo a adulto de insetos de <i>C. maculatus</i>	59
Tabela 4. Média($\pm$ DP) da massa consumida por genótipo e larvas caídas de sementes de genótipos de feijão-caupi	65

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura	18
Figura 1- Caruncho do feijão-caupi	21
 CAPÍTULO 1- Seleção de genótipos de feijão-caupi resistentes ao caruncho (<i>Callosobruchus maculatus</i>) (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE).....	
43	
Figura 2. A- Identificação dos potes, B- pesagem de genótipos de feijão-caupi, C- potes com genótipos de feijão-caupi e insetos de <i>Callosobruchus maculatus</i> para realização da infestação, D-experimento montado, E- experimento acondicionado em B.O. D	51
Figura 3. Visualização geral dos genótipos de feijão-caupi utilizados na seleção....	52
Figura 4. Visualização geral dos genótipos de feijão-caupi utilizados na seleção....	68
 CAPÍTULO 2 – Efeito tóxico de proteínas com afinidade à quitina de genótipos de feijão-caupi sobre o caruncho (<i>Callosobruchus maculatus</i>) (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE).....	
76	
Figura 1. Oviposição e sobrevivência larval de <i>Callosobruchus maculatus</i> em sementes naturais da cv. FRADINHO (controle), e dos genótipos IT86D716-1, MNC05-828B3-15, MONTEIRO, IT85F-2687, MNC111020E-16 de feijão- caupi. A: Número de ovos/semente ovipositados em 24h. B: Sobrevivência larval (%) 20 DAO (Dias Após a Oviposição). Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. Visualização geral dos genótipos de feijão-caupi utilizados na seleção	87
Figura 2. Performance de desenvolvimento larval de <i>Callosobruchus maculatus</i> em sementes naturais dos genótipos FRADINHO (controle), IT86D716-1, MNC05-828B3-15, MONTEIRO, IT85F-2687, MNC111020E-16 de feijão- caupi. A: Massa das larvas (mg) 20 DAO (Dias Após a Oviposição). B: Comprimento das larvas (mm) 20 DAO. Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.....	91
Figura 3. Fotografia das larvas de <i>Callosobruchus maculatus</i> desenvolvidas em sementes naturais dos genótipos IT86D716-1, MNC05-828B-3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão- caupi. As larvas se desenvolveram por 20 DAO (Dias Após a Oviposição).	92
Figura 4. Sobrevivência e massa larval de <i>Callosobruchus maculatus</i> em sementes artificiais compostas 100% com farinha dos cotilédones dos genótipos FRADINHO (controle), IT86D716-1, MNC05-828B3-15, MONTEIRO, IT85F-2687, MNC111020E-16 de feijão- caupi. A: Sobrevivência larval (%) 20 DAO Dias Após a Oviposição). B: Massa das larvas 20 DAO. Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. As médias, o desvio padrão e a análise de variância (ANOVA) ($P < 0,05$), seguida do teste Tukey foram feitos utilizando o software GraphPad Prism 7.0. Letras diferentes significam dados estatisticamente diferentes	93
Figura 5. Comprimento e fotografia das larvas de <i>Callosobruchus maculatus</i> em sementes artificiais compostas 100% com farinha dos cotilédones dos genótipos Fradinho (controle), IT86D-716-1, MNC05-828B-3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-	

1020E-16 de feijão- caupi. A: Comprimento larval (mm) 20 DAO Dias Após a Oviposição). B: Fotografia das larvas desenvolvidas em sementes artificiais. Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. As médias, o desvio padrão e a análise de variância (ANOVA) ($P < 0,05$), seguida do teste Tukey foram feitos utilizando o software GraphPad Prism 7.0. Letras diferentes significam dados estatisticamente diferentes.95

Figura 6. Emergência total de insetos adultos de *Callosobruchus maculatus* até 40 DAO (Dias Após a Oviposição) em sementes artificiais compostas 100% com farinha dos cotilédones de sementes dos genótipos IT86D-716-1, MNC05-828B-3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão- caupi.....96

Figura 7. Emergência diária de insetos adultos de *Callosobruchus maculatus*, entre o 30º e 40º DAO (Dias Após a Oviposição) em sementes artificiais compostas 100% com farinha dos cotilédones de sementes dos genótipos IT86D-716-1, MNC05-828B-3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão- caupi. A: IT86D-716-1, B: MNC05-828B-3-15, C: Monteiro, D: IT85F-2687 e E: MNC11-1020E-16.....97

Figura 8. Perfil cromatográfico em coluna de afinidade a quitina das proteínas extraídas dos cotilédones dos genótipos de feijão-caupi. A) IT86D716-1, B) Monteiro, C) MNC05-828B-3-15, D) MNC11-1020E-16, E) IT85F-2687. As frações não retidas foram eluídas com tampão acetato de sódio pH 6,0 e as frações retidas foram eluídas com HCL 0,1M. A cromatografia se processou com um fluxo de 1mL/min e foram coletadas frações de 3mL/tubo. A absorbância das frações foi medida em comprimento de ondas de 280 nm..... 100

Figura 9. Visualização de proteínas em gel de eletroforese em poliacrilamida 12%, na presença do detergente dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Visualização das proteínas obtidas nas frações retidas na coluna de afinidade à quitina dos cotilédones dos genótipos 1) IT85F- 2687; 2) IT86D716-1; 3) Monteiro; 4) MNC05-828B-3-15; 5) MNC11-1020E-16. MW: Marcador de massa molecular em kDa..... 102

Figura 10. Sobrevivência larval de *Callosobruchus maculatus* em sementes artificiais contendo 0 e 1% da fração de proteínas que se ligam à quitina dos cotilédones dos genótipos IT86D-716-1, MNC05-828B-3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão- caupi. Sobrevivência larval (%) 20 DAO. Cv Fradinho (controle). Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. As médias, o desvio padrão e a análise de variância (ANOVA) ($P < 0,05$), seguida do teste Tukey foram feitos utilizando o software GraphPad Prism 7.0. Letras diferentes significam dados estatisticamente diferentes..... 103

Figura 11. Massa larval de *Callosobruchus maculatus* em sementes artificiais contendo 1% da fração de proteínas que se ligam à quitina dos cotilédones dos genótipos IT86D-716-1, MNC05-828B-3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão- caupi. Sobrevivência larval (%) 20 DAO. Cv Fradinho (controle). Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. As médias, o desvio padrão e a análise de variância (ANOVA) ($P < 0,05$), seguida do teste Tukey foram feitos utilizando o software GraphPad Prism 7.0. Letras diferentes significam dados estatisticamente diferentes..... 104

Figura 12. Comprimento larval de *Callosobruchus maculatus* em sementes artificiais contendo 1% da fração de proteínas que se ligam à quitina dos cotilédones dos genótipos IT86D-716-1, MNC05-828B-3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão- caupi. Sobrevivência larval (%) 20 DAO. Cv Fradinho (controle). Os dados

representam médias de 3 experimentos independentes. As médias, o desvio padrão e a análise de variância (ANOVA) ($P < 0,05$), seguida do teste Tukey foram feitos utilizando o software GraphPad Prism 7.0. Letras diferentes significam dados estatisticamente diferentes.105

Figura 13. Fotografia das larvas de *Callosobruchus maculatus* desenvolvidas em sementes artificiais contendo 1% de fração de proteínas retidas em quitina dos genótipos avaliados. As larvas se desenvolveram por 20 DAO (Dias Após a Oviposição).106

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	vii
ABSTRACT	viii
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 FEIJÃO-CAUPI.....	18
2.2 CARUNCHO DO FEIJÃO-CAUPI.....	19
2.3. MÉTODOS DE CONTROLE DE INSETOS PRAGAS DE GRÃOS E SEMENTES ARMAZENADOS.....	21
2.4 RESISTÊNCIA DE PLANTAS A INSETOS	22
2.4.1 Resistência de feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) a <i>Callosobruchus</i> <i>maculatus</i> (Fabr.)	25
2.5 ASPECTOS DE DEFESA DAS SEMENTES.....	27
2.5.1 Proteínas das sementes que se ligam à quitina como fator de defesa em sementes.....	29
REFERÊNCIAS.....	34
CAPÍTULO 1- Seleção de genótipos de feijão-caupi resistentes ao caruncho (<i>Callosobruchus maculatus</i>) (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE).....	44
1 INTRODUÇÃO	46
2 MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1 LOCAL E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.....	47
2. 2 CRIAÇÃO DE <i>Callosobruchus maculatus</i>	48
2. 3 OBTENÇÃO DE GENÓTIPOS DE <i>Vigna unguiculata</i>	48
2.4 SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI COM RESISTÊNCIA A <i>Callosobruchus maculatus</i>	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4 CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS.....	72
CAPÍTULO 2- Efeito tóxico de proteínas com afinidade à quitina de genótipos de feijão-caupi sobre o caruncho (<i>Callosobruchus maculatus</i>) (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE).....	77
1 INTRODUÇÃO	79

2 MATERIAL E MÉTODOS	81
2.1 LOCAL E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.....	81
2.2 CRIAÇÃO DE <i>Callosobruchus maculatus</i>	81
2.3 GENÓTIPOS DE <i>Vigna unguiculata</i>	82
2.4 PERFORMANCE DE DESENVOLVIMENTO DAS LARVAS DE <i>C. maculatus</i> EM SEMENTES NATURAIS DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI	82
2.4.1 performance de desenvolvimento de <i>c. maculatus</i> em sementes artificiais confeccionadas com farinha dos cotilédones dos genótipos de feijão-caupi ..	82
2.5 ISOLAMENTO DAS PROTEÍNAS COM AFINIDADE À QUITINA E TOXICIDADE PARA <i>C. maculatus</i>	83
2.5.1 Isolamento das proteínas com afinidade à quitina dos cotilédones dos genótipos de feijão-caupi	83
2.5.2 Cromatografia de afinidade à quitina	84
2.5.3 Eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE	84
2.6 ANÁLISE DA TOXICIDADE DAS PROTEÍNAS COM AFINIDADE À QUITINA PARA <i>C. maculatus</i>	85
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	85
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
3.1 PERFORMANCE DE OVIPOSIÇÃO E DESENVOLVIMENTO DAS LARVAS DE <i>C. maculatus</i> EM SEMENTES NATURAIS DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI ...	86
3.2 PERFORMANCE DE DESENVOLVIMENTO DE <i>C. maculatus</i> EM SEMENTES ARTIFICIAIS CONTENDO A FARINHA DOS COTILÉDONES DOS GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI.....	92
3.3 ISOLAMENTO E VISUALIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS COM AFINIDADE A QUITINA DOS COTILÉDONES DOS GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI	99
3.4 PERFORMANCE DE DESENVOLVIMENTO DAS LARVAS DE <i>C. maculatus</i> EM SEMENTES ARTIFICIAIS CONTENDO A FRAÇÃO DE PROTEÍNAS RETIDAS EM QUITINA.....	102
4 CONCLUSÕES	109
RECOMENDAÇÕES.....	109
REFERÊNCIAS.....	110

1 INTRODUÇÃO GERAL

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma leguminosa granífera, conhecida comumente como feijão-de-corda ou feijão macassar. É nativo da África e cultivado nos continentes africano, asiático e americano (Silva *et al.*, 2008; Freire-Filho, 2011), possuindo grande importância para o desenvolvimento agrícola de regiões tropicais e subtropicais no mundo (De Melo *et al.*, 2014).

Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) (FAOSTAT, 2022) e Companhia Nacional de Abastecimento CONAB (CONAB, 2022), o feijão-caupi é produzido em torno de 38 países, tendo como os maiores produtores mundiais a Nigéria, Niger, Burkina Faso, Brasil e Gana. (FAO, 2019). A produção mundial de feijão-caupi em 2022 correspondeu a 10,4 milhões de toneladas (FAO, 2022). No Brasil, segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (2024), a produção de feijão-caupi na safra 2023/24 foi de 631,4 mil toneladas em uma área de cultivo de 1.287.300 hectares.

Segundo Rocha *et al.*, (2017), o feijão-caupi é uma planta rústica, principalmente quanto a demanda hídrica, adaptando-se a regiões com baixa disponibilidade de água, tendo grande representatividade na região Nordeste. Na produção de primeira safra, os destaques são do cultivo no Piauí e na Bahia que juntos representam mais de 86% de área estimada para o plantio do feijão-caupi em todo o país (CONAB, 2021). É uma cultura de suma importância para as populações das regiões Norte e Nordeste sendo um alimento composto por proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais, além de apresentar importância econômica e social, em especial, para pequenos agricultores rurais, pelo fato de fixá-los no campo e gerar emprego e renda (Freire Filho, 2011; Rocha *et al.*, 2017).

Apesar do expressivo destaque alimentar, mercadológico e agrônômico, existem problemas no processo de cultivo e armazenamento pelo ataque de pragas, que é um fator biótico limitante da comercialização, consumo e plantio. Dentre as pragas que atacam o feijão-caupi armazenado, cita-se o caruncho do feijão-caupi (*Callosobruchus maculatus* Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae) responsável pelas maiores perdas de armazenamento (Lopes *et al.*, 2018), sobretudo, nas regiões tropicais e subtropicais (Mishra *et al.*, 2017) considerada a principal praga do feijão-caupi (Ferreira *et al.*, 2024).

Os danos causados pelo inseto consistem no consumo da massa interna dos grãos pelas larvas, perfurações nas sementes e grãos levando a perdas em torno de 60% (Amusa *et al.*, 2019), perda do poder germinativo e redução do peso, bem como, danos indiretos pela presença de restos de ovos, insetos, odor desagradável, que levam a redução no valor comercial do produto ou até mesmo, inviabilizando-o para o consumo, comércio e semeio, culminando em perdas significativas para o produtor. O controle dessa praga é feito com inseticidas sintéticos, no entanto, o uso indiscriminado tem afetado negativamente a saúde humana e ocasionando a resistência de insetos ao princípio ativo desses produtos (Kumari *et al.*, 2022).

Ademais, não existe junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), produto registrado para seu controle (Agrofit, 2024). Isso evidencia a necessidade de buscas por estratégias de controle da referida praga com métodos sustentáveis, como a exemplo, o uso de plantas resistentes (Amusa *et al.*, 2018) para o controle de pragas de grãos armazenados. Segundo Gallo *et al.* (2002), a resistência de plantas consiste em uma característica hereditária que a planta apresenta, interferindo na intensidade de dano causado pela praga em relação às demais nas mesmas condições de cultivo.

Nesse sentido, a resistência de plantas é dividida em antixenose, antibiose e tolerância. A antixenose e antibiose são consideradas ideais para o controle de *C. maculatus*, pela redução de perdas e danos no armazenamento de grãos, redução no custo da produção, facilidade de utilização, não causa problemas à saúde do produtor e consumidores, nem ao meio ambiente (Lara, 1991). A utilização de resistência de plantas a *C. maculatus* tem sido alvo de pesquisas, no sentido de identificar fontes de resistência (Uchôa *et al.* (2009); Carvalho *et al.* (2011); Marsaro Jr; Vilarinho (2011); Melo *et al.* (2012); Castro *et al.* (2013); Barbosa (2015); Badii; Asante; Sowle (2013); Souza *et al.* (2016); Cruz *et al.* (2016); Medeiros *et al.* (2017); Messina; Lish; Gompert (2019). A resistência de feijão-caupi a *C. maculatus* tem sido associada a substâncias tóxicas presentes na parte interna de sementes que afetam a biologia do inseto durante o seu processo de desenvolvimento.

Proteínas de ligação à quitina, como vicilinas e quitinases, têm sido detectadas em sementes e relacionadas com a toxicidade para insetos. Trabalho realizado por Mota *et al.* (2003) constataram que vicilinas a 2% de genótipo de feijão-caupi IT81D-1045 houve diminuição da emergência de adultos de *C. maculatus* em 40% em comparação com Epace 10 que não reduziu. Essa resistência está relacionada à

inibição da ação da enzima proteinase presente no intestino médio do inseto que dificulta a hidrólise da proteína e assimilação de nutrientes pelo inseto. Silva et al. (2016) mostrou que ao incorporar 6% de proteínas de ligação à quitina de *Albizia lebbbeck* na farinha da cv Fradinho para constituir o tegumento da semente artificial em dieta a *C. maculatus*, observaram 40% de mortalidade e 30% de perda de peso de larvas do referido inseto aos 19 dias após a oviposição, bem como, foi constatado uma forte associação dessas proteínas com o intestino médio do inseto podendo ser este o fator de toxicidade. Ferreira et al., (2021) ao avaliar a toxicidade de cv BRS Xiquexique de feijão-caupi observaram que a fração 5% interferiram no desenvolvimento de *C. maculatus* ao reduzir a massa e o comprimento larval. Esses trabalhos demonstram ser viável o controle de *C. maculatus* por meio de genótipos resistentes que confere ao produtor rural, redução de perdas e custos adicionais, bem como, a possibilidade de um sistema de armazenamento mais sustentável. Desta forma, pesquisas mais aprofundadas sobre compostos tóxicos presentes em genótipos de feijão-caupi para *C. maculatus* são de extrema importância para embasar o programa de melhoramento vegetal no controle da referida praga.

Nesse estudo foi levantada a seguinte hipótese: Os genótipos de feijão-caupi a serem estudados apresentam resistência a *C. maculatus* e a causa da resistência está associada à presença de proteínas de ligação à quitina nas sementes. Nesse contexto, objetivou-se: Selecionar e determinar a causa da resistência de genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* e como objetivos específicos: (i) selecionar genótipos de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus* por meio de teste sem chance de escolha; (ii) isolar proteínas com afinidade à quitina dos cotilédones dos genótipos de feijão-caupi; (iii) avaliar a toxicidade das proteínas isoladas para as larvas de *C. maculatus*; (iv) Avaliar a interação entre a(s) concentração (ões) de proteína (s) nas sementes de feijão-caupi e o controle de *C. maculatus*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FEIJÃO- CAUPI

O feijão-caupi é uma planta da família Leguminosae, gênero *Vigna*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Do Vale; Bertini; Borém, 2017), cultivada em regiões tropicais e subtropicais no mundo (Messina *et al.*, 2019; Andrade *et al.*, 2020), principalmente na Nigéria, Niger e Brasil (Boukar *et al.*, 2018), em diferentes condições ambientais e de solos por ser uma cultura rústica, precoce e cultivada em climas de altas temperaturas e de baixa disponibilidade de água e solos pouco férteis para alimentação humana e animal (Boukar *et al.*, 2016). Originário da África foi introduzido no Brasil, especificamente no Estado da Bahia, na segunda metade do século XVI por meio de colonizadores portugueses (Freire Filho, 2011).

No Brasil, o feijão-caupi possui grande importância na alimentação de populações urbanas e rurais das regiões Norte e Nordeste tradicionalmente como fonte de subsistência, no entanto, tem avançado para áreas mais tecnificadas como a Região Centro Oeste, uma vez que é fonte de niacina, aminoácidos, apresenta baixo teor de lipídeos, possui fibras dietéticas e proteína de alta qualidade e barata (Freire Filho, 2005; Freire Filho *et al.*, 2011; EMBRAPA MEIO-NORTE, 2017; Batista, 2021) frente a proteína animal, carne, ovo e peixe (Augustine; Balikai, 2019), que é considerada cara em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento (Sari, 2015).

As sementes de feijão-caupi apresentam principalmente carboidratos e um percentual de proteína que varia de 20 a 26% (Freire Filho *et al.*, 2011), conforme as práticas culturais e o manejo após a colheita (Silva, 2011). Ademais, é uma cultura geradora de emprego e renda que permite a fixação do homem no campo e o desenvolvimento local. Cabe destacar que embora, seja uma cultura de grande importância socioeconômica bastante expressiva para sua inclusão em programas de segurança alimentar, há fatores bióticos que restringem o seu cultivo, limitando o rendimento médio (492 kg/há) que chega a ser inferior ao rendimento potencial, limitando a sua utilização, afetando a qualidade e quantidade da produção (Togola *et al.*, 2017).

2.2 CARUNCHO DO FEIJÃO-CAUPI

O caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) é considerado a praga pós-colheita mais destrutiva do feijão-caupi (Desphande *et al.*, 2011; Kalpna; Hajam; Kumar, 2022) podendo, em poucos meses, levar uma grande quantidade de sementes a se tornarem impróprias para o consumo e para futuros cultivos. Isso ocorre devido ao seu crescimento exponencial, sobretudo, em regiões tropicais e subtropicais (Pereira *et al.*, 2008) causando perdas nutricionais e econômicas (Ferreira *et al.*, 2021) pelo desenvolvimento das larvas de *C. maculatus* na parte interna das sementes, que se alimentam das estruturas de reservas (Beck; Blumer, 2014). Segundo Mikenda, Mtei, Mdakidemi (2014), as perdas em armazenamento de produtos não tratados podem atingir 100% no prazo de seis meses devido o ciclo de vida dessa praga ser curto e a capacidade reprodutiva desses insetos.

As infestações de *C. maculatus* podem se iniciar ainda no campo com o atraso na colheita, conhecida como infestação cruzada (Carvalho *et al.* 2011; Marsaro Junior; Vilarinho, 2011). O controle dessa praga é realizado por meio de expurgo com produto químico fumigante, a fosfina (Silva; Carneiro; Quindaré, 2005), o que é um problema, pois, devido à inobservância das práticas corretas, a aplicação de subdosagens e o desrespeito ao tempo mínimo de contato dos inseticidas, tem levado a resistência da praga ao princípio ativo, bem como, contaminação do meio ambiente (Almeida *et al.*, 2006; Satya *et al.*, 2016; Munawar *et al.*, 2020). Vale destacar que a pouca disponibilidade de inseticidas registrados para o controle de pragas de grãos e sementes armazenados de feijão-caupi, tem limitado a alternância de ingredientes ativos para evitar a seleção de insetos resistentes. Esses fatores têm contribuído para que ocorram elevadas perdas em quantidade e qualidade (Lorini *et al.*, 2015).

O caruncho do feijão-caupi, *C. maculatus* pertence a ordem Coleoptera, família Chrysomelidae e subfamília Bruchinae (Beck; Blumer, 2014; Cardoso *et al.*, 2017). Originário da Ásia e África e presente em regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (Beck; Blumer, 2014), é considerado uma praga cosmopolita, ocorrendo em todos os continentes (Kedia *et al.*, 2013). O gênero *Callosobruchus* da subfamília Bruchinae (besouros da semente) faz parte da ordem dos besouros coleóptera (do grego “asas de bainha”), referindo-se ao primeiro par de asas externas rígidas (élitros) que protegem o segundo par membranoso de asas de voo. Coleoptera é a maior das

ordens que compõem a classe Insecta com 370 mil espécies descritas (Chapman, 2013) em todo o mundo (Pereira; Almeida, 2001).

O ciclo de vida de *C. maculatus* é composto por ovo, larva, pupa e adultos, caracterizado como um inseto holometabólico, com estágios de ovo a adulto encontrados na semente com temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e suas fases apresentam a seguinte duração: fase de ovo: 6 a 7 dias; larva: 18 a 22 dias e pupa: 4 a 4,8 dias e os adultos vivem de 10 a 14 dias (Beck; Blumer, 2014; Devi; Devi, 2014; Cardoso *et al.*, 2017).

As fêmeas após fertilizadas ovipositam em média 70 a 80 ovos. A oviposição pela fêmea atinge o pico dentro de dois dias após o início da oviposição e diminui ao longo do tempo (Barde *et al.*, 2014). Os ovos possuem tamanho de aproximadamente 0,75 mm, sendo mais arredondados em um dos polos, com assimetria, coloração clara e brilhante e ficam aderidos à superfície do tegumento das sementes. Após a embriogênese, a larva de 1º instar apresenta coloração esbranquiçada, eclode do ovo, penetra no tegumento da semente e chega a se alimentar de seus cotilédones. Cabe destacar que a coloração esbranquiçada ou leitosa do ovo é devido à deposição de farinha dos cotilédones em suas paredes (Gallo *et al.*, 2002; Beck; Blumer, 2014).

As larvas passam por quatro instares larvais, posicionando-se abaixo do tegumento do grão antes de empupar (metamorfose completa do estágio larval para um adulto alado). Antes da pupação, as larvas formam a janela pupal erodindo a superfície interna do tegumento, de onde os adultos irão emergir ao final de sua metamorfose (Edvardsson; Tregenzarenza, 2005). Os insetos adultos saem da parte interna da semente pela janela aparente de 1-2mm, onde o inseto está na fase de pupa até se transformar em um inseto adulto alado em que mastiga o tegumento e emerge da semente (Beck; Blumer, 2014).

Os adultos apresentam tórax com coloração preta, nos élitros a presença de uma mancha em forma de “X” e as fêmeas apresentam dimorfismo sexual, porquanto são maiores, pois apresentam pigídio maior e uma cor mais escura que os machos. Os adultos medem aproximadamente 3 mm e se apresentam na proporção de uma fêmea para um macho (Gallo *et al.*, 2002). Figura 1.



Figura 1. (A) macho de *Callosobruchus maculatus*, (B) Fêmea de *C. maculatus*.

Fonte Beck; Blumer, 2014

Em algumas linhagens, as fêmeas são de coloração preta e os machos são marrons, em outras, ambos os sexos são marrons. Os adultos estão maduros 24h a 36h após a emergência e não se alimentam durante o seu período de vida. Cabe destacar que a espécie de feijão para postura e a umidade relativa influenciam no desenvolvimento e o tempo de geração (Edvardsson; Tregenzarenza, 2005; Beck; BLumer,2014).

2.3 MÉTODOS DE CONTROLE DE INSETOS PRAGAS DE GRÃOS E SEMENTES ARMAZENADOS

Para manter a qualidade no armazenamento de grãos e sementes após a colheita é necessário a eliminação dos grãos ou sementes infestados de insetos pragas. Isso irá efetivamente remover fontes de infestação ou contaminação futura, como também, eles devem ser secos para inviabilizar a proliferação de patógenos como fungos. (FAO, 2010). Ademais, tem-se os métodos físicos que também podem ser utilizados isolado ou conjuntamente para o controle de pragas em grãos e sementes armazenados. Nesse sentido, os métodos físicos classificam-se em: temperatura, umidade relativa do ar (UR), atmosfera controlada (CO_2 , O_2 , N_2), pós inertes (inseticida natural a base de terra de diatomáceas), remoção física, radiação, luz e som. (Lorini *et al.*, 2015).

O uso de temperatura como fator de controle de pragas, tanto a baixa como a alta afetam seu desenvolvimento. A umidade relativa baixa afeta a longevidade e

sobrevivência da praga, vez que em torno 70% é considerada ótima às pragas de grãos e sementes armazenadas. Os pós inertes no caso de terra diatomáceas é rica em sílica que controla as pragas por meio da desidratação dela, levando-a à morte. A remoção física, usa-se peneira para a retirada dos insetos praga presente nos grãos ou sementes. A radiação é a exposição do inseto à radiação gama ^{60}Co ou ^{137}Cs e aceleração de elétrons, sendo que a radiosensibilidade do inseto diminui à medida que se afasta da fase de ovo e atinge a fase adulta. A luz é utilizada para atrair as pragas e ondas sonoras à baixa frequência controla as pragas. (Lorini *et al* 2015).

Outro método utilizado amplamente com frequência no controle de pragas de grãos e sementes armazenados devido a facilidade de aplicação, rapidez de ação e economia é o método químico, (Soares *et al.*, 2009), através de expurgo, cujo objetivo é a eliminação de insetos presentes nos grãos ou sementes armazenadas em qualquer fase de desenvolvimento (Bernardes *et al.*, 2017). Nessa operação são empregados o fumigante, fosfeto de alumínio (fosfina), que pode ser realizada com grãos a granel (grãos dispostos em silos ou armazéns) ou ensacados (Silva *et al.*, 2005). Ainda para os autores Silva *et al.* (2005), a fosfina é um gás inodoro, que após aplicada na área de grãos ou sementes armazenados, transforma-se em gás dentro de uma hora a depender da temperatura e umidade relativa do ar.

A fumigação é um método de tratamento fitossanitário que não deixa resíduos e tem efeito curativo. Sua efetividade, está relacionada com o isolamento do ambiente a ser tratado, bem como, da dosagem, distribuição adequada do produto (CONAB, 2021) e exposição suficiente provocam a mortalidade dos insetos em todos os estágios de desenvolvimento (Lorini *et al.*, 2015). No entanto, vale ressaltar que esse método apresenta desvantagens como dependência no uso, aumentando o custo da produção, surgimento de insetos resistentes ao princípio ativo, perigo de contaminação dos aplicadores e contaminação do meio ambiente (Almeida *et al.*, 2006; Soares *et al.*, 2009).

Nesse sentido, alternativas mais sustentáveis ao uso massivo de produtos químicos no controle de pragas de grãos e sementes armazenados são de suma importância para reduzir o custo da produção, viabilizando um meio ambiente mais sustentável, alimentos e saúde humana preservados, por meio da seleção de genótipos resistentes e a identificação de sua resistência.

2.4 RESISTÊNCIA DE PLANTAS A INSETOS

Dentro do processo de coevolução herbívoros-plantas, essas sempre foram importantes fontes alimentares para eles, visto que as plantas apresentam nutrientes de suma importância para o seu desenvolvimento (War *et al.*, 2012). De modo geral, tanto os herbívoros adultos como imaturos tem como exigências nutricionais básicas aminoácidos, sais minerais, carboidratos e lipídios. No entanto, outro grupo de substâncias presentes no substrato alimentar desses herbívoros são substâncias secundárias, que ocorrem em 90% das plantas e não estão relacionadas diretamente com o metabolismo, mas com a defesa das plantas (Baldin; Vendramin; Lourenção, 2019)

Nesse sentido, em meados do século XIX na Inglaterra, momento em que métodos de controle de pragas eram pouco eficientes, agricultores e biólogos observaram a manifestação da resistência em cultivar de maçã ao pulgão lanígero; nos Estados Unidos da América, a resistência do trigo à mosca- de- hesse e no final desse século, o controle da filoxera da uva na Europa com porta enxertos resistentes oriundos dos Estados Unidos (Baldin; Vendramin; Lourenção, 2017). No Brasil, as pesquisas com plantas resistentes se iniciaram em 1970, quando houve um avanço com a obra de Carlos Jorge Rosseto: Resistencia de plantas a insetos (1969) como precursor e posteriormente, em 1980, Fernando mesquita Lara, considerado um dos maiores especialistas do país, que publicou a obra Princípios de resistência de plantas a insetos (1979) a primeira edição e a segunda, em 1991(Baldin; Vendramin; Lourenção, 2017).

Nesse contexto, a resistência de plantas é uma característica herdada dos parentais em que uma planta apresenta menos danos que outras em condições de igualdade para o ataque de pragas (Gallo *et al* 2002; Baldin; Vendramim; Lourenção, 2019), podendo ser conjugada, como tática de controle, com os demais métodos do manejo integrado de pragas (MIP) (Marsaro Junior; Vilarinho, 2011). A resistência de plantas a insetos é um método eficaz, econômico e ecológico de controle de pragas. A característica de grande importância desse método é que os agricultores praticamente não precisam de nenhuma habilidade em técnicas de aplicação. A resistência de plantas a insetos é classificada em três categorias: a não-preferência ou antixenose, a antibiose e a tolerância (Lara,1991; Baldin, Vendramim, Lourenção, 2019).

Nesse sentido, na resistência do tipo não- preferência ou antixenose, a planta é menos utilizada pelo inseto para alimentação, oviposição ou abrigo, expressando um comportamento do inseto à planta. Na antibiose, o inseto se alimenta da planta, no entanto, essa afeta a sua biologia com efeitos deletérios como a mortalidade de formas jovens nos primeiros instares, aliado à redução do tamanho e peso dos indivíduos, indivíduos adultos raquíticos, dentre outros (Baldin; Vendramim; Lourenção, 2019).

A resistência do tipo tolerância ocorre quando uma variedade é menos danificada que as outras, sob o mesmo nível populacional de praga, sem afetar o comportamento ou biologia da praga (Lara, 1991; Vendramim; Guzzo, 2009; Baldin; Vendramim; Lourenção, 2019). A tolerância se caracteriza pela capacidade da planta de resistir ou de se recuperar do ataque causado por um inseto seja pela regeneração dos tecidos destruídos, emissão de novos ramos, ou perfilho, resultando na menor queda produtiva ou na qualidade da produção (Lara, 1991). Nesse caso, não existe a atuação da planta sobre a biologia ou comportamento do inseto (Smith, Clement, 2012).

A herbivoria pode ser afetada pela manifestação dos mecanismos de defesa que as plantas possuem (Bento; Nardi, 2009; War *et al.*, 2012). A defesa física está relacionada com a cor do substrato vegetal, a qual afeta a seleção do hospedeiro na oviposição e alimentação; a defesa morfológica que compreende fatores estruturais: dimensão da estrutura vegetal (comprimento, largura e altura), disposição da estrutura vegetal e fatores da epiderme: pilosidade, cerosidade, espessura, dureza e textura (Baldin; Vendramim, Lourenção, 2019), todos afetam o comportamento do inseto seja na oviposição, alimentação, mobilidade, podendo levá-lo à morte por inanição.

A defesa química é caracterizada pela produção de compostos, aleloquímicos, que proporcionam certo grau de resistência contra os fatores abióticos e bióticos. Esses compostos podem ser não proteicos como alcaloides, terpenos e glucosídeos cianogênicos, bem como, os proteicos as lectinas, arcelinas, quitinases, inibidores enzimáticos e vicilinas (Franco *et al.*, 2002). Quanto a defesa induzida é aquela que se expressa por modificações ou acúmulos de metabólitos secundários das plantas originários do ataque causados por herbívoros ou patógenos durante a alimentação (Silva; Xavier-Filho, 1991; War *et al.*, 2012; Baldin; Vendramim, Lourenção, 2019).

Diversas publicações apontam pesquisas envolvendo fatores de resistência presente em espécies de plantas que afetam a biologia de insetos como trabalho

realizado por Barbosa *et al.* (1999) no qual observaram que Arc1 apresentou o mais alto nível de antibiose a *Zabrotes subfasciatus* que Arc2, Arc3 e Arc4, pois reduziu a oviposição e número de adultos emergidos. Ishimoto *et al.* (1999) ao avaliarem a atividade de inibidor de α -amilase em feijão comum sobre *Z. subfasciatus* concluíram que o extrato das larvas desse inseto digere e inativa rapidamente a α -AI-1 e a α -AI-Pc, mas não o α -AI-2 ou o α -AI-Pa. A digestão é causada por uma serina protease. Por outro lado, o α -AI-2 e a α -AI-Pa inibem a α -amilase de *Z. subfasciatus*, sugerindo que são fontes para engenharia genética visando a resistência à *Z. subfasciatus*.

Costa e Boiça- Junior (2004) avaliando a resistência de genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* observaram resistência do tipo antixenose e antibiose interferindo no desenvolvimento de *C. maculatus*. Baldin *et al.* (2009) observaram que os genótipos de abobrinha 'Sandy' e 'Caserta Melhorada' foram repelentes à moça-branca por apresentarem baixa atratividade e alta repelência a oviposição sugerindo a existência de fatores repelentes em relação ao controle 'Novita. Garcia *et al.* (2011) ao compararem a biologia de *Mahanarva fimbriolata* em seis variedades de cana-de-açúcar (SP79-1011, SP80-1816, SP80-1842, SP81-3250, RB72454 e RB835486) concluíram que a variedade RB72454 reduziu em 50% a população de ninfas. Di Belo *et al.* (2015) ao avaliarem a resistência de genótipos de amendoim (*Stegasta bosquella*) concluíram que os genótipos IAC 147, IAC Runner, IAC 22 e IAC 8112 apresentaram resistência do tipo antibiose à referida praga viabilizando o desenvolvimento e produção da cultura.

Alexandre *et al.* (2011) mostraram que peptídeos originários de vicilinas são absorvidos pelo epitélio do intestino médio do inseto *C. maculatus*, hemolinfa e corpo gorduroso. Neste, os peptídeos são parcialmente hidrolisados e repassados para as fêmeas após a cópula, bem como, instalam-se nos ovos com função possivelmente de protegê-los contra a ação de patógenos. Pesquisas similares também foram realizadas por Uchôa *et al.* (2006; 2010), Oliveira *et al.* (2014) que demonstraram a presença de compostos tóxicos e a importância do potencial desses materiais como fontes promissoras para o melhoramento vegetal na obtenção de genótipos comerciais mais resistentes levando a uma melhor rentabilidade ao agricultor.

2.4.1 Resistência do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) a *C. maculatus* (Fabr.)

O feijão-caupi apresenta importância socioeconômica na alimentação, na fixação de mão-de-obra no campo e como componente da produção agrícola (Bezerra et al., 2008), apresentando em sua composição proteína (22 a 24%), ferro, cálcio e aminoácidos essenciais (Augustine; Balikai, 2019).

Tendo em vista as perdas expressivas pela ação de pragas, um programa de melhoramento foi estabelecido no Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) na Nigéria para selecionar linhagens resistentes de feijão-caupi a *C. maculatus* e de 5000 acessos, apenas um, o TVU 2027 foi identificado como resistente (Redden; Dobbie; Gatehouse, 1983) do qual várias outras linhagens foram originárias como IT81D-1032, IT81D-1053, IT81D-1045 e IT81D-1064 (Oliveira et al., 2014).

Ademais, o IITA realizou triagem sistemática de mais de 8000 linhagens identificando apenas três resistentes a *C. maculatus*: TVU-2027, TVU-11952, TVU11-953 (Sing; Sing; Adjadi, 1985). Estes autores ao realizarem pesquisa com essas três linhagens, confirmaram a semelhança do fator de resistência delas em relação a *C. maculatus*, assim como, Dick e Crediland (1986) ao estudarem a resistência de TVU-2027 a três linhagens de *C. maculatus* constataram a presença de resistência na geração F1, mas que a pressão de seleção provavelmente poderia levar a essa perda de resistência com o tempo.

Messina e Renwick (1985) estudaram a resistência de quatro linhagens de feijão-caupi derivadas de TVU 2027: IT81D- 1007, IT81D- 1020, IT81D- 1137, IT81D- 1157 e associaram a resistência a fatores físicos como a cor e textura do tegumento das sementes que interferiram na oviposição entre os genótipos avaliados. No entanto, Gatehouse et al. (1979) mostraram que a resistência em TVU 2027 estava relacionada à fatores bioquímicos, quando utilizaram 10% da fração albumina reduziu significativamente a sobrevivência larval, mas ao utilizarem 0,8% de inibidor de tripsina isolado da albumina, causou a mortalidade completa das larvas indicando ser este o fator de toxicidade. Em um outro trabalho realizado por Gatehouse e Boulter (1983) associaram a toxicidade do genótipo TVU-2027 ao inibidor de protease utilizado a um nível de 10% inviabilizando a emergência de adultos de *C. maculatus* e destacando-se melhor que os inibidores da soja e do feijão lima, quando utilizados no mesmo nível.

No entanto, Macedo et al. (1993) e Xavier Filho et al. (1989) afirmaram que a resistência de genótipo TVU 2027 e as demais linhagens originárias desta estão relacionadas à proteína de armazenamento vicilina. Outros trabalhos também têm

sido realizados em busca da identificação de genótipos de feijão-caupi promissores em resistência a *C. maculatus* (Badii, Asante, Sowley, 2013; Musa; Adeboye, 2017; Messina *et al.* 2019; Tengey *et al.* 2023).

No Brasil várias pesquisas com genótipos de feijão-caupi visando identificar resistência para reduzir os danos por *C. maculatus* foram realizadas com estudos conduzidos por Pessoa, Barros e Oliveira (1992); Barreto e Quindaré (2000); Lima *et al.* (2001); Costa; Boiça Junior (2004); Uchoa *et al.* (2009); Carvalho *et al.* (2011); Marsaro Junior; Vilarinho (2011); Melo *et al.* (2012); Castro *et al.* (2013); Sousa *et al.* (2016); Medeiros *et al.* (2017) entre outros.

Esses trabalhos são de suma importância para embasar os programas de melhoramento vegetal de feijão-caupi na obtenção de cultivares resistentes a *C. maculatus*, reduzindo o custo de produção e mitigando danos ao meio ambiente e a saúde humana causados pelo uso indiscriminado e inadequado de inseticidas químicos, assim como, as perdas originárias do ataque de *C. maculatus* a sementes e grãos armazenados.

2.5 ASPECTOS DE DEFESA DA SEMENTE

A resistência de plantas é de suma importância para a produção sustentável, que tem sido associada a biossíntese e a regulação de compostos químicos que está presente em várias partes como órgãos, a exemplo, na semente. As sementes são consideradas fontes de perpetuação e propagação de espécies e essas, apresentam defesas constitutivas que permitem a sua proteção contra o ataque de pragas (Oliveira *et al.*, 2009).

A dureza e espessura do tegumento da semente regulam a germinação e funcionam como barreira física impedindo a entrada da praga, preserva a parte interna da semente e regula as trocas gasosas do meio externo e interno da semente. A semente pode apresentar compostos tóxicos não só no tegumento, mas também, na estrutura de reserva, os cotilédones, que além de nutrir o embrião, protegem a semente do ataque de patógenos e pragas (Silva; Xavier-Filho, 1991; Moise *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2016), pois quanto mais tóxica a semente, mais especializada deve ser a praga para utilizá-la (Baldin; Vendramim; Lourenção, 2019).

Pesquisas realizadas com feijão-caupi revelaram que concentrações de farinha do tegumento de sementes, bem como, proteínas isoladas e o tegumento

afetaram o desenvolvimento de larvas de *C. maculatus* (Souza *et al.*, 2011; Souza *et al.*, 2012; De Sá *et al.*, 2014, De Sá *et al.*, 2017; Andrade *et al.*, 2020).

Os inibidores enzimáticos amplamente utilizados em programas de melhoramento de plantas e na defesa de sementes são inibidores de protease e os inibidores de α -amilase, que afetam a atividade das enzimas proteases e α -amilase digestivas no intestino médio dos insetos, as quais possuem importante papel digestivo de proteínas e de amido para assimilação de nutrientes permitindo a alimentação e crescimento dos insetos (Lajolo; Genovese, 2002). A ação desses inibidores interfere na digestão e reprodução, o que causa mortalidade moderada, tempo de desenvolvimento larval prolongado e fecundidade reduzida.

Os inibidores de proteases vegetais (IPs) são um grupo diversificado de proteínas que têm sido intensamente investigadas devido à sua função potencial na proteção de plantas contra insetos herbívoros, inibindo proteases digestivas (Hartl *et al.*, 2011), bem como, são macromoléculas que possuem a função de proteína de reserva, reguladores endógenos e principalmente de defesa contra microrganismos e insetos pragas (Cândido *et al.*, 2011), ferramenta natural que pode ser utilizada no manejo integrado de pragas (MIP).

Pesquisa realizada por Gupta *et al.* (2014) evidenciaram que inibidores de α -amilase de *Phaseolus vulgaris* inibiram a α -amilase de larvas de *Callosobruchus maculatus*, *Tribolium castaneum* e enzimas intestinais de *Spodoptera littoralis*. Quanto aos inibidores de proteases (IP), o inibidor de proteinase de *Clitoria failchirdiana* (CFPI) apresentou atividade inibitória significativa contra enzimas tripsina do intestino médio de larvas de *Anagasta kuehniella* (76%), *Diatraea saccharalis* (59%) e *Heliothis virescens* (49%) também observaram que as propriedades inseticidas afetaram negativamente o desenvolvimento de *A. kuehniella*, bem como, o trabalho realizado por Hartl *et al.*, (2011) mostrou que inibidores de serina-proteinases (SPIs) específicos ou combinados de *Solanum nigrum* apresentam propriedades defensivas contra herbívoros generalistas, mas a herbívoros especializados em dietas ricas em SPI ainda são desconhecidas.

Quanto às proteínas inativadoras de ribossomos vegetais (RIPs) são uma família de toxinas que inibem a síntese de proteínas (Kaur *et al.*, 2012; Vasconcelos *et al.*, 2018; Lapadula; Ayub, 2023) danificando irreversivelmente os ribossomos, causando assim a morte celular (Bortolotti *et al.*, 2021), podendo atuar como defesa

de plantas contra pragas e doenças como biopesticida ecologicamente correto (Suharti; Djan'na, 2019).

Pesquisa realizada por Vasconcelos *et al.*, (2018) constatou a ação toxica elevada da Proteína inativadora de ribossomo Tipo-2 presentes em sementes de *Abrus fruticulosos*, denominada de fruticulosina sobre *artemia sp* (3,12 µg/ mL), bem como, trabalho realizado por Suharti e Djan 'na (2019) que objetivou fornecer informações sobre o RIP derivado de plantas e seu potencial como biopesticida, relacionaram as plantas de nim, gengibre, açafraão, galanga, mamona, jatropha, graviola e melão amargo como fonte dessas proteínas que podem ser utilizadas na forma de óleo essencial, soluções, farinha, cinza sobre sementes, plantas e produtos pós colheita.

2.5.1 Proteínas da semente que se ligam à quitina como fator de defesa em sementes

A defesa de sementes tem sido associada a presença de proteínas e outros compostos, na sua parte interna, com efeito tóxico a patógenos e pragas. Parte dessas proteínas tóxicas tem sido classificadas como proteínas com afinidade a quitina. Dentro desse cenário destacamos algumas proteínas como lectinas, quitinases e vicilinas, as quais têm sido estudadas quanto ao seu efeito toxico para pragas da agricultura como *Callosobruchus maculatus* (Macedo *et al.*, 1993; Yunes *et al.*, 1998; Sales *et al.*, 2001, Ferreira *et al.*, 2021).

A quitina é um biopolímero de *N*-acetil- D-glucosamina, unidas por ligações β -1,4 (Kozome *et al* 2022), sendo componente da estrutura esquelética de invertebrados, como artrópodes, anelídeos, moluscos e celenterados, em algas diatomáceas, está presente na parede celular de alguns fungos, como ascomicetos, zigomicetes, basidiomicetes e deuteromicetos (Campana-Filho *et al.*, 2007; Kozome *et al.*, 2022). Nos insetos, a quitina está presente principalmente na cutícula e como constituinte da matriz peritrófica (MP), também chamada de membrana peritrófica (Terra, 2001; Silva *et al.*, 2017). A matriz peritrófica é uma camada acelular, constituída por quitina e glicoproteínas que reveste o epitélio de intestino médio dos insetos. Dentre as funções da matriz peritrófica, destaca-se a proteção do epitélio intestinal do efeito abrasivo do alimento, a digestão, a reciclagem das enzimas

digestivas e a absorção dos nutrientes, todas essas funções essenciais para o bom desenvolvimento do inseto (Terra, 2001).

A maioria das proteínas que se ligam a quitina apresentam um sítio de ligação clássico, relativamente conservado, uma região composta por 30 a 43 resíduos de aminoácidos, rica em cisteínas, contendo 2 a 3 resíduos de triptofano e glicinas (Slavokhotova *et al.*, 2017). Essas regiões são bem caracterizadas em proteínas como lectinas e quitinases.

As lectinas foram identificadas pela primeira vez em trabalho realizado por Stilmark em 1888. A presença dela como fator tóxico na mamona (*Ricinus communis* L.) era capaz de levar a aglutinação de eritrócitos. Numa classificação geral as lectinas são um grupo de proteínas que se ligam, por meio de ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals, reversivelmente e especificamente a carboidratos, glicoproteínas e substâncias que contenham açúcar (Peumans; Van Damme, 1995; Vandenborre; Smagghe; Van Damme, 2011), estando presente em vários organismos animais, plantas (raízes, caule, folhas e flores), fungos, bactérias, algas, protozoários, vírus, todavia, presentes em abundância em sementes de cereais e leguminosas (Van Damme; Peumans, 1990; Constabel, 2000).

A classificação das lectinas é feita de acordo com sua estrutura, origem, carboidrato específico e pelo local onde são localizadas dentro de uma célula (Nascimento *et al.*, 2022), sendo agrupadas segundo a quantidade e características dos sítios de interação a carboidratos em merolectinas, hololectinas, quimerolectinas, superlectinas e multilectinas. As merolectinas possuem apenas um domínio ligante a carboidrato, ligando-se às células causando-lhes alterações fisiológicas sem aglutiná-las.

As hololectinas possuem mais de um domínio ligante com possibilidades de aglutinar células. As quimerolectinas possuem, no mínimo, dois domínios distintos, mas com atividades diferentes, pois um se liga a carboidrato e o outro possui atividade catalítica. As superlectinas possuem dois domínios ligantes com especificidades e carboidratos distintos e as multilectinas possuem dois sítios idênticos com características de se ligarem a carboidratos diferentes (Van Damme *et al.*, 1998).

Ademais, as lectinas podem ter sua utilização em várias áreas do conhecimento como na saúde humana no prognóstico da ocorrência de câncer, no controle de patógenos e insetos-praga de culturas cultiváveis. Os efeitos das lectinas sobre a biologia dos insetos-praga afetam a sobrevivência, fecundidade, fertilidade, consumo

alimentar, tamanho, peso, cor, duração do período de desenvolvimento (Vendramim; Guzzo, 2012), pois ao se ligarem às enzimas digestivas, as lectinas podem interferir na função enzimática do inseto, alterando o equilíbrio do seu metabolismo, o que explica a resistência da proteína lectina à proteólise (Vasconcelos; Oliveira, 2004).

Estudos evidenciaram a ação tóxica das lectinas sobre insetos como o realizado por Gatehouse *et al.* (1984) ao constatarem que frações de proteínas em sementes artificiais eram tóxicas a *Callosobruchus maculatus* quando ingeridas pelas larvas, pois ligavam-se às células epiteliais do intestino médio causando suas rupturas. Nunes *et al.* (2015) observaram que a proteína lectina de *Crataeva tapia* foi tóxica ao reduzir a massa larval de *C. maculatus* em 45 e 70% nas concentrações de 0,25 e 1,0%, respectivamente, bem como diminuiu em 39% a atividade das proteinases cisteínas do intestino larval do referido inseto.

As quitinases são enzimas que pertencem à família das glicosil hidrolases, que catalisam a hidrólise das ligações glicosídicas β -1-4 na quitina e apresentam massas moleculares variando de 20 a 90 kDa (Kumar *et al.*, 2018), pertencem às famílias 18 e 19 de glicosil hidrolase (Bhattacharya; Naqpure; Gupita, 2007). A família 18 contém quitinases das classes III e V, enquanto a família 19 inclui quitinases das classes I, II e IV e são produzidas naturalmente por uma gama de organismos como fungos, bactérias, mamíferos, artrópodes, humanos e plantas (Henrissat; Davies, 1997; ADrangi; Faramarzi, 2013).

Nas plantas, as quitinases causam resistência não somente a stress biótico, mas a fatores abióticos, que reduzem a produtividade e produção agrícola, favorecem ativos para aumentar a imunidade das plantas, assim como, participam do seu crescimento e desenvolvimento, estando presente em suas várias partes como caules, flores, tubérculos e sementes (Nagpure; Choudhary, Gupita, 2014). As quitinases vegetais desempenham funções na morfogênese, patogênese, parasitismo, nutrição, regulação do crescimento, imunidade e defesa. Desta forma, várias pesquisas têm evidenciado a participação das quitinases na defesa de plantas contra pragas e patógenos (Peumans; Van Damme, 1995; Vandenborre *et al.*, 2011).

As proteínas do tipo vicilinas são proteínas de reserva do tipo Globulinas 7S, sintetizadas em níveis elevados e armazenadas em sementes quiescentes. As globulinas representam de 50 a 90% de proteínas encontradas em sementes de leguminosas (Utsumi, 1992), servindo principalmente como reserva de nitrogênio e aminoácidos para a germinação, além de estarem envolvidas em mecanismos de

defesa devido as suas propriedades como proteínas inseticidas e microbianas (Cândido *et al.*, 2011).

As vicilinas são constituídas por um trímero de cadeias polipeptídicas (Derbyshire *et al.*, 1976), estão presentes em sementes e constituem 70-80% da proteína total em algumas sementes de leguminosas. A massa molecular das vicilinas varia de 150 e 190 kDa, com monômeros com massas moleculares em 45 e 70 kDa. As cadeias polipeptídicas dos trímeros são únicas por ligações de hidrogênio, não apresentando pontes dissulfeto. Algumas vicilinas têm sido descritas como proteínas com afinidade à quitina, entretanto elas não possuem o sítio de ligação à quitina clássico apresentado pelas lectinas e quitinases (Miranda *et al.*, 2020).

As vicilinas com afinidade à quitina têm sido associadas à defesa das sementes contra patógenos e insetos (França *et al.*, 2021), principalmente por sua capacidade de se ligar à quitina na parede celular de fungos e na matriz peritrófica dos insetos, afetando a digestão, a absorção e a ação das enzimas digestivas (Sales *et al.*, 2001; Cândido *et al.*, 2011). Pesquisa realizada por Macedo *et al.* (1993) foi a primeira a relacionar a resistência de genótipos de feijão-caupi, IT81D-1045, a *C. maculatus*, com a presença de vicilinas.

Posteriormente, Sales *et al.* (2001) indicaram que essas vicilinas eram tóxicas por se ligarem a quitina presente no intestino médio dessas larvas. Mota *et al.* (2003) e Paes *et al.* (2008) observaram que essas vicilinas também eram tóxicas e se ligavam no trato intestinal de outros insetos como *Diatrea saccharalis* (Mota *et al.*, 2003) e *Tenebrio molitor* (Paes *et al.*, 2008). Estudos realizados por Uchôa *et al.*, (2005), cujo objetivo foi estudar o destino das globulinas de armazenamento 7S de *Vigna unguiculata* (feijão-caupi) em diversos órgãos de larvas do gorgulho *C. maculatus*, mostraram a ligação de peptídeos originados a partir das vicilinas, em receptores específicos do intestino médio. Esses peptídeos foram detectados na hemolinfa, no intestino médio e em órgãos internos, como corpo gorduroso e túbulos de Malpighi.

Macedo *et al.* (2008) estudaram o efeito inseticida de vicilina de semente de *Erythrina velutina* à *Ceratites capitata* em dieta artificial e observaram mortalidade e redução da massa larval. Uchôa *et al.*, (2009) mostraram que peptídeos obtidos a partir da digestão de vicilinas mantiveram sua capacidade de ligação à quitina e foram tóxicos para as larvas de *C. maculatus* e para os fungos *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum musae* e *Saccharomyces cerevisiae*.

Oliveira *et al.*, (2014) estudaram a atividade inseticida das vicilinas com afinidade a quitina purificadas de uma variedade de feijão-caupi resistente (IT81D-1053) e mostraram que elas afetaram o crescimento larval, causando retardo no desenvolvimento e mortalidade de 100%. Os autores sugeriram que os efeitos tóxicos dessas vicilinas são a nível de células do intestino médio e envolvem a ligação dessas proteínas à superfície celular, seguida pela internalização afetando assim o desenvolvimento larval. No estudo conduzido por Andrade *et al.* (2020), os autores buscaram identificar proteínas de defesa em sementes de feijoeiro comum e sua resistência a infestação de *Callosobruchus maculatus*, constataram que as sementes naturais de todos os genótipos não inibiram a oviposição dos insetos, porém, as larvas não sobreviveram após se alimentarem dessas sementes e as sementes artificiais contendo farinha de tegumento de todos os genótipos inibiu a oviposição de *C. maculatus*, indicando que o tegumento também era repelente ao inseto.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRE, D. L. R. T.; QUEIROZ, B.; FONTOURA, L.; UCHÔA, A. F.; SAMUELS, R. I.; MACEDO, M. L.; BEZERRA, C. S.; OLIVEIRA, E.M.; DEMARTINI, D. R.; CARLINI, C. R.; SILVA, C. P. Vicilin-derived peptides are transferred from males to females as seminais nuptial gift in the seed-feeding beetle *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, n. 6, p.801-808. 2011.
- ALMEIDA, S. A.; ALMEIDA, F. A. C.; SANTOS, N. R.; MEDEIROS, S. S. A.; ALVES, H. S. Controle do caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleóptera: Bruchidae) utilizando extratos de *Piper nigrum* L. (Piperaceae) pelo método de vapor. **Ciências e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 793-797, 2006.
- AMUSA, O. D.; OGUNKANMI, L. A.; ADETUMBI, J. A.; AKINYOSOYE, S. T.; OGUNDIPE, O. T. Genetics of bruchid (*Callosobruchus maculatus* Fabr.) resistance in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Journal of Stored Products Research**, v. 75, p. 18–20, 2018.
- ANDRADE, E. K. V.; RODRIGUES, R.; BARD, G. C. V.; PEREIRA, L. S.; BAPTISTA, K. E. V.; CAVALCANTI, T. F. M.; OLIVEIRA, A. E. A.; SOUZA, T. A. M.; GOMES, V. M. Identification, biochemical characterization and biological role of defense proteins from common bean genotypes seeds in response to *Callosobruchus maculatus* infestation. **Journal of Stored Products Research**, v 87, p. 101580, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101580>.
- AUGUSTINE, N. BALIKAI, R. Biology of pulse Beetle, *Callosobruchus chinensis* (Lineaus) on cowpea Variety DC-15. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 7, n.1, p. 513-516, 2019.
- BALDIN, E. L. L.; VENDRAMIN, J. D.; LOURENÇÃO, A. L. **Resistência de plantas a insetos**: fundamentos e aplicações. Piracicaba: FEALQ, 493p., 2019.
- BADII, K. B.; ASANTE, S. K.; SOWLEY, E. N. K. Varietal susceptibility Of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) to the storage Beetle, *Callosobruchus Maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). **International Journal of Scientific & Tecnology Research**. v.2, n.4, p. 1-8, 2013.
- BATISTA, G. S. **Resistência de genótipos de Feijão-caupi a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.)** 2021 51f.Dissertação (Mestrado em Bioenergia e Grãos) Instituto Federal de Educação e Tecnologia Goiano, Rio Verde, 2021.
- BARBOSA, F. R.; YOKOYAMA, M.; PEREIRA, P. A. A.; ZIMMERMANN, F. J. P. Efeito da proteína arcelina na biologia de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman 1833), em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.10, p.1805-1810, 1999.
- BARRETO, P. D.; QUINDARÉ, M. A. W. Resistência de genótipos de caupi ao caruncho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 35, n. 04, p. 779- 785, 2000.
- BECK, C. W.; BLUMER, L. A **handbook on Bean Beetles, *Callosobruchus maculatus***. National Science Foundation, p.1-17,2014.

BENTO, J. M. S.; NARDI, C. Bioecologia e nutrição vs ecologia química: as interações multitróficas mediadas por sinais químicos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (eds.) **Bioecologia e nutrição de insetos**: base para o manejo integrado de pragas. Brasília, DF:Embrapa Informação Tecnológica, p. 277-297, 2009.

BEZERRA, A.A. de C.; TÁVORA, F.J.A.F.; FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q. Morfologia e produção de grãos em linhagens modernas de feijão-caupi submetidas a diferentes densidades populacionais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.8, n.1, p.85-93, 2008.

BHATTACHARYA, D.; NAGPURE, A.; GUPTA, R.K. Bacterial chitinases: Properties and potential. **Critical Reviews Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 21–28, 2007.

BORTOLOTTI, M; MAIELLO, S.; FERREIRA, J. M.; IGLESIAS, R.; POLITO, L.; BOLOGNESI, A. Kirkiin: A new toxic type 2 ribosome-inactivating protein from the Caudex of *Adenia kirkii*. **Toxins**, v.13, n.2, p. 81,2021.

BOUKAR, O.; FATOKUN, C. A.; B. L. HUYNH, B.; ROBERTS, F. A.; CLOSE, T. J. Genomic tools in cowpea breeding programs: status and perspectives. **Frontiers in Plant Science**. v. 7, p. 757, 2016.

Brasil, Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB. **Norma de tratamento fitossanitário 30.103**. Sistema de operações subsistema de rede de armazenadora própria – ambiente natural e artificial. 26p. 2024. Acesso em:<https://www.conab.gov.br/images/arquivos/normativos/30000_sistema_de_operacoes/30.103_norma_de_tratamento_fitossanitario_3_9_2021.pdf>

CAMPANA- FILHO, S. P.; DE BRITO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTIST, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LARVALL, R. L. Extração, estrutura e propriedade e propriedades de α e β -quitina. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 644-650, 2007.

CÂNDIDO, E. S.; PINTO, M. S. F., PELEGRINI, P. B.; LIMA, T. G.; SILVA, O. N.; GROSSI-DE- SÁ, M. F.; FRANCO, O. L. Plant storage proteins with antimicrobial activity: novel insights into plant defense mechanisms. **The FASEB Journal**, v. 25, p. 3290-3305, 2011.

CARDOSO, M. J.; BASTOS, E. A.; ANDRADE JUNIOR, A. S.; ATHAYDE SOBRINHO, C. **Feijão-Caupi**: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: Embrapa, 2017. CARVALHO, R.O.; LIMA, A. C. S.; ALVES, J. M. A. Resistência de genótipos de feijão-caupi ao *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Agro@ambiente**, v. 5, n. 1, p. 50-56, 2011.

CASTRO, M. J. P.; BALDIN, E. L. L.; CRUZ, P. L.; SOUZA, C. M.; SILVA, P. H. S. Characterization of cowpea genotype resistance to *Callosobruchus maculatus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n. 9, p. 1201-1209, 2013.

CHAPMAN, R. F. **The insects structure and function**. 5a. ed. New York: Cambridge University Press, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO-CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Brasília, DF: CONAB, v. 8, safra 2020/21, n. 5, quinto levantamento, fev. 2021.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO-CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Brasília, DF: CONAB, v. 12, safra 2023/2024, n. 12, décimo segundo levantamento, set. 2024.

COSTA, N. P.; BOIÇA JÚNIOR, A. L. Efeito de genótipos de caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., sobre o desenvolvimento de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 1, p. 77-83, 2004.

DE SÁ, L. F. R.; WERMELINGER, T. T.; RIBEIRO, N. S.; GRAVINA, G. A.; FERNANDES, K. V. S.; XAVIER-FILHO, J.; VENANCIO, T. M.; REZENDE, G. L.; OLIVEIRA, A. E. A. Effects of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) seed coat on the embryonic and larval development of the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 60, p. 50–57.2014.

DE SÁ, L. F. R.; VENTURY, K. E.; MACHADO, O. L. T.; FERNANDES, K. V. S. XAVIER-FILHO, J.; OLIVEIRA, A. E. A. Toxic effect of *Canavalia ensiformis* seed coat on larval development of *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Pest Science**, v. 91, n.1, p. 313–326, 2017.

DESHPANDE, V. K.; MAKANUR, B.; DESHPANDE, S. K.; ADIGER, S.; SALIMATH, P. M. Quantitative and qualitative losses caused by *Callosobruchus maculatus* in cowpea during seed storage. **Plant Archives**, v. 11, n. 02, p. 723-731, 2011.

DEVI, M. B.; DEVI, N. V. Biology and morphometric measurement of cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* fabr. (Coleoptera: Chrysomelidae) in green gram. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 2, n.3, p. 74-76, 2014.

DE MELO, B. A.; MOLINA- RUGAMA, A. J.; LEITE, D. T.; GODOY, M. S. ARAUJO, E. L. Bioatividade de pós de espécies vegetais sobre a reprodução de *Callosobruchus maculatus* (Fabr. 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Bioscience journal**. v. 30, n. 3, p. 346- 353, 2014.

DI BELLO, M. M.; SOUZA, B. H. S.; JANINI, J. C.; BOIÇA JUNIOR, A. L. Não preferência para alimentação e antibiose em cultivares de amendoim a *Stegasta bosquella* (Chambers) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 619-630, 2015.

DICK, K. M.; CREDILAND, P. F. Changes in the response of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) to a resistant Variety of cowpea. **Journal Stored Products Research**, v. 22, n.4, p. 227- 233, 1986.

EDVARDSSON, M., TREGENZA, T. Why do male *Callosobruchus maculatus* harm their mates. **Behavioural Ecology**, v.16, n.4, p. 788-793,2005.

EMBRAPA MEIO-NORTE. **A cultura do feijão-caupi no Brasil**. Teresina-PI, p.71, 2017.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS- FAO (2022). FAOSTAT. Crops. **Cowpeas, dry**. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acesso em 25 set. 2022.

FERREIRA, S. R.; ROCHA, M. M.; DAMASCENO-SILVA, K. J.; FERREIRA, A. T. S.; PERALES, J.; FERNANDES, K. V. S.; OLIVEIRA, A. E. A. The resistance of the 3cowpea cv. BRS Xiquexique to infestation by cowpea weevil is related to the presence of toxic chitin-binding proteins. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 173, p. 104782, 2021.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Seeds in Emergencies**. Rome- Italy: Food and agriculture Organization of the United Nations, v. 202, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Seeds in Emergencies**. Rome: FAO, v. 202, 2010.

FRANÇA, A. F. J.; ARAUJO, J. N.; SANTOS, Y. Q.; CARELI, G. S. C.; SILVA, D. A.; AMORIM, T. M. L.; MIGLIOLO, L.; SANTOS, E. A.; OLIVEIRA, A. S.; UCHÔA, A. F. Vicilin from *Anadenanthera colubrina* Seeds: an alternative tool to combat *Callosobruchus maculatus*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 9, p.5229-5237, 2021.

FRANCO, O. L. RIGDEN, D. J.; MELO, F. R. Plant α -amylase inhibitors and their interaction with insect α -amylases structure, function and potential for crop protection. **European Journal of Biochemistry**, v. 269, n. 2, p 397-412, 2002.

FREIRE FILHO, F. R (Ed.). **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84 p.

FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q (Ed). **Feijão- caupi: avanços tecnológicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2005, 519p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; DE BATISTA, G. C.; BRTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002, 92p.

GATEHOUSE, A. M. R.; GATEHOUSE, J. A. Biochemical basis of insect resistance in *Vigna unguiculata*. **Journal Science Food Agriculture**, v. 30, p. 948-958, 1979.

GATEHOUSE, A. M. R.; DEWEY, F.M.; DOVE, J.; FENTON, K. A.; PUSZTAI, A. Effect of Seed Lectins from *Phaseolus vulgaris* on the Development of Larvae of *Callosobruchus maculatus*; Mechanism of Toxicity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 35, n.4, p. 373–380, 1984.

GARCIA, J. F.; PRADO, S. P.; VENDRAMIM, J. D.; BOTELHO P.S. M. Effect of sugarcane varieties on the development of *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v.37, n.1, 2011.

GUPTA, M.; SHARMA, P.; NATH, A. K. Purification of a novel α -amylase inhibitor from local Himalayan bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds with activity towards bruchid pests and human salivary amylase. **Journal Food Science Technology**, v. 51, n. 7, p.1286–1293, 2014.

HARTL, M., GIRI, A. P., KAUR, H., BALDWIN, I. T. The multiple functions of plant serine protease inhibitors: defense against herbivores and beyond. **Plant Signaling Behavior**, v. 6, n. 7, p.1009-1011, 2011.

HENRISSAT, B.; DAVIES, G. Structural and sequence-based classification of glycoside hydrolases. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 7, n. 5, p. 637–644. 1997.

KALPNA, HAJAM, Y. A.; KUMAR, R. Management of stored grain pest with special reference to *Callosobruchus maculatus*, a major pest of cowpea: A review. **Heliyon**, v 8, e08703, 2022.

KAUR, I.; YADAY, S. K.; HARIPRASAD, G.; GUPTA, R.C.; SRINIVASAN, A.; BATRA, J. K.; PURI, M. Balsamin, a novel ribosome-inactivating protein from the seeds of balsam apple *Momordica balsamina*. **Amino acids**, v. 43, p. 973–981, 2012. DOI 10.1007/s00726-011-1162-1.

KITCH, L. W.; SHADE, R. E.; MURDOCK, L. L. Resistance to the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*) larva in pods of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.60, p. 183-192, 1991.

KOZOME D, UECHI K, TAIRA T, FUKADA H, KUBOTA T, ISHIKAWA K. Structural analysis and construction of a thermostable antifungal chitinase. **Appl Environ Microbiology**, v. 88, n.12, p.e00652-22, 2022.

LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Nutritional significance of lectins and enzyme inhibitors from legumes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n. 22, p. 6592–659, 2002.

LAPADULA, W. J.; AYUB, M. J. Ribosome inactivating proteins in insects: HGT, gene expression, and functional implications. **Gene**. v. 877, p. 147547, 2023.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2ª ed. São Paulo: Ícone. 1991, 336p.

LIMA, M. P. L.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; TORRES, J. B. Identificação de genótipos de caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. resistentes a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 289-295, 2001.

LOPES, L. M.; SOUSA, A. H.; SANTOS, V. B.; SILVA, G. N.; ABREU, A. O. Taxas de desenvolvimento de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) em variedades de feijão-caupi nativas que ocorrem no sudoeste da Amazônia. **Journal of Stored Products Research**, v. 76, p. 111 – 115, 2018.

LORINI, I. KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA- NETO, J. B.; HENNINHG, A. S.; FERNANDO, A. **Manejo Integrado de pragas de grãos e sementes armazenados**. Brasília, DF, Embrapa Soja, 2015, p. 86.

MACEDO, M. L. R.; ANDRADE, L. B. S.; MORAES, R. A.; XAVIER-FILHO, J. Vicilin variants and the resistance of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds to the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology**, v. 105, n. 1, p. 89-94, 1993.

MACEDO, L. L. P.; SANTOS, E. A.; UCHÔA, E. A.; Larvicidal effects of a chitin-binding vicilin from *Erythrina velutina* seeds on the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 03, p. 802-808, 2008.

MARSARO JUNIOR, A. L.; VILARINHO, A.A. Resistência de cultivares de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera:Chrysomelidae: Bruchinae) em condições de armazenamento. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 51-55, 2011.

MEDEIROS, W.R.; SILVA, J.D.C.; SILVA, P.R.R.; GIRÃO FILHO, J. E.; PÁDUA, L.E.M.; FRANÇA, S. M. Resistência de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) ao Ataque do Caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Entomology Brasilis**, v. 10, n. 1, p. 19-25, 2017.

MELO, A. F.; FONTES, L. S.; BARBOSA, D. R. S.; ARAÚJO, A. A. R.; SOUSA, E. P.S. SOARES, L. L. L.; SILVA, P. R. R. Resistência de genótipos de Feijão-Caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.3, p.425-429, 2012.

MESSINA, F. J.; LISH, A. M.; GOMPERT, Z. Components of cowpea resistance to the seed beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Economic Entomology**, v.20, n. 20, p. 1–7, 2019.

MESSINA, F.J.; RENWICK, J.A.A. Resistance of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in selected cowpea lines. **Environmental Entomology**, v.14, p. 868-872, 1985.

MIKENDA, P. A., K. Mtei, and P. A. Ndakidemi. Pesticidal Efficacy of *Tephrosia vogelii* and *Tithonia diversifolia* against Field Insect pests of common beans (*Phaseolus Vulgaris* L.) within African farming communities **African Journal of Applied Agricultural Sciences and Technologies**, v. 2, p. 9–26, 2014.

MISHRA, S. K.; MACEDO, M. L. R.; PANDA, S. K.; PANIGRAHI, J. Bruchid, pest management in pulses: past practces, present status and use of mudern breeding

tools for development of resistant varieties. **Annals of Applied Biology**. v. 72, n. 1, p. 1-16, 2017.

MOISE, J. A.; HAN, S.; SAVICTCH, L. G.; JOHNSON, D. A.; MIKI, B. L. A.; Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 41, n. 5, p. 620-644, 2005.

MOTA, AC, DAMATTA, RA, LIMA FILHO, M., SILVA, C. P.; XAVIER-FILHO, J. Cowpea (*Vigna unguiculata*) vicilins bind to the peritrophic membrane of larval sugarcane stalk borer (*Diatraea saccharalis*). **Journal of Insect Physiology**, v. 49, n. 9, p. 873–880. 2003.

MOISE, A. J., HAN, S., GUDYNAITE-SAVITCH, L., JOHNSON, A. D., MIKIC, A. L. B. Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology. **In vitro Cellular & Developmental Biology- Plant**, v. 41, n.41, p. 620-644. 2005.

MUNAWAR, A.; MASTOI, M. I.; ARSHAD, A. Detection of resistance in lab and field collected strains of two major pests of stored grains against deltamethrin and phosphine. **Pakistan Journal of Agricultural Research**, v. 33, n. 1, p. 78-88, 2020.

MUSA, A. K.; ADEBOYE, A. A. Susceptibility of some cowpea varieties to the seed beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE). **Journal of Agricultural Sciences**, v.62, n. 4, p. 351-360, 2017.

NAGPURE, A.; CHOUDHARY, B.; GUPTA, R.K. Chitinases: In agriculture and human healthcare. **Critical Reviews Biotechnology**, 34, n. 3, p. 215–232. 2014.

NASCIMENTO, M. C.; BATISTA, J. M. S.; NASCIMENTO, T. P.; COSTA, R. M. P. B.; PORTO FIGUEREDO, A. L. **Revisão bibliográfica**: lectinas – aspectos gerais e seus benefícios à agroindústria. III CIAGRO 009, p. 1-20, 2022.

NUNES, N. N. S.; FERREIRA, R. S.; SILVA-LUCCA, R. A.; DE SÁ, L. F. R.; DE OLIVEIRA, A. E. A.; CORREIA, M. T. S.; PAIVA, P. M. G.; WLODAWER, A.; OLIVA, M. L. V. Potential of the Lectin/Inhibitor Isolated from *Crataeva tapia* Bark (CrataBL) for Controlling *Callosobruchus maculatus* Larva Development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 48, p. 10431–10436, 2015.

OLIVEIRA, A. E. A., FERNANDES, K. V. S., SOUZA, A. J., SANTOS, P. O. Influence of the soybean seed coat upon seed infestation and development of the insect *Callosobruchus Maculatus*. **Soybean and wheat crops**, v. 1, p. 1-21, 2009.

OLIVEIRA, G. B.; KUNZ, D.; PERES, T. V.; LEAL, R. B.; UCHÔA, A. F.; SAMUEL, R. I.; MACEDO, M. L. R.; CARLINE, C. R.; RIBEIRO, A. F.; GRANJEIRO, T. B.; TERRA, W. R.; XAVIER-FILHO, J.; SILVA, C. P. Variant vicilins from a resistant *Vigna unguiculata* lineage (IT81D-1053) accumulate inside *Callosobruchus maculatus* larval midgut epithelium. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v.168, p. 45-52, 2014.

PADIL. PLANT BIOSECURITY TOOLBOX. **Diagnostic Methods for cowpea weevil or cowpea bruchid *Callosobruchus maculatus***. 2010, 40 p.

PAES, E. V.; UCHÔA, A. F.; PINTO, M. S. T.; SILVA, C. Pp.; FERNANDES, K.V.S.; OLIVEIRA, A. E. A.; XAVIER-FILHO, J. Binding of *Vigna unguiculata* vicilins to the peritrophic membrane of *Tenebrio molitor* affects larval development. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.129, n. 1, p.11–17. 2008.

PEUMANS, W. J. VAN DAMME, E. J. Lectins as plant defense proteins. **Plant Physiology**, v.109, n.2, p. 347-52, 1995.

SILVA, A. C. **Características agronômicas e qualidade de sementes de feijão-caupi em Vitória da Conquista, Bahia**. 2011. 87f.Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2011.

SILVA, C. P.; XAVIER-FILHO, J. Comparison between the levels of aspartic and cysteine proteinases of the larval midguts of *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae). comparative biochemistry and physiology Part B: **Comparative Biochemistry**, v. 99, n. 3, p. 529-533, 1991.

SILVA, J. S.; CORREA, P. C. Estrutura, composição e propriedades dos grãos. In: Silva, J. DE S. E. (Ed.). **Secagem e armazenamento de grãos no Brasil**. 1ª ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2008, p. 21-36.

SILVA, N. C.; DE SÁ, L. F. R.; OLIVEIRA, E. A. G.; COSTA, M. N.; FERREIRA, A. T. S.; PERALES, J.; FERNANDES, K. V. S.; XAVIER-FILHO, J.; OLIVEIRA, A. E. *Albizia lebbek* seed coat proteins bind to chitin and act as a defensive against cowpea weevil *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 18, p. 3514-3522, 2018.

SILVA, P.H.S.; CARNEIRO, J.S.; QUINDERÉ, M.A.W. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F.R.; LIMA, J.A. de A.; RIBEIRO, V.Q. (Ed.). **Feijão – caupi: avanços tecnológicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 396-402.

SILVA, R. P. et al. Efetividade de estirpes selecionadas para feijão - caupi em solo da região semiárida do sertão da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 3, n. 2, p.105-110, 2008.

SLAVOKHOTOVA, A. A., SHELENKOV, A. A., ANDREEV, Y. A., ODINTSOVA, T. I. Hevein-like antimicrobial peptides of plants. Hevein-like antimicrobial peptides of plants. **Biochemistry**, v. 82, n. 13, p. 1659–1674, 2017.

SMITH, C. M, CLEMENT, S. L. Molecular bases of plant resistance to arthropods. **Annual Reviews Entomology**, v. 57, p.309–328, 2012.

SOARES, M. A., ZANUNCIO, J. C., LEITE, G. L. D., REIS, T. C., Silva, M. A. Controle biológico de pragas em armazenamento: uma alternativa para reduzir o uso de agrotóxicos no Brasil. **Revista Unimontes Científica**, v. 11, n. 1/2, p. 52-59, 2009.

SOUSA, M.; RAMALHO, P. R. S.; FRANÇA, S. M.; SILVA, J. D. C.; SOUSA, F. M. Seleção de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) para resistência a *Callosobruchus maculatus*. **Revista Ciências Agrárias**, v. 59, n. 2, p. 190-195, 2016.

SOUZA, A. J.; SANTOS, P. O.; PINTO, M. S. T.; WERMELINGER, T. T.; RIBEIRO, E. S.; SOUZA, S. C.; DEUS, M. F.; SOUZA, M. C.; XAVIER-FILHO, J.; FERNANDES, K. V. S.; OLIVEIRA, A. E. A. Natural seed coats provide protection against penetration by *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. **Crop Protection**, v. 30, p. 651-657, 2011.

SUHARTI, T.; DHARMAWATI, D.; DJAM'NA, F. Potensi RIP (ribosome inactivating protein) yang berasal dari tumbuhan sebagai biopesticida. **Buletin Ebone**, v. 1, n.1, p. 33-39, 2019.

TENGEY, T. K.; ALIDUB, S. M.; MOROB, A.; NBOYINEA, J.; AFFRAM, E. I. Resistance to *Callosobruchus maculatus* among cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) genotypes. **Journal of crop Improvement**, v. 37, n. 3, p. 309–322, 2023.

TERRA, W. R. The origin and functions of the insect peritrophic membrane and peritrophic gel. **Arch Insect Biochem Physiology**, v. 47, n.2, p. 47–61, 2001.

TOGOLA, A.; BOUKAR, O.; BELKO, N.; CHAMARTHI, S. Host plant resistance to insect pests of cowpea (*Vigna Unguiculata* L. Walp.): achievements and future prospects." **Euphytica**, v. 213, p. 1–16. 2017.

UCHÔA, A. F.; DAMATTA, R. A.; RETAMAL, J. M.; ALBUQUERQUE-CUNHA, S. M.; SOUZA, S. M.; SAMUELS, R. I.; SILVA, C. P.; XAVIER- FILHO, J. Presence of the storage seed protein vicilin in internal organs of larval *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal Insect Physiology**. v. 52, p. 169-178, 2006.

UCHÔA, A. F.; MIRANDA, M. R. A.; SOUZA, A. J.; GOMES, V. M.; FERNANDES, K. V. S.; LEMOS, F. J. A.; OLIVEIRA, A. E. A.; XAVIER-FILHO, J. Toxicity of hydrolyzed vicilins toward *Callosobruchus maculatus* and phytopathogenic fungi. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p. 8056–8061, 2009.

VAN DAMME, E. J. M.; ROUGE, P.; BARRE. A. Plants lectins: a composited of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 17, n.6, p. 575–692, 1998.

VANDENBORRE, G.; SMAGGHE, G., Van Damme, E. J. M. Lectinas vegetais como proteínas de defesa contra insetos fitófagos. **Fitoquímica**, v. 72. N. 13, p. 1538–1550. 2011.

VASCONCELOS, I. M.; OLIVEIRA, J. T. A. Antinutritional properties of plant lectins. **Toxicon**, v. 44, n. 4, p. 385-403, 2004.

VASCONCELOS, M. A.; PENHA, S. S.; SILVA, V. R. C.; LEITE, T. A.; SOUZA, E. B.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, E. H.; SILVA, A. L. C. Fruticulosin: a novel type 2 ribosome-inactivating protein from *Abrus fruticulosus* seeds that exhibits toxic and

antileishmanial activity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, V. 658, p. 46-53, 2018.

VENDRAMIM, J. D.; GUZZO, E. C. Resistência de plantas e a bioecologia e nutrição dos insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição dos insetos**: bases para o manejo integrado de pragas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 1055-1105, 2009.

XAVIER-FILHO, J.; CAMPOS, F.A.P.; ARY, M.B.; SILVA, C.P.; CARVALHO, M.M.M.; MACEDO, M.L.R.; LEMOS, F.J.A.; GRANT, G. Poor correlation between the levels of proteinase inhibitors found in seeds of different cultivars of cowpea (*Vigna unguiculata*) and the resistance/susceptibility to predation by *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 37, p. 1139-1143, 1989.

WAR, A. R. PAURAJ, M. G, AHMAD, T.; BUHROO, A. A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; S., SHARMA, H. C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**. v. 7, n. 10, p. 1306-1320, 2012.

CAPÍTULO 1 – Seleção de genótipos de feijão-caupi resistentes ao caruncho (*Callosobruchus maculatus*) (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae)

SANTOS, V.S.V.; OLIVEIRA, A.E.A.; SILVA, P. H. S.; ROCHA, M.M.

RESUMO

O feijão - caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é considerado uma cultura de grande importância sócioeconômica para a população humana. Todavia, *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) é considerado a principal praga de grãos e sementes armazenados pelos danos causados como redução da massa interna, perda de peso, redução do valor nutritivos, perda do poder germinativo, inviabilizando para consumo, semeio e comércio. A principal forma de controle dessa praga é realizada com inseticida químico sintético, no entanto, tem levado a muitos problemas como a poluição do meio ambiente, a contaminação do aplicador e a resistência do inseto ao princípio ativo do produto. Portanto, tem-se buscado alternativas mais sustentáveis no sentido de mitigar esses danos. Nesse sentido, esta pesquisa teve por objetivo selecionar genótipos de feijão- caupi resistentes ao caruncho *C. maculatus*. Para avaliar a resistência do tipo antibiose foram utilizados 60 genótipos de feijão-caupi em teste sem chance de escolha. Em um frasco de polietileno foram confinados 10 insetos não sexados com idade entre 0 - 48h de nascidos em 10g de sementes por genótipo. Foram avaliadas as seguintes variáveis: totais de ovos, ovos viáveis e inviáveis, viabilidade de ovos (%), total de adultos emergidos, insetos emergidos (%), período de ovo a adulto (dias), massa consumida de sementes (g) e emergência precoce de larvas. Os genótipos IT81D-1045, IT86D-716-1, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 e MNC05-828B-3-15 se destacaram por apresentar resistência do tipo antibiose a *C. maculatus* por reduzirem a quantidade de insetos emergidos e viabilizarem uma redução no percentual de emergência acima de 40%.

Palavras - chave: *Vigna unguiculata*, Praga de grãos armazenados, resistência de plantas, antibiose.

CHAPTER 1 – Selection of cowpea genotypes resistant to weevil (*Callosobruchus maculatus*) (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae)

SANTOS, V.S.V.; OLIVEIRA, A.E.A.; SILVA, P. H. S.; ROCHA, M.M.

ABSTRACT

Cowpea bean (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) is considered a crop of great socioeconomic importance for the human population. However, *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) is considered the main pest of stored grains and seeds due to the damage caused, such as reduction of internal mass, weight loss, reduction of nutritional value, and loss of germination power, making them unviable for consumption, sowing and trade. The main form of control of this pest is made with synthetic chemical insecticide. However, it has led to many problems, such as environmental pollution, contamination of the applicator, and the insect's resistance to the product's active ingredient. Therefore, more sustainable alternatives have been sought to mitigate this damage. In this context, this research had as objective to select cowpea genotypes resistant to the weevil *C. maculatus*. To evaluate antibiosis resistance, 60 cowpea genotypes were used in a no-choice test. In a polyethylene bottle, 10 non-sexed insects with hatching ages between 0 and 48 hours were confined in 10g of seeds per genotype. The following variables were evaluated: total eggs, viable and nonviable eggs, egg viability (%), total adults emerged, insects emerged (%), period from egg to adult (days), mass of seeds consumed (g) and premature emergence of larvae. The genotypes IT81D-1045, IT86D-716-1, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 and MNC05-828B-3-15 stood out for presenting antibiosis-type resistance to *C. maculatus* by reducing the number of emerged insects and enabling a reduction in the emergence percentage above 40%.

Keywords: *Vigna unguiculata*, Stored grain pest, plant resistance, antibiosis.

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp), é tido como fonte de alimento estratégico nas regiões tropicais e subtropicais no mundo. É uma planta dicotiledônea, que possui centro de origem a África (Freire Filho, 2011).

No Brasil, o feijão - caupi apresenta elevada importância agrícola e alimentar. É considerada uma alternativa sócioeconômica para populações rurais (Figueiras *et al.*, 2009) das regiões Norte e Nordeste do Brasil, bem como, para a região Centro Oeste (Uchôa *et al.*, 2020). É a base alimentar para pequenos produtores da região Nordeste (Mesquita *et al.*, 2023). Seus grãos são fonte de proteína para a população rural e urbana (Kenení *et al.*, 2011), demandando expressiva quantidade de mão de obra no seu cultivo (Salgado *et al.*, 2012).

Conhecido como feijão-macassar, feijão-de-corda ou fradinho, o feijão - caupi é uma das principais culturas do Norte e Nordeste do Brasil por ser uma cultura de subsistência e de importância nutricional (Martins *et al.*, 2024), pois apresenta propriedades superiores ao do feijão comum, é versátil podendo ser comercializado nas formas de vagens, grãos secos ao atingir sua maturação fisiológica ou verdes (Vale; Bertine; Borém, 2017). É cultivado no período de chuva e consumido durante todo o ano (Ibro *et al.*, 2014), mas durante o seu armazenamento, perdas consideráveis são observadas, tanto quantitativas quanto qualitativas devido ao ataque de insetos-praga (Lopes *et al.*, 2018; Amusa *et al.*, 2023).

O caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) é uma das principais pragas do feijão-caupi armazenado no Brasil (Marsaro; Vilarinho, 2011, Lopes *et al.*, 2018). Ela possui rápido crescimento populacional que leva a possibilidade de infestação dos grãos em 100% dentro de poucos meses (Silva *et al.*, 2018). *C. maculatus* é considerado uma praga primária, pois a fêmea oviposita sobre os grãos intactos, que servem de alimentos para as larvas levando a perdas nutricionais e econômicas para a cultura, porquanto as larvas se instalam na parte interna e se alimentam das reservas neles contidos (Rees, 2007; Beck; Blumer, 2011) reduzindo o peso e o poder germinativo de sementes (Hamzavi *et al.*, 2022).

Cabe destacar que não existem produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) para o controle de *C. maculatus* especificamente na cultura do feijão-caupi armazenado, mas é comum o uso de

inseticidas fumigantes para o controle de insetos em grãos e sementes (Marsaro; Vilarinho, 2011), que tem apresentado várias desvantagens como a contaminação do meio ambiente e risco à saúde humana (Satya *et al.*, 2016; Ogunmefun *et al.* 2023), bem como, a seleção de insetos resistentes (Munawar *et al.*, 2020).

Nesse contexto, a busca por alternativas mais sustentáveis como a identificação de genótipos de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus* é de suma importância, pois não onera a produção, não ocasiona riscos ao produtor, diminui a contaminação do meio ambiente e viabiliza a disponibilidade de alimento mais saudáveis ao consumidor. Ademais, esse método pode ser conjugado com outros no manejo integrado de pragas (Marsaro Junior; Vilarinho, 2011), viabilizando a redução significativa do uso de químico sintético, preservando a qualidade dos grãos e sementes de feijão-caupi armazenados (Abreu *et al.*, 2022) para futuro consumo, plantio ou comercialização e assegurando renda e desenvolvimento local.

Nesse sentido, várias pesquisas foram conduzidas e evidenciaram fonte de resistência em genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* (Lima *et al.*, 2001; Desphande *et al.*, 2011; Marsaro Junior; Vilarinho, 2011; Onyido *et al.*, 2011; Badii; Asante; Sowlei, 2013; Castro *et al.*, 2013; Kosini *et al.*, 2018; Miesho *et al.*, 2018; Umeanaeto *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2021; Faizan *et al.*, 2023; Tengey *et al.*, 2023) com resultados expressivos. Todavia, faz-se necessário ampliar a identificação de genótipos resistentes com características superiores para servirem como doadores potenciais de resistência em programas de melhoramento genético para o desenvolvimento de cultivares de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus* e contribuir com a redução do uso de inseticidas sintéticos no controle da referida praga.

Portanto, a presente pesquisa teve como objetivo selecionar entre 60 genótipos de feijão-caupi, novas fontes de resistência a *C. maculatus* por meio de teste sem chance de escolha.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O ensaio foi realizado no Laboratório de Entomologia da Embrapa Meio- Norte, em Teresina- PI (05° 05'S; 42° 29' W e 72m de altitude), sob condições controladas

em estufa incubadora (B.O.D) com temperatura de 27 ± 2 °C, fotofase de 12 horas e $60 \pm 10\%$ de Umidade Relativa.

2.2 CRIAÇÃO DE *Callosobruchus maculatus*

Para criação dos insetos e montagem do bioensaio foram utilizadas sementes da cultivar de feijão-caupi BRS Guariba, que foram acondicionados em frascos de polietileno com capacidade para 500g. A tampa foi substituída por tecido voil envolto com liga de borracha para permitir a aeração interna. Os insetos foram confinados por cinco dias para realizarem a postura, posteriormente, retirados e os frascos foram mantidos sobre mesa do laboratório para a emergência de insetos. Depois da emergência de adultos, esses foram utilizados para novas infestações. Esse procedimento foi realizado no sentido de garantir a quantidade de insetos adultos necessários para a realização do bioensaio.

2.3 OBTENÇÃO DOS GENÓTIPOS de *Vigna unguiculata*

Para a realização do experimento de resistência de genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus*, foram multiplicados os 60 genótipos oriundos do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio- Norte. Inicialmente, no campo experimental da referida instituição foi delimitada uma área de 480M², sendo 12m de frente e 40 de comprimento, a qual foi arada para incorporação da vegetação nela presente, pois era uma área de pousio, depois, foi destorroada com a gradagem para uniformização e viabilizar melhor infiltração da água, semeio e desenvolvimento da cultura. Em seguida, realizou-se irrigação para marcação dos 12 blocos de 25M², sendo 5mx5m, cada. Cada bloco foi constituído de dez linha e cada linha de 5m linear.

O semeio foi realizado em sulcos no mês de junho de 2022. Em cada bloco foi semeado cinco genótipos, sendo duas linhas por genótipo. Entre os blocos foi deixado ruas de 2m de largura para permitir o passeio, manejo adequado da cultura e a implantação do sistema de irrigação convencional na rua principal da área. A irrigação da cultura foi realizada utilizando-se dois turnos de rega manhã e tarde. As capinas foram duas. Uma aos quinze dias após o semeio e a segunda, aos vinte dias após a primeira.

A colheita iniciou aos 30 dias após semeio (para genótipos mais precoces) e se estendeu até a segunda quinzena do mês de setembro de 2022 (genótipos mais tardios). A cada colheita realizada, as vagens por genótipo eram acondicionadas individualmente em saco de papel devidamente identificado, depois lacrado e levado para estufa a 35°C por 24h para reduzir a umidade dos grãos. Transcorrido esse período, os sacos foram retirados da estufa e levados para a bancada do laboratório para deslacre e as vagens, de cada genótipo, foram debulhadas e as sementes acondicionadas em recipiente plástico com capacidade para 1kg. Esses recipientes, contendo as sementes por genótipo foram pesados, identificados, vedados com fita durex e acondicionados em freezer a -4°C para inviabilizar infestações oriundas do campo até o início do bioensaio. Os genótipos e suas genealogias estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. Genótipos de feijão-caupi utilizados em ensaio experimental para avaliação da resistência a *Callosobruchus maculatus*

Genótipo	Genealogia /Origem
BR 17 Gurguéia	BR10-Piauí X CE-35
BRS Aracê	MNC05-847B-125 X MNC00-599F-11
BRS Cauamé	TE93-210-13F X TE96- 282-22G
BRS Exuberante	CNC X 409 11F-P2 195 X TE97-341E-1-1
BRS Guariba	IT85F-2687 X TE87 – 988G
BRS Inhuma	Selecionada na Cultivar Local Inhuma- Inhuma Piauí
BRS Itaim	MNC01-625E- 10-1 - 2- 5 X MNC99- 544D- 10 – 1- 2- 2
BRS Novaera	TE97-404-1F X TE97-404-3F
BRS Olhonegro	MNC01-627F-5-1-1 X CB- 27
BRS Pajeú	CNC x 405- 17F X TE94-268-3D
BRS Potengi	TE96 - 282-22E X TE93 - 210-13F
BRS Tumucumaque	TE96 - 22G X IT87 D-611-3
BRS Urubuquara	Selecionada na cultivar BRS3-Tracateua
BRS Verdejante	BR2 BRAGANÇA X GV – 10-91-1-1
BRS Xiquexique	TE96-29012G X TE87- 108-8G
Monteiro	Selecionada na Cultivar local Monteiro – Piripiri - PI
IT85F-2687	International Institute of Tropical Agriculture -IITA, Ibadan,Nigéria
IT86D- 716-1	International Institute of Tropical Agriculture -IITA, Ibadan,Nigéria
IT81D-1045	International Institute of Tropical Agriculture -IITA, Ibadan,Nigéria
TVU 36	International Institute of Tropical Agriculture -IITA, Ibadan,Nigéria
TVU 1593	Viçosa Minas Gerais (CE-156)
MNC99-507G-4	BR14-Mulato X Canapuzinho
MNC11-1020 E-16	MNC02-689F-11 X MNC02-677F-2-1
MNC99-510 F-8	Paulista X TE90-18088E
MNC99-541 F	MNC00-599F-2 X MNC99- 533F-14-2
MNC99-541 F-21	TE93-210-13F X TE96-282-22G
MNC11-1031E-5	MNC02-689F- 11 X MNC02- 680 F-1-2
MNC04-768 F-21	TE97-321G-2 X CE- 315
MNC04-769 F-46	CE- 315 X TE97- 304 G -12
MNC04- 769 F-55	CE-315 X TE97- 304 G -12
MNC04-792 F-144	MNC00-553D-8-1-2-3 X TV x 5058-09C-2
MNC04-795 F-148	MNC99-518G-2 X IT92KD-279-3
MNC04- 795 F-158	MNC99-518G-2 X IT92KD-279-3
MNC05-828 B-3-15	MNC00-553D-8-1-2-3 X MNC01-626-11-1
MNC05- 841 B- 49	MNC00-599 F-9 X MNC99-537F-14-2
MNC06 907 E-30	MNC05-820B-173-2 X VB
MNC09-981 B-2	[BRS Guariba X (Pretinho X TE97-309G-9) X BRS Guariba]
MNC11-1013E-16	MNC01-510F X Pingo de ouro-1-2
MNC11-1019E-B	MNC01-631F-11 X Canapuzinho-1-2 X MNCC02- 677F-2-1
MNC11-1024E-1	MNC02-68F-11 X MNC01- 631F- 20-5 X Pingo de Ouro -1-2
MNC11-1031E-11	MNC02F-11 X MNC02-680F-1-2
MNC11-1031E-15	MNC02-689F- 11 X MNC01-631F-11 X Canapuzinho - 2
Bico de Ouro 17-21	Selecionada na cultivar local Bico de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Bico de Ouro 17-33	Selecionada na cultivar local Bico de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Bico de Ouro 17-20	Selecionada na cultivar local Bico de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Bico de Ouro 17-24	Selecionada na cultivar local Bico de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Bico de Ouro 17-38	Selecionada na cultivar local Bico de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Bico de Ouro 17-48	Selecionada na cultivar local Bico de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Bico de Ouro 17-53	Selecionada na cultivar local Bico de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Pingo de Ouro 1-1	Selecionado na cultivar local Pingo de ouro/Iguatu-Ceará
Pingo de Ouro 1-2	Selecionada na cultivar local Pingo de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Pingo de Ouro 1-54	Selecionada na cultivar local Pingo de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Pingo de Ouro 17-18	Selecionada na cultivar local Pingo de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Pingo de Ouro 17-68	Selecionada na cultivar local Pingo de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Pingo de Ouro 17-69	Selecionada na cultivar local Pingo de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Pingo de Ouro 17-96	Selecionada na cultivar local Pingo de Ouro, Ipiranga do Piauí- PI
Canapuzinho 1-2	Selecionada na cultivar Canapuzinho – São Raimundo Nonato - PI
Corujinha	Cultivar Local -Barbalha -Ceará
Paulistinha	Cultivar Local -Barbalha -Ceará
Sanzi Zambili	International Institute of Tropical Agriculture -IITA, Ibadan,Nigéria

2.4 SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI COM RESISTÊNCIA A *Callosobruchus maculatus*

O experimento foi realizado utilizando-se 60 genótipos de feijão-caupi, cujo objetivo foi selecionar os mais resistentes a *C. maculatus*. Os genótipos que estavam no freezer a -4°C foram retirados e colocados sobre a bancada do laboratório, mudando-se as tampas sem furos para tampas com furos para permitir o equilíbrio higroscópico. O ensaio sem chance de escolha foi montado utilizando-se frascos de polietileno com capacidade aproximada de 45cm^3 , contendo 10g de cada genótipo de feijão-caupi e infestado com 10 insetos não sexados (baseado na metodologia de Costa; Boiça Junior, 2004) com idade entre 0 e 48h e mantidos para oviposição por sete dias em B.O.D. (Figura 2 e Figura 3), respectivamente.

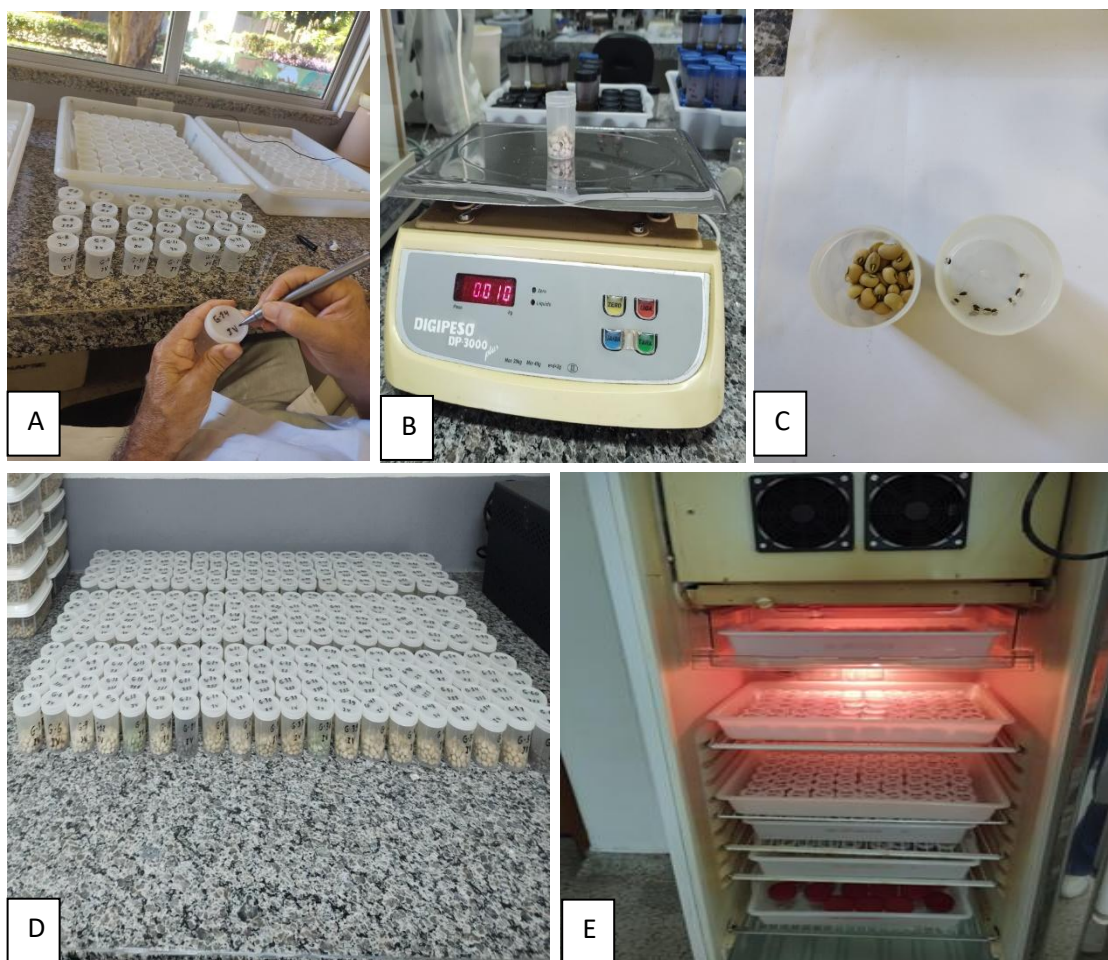


Figura 2. A -Identificação dos potes, B- pesagem de frascos com grãos de genótipo, C- potes com genótipos de feijão-caupi e adultos de *Callosobruchus maculatus* para realização da infestação, D- experimento montado, E- experimento acondicionado em B.O.D.

Após esse período, os insetos foram retirados e os frascos contendo os grãos retornaram para B.O.D. Aos doze dias da infestação inicial foi realizada a avaliação das variáveis: total de ovos, número de ovos viáveis (coloração leitosa) e inviáveis (de coloração hialina) com auxílio de microscópio esterioscópico com capacidade de aumento de até 20 vezes, e viabilidade de ovos (%), obtido em função do número de ovos viáveis em relação ao total de ovos. Após a contagem dos ovos, os frascos voltaram para a B.O.D. e aos vinte dias da infestação inicial foram realizadas observações e contagens diárias de larvas e adultos de *Callosobruchus maculatus* emergidos. Essas observações se encerraram quando constatado, por cinco dias consecutivos, a não ocorrência de emergência (Procópio *et al.*, 2003, Mazzoneto; Vendramim, 2003). O percentual de insetos emergidos foi obtido através do total de insetos emergidos em relação aos ovos viáveis multiplicados por 100. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com 60 tratamentos e três repetições.



Figura 3. Visualização geral dos genótipos de feijão – caupi utilizados na seleção.

O período de ovo a adulto foi obtido em função da fórmula: $[\sum (\text{número diário de insetos emergidos} \times \text{número de dias após a infestação}) / \text{total de insetos emergidos}]$. A massa consumida foi obtida com o fim das emergências de insetos adultos de *C. maculatus* nas repetições de cada genótipo. A massa inicial intacta (sem infestação), de cada repetição por genótipo, foi pesada e subtraída da massa final (grãos com massa consumida por insetos) de cada repetição por genótipo e da média de larvas por genótipo. De início, os dados foram submetidos ao teste de Kosmogorov-

Sminorv para avaliar a normalidade e homogeneidade dos dados, para posterior análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Skott Knott ($P \leq 0,05$). Para análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$, exceto os dados de emergência de larvas que foram transformados em $\sqrt{x+1,0}$. Os dados foram analisados por meio do Sistema SASM exe.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se dois grupos (a e b) estatisticamente diferentes para total de ovos, com o grupo “b” apresentando menor número total de ovos variando de $158 \pm 26,7$ a $444 \pm 101,3$ pelos genótipos MNC11-1013E-16 e MNC11-1024E-1, respectivamente. Tabela 2.

O genótipo MNC11-1013E-16 apresentou resistência a *Callosobruchus maculatus* do tipo não preferência (antixenose), pelo menor número de ovos ($158 \pm 26,7$ grupo “b”) em relação ao genótipo Pingo de ouro 1-54 ($1.185 \pm 131,3$ grupo “a”), que se destacou por ser o mais preferido para oviposição pelas fêmeas de *C. maculatus* (Tabela 2).

Para Chinjidu *et al.* (2009) e Lephale *et al.* (2012) os fatores físicos como textura, cor, tamanho e dureza dos grãos estão associados com a sua resistência e interfere na oviposição da praga (Gbaye; Hollway, 2011). Nessa pesquisa a cor do tegumento, o tamanho e a textura das sementes variaram no mesmo grupo, porém não diferiram estatisticamente quanto a oviposição. Entretanto os fatores bioquímicos presentes no tegumento podem reduzir a oviposição e a sobrevivência de insetos (Lale; Kolo, 1998).

Quanto ao número de ovos viáveis, houve diferença estatística significativa com a presença de dois grupos (a e b), sendo que o grupo “b” apresentou menor número de ovos viáveis em relação ao “a”, com destaque para os genótipos que apresentaram médias abaixo de 160: MNC11-1013E-16 ($114 \pm 20,4$), Pingo de ouro 1-2 ($154 \pm 29,1$) e Paulistinha ($149 \pm 36,8$) (grupo “b”) em relação ao genótipo Pingo de ouro 1-54 ($1.031 \pm 109,6$) (grupo “a”) (Tabela 2).

Tabela 2. Média ($\pm$ DP) de total de ovos, ovos viáveis, ovos inviáveis e viabilidade de ovos de *C. maculatus* em sementes de diferentes genótipos de feijão-caupi

Genótipos	Total de ovos	Ovos viáveis	Ovos inviáveis	Viabilidade de Ovos (%)
1-BR 17 Gurgueia	392 $\pm$ 15,8 b	262 $\pm$ 20,1 b	130 $\pm$ 19,1 a	73 $\pm$ 38,55 a
2-BRS Aracê	790 $\pm$ 18,9 a	638 $\pm$ 12,1 a	152 $\pm$ 12,5 a	81 $\pm$ 3,61 a
3-BRS Cauamé	710 $\pm$ 11,9 a	581 $\pm$ 16,5 a	129 $\pm$ 6,1 a	82 $\pm$ 3,21 a
4-BRS Exuberante	686 $\pm$ 33,6 a	598 $\pm$ 32,5 a	88 $\pm$ 16,0 a	87 $\pm$ 7,21 a
5-BRS Guariba	344 $\pm$ 48,2 b	268 $\pm$ 31,7 b	76 $\pm$ 16,7 b	79 $\pm$ 4,73 a
6-BRS Inhuma	563 $\pm$ 56,9 a	471 $\pm$ 49,6 a	92 $\pm$ 9,5 a	84 $\pm$ 3,21 a
7-BRS Itaim	297 $\pm$ 45,5 b	237 $\pm$ 37,5 b	60 $\pm$ 9,6 b	80 $\pm$ 4,36 a
8-MNC06-907E-30	710 $\pm$ 140,1 a	615 $\pm$ 126,8 a	95 $\pm$ 15 a	85 $\pm$ 5,51 a
9-BRS Novaera	471 $\pm$ 48,5 a	410 $\pm$ 49,1 a	61 $\pm$ 13,1 b	86 $\pm$ 8,96 a
10-BRS Olhonegro	539 $\pm$ 48,4 a	433 $\pm$ 41,4 a	106 $\pm$ 15,1 a	80 $\pm$ 7,64 a
11-BRS Pajeú	613 $\pm$ 58,5 a	501 $\pm$ 61,9 a	112 $\pm$ 11,2 a	80 $\pm$ 7,57 a
12-BRS Potengi	286 $\pm$ 29,4 b	209 $\pm$ 20,0 b	77 $\pm$ 10,6 b	73 $\pm$ 8,19 a
13-BRSTumucumaque	576 $\pm$ 101,8 a	498 $\pm$ 93,2 a	78 $\pm$ 8,7 b	85 $\pm$ 3,06 a
14-BRS Urubuquara	236 $\pm$ 31,8 b	193 $\pm$ 22,1 b	43 $\pm$ 10,0 b	84 $\pm$ 7,02 a
15-BRS Verdejante	425 $\pm$ 93,7 b	360 $\pm$ 79,9 b	65 $\pm$ 13,9 b	84 $\pm$ 1,15 a
16-BRS Xiquexique	564 $\pm$ 95,6 a	465 $\pm$ 75,5 a	99 $\pm$ 20,3 a	83 $\pm$ 1,73 a
17-Monteiro	500 $\pm$ 34,5 a	453 $\pm$ 25,5 a	47 $\pm$ 9,5 b	91 $\pm$ 4,16 a
18-IT85F-2687	759 $\pm$ 52,1 a	712 $\pm$ 52,4 a	47 $\pm$ 1,2 b	94 $\pm$ 1,15 a
19-IT86D-716-1	498 $\pm$ 99,0 a	470 $\pm$ 95,0 a	28 $\pm$ 4,9 b	93 $\pm$ 3,06 a
20-IT81D-1045	597 $\pm$ 16,8 a	478 $\pm$ 24,5 a	119 $\pm$ 9,8 a	80 $\pm$ 5,86 a
21-TVU 36	765 $\pm$ 122,6 a	663 $\pm$ 128,6 a	102 $\pm$ 6,1 a	84 $\pm$ 8,19 a
22-TVU 1593	384 $\pm$ 51,9 b	320 $\pm$ 44,2 b	64 $\pm$ 12,6 b	84 $\pm$ 7,57 a
23-MNC99-509-G-4	474 $\pm$ 34,9 a	388 $\pm$ 36,8 a	86 $\pm$ 2,1 a	81 $\pm$ 6,08 a
24-MNC11-1020E-16	501 $\pm$ 86,7 a	416 $\pm$ 76,2 a	85 $\pm$ 10,4 a	83 $\pm$ 4,93 a
25-MNC99-510F-8	696 $\pm$ 112,7 a	594 $\pm$ 99,5 a	102 $\pm$ 14,9 a	85 $\pm$ 4,16 a
26-MNC99-541F	318 $\pm$ 16,4 b	228 $\pm$ 2,0 b	90 $\pm$ 14,4 a	73 $\pm$ 10,02 a
27-MNC99-541F-21	633 $\pm$ 31,3 a	528 $\pm$ 34,1 a	105 $\pm$ 7,9 a	83 $\pm$ 5,03 a
28-MNC11-1031E-5	275 $\pm$ 49,7 b	230 $\pm$ 40,5 b	45 $\pm$ 9,5 b	85 $\pm$ 4,04 a
29-MNC04-768F-21	521 $\pm$ 61,1 a	420 $\pm$ 52,4 a	101 $\pm$ 10,7 a	80 $\pm$ 3,21 a
30-MNC04-769F-46	884 $\pm$ 16,9 a	723 $\pm$ 18,4 a	161 $\pm$ 1,5 a	82 $\pm$ 1,15 a
31-MNC04-769F-55	730 $\pm$ 19,9 a	626 $\pm$ 21,5 a	104 $\pm$ 12,1 a	86 $\pm$ 5,03 a
32-MNC04-792F-144	520 $\pm$ 86,3 a	424 $\pm$ 80,3 a	96 $\pm$ 6,2 a	80 $\pm$ 5,29 a
33-MNC04-795F-148	286 $\pm$ 20,5 b	223 $\pm$ 14,6 b	63 $\pm$ 6,6 b	78 $\pm$ 3,46 a
34-MNC04-795F-158	509 $\pm$ 27,6 a	392 $\pm$ 15,0 a	117 $\pm$ 12,8 a	78 $\pm$ 3,79 a
35-MNC05-828B-3-15	866 $\pm$ 75,6 a	791 $\pm$ 72,4 a	75 $\pm$ 14,7 b	91 $\pm$ 4,51 a
36-MNC05-841B-49	396 $\pm$ 65,8 b	346 $\pm$ 59,6 b	50 $\pm$ 6,8 b	87 $\pm$ 2,00 a
37-MNC09-981B-2	760 $\pm$ 119,5 a	652 $\pm$ 102,0 a	108 $\pm$ 18,2 a	86 $\pm$ 2,08 a
38-MNC11-1013E-16	158 $\pm$ 26,7 b	114 $\pm$ 20,4 b	44 $\pm$ 11,6 b	71 $\pm$ 19,31 a
39-MNC11-1019E-B	374 $\pm$ 24,0 b	307 $\pm$ 21,1 b	67 $\pm$ 3,5 b	81 $\pm$ 0,58 a
40-MNC111024E-1	444 $\pm$ 101,3 b	357 $\pm$ 70,2 b	87 $\pm$ 31,2 b	83 $\pm$ 7,64 a
41-MNC11-1031E-11	312 $\pm$ 44,3 b	254 $\pm$ 26,2 b	58 $\pm$ 19,7 b	84 $\pm$ 10,39 a
42-MNC11-1031E-15	471 $\pm$ 65,6 a	357 $\pm$ 68,0 b	79 $\pm$ 23,4 b	72 $\pm$ 21,36 a
43-Bico de Ouro 17-21	432 $\pm$ 12,2 b	350 $\pm$ 14,0 b	82 $\pm$ 4,7 a	81 $\pm$ 3,61 a
44-Bico de Ouro 17-33	559 $\pm$ 37,0 a	411 $\pm$ 11,5 a	148 $\pm$ 26,1 a	75 $\pm$ 8,74 a
45-Bico de Ouro 17-20	514 $\pm$ 31,0 a	403 $\pm$ 33,0 a	111 $\pm$ 11,1 a	78 $\pm$ 7,23 a
46-Bico de Ouro 17-24	580 $\pm$ 38,1 a	482 $\pm$ 32,9 a	98 $\pm$ 7,6 a	83 $\pm$ 2,65 a
47-Bico de Ouro 17-38	295 $\pm$ 86,3 b	242 $\pm$ 76,1 b	53 $\pm$ 13,6 b	82 $\pm$ 11,53 a
48-Bico de Ouro 17-48	640 $\pm$ 77,8 a	527 $\pm$ 79,0 a	113 $\pm$ 11,5 a	81 $\pm$ 9,29 a
49-Bico de Ouro 17-53	518 $\pm$ 106,5 a	436 $\pm$ 99,4 a	82 $\pm$ 7,6 a	82 $\pm$ 6,03 a
50-Pingo de Ouro 1-1	564 $\pm$ 47,5 a	419 $\pm$ 45,0 a	145 $\pm$ 6,5 a	74 $\pm$ 5,51 a
51-Pingo de Ouro 1-2	223 $\pm$ 31,3 b	154 $\pm$ 29,1 b	69 $\pm$ 10,1 b	62 $\pm$ 22,72 a
52-Pingo de Ouro 1-54	1185 $\pm$ 114,9 a	1031 $\pm$ 109,6 a	154 $\pm$ 5,5 a	86 $\pm$ 3,06 a
53-Pingo de Ouro 17-18	457 $\pm$ 39,1 a	369 $\pm$ 28,8 b	88 $\pm$ 10,7 a	81 $\pm$ 2,65 a
54-Pingo de Ouro 17-68	471 $\pm$ 16,7 a	381 $\pm$ 7,8 a	90 $\pm$ 9,5 a	81 $\pm$ 4,04 a
55-Pingo de Ouro 17-69	644 $\pm$ 122,9 a	495 $\pm$ 111 a	149 $\pm$ 19,6 a	72 $\pm$ 17,44 a
56-Pingo de Ouro 17-96	422 $\pm$ 15,7 b	335 $\pm$ 11,2 b	87 $\pm$ 19,5 a	80 $\pm$ 11,72 a
57-Canapuzinho 1-2	574 $\pm$ 27,1 a	472 $\pm$ 33,9 a	102 $\pm$ 7,9 a	81 $\pm$ 6,51 a
58-Corujinha	436 $\pm$ 64,3 b	363 $\pm$ 47,8 b	73 $\pm$ 17,5 b	85 $\pm$ 7,23 a
59-Paulistinha	219 $\pm$ 28,5 b	149 $\pm$ 36,8 b	70 $\pm$ 11,5 b	63 $\pm$ 22,03 a
60-Sanzi Zambili	661 $\pm$ 64,5 a	595 $\pm$ 51,1 a	66 $\pm$ 14,5 b	91 $\pm$ 4,51 a
CV (%)	19,08	20,65	23,0	10,17

Agrupamento de médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). Dados originais transformados em $\sqrt{x+0,5}$.

Em relação aos ovos inviáveis também houve separação de dois grupos estatisticamente diferentes (a e b) em que o destaque agora é para o grupo “a” que apresentou maior número de ovos inviáveis (variando de $82 \pm 4,7$ Bico de ouro 17-21 a $161 \pm 1,5$ MNC04-769F-46) que o grupo “b” (Tabela 2). Cabe ressaltar que o genótipo MNC04-769F-46 foi o que apresentou maior média de ovos inviáveis ($161 \pm 1,5$), seguido por Pingo de ouro 1-54 ($154 \pm 5,5$) e BRS Aracê ($152 \pm 12,5$) em relação ao genótipo IT86D-716-1 ($28 \pm 4,9$) (Tabela 2). A maior quantidade de ovos inviáveis apresentada por um genótipo mostra o fracasso no processo de embriogênese para a formação do embrião e da larva, que favorece significativamente a redução do número de insetos emergidos.

Quanto a viabilidade dos ovos para todos os genótipos avaliados, não houve diferença estatística significativa, apenas uma variação ($62 \pm 22,72$ a $94 \pm 1,15$) (Tabela 2) que possivelmente esteja relacionada com as características de cada genótipo, mas que não foram suficientes para distingui-los. Isso permite inferir que, possivelmente não existiram fatores que pudessem impedir a entrada de larvas na parte interna das sementes como fatores morfológicos e/ou físicos presentes no tegumento (Carvalho *et al.*, 2011), bem como, fatores químicos que impedissem a entrada das larvas na parte interna das sementes dos genótipos avaliados.

Como explicado nos primeiros parágrafos, os genótipos do grupo “b” para total de ovos e ovos viáveis se comportaram como mais resistentes, enquanto para ovos inviáveis foram os do grupo “a”. Cabe destacar que o número total de ovos, ovos viáveis e inviáveis são parâmetros indicativos de suscetibilidade ou resistência do tipo antixenose de um genótipo em estudo. Uma vez que, quanto mais o genótipo é ovipositado, há mais chance de obtenção de adultos para reprodução e continuação das gerações. O contrário acontece com os menos ovipositados. Entretanto, genótipos que foram bastante ovipositados não podem ser descartados, pois, segundo Lara (1991) e Barreto e Quinderé (2000) esses genótipos podem apresentar antibiose, e assim, emergirem poucos ou nenhum inseto devido a alimentação inadequada. Outro parâmetro que pode interferir na população dos insetos é a viabilidade dos ovos, quanto menor a viabilidade menor a população de insetos e, por conseguinte, menor a futura geração.

Pesquisa realizada por Barbosa (2015) ao avaliar a resistência de genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* concluiu que BRS Paraguaçu, BR Tracuateua, BRS Cauamé, BR 17 Gurguéia, BRS Tumucumaque, BRS Milênio, BRS Pujante, BRS

Inhuma, Capela, EPACE 10, Paulistinha, Canapuzinho e BRS Rouxinol foram os genótipos menos ovipositados. Nesta pesquisa os resultados se alinharam em parte com os do autor, pois os genótipos BRS 17 Gurguéia e Paulistinha foram os menos ovipositados (grupo b). No entanto BRS Tumucumaque, BRS Inhuma e Canapuzinho estão entre os genótipos mais ovipositados.

Nesta pesquisa o genótipo mais ovipositado foi o Pingo de Ouro 1-54 (1185 ovos). Segundo Lara (1991) a resistência é relativa, portanto, um genótipo que se apresenta mais ovipositado em um trabalho, pode ser menos ovipositado em outro com genótipos diferentes. Mohamed *et al.* (2019) afirmam que a preferência para oviposição depende do tipo de inseto, da variedade do feijão-caupi e do método de infestação. Em pesquisa realizada por Carvalho *et al.* (2011), os genótipos BRS 17 Gurguéia e BRS Guariba apresentaram número de ovos viáveis elevado e ovos inviáveis sem diferença estatística. Entretanto, para a cultivar BRS Novaera, o resultado foi similar ao desta pesquisa, porque o número médio de ovos foi elevado e não houve diferença estatística quanto a viabilidade de ovos entre os genótipos avaliados.

Batista (2021) ao avaliarem a resistência de 10 genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* constatou que não houve diferença estatística significativa quanto ao total de ovos e número de ovos viáveis, bem como Castro (2013), que observou não ter havido diferença estatística entre os genótipos quanto a viabilidade, porém, constatou que o genótipo Sanzi Zambili apresentou a menor média de viabilidade de ovos (56,38%). Este Resultado difere do encontrado nesta pesquisa, pois não houve diferença estatística significativa para viabilidade de ovos. Para Redden e Mcguire (1983), os parâmetros mais importantes para se determinar a resistência de grãos de feijão - caupi a *C. maculatus* são viabilidade dos ovos e período de ovo a adulto, pois uma viabilidade baixa, pode determinar uma menor emergência de insetos.

Medeiros *et al.* (2017) testando a resistência de genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* observaram que IT85F-2687 foi o menos ovipositado em relação aos demais avaliados na primeira e segunda gerações do inseto. Neste estudo, entretanto, esse genótipo foi um dos mais ovipositados. Ainda segundo os autores, não houve diferença estatística quanto a viabilidade dos ovos entre os genótipos BRS Urubuquara, BRS Itaim, Corujinha, IT85F- 2687 e BR 17 Gurguéia, corroborando com essa pesquisa, a qual não encontrou diferença significativa quanto à viabilidade de ovos entre os genótipos avaliados. Segundo Lara (1991) um dos parâmetros que

indica a resistência é o menor número de ovos postos. A menor oviposição de *C. maculatus* sobre sementes de genótipo de feijão-caupi é a expressão da menor aptidão em servir como hospedeiro, impedindo ou reduzindo a colonização, como foi constatado no genótipo MNC11-1013E-16.

Melo *et al.* (2012) ao estudarem a resistência do genótipo BRS Guariba a *C. maculatus* observaram menor número médio de ovos (361), mas alta viabilidade de ovos em teste sem chance de escolha (89,16%), diferindo parcialmente do encontrado nesta pesquisa, quanto a viabilidade, pois não houve diferença entre os genótipos avaliados. Todavia, nem sempre uma alta viabilidade conduzirá a um número expressivo de insetos emergidos, uma vez que podem existir compostos químicos no interior das sementes que interfiram no desenvolvimento do inseto na fase larval, reduzindo expressivamente a emergência de adultos como ocorreu nesta pesquisa com os genótipos IT81D-1045, IT86D-716-1 e IT85F- 2687.

Sousa *et al.* (2016) ao avaliarem a resistência de 25 genótipos a *C. maculatus* constataram que BRS Urubuquara, BRS Potengi, BRS Itaim, Pingo de ouro-1-2 e MNC04-795F-158 apresentaram as menores médias de total de ovos postos pelo referido inseto, reforçando o resultado encontrado por essa pesquisa, diferindo apenas do genótipo MNC04-795F-158, que apresentou elevado número de ovos. Os insetos procuram ovipositar em sementes que possam garantir a alimentação das larvas e seu desenvolvimento, assegurando a futura geração da espécie (Lara, 1991; Ribeiro- Costa; Almeida, 2009). Soares (2012) ao estudar a resistência de feijão-caupi a *C. maculatus*, concluiu que BRS Itaim apresentou baixa oviposição, resultado similar ao desta pesquisa.

Entretanto, para Soares (2012), os Genótipo BR17 Gurguéia e BRS Guariba apresentaram alta oviposição, resultado contrário ao observado na presente pesquisa (Tabela 2). Uma menor oviposição reduz significativamente o número de insetos emergidos, sementes danificadas e menores perdas ao agricultor. Batista (2021) ao avaliar a resistência de genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* em ensaio inicial sem chance de escolha, constatou que não houve diferença estatística significativa para total de ovos e ovos viáveis, somente para ovos inviáveis em que o genótipo BRS 17 Gurguéia se destacou entre os que apresentou maior média, confirmando o resultado encontrado nessa pesquisa. A maior quantidade de ovos inviáveis é de suma importância por levar ao menor número de insetos emergidos, contribuindo na redução de danos. O mesmo autor constatou no segundo ensaio com genótipos

selecionados, no primeiro experimento, que não houve postura sobre as sementes do genótipo IT81D-1045. Diferentemente do resultado encontrado nesta pesquisa, pois esse genótipo IT81D-1045 está entre os mais ovipositados ($597 \pm 16,8$).

Em trabalho realizado por Cruz *et al.* (2015), ao avaliarem a resistência de 10 genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* concluíram que BRS Guariba e BRS Tumucumaque apresentaram, na oviposição, redução de aproximadamente 40% em relação a testemunha cv. fradinho. No presente trabalho, BRS Guariba e BRS Tumucumaque apresentaram redução de oviposição de 71% e 51%, respectivamente, em relação ao genótipo mais ovipositado Pingo de ouro 1-54 (1185) do grupo “a” (Tabela 2).

Em relação ao resultado encontrado para número de insetos emergidos, percentagem de insetos emergidos e período de ovo a adulto dispostos na Tabela 3, pode-se observar diferença estatística significativa para todas essas variáveis. Para número de insetos emergidos, constatou-se a presença de três grupos (a, b e c), em que o grupo “c” se mostrou com menor número variando de $20 \pm 2,9$ IT81D-1045 a $250 \pm 45,7$ MNC04-792F-144. O genótipo IT181D-1045 (grupo c) apresentou menor média ($20 \pm 2,9$), seguido por IT86D-716-1 ($96 \pm 4,6$) e MNC11-1013E-16 ($99 \pm 18,7$), Paulistinha ($115 \pm 27,7$) e Pingo de ouro 1-2 ($119 \pm 21,1$) com valores médios menores que 120, diferenciando-se expressivamente do genótipo Pingo de ouro 1-54 do grupo “a” ($677 \pm 55,2$), que se mostrou susceptível a *C. maculatus*, pois apresentou elevado número médio de total de ovos, ovos viáveis e de insetos emergidos, indicando ter proporcionado condições favoráveis para o crescimento e desenvolvimento do inseto a partir de uma nutrição adequada.

Quanto ao percentual de insetos adultos emergidos, obteve-se quatro grupos (‘a’, ‘b’, ‘c’, ‘d’ e ‘e’) o grupo “e” foi quem se destacou com menor percentual de adultos emergidos representado pelo genótipo IT81 D- 1045 (4%), seguido por IT85F- 2687 (22%) e IT86D-716-1(27%) do grupo “d”, respectivamente, MNC11-1031E-15 (47%) e Monteiro (49%),MNC05-828B-3-15 (53%) do grupo “c” e MNC11-1020E-16 (59%) do grupo “b”. Todos com percentuais abaixo de 60% diferentemente do genótipo BRS Guariba (94%) (Tabela 3)

Tabela 3. Média ($\pm$ DP) de adultos, percentagem de insetos emergidos e período de ovo a adulto de *C. maculatus* em sementes de feijão- caupi.

Genótipos	Adultos emergidos	Insetos emergidos (%)	Período de ovo a adulto(dias)
1-BR 17 Gurguéia	227 $\pm$ 15,4 c	87 $\pm$ 3,46 a	32 $\pm$ 1,00 d
2-BRS Aracê	467 $\pm$ 17,2 a	74 $\pm$ 9,85 b	31 $\pm$ 0,00 d
3-BRS Cauamé	487 $\pm$ 5,5 a	84 $\pm$ 4,58 a	34 $\pm$ 2,31 c
4-BRS Exuberante	437 $\pm$ 41,7 a	72 $\pm$ 9,02 b	38 $\pm$ 8,54 c
5-BRS Guariba	262 $\pm$ 33,3 b	94 $\pm$ 5,51 a	29 $\pm$ 1,53 d
6-BRS Inhuma	411 $\pm$ 42,5 a	87 $\pm$ 4,00 a	41 $\pm$ 2,65 b
7-BRS Itaim	148 $\pm$ 17,5 c	66 $\pm$ 10,79 b	27 $\pm$ 0,58 d
8-MNC06-907E-30	370 $\pm$ 69,8 b	64 $\pm$ 8,08 b	33 $\pm$ 1,73 d
9-BRS Novaera	238 $\pm$ 21,8 c	60 $\pm$ 11,55 b	30 $\pm$ 1,53 d
10-BRS Olhonegro	268 $\pm$ 13,5 b	64 $\pm$ 10,60 b	32 $\pm$ 3,06 d
11-BRS Pajeú	411 $\pm$ 48,6 a	83 $\pm$ 5,03 a	37 $\pm$ 5,57 c
12-BRS Potengi	189 $\pm$ 20,0 c	90 $\pm$ 4,93 a	32 $\pm$ 1,53 d
13-BRSTumucumaque	414 $\pm$ 69,5 a	85 $\pm$ 4,58 a	35 $\pm$ 6,66 c
14-BRS Urubuquara	161 $\pm$ 17,2 c	84 $\pm$ 2,89 a	33 $\pm$ 2,08 d
15-BRS Verdejante	314 $\pm$ 60,7 b	91 $\pm$ 9,00 a	32 $\pm$ 2,08 d
16-BRS Xiquexique	371 $\pm$ 58,5 b	80 $\pm$ 2,00 a	34 $\pm$ 3,51 c
17-Monteiro	220 $\pm$ 13,1 c	49 $\pm$ 3,51 c	36 $\pm$ 2,31 c
18-IT85F-2687	154 $\pm$ 17,8 c	22 $\pm$ 5,51 d	37 $\pm$ 3,79 c
19-IT86D-716-1	96 $\pm$ 4,6 c	27 $\pm$ 15,82 d	24 $\pm$ 2,08 d
20-IT81D-1045	20 $\pm$ 2,9 c	4 $\pm$ 2,31 e	48 $\pm$ 5,57 a
21-TVU 36	529 $\pm$ 104,1 a	79 $\pm$ 5,03 a	38 $\pm$ 4,51 c
22-TVU 1593	272 $\pm$ 33,1 b	86 $\pm$ 4,51 a	29 $\pm$ 0,00 d
23-MNC99-509-G-4	296 $\pm$ 25,9 b	77 $\pm$ 4,93 a	35 $\pm$ 3,61 c
24-MNC11-1020E-16	180 $\pm$ 35,3 c	59 $\pm$ 43,59 b	36 $\pm$ 1,00 c
25-MNC99-510F-8	423 $\pm$ 55,7 a	74 $\pm$ 11,50 b	41 $\pm$ 2,65 b
26-MNC99-541F	201 $\pm$ 2,0 c	88 $\pm$ 0,00 a	32 $\pm$ 1,00 d
27-MNC99-541F-21	464 $\pm$ 35,2 a	88 $\pm$ 8,33 a	33 $\pm$ 1,53 d
28-MNC11-1031E-5	191 $\pm$ 34,9 c	82 $\pm$ 5,51 a	31 $\pm$ 1,00 d
29-MNC04-768F-21	354 $\pm$ 42,7 b	63 $\pm$ 41,31 b	35 $\pm$ 3,51 c
30-MNC04-769F-46	539 $\pm$ 24,2 a	74 $\pm$ 5,03 b	40 $\pm$ 1,53 b
31-MNC04-769F-55	485 $\pm$ 19,3 a	77 $\pm$ 1,15 a	35 $\pm$ 8,08 c
32-MNC04-792F-144	250 $\pm$ 45,7 c	61 $\pm$ 22,37 b	29 $\pm$ 3,06 d
33-MNC04-795F-148	194 $\pm$ 10,0 c	87 $\pm$ 6,11 a	30 $\pm$ 0,00 d
34-MNC04-795F-158	309 $\pm$ 6,9 b	79 $\pm$ 5,20 a	34 $\pm$ 4,36 d
35-MNC05-828B-3-15	390 $\pm$ 36,0 b	53 $\pm$ 1,00 c	35 $\pm$ 3,21 c
36-MNC05-841B-49	294 $\pm$ 45,5 b	87 $\pm$ 5,69 a	29 $\pm$ 0,58 d
37-MNC09-981B-2	514 $\pm$ 79,0 a	80 $\pm$ 7,02 a	35 $\pm$ 7,94 c
38-MNC11-1013E-16	99 $\pm$ 18,7 c	85 $\pm$ 4,73 a	29 $\pm$ 2,00 d
39-MNC11-1019E-B	257 $\pm$ 16,7 b	84 $\pm$ 3,21 a	30 $\pm$ 1,00 d
40-MNC11-1024E-1	300 $\pm$ 52,9 b	86 $\pm$ 5,13 a	33 $\pm$ 4,36 d
41-MNC11-1031E-11	226 $\pm$ 19,1 c	90 $\pm$ 6,24 a	32 $\pm$ 3,06 d
42-MNC11-1031E-15	159 $\pm$ 43,0 c	47 $\pm$ 32,35 c	29 $\pm$ 2,89 d
43-Bico de Ouro 17-21	295 $\pm$ 8,7 b	84 $\pm$ 5,51 a	32 $\pm$ 2,65 d
44-Bico de Ouro 17-33	357 $\pm$ 10,4 b	87 $\pm$ 1,53 a	38 $\pm$ 2,08 c
45-Bico de Ouro 17-20	301 $\pm$ 25,8 b	75 $\pm$ 4,93 b	32 $\pm$ 1,15 d
46-Bico de Ouro 17-24	383 $\pm$ 28,1 b	79 $\pm$ 3,79 a	36 $\pm$ 7,37 c
47-Bico de Ouro 17-38	198 $\pm$ 60,1 c	84 $\pm$ 3,21 a	32 $\pm$ 3,61 d
48-Bico de Ouro 17-48	410 $\pm$ 48,1 a	80 $\pm$ 9,85 a	38 $\pm$ 4,93 c
49-Bico de Ouro 17-53	338 $\pm$ 65,1 b	81 $\pm$ 9,07 a	34 $\pm$ 1,73 d
50-Pingo de Ouro 1-1	376 $\pm$ 53,3 b	88 $\pm$ 8,89 a	37 $\pm$ 3,79 c
51-Pingo de Ouro 1-2	119 $\pm$ 21,1 c	78 $\pm$ 3,06 a	32 $\pm$ 1,53 d
52-Pingo de Ouro 1-54	677 $\pm$ 55,2 a	67 $\pm$ 10,97 b	39 $\pm$ 3,21 c
53-Pingo de Ouro 17-18	294 $\pm$ 24,2 b	79 $\pm$ 1,15 a	37 $\pm$ 4,58 c
54-Pingo de Ouro 17-68	328 $\pm$ 9,7 b	86 $\pm$ 5,51 a	36 $\pm$ 1,73 c
55-Pingo de Ouro 17-69	405 $\pm$ 96,1 b	80 $\pm$ 4,36 a	37 $\pm$ 3,61 c
56-Pingo de Ouro 17-96	268 $\pm$ 22,4 b	79 $\pm$ 12,66 a	33 $\pm$ 1,53 d
57-Canapuzinho 1-2	358 $\pm$ 30,1 b	76 $\pm$ 3,06 a	36 $\pm$ 3,46 c
58-Corujinha	279 $\pm$ 30,5 b	78 $\pm$ 4,62 a	35 $\pm$ 4,58 c
59-Paulistinha	115 $\pm$ 27,7 c	83 $\pm$ 12,06 a	32 $\pm$ 0,58 d
60-Sanzi Zambili	502 $\pm$ 48,0 a	84 $\pm$ 5,57 a	38 $\pm$ 6,08 c
CV (%)	19,65	9,53	10,53

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Skott Knott ao nível de 5% de probabilidade. Os dados de insetos emergidos, percentagem de insetos emergidos e período de ovo a adulto foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$.

Essas percentagens correspondem a reduções significativas de 96%, 78%, 73%, 53%, 51%, 47% e 41%, respectivamente na descendência de *C. maculatus*. Esse resultado pode estar associado a presença de substâncias químicas na parte interna das sementes que afetaram negativamente o desenvolvimento das larvas do inseto *C. maculatus*. A maioria desses genótipos apresentou média alta de total de ovos e ovos viáveis.

Para Visotto *et al.* (2015) os efeitos antibióticos de uma planta variam de mediano a letais relacionados com fatores de defesa químicos. Os efeitos letais em decorrência da antibiose podem ser agudos, condições que afetam ovos e larvas jovens e crônicos, quando levam à mortalidade de larvas mais velhas e pré - pupas que falham em se tornar pupas e pupas que não se transformam em adultos.

Segundo Nyarko *et al.* (2022) avaliando a resistência de feijão – caupi a *C. maculatus*, observou que a menor percentagem de adultos emergidos foi encontrado no genótipo Bengpla (67,1%) e a maior no genótipo UC96-445 (93,78%), bem como, o menor número médio de insetos emergidos foi apresentado pelo genótipo Adom ($114,33 \pm 17,1$) e maior pelo UC96-513 ($278 \pm 6,08$). Nessa pesquisa, o genótipo IT81D-1045 apresentou a menor média de emergência de insetos (20 insetos) e o menor percentual de insetos emergidos (4%) diferente do genótipo Pingo de ouro e BRS Guariba que apresentaram maior média de insetos emergidos (677) e o maior percentual de emergência (94%), respectivamente. A baixa emergência de insetos adultos é um dos fatores de suma importância para se dizer que um genótipo apresenta resistência do tipo antibiose quando avaliado com outros nas mesmas condições, pois foram menos adequados para o crescimento e desenvolvimento de larvas devido a efeitos antinutricionais.

Para Lara (1991) e Visotto *et al.* (2015) uma planta resistente, do tipo antibiose, causa mortalidade das formas jovens, redução no tamanho, redução no peso, redução na fecundidade, alteração na proporção sexual e alteração no tempo de vida. Marsaro Junior e Vilarinho (2011) afirmam que a resistência de um genótipo é caracterizada pela baixa emergência de insetos e longo período de desenvolvimento.

No tocante ao período de ovo a adulto, constatou-se a presença de quatro grupos (a, b, c e d) com destaque para o grupo “a” representado pelo genótipo IT81D-1045 com maior período médio de desenvolvimento ($48 \pm 5,57$ dias), seguido pelos genótipos MNC99-510F-8 ($41 \pm 2,65$), BRS Inhumá ($41 \pm 2,65$) e MNC04-769F-46 ($40 \pm 1,53$) pertencentes ao grupo “b”, diferentemente do genótipo IT86D-716-1 com

menor período ($24 \pm 2,08$) (Tabela 3). Todavia, esse genótipo apresentou baixa média de insetos emergidos (96) e baixo percentual de insetos emergidos (27%) possivelmente indicando existir algum fator de resistência na parte interna da semente.

Pelos resultados apresentados percebe-se que o genótipo IT81D-1045 prolongou em 24 dias o ciclo de desenvolvimento de *C. maculatus* em relação ao genótipo IT86D-716-1, ressaltando a expressiva resistência do tipo antibiose a *C. maculatus*. A variável período de ovo a adulto constitui importante parâmetro para se avaliar a resistência de genótipos à praga, pois quanto maior for o ciclo maior será o indício de resistência do genótipo por afetar os parâmetros biológicos do inseto (Marsaro Junior; Vilarinho, 2011). Para Sousa *et al.* (2016), uma planta portadora de resistência afeta o desenvolvimento da praga e interfere em populações naturais ao reduzi-la devido ao maior tempo médio de cada geração.

Em estudo similar realizado por Soares (2012) constatou-se baixa emergência de adultos de *C. maculatus* nos genótipos BR 17 Gurguéia e BRS Itaim, corroborando com essa pesquisa, enquanto BRS Guariba nesta pesquisa apresentou baixa resistência. Batista (2021) ao avaliar a resistência de feijão-caupi a *C. maculatus*, observou que em teste sem chance de escolha, o genótipo IT81D-1045 apresentou baixa emergência de insetos (51,0), bem como, baixa percentagem (17,1%) e baixa massa seca consumida (0,45g), resultado confirmado nessa pesquisa. A resistência de genótipos a *C. maculatus* está relacionada às vicilinas variantes (globulinas de armazenamento 7S) de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) (Uchôa *et al.*, 2006), que são consideradas como o principal fator de resistência presente em alguns genótipos africanos, capazes de interferir no desenvolvimento de bruquídeos (Macedo *et al.*, 1993).

Sales *et al.* (2001) ao realizarem pesquisa para determinar a presença de quitina no intestino médio de larvas de *C. maculatus* constataram que a ligação de vicilinas com a quitina do intestino médio de larvas de *C. maculatus* alimentadas com genótipo resistente (IT81 D-1045 e susceptível (CE 31) de feijão-caupi, obedeciam a um padrão de ligação, pois, a vicilina do genótipo resistente se ligou à quitina do intestino médio do inseto mais fortemente que do genótipo susceptível. Para os autores, a alta ligação levou a baixa hidrólise de vicilina de genótipo resistente, ocasionando efeitos prejudiciais no tamanho e crescimento aos 18 dias de idade de

larvas de *C. maculatus*, vez que as larvas de sementes resistentes apresentaram 1mm e 0,9 mg, enquanto as larvas de sementes susceptíveis 3mm e 9,0mg.

Conforme Medeiros *et al.* (2017), o genótipo IT85F-2687 apresentou os menores números de insetos emergidos na primeira geração, o que corrobora com esta pesquisa, pois, este genótipo embora tenha apresentado elevado número de ovos postos (759), alto número de ovos viáveis (712), apresentou baixo número de insetos emergidos (154) e percentagem de insetos emergidos (22%), ressaltando a ocorrência de resistência do tipo antibiose, provavelmente por existir na parte interna da semente, algum fator toxico que tenha afetado negativamente o desenvolvimento larval e reduzido a emergência de adultos.

No entanto, ainda de acordo com Medeiros *et al.* (2017), o genótipo BRS Itaim tanto na primeira geração quanto na segunda, apresentou elevada emergência de insetos (F1= 96 e F2=106), diferindo do resultado encontrado nesse estudo. Todavia, o resultado dessa pesquisa (Tabela 3) está coerente com o resultado encontrado por Castro (2013), a qual constatou que IT81D-1045 e IT85F-2687 se destacaram dentre os demais genótipos de feijão-caupi por apresentarem baixo número de insetos emergidos. Assim como nessa pesquisa em que esses genótipos apresentaram baixa emergência de insetos 20 e 154, respectivamente. Esse fato, evidencia resistência do tipo antibiose, porquanto o genótipo IT81D-1045 é originário do TVU 2027 do Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA), que foi caracterizado como resistente a *C. maculatus* (DICK & CREDLAND,1986). Essa informação reforça o entendimento sobre a origem da resistência do tipo antibiose apresentada pelo genótipo IT81D-1045 em relação a *C. maculatus* nessa pesquisa.

Segundo Baldin, Vendramin, Lourenção (2019); Visotto, (2015) a resistência é hereditária, ou melhor, os descendentes de um genótipo resistente devem se comportar da mesma maneira quando testados nas mesmas condições em que a resistência se revelou. Carvalho *et al.* (2011) ao testarem a resistência de nove genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus*, constataram que BRS Novaera foi um dos genótipos a apresentar maior média de insetos emergidos, resultado distinto do encontrado nessa pesquisa. Para Costa e Boiça Junior (2004) um dos parâmetros de suma importância para avaliar a resistências de feijão-caupi ao caruncho é a variável percentagem de insetos emergidos, visto que quanto menor o percentual de insetos emergidos, menos danificados serão os grãos no que diz respeito ao consumo de massa interna, peso e aberturas de galerias, beneficiando na armazenagem.

O resultado desta pesquisa está alinhado com Medeiros *et al.* (2017) que avaliaram o efeito de genótipos de feijão-caupi sobre o comportamento e desenvolvimento de *C. maculatus* em duas gerações consecutivas. Os autores concluíram que tanto na geração F1 como F2, o genótipo IT85F-2687(42 adultos e 52 adultos, respectivamente) e BR 17 Gurguéia (47adultos e 42 adultos, respectivamente) apresentaram as menores médias de insetos emergidos. No entanto, o genótipo BRS Itaim tanto em F1 como na F2 apresentou elevada média de insetos emergidos (96 e106 adultos, respectivamente) diferindo do resultado encontrado nesta pesquisa, pois apresentou média de insetos emergidos baixa (148) estando dentro do grupo “c”.

. Para Kosini *et al.* (2018) a emergência de adultos está relacionada com o número de ovos postos, o número de ovos inviáveis e a taxa de larvas que sobreviverão até a fase adulta. Segundo Ofuya e Credilan (1995) a baixa percentagem de emergência de insetos de *C. maculatus* contribui significativamente para redução do número de descendentes de gerações subsequentes. Para De Sá *et al.* (2014), quando as fêmeas de *C. maculatus* põem ovos em sementes não hospedeiras, a maioria das larvas são levadas à morte, interferindo no número de adultos emergidos.

Segundo Lara (1991) na resistência do tipo antibiose, o inseto se alimenta da planta, mas ela afeta negativamente sua biologia. Para Macedo *et al.* (1993) a resistência de alguns tipos de feijão *Vigna unguiculata* ao caruncho *C. maculatus* é atribuída a presença de vicilinas variantes que causam retardamento no desenvolvimento do inseto, por seu efeito tóxico que envolve a ligação dessa proteína ao intestino médio da larva (Oliveira *et al.*, 2014), levando à incapacidade desses insetos se desenvolverem nas sementes (Ibrahim, 2022).

Barbosa (2015) observou maior período médio de desenvolvimento de *C. maculatus* na cultivar Epace 10 (30,83 dias), já na presente pesquisa foi em IT81D-1045 (48 dias). Pesquisa realizada por Lima *et al.* (2001) ao investigarem fontes de resistência em genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus*, constataram que a maior duração média foi observada em IT89KD-245 (30,5 dias) e a menor em TE90-180-3E (29,4 dias), correspondendo a apenas 1,1 dia de diferença. Nessa pesquisa entre a menor 24 dias (IT86D- 716-1) e a maior de 48 dias (IT81D-1045) foi encontrada uma amplitude de 24 dias, que está alinhado com a encontrada por Sales *et al.* (2005), que ao avaliarem o desempenho de bruquideos *C. maculatus* e *Zabrotes subfasciatus* criados em sementes de *Vigna unguiculata* resistentes (IT81D-1045) e (Epace 10)

susceptível, observaram que a menor duração média de desenvolvimento foi 28 dias (Epace10) e maior duração média 46 dias (IT81D-1045) correspondendo a uma amplitude de 18 dias.

Kosini *et al.* (2018) avaliando a resistência de genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* em duas regiões da África observaram que o genótipo Samira (15 ± 2 e 1 ± 0) e Lade (34 ± 3 e 4 ± 1) apresentaram menores médias de insetos emergidos e o período médio de desenvolvimento variou de 41 a 61,80 dias (20 dias de amplitude) e 26 a 54 dias (28 dias de amplitude), respectivamente. Amplitude próxima foi encontrada nessa pesquisa de 24 dias entre o maior e o menor período de desenvolvimento do inseto.

Os genótipos de feijão-caupi com menores números de insetos adultos emergidos podem conter fatores, que são atributos físicos ou bioquímicos que modificam as respostas ou afetam a sobrevivência de insetos pragas por meio de aberrações metabólicas. Para Kosini *et al.* (2018), a diferença de insetos emergidos entre os genótipos de feijão-caupi se dá pelas suas características genéticas ou bioquímicas, visto que essa afirmação é apoiada nas análises qualitativas e quantitativas de metabólitos primários como proteínas totais e, polissacarídeos, bem como, metabólitos secundários como as saponinas presentes nos genótipos avaliados, que conferiram a eles resistência do tipo antibiose a *C. maculatus*. O consumo de saponinas por insetos, pode resultar na diminuição da palatabilidade dos alimentos.

Os dados de médias de massa consumida(g) e de saída de larvas de *C. maculatus* de sementes de genótipos de feijão-caupi estão dispostas na Tabela 4. Quanto ao consumo médio de massa(g) de sementes, pode-se observar a existência de dois grupos distintos estatisticamente (a e b), em que os genótipos do grupo “b” apresentaram as menores médias. Todavia, o genótipo IT81D-1045 se destacou com a menor média de consumo (0,68) seguido pelo genótipo MNC99-541F-15 (1,13), que apresentaram valores médios inferiores a 1,15g evidenciando a presença de resistência do tipo antibiose, pela redução de consumo pelas larvas na parte interna das sementes, possivelmente, pela presença de substância antinutricionais que afetaram a continuidade da alimentação.

Quanto à média de saída de larvas de *C. maculatus* por genótipo, o genótipo IT85F-2687 se destacou com maior média (169), seguido por IT86D-716-1 (102) e MNC05-828B-3-15 (102), em relação ao genótipo MNC11-1031E- 5 (0,3), tabela 4.

Tabela 4. Médias ($\pm$ DP) de massa consumida e de saída de larvas de *C. maculatus* de sementes de genótipos de feijão- caupi.

Genótipos	Massa consumida (g)	Saída de Larvas
1-BR 17 Gurgueia	1,50 $\pm$ 0,24 b	3,0 $\pm$ 5,2 f
2-BRS Aracê	4,18 $\pm$ 0,19 a	16,0 $\pm$ 14,8 d
3-BRS Cauamê	2,29 $\pm$ 0,29 b	0,0 $\pm$ 0,0 f
4-BRS Exuberante	2,85 $\pm$ 0,38 a	28,0 $\pm$ 20,6 c
5-BRS Guariba	2,15 $\pm$ 0,64 b	0,0 $\pm$ 0,0 f
6-BRS Inhuma	3,42 $\pm$ 0,35 a	18,0 $\pm$ 8,7 d
7-BRS Itaim	2,08 $\pm$ 0,20 b	19,0 $\pm$ 16,0 d
8-MNC06-907E-30	3,61 $\pm$ 0,69 a	75,0 $\pm$ 63,4 b
9-BRS Novaera	3,04 $\pm$ 0,78 a	42,0 $\pm$ 43,2 c
10-BRS Olhonegro	3,00 $\pm$ 0,31 a	36,0 $\pm$ 47,1 d
11-BRS Pajeú	3,04 $\pm$ 1,24 a	28,0 $\pm$ 15,7 c
12-BRS Potengi	1,41 $\pm$ 0,54 b	0,0 $\pm$ 0,0 f
13-BRSTumucumaque	2,99 $\pm$ 0,57 a	0,0 $\pm$ 0,0 f
14-BRS Urubuquara	1,75 $\pm$ 0,60 b	4,0 $\pm$ 6,4 f
15-BRS Verdejante	2,46 $\pm$ 0,77 a	0,0 $\pm$ 0,0 f
16-BRS Xiquexique	1,64 $\pm$ 0,26 b	1,0 $\pm$ 1,0 f
17-Monteiro	2,32 $\pm$ 0,45 b	77,0 $\pm$ 14,5 b
18-IT85F-2687	2,44 $\pm$ 0,73 a	169,0 $\pm$ 50,5 a
19-IT86D-716-1	1,67 $\pm$ 0,98 b	102,0 $\pm$ 78,2 b
20-IT81D-1045	0,68 $\pm$ 0,66 b	0,0 $\pm$ 0,0 f
21-TVU 36	3,42 $\pm$ 1,14 a	32,0 $\pm$ 37,4 d
22-TVU 1593	3,12 $\pm$ 0,86 a	0,0 $\pm$ 0,0 f
23-MNC99-509-G-4	2,64 $\pm$ 0,88 a	23,0 $\pm$ 14,2 d
24-MNC11-1020E-16	2,80 $\pm$ 1,08 a	52,0 $\pm$ 89,8 d
25-MNC99-510F-8	2,29 $\pm$ 0,67 b	14,0 $\pm$ 5,5 d
26-MNC99-541F	1,13 $\pm$ 0,25 b	0,0 $\pm$ 0,0 f
27-MNC99-541F-21	4,19 $\pm$ 0,69 a	11,0 $\pm$ 16,8 e
28-MNC11-1031E-5	1,68 $\pm$ 0,74 b	0,3 $\pm$ 0,0 f
29-MNC04-768F-21	3,08 $\pm$ 0,86 a	16,0 $\pm$ 14,4 d
30-MNC04-769F-46	3,65 $\pm$ 0,70 a	44,0 $\pm$ 4,0 c
31-MNC04-769F-55	4,14 $\pm$ 1,00 a	21,0 $\pm$ 18,5 c
32-MNC04792F-144	2,68 $\pm$ 1,43 a	57,0 $\pm$ 98,1 d
33-MNC04-795F-148	1,43 $\pm$ 0,52 b	0,0 $\pm$ 0,0 f
34-MNC04-795F-158	2,28 $\pm$ 1,65 b	17,0 $\pm$ 18,6 d
35-MNC05-828B-3-15	3,65 $\pm$ 0,88 a	102,0 $\pm$ 41,8 b
36-MNC05-841B-49	2,70 $\pm$ 0,55 a	0,0 $\pm$ 0,0 f
37-MNC09-981B-2	2,74 $\pm$ 1,18 a	12,0 $\pm$ 20,2 f
38-MNC11-1013E-16	1,87 $\pm$ 0,97 b	0,0 $\pm$ 0,0 f
39-MNC11-1019E-B	2,47 $\pm$ 0,59 a	0,0 $\pm$ 0,0 f
40-MNC11-1024E-1	2,04 $\pm$ 1,24 b	10,0 $\pm$ 11,7 e
41-MNC11-1031E-11	2,18 $\pm$ 0,78 b	6,0 $\pm$ 8,5 e
42-MNC11-1031E-15	1,70 $\pm$ 0,80 b	15,0 $\pm$ 13,2 d
43-Bico de Ouro 17-21	2,86 $\pm$ 0,63 a	2,0 $\pm$ 3,5 f
44-Bico de Ouro 17-33	2,48 $\pm$ 0,61 a	13,0 $\pm$ 5,1 d
45-Bico de Ouro 17-20	2,30 $\pm$ 0,82 b	0,0 $\pm$ 0,0 f
46-Bico de Ouro 17-24	2,97 $\pm$ 0,93 a	15,0 $\pm$ 13,1 d
47-Bico de Ouro 17-38	2,06 $\pm$ 1,01 b	13,0 $\pm$ 16,8 d
48-Bico de Ouro 17-48	3,07 $\pm$ 0,78 a	30,0 $\pm$ 18,9 c
49-Bico de Ouro 17-53	2,68 $\pm$ 1,00 a	4,0 $\pm$ 7,5 f
50-Pingo de Ouro 1-1	3,04 $\pm$ 1,24 a	10,0 $\pm$ 7,8 e
51-Pingo de Ouro 1-2	1,41 $\pm$ 0,95 b	0,0 $\pm$ 0,0 f
52-Pingo de Ouro 1-54	4,11 $\pm$ 1,28 a	52,0 $\pm$ 54,7 c
53-Pingo de Ouro 17-18	1,98 $\pm$ 0,62 b	10,0 $\pm$ 9,1 d
54-Pingo de Ouro 17-68	2,63 $\pm$ 0,96 a	18,0 $\pm$ 7,0 d
55-Pingo de Ouro 17-69	2,59 $\pm$ 0,85 a	21,0 $\pm$ 18,2 d
56-Pingo de Ouro 17-96	2,94 $\pm$ 1,99 a	2,0 $\pm$ 4,0 f
57-Canapuzinho 1-2	3,00 $\pm$ 0,37 a	22,0 $\pm$ 19,1 c
58-Corujinha	2,51 $\pm$ 0,41 a	21,0 $\pm$ 22,6 c
59-Paulistinha	1,78 $\pm$ 1,00 b	0,0 $\pm$ 0,0 f
60-Sanzi Zambili	3,01 $\pm$ 0,93 a	20,0 $\pm$ 20,6 c
CV (%)	14,52	26,0

Média seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott- Knott. Os dados de consumo de massa foram transformados em $\sqrt{x} + 0,05$ e dados de larvas caídas foram transformados em $\sqrt{x} + 1,0$.

Os genótipos IT81D- 1045 e MNC99-541F-15 diferiram dos genótipos MNC99-541F-21(4,19g) e BRS Aracê (4,18g) que apresentaram as maiores médias de consumo de massa pelas larvas de *C. maculatus*, mostrando que não houve nenhum fator impeditivo para a alimentação das larvas de *C. maculatus*, podendo ser considerada uma característica de susceptibilidade desses genótipos ao inseto. Percebe-se, portanto, que quanto maior o número de ovos viáveis e de insetos emergidos, maior será o consumo da massa interna da semente, mostrando ser um alimento bastante nutritivo que contribui para o desenvolvimento da praga na fase larval como constatado nesses genótipos acima com alto consumo.

Nyarko *et al*, (2022) avaliando a resposta de quinze genótipos de feijão - caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp.) à infestação de *C. maculatus*, encontraram menor perda de peso no genótipo Adom (1,92g) e a maior no genótipo UC96-241 (2,02g). Nesta pesquisa, os genótipos de feijão-caupi que apresentaram menor e maior consumo de massa em grama por larvas de *C. maculatus* foram IT81D-1045 e MNC99-541F-21 com 0,68 e 4,19g, respectivamente.

Nesse sentido, as variáveis de consumo de massa seca de sementes por insetos ou por inseto, são importantes parâmetros, para se identificar uma possível não preferência alimentar entre os genótipos, pela existência de substâncias que afetem a alimentação (Carvalho *et al.*, 2011) visto que a eficiência em transformar alimento em biomassa pode ser prejudicada pela ação de substâncias inibidoras, as quais se acoplam às enzimas digestivas do inseto, impedindo a proteólise e agindo de forma tóxica ao organismo e interferindo no consumo em que o nível de antibiose pode ser tão elevado que acarreta um longo período de inanição no inseto, culminando com sua morte (Baldin; Vendramim; Lourenção, 2019). O maior consumo de massa interna dos grãos está relacionado com o bom desenvolvimento das larvas de insetos de *C. maculatus* na sua parte interna e com o número de insetos adultos emergidos.

Os achados desta pesquisa confirmam os resultados encontrados por Castro (2013), a qual relatou que o genótipo IT81D-1045 e BRS Urubuquara foram os menos consumidos em relação aos demais genótipos avaliados. No entanto diferem quanto ao resultado encontrado para o genótipo IT85F-2687 que em Castro (2013) foi um dos menos consumidos, no entanto, nesta pesquisa, foi caracterizado como um dos mais consumidos. Isso pode ser explicado, porque esse genótipo IT85F-2687 foi um dos que apresentou maior número médio de saída precoce de larvas (169), mesmo tendo apresentado média alta de ovos viáveis, no entanto, afetou significativamente a

emergência de insetos adultos. Talvez pela presença de substância tóxicas que impediram o desenvolvimento larval (Tabela 4).

Desta forma, entender os efeitos de um genótipo em relação ao inseto, a partir de variáveis como total de ovos viáveis, número de insetos emergidos, percentual de insetos emergidos, período de ovo a adulto e massa consumida considera-se de grande importância para identificação de genótipos com resistência que podem ser utilizados não só no manejo integrado de pragas (MIP), mas também no programa de melhoramento genético vegetal ou por meio da biotecnologia.

Barbosa (2015) avaliando a resistência de genótipos de feijão - caupi a *C. maculatus* observou que as cultivares BRS Tumucumaque, BRS Inhuma apresentaram as menores perdas de massa dos grãos. No presente trabalho, esses genótipos estão entre os mais consumidos (grupo “a”). Segundo Miranda, Toscano e Fernandes (2002), a resistência de genótipos está relacionada com a perda de massa de grãos consumidos pelas larvas de *C. maculatus* durante o seu desenvolvimento. O resultado obtido nesta pesquisa quanto ao consumo de massa confirma as observações feitas por Batista (2021), o qual constatou que o genótipo IT81D-1045 apresentou menor massa consumida em relação aos demais avaliados. Para Lara (1991) o efeito adverso que uma planta pode ocasionar ao inseto pode estar relacionada com metabolitos tóxicos, que atuam produzindo intoxicação crônica ou aguda, reduzindo a atividade das enzimas que atuam no processo alimentar inibindo ou reduzindo o andamento normal da digestão.

Costa e Boiça Junior (2004) observaram menores consumos de massa seca nos genótipos TE 87 108 (0,39046g) TE 90 170 29F(0,4337g), CNCX 405 17F(0,6405g), CNCX 409 12F(1,0937g), TE 92 199 20F(1,1030g) e Linhagem avançada (1,3733g) sugerindo haver resistência do tipo antibiose.

É notório destacar que aos vinte dias da infestação inicial, pode-se observar a caída de larvas de sementes dos genótipos de feijão-caupi e todas elas morreram antes de alcançarem o estágio adulto. A saída precoce de larvas da parte interna das sementes se traduz em forma distinta de mortalidade, que não é comum (Figura 4).

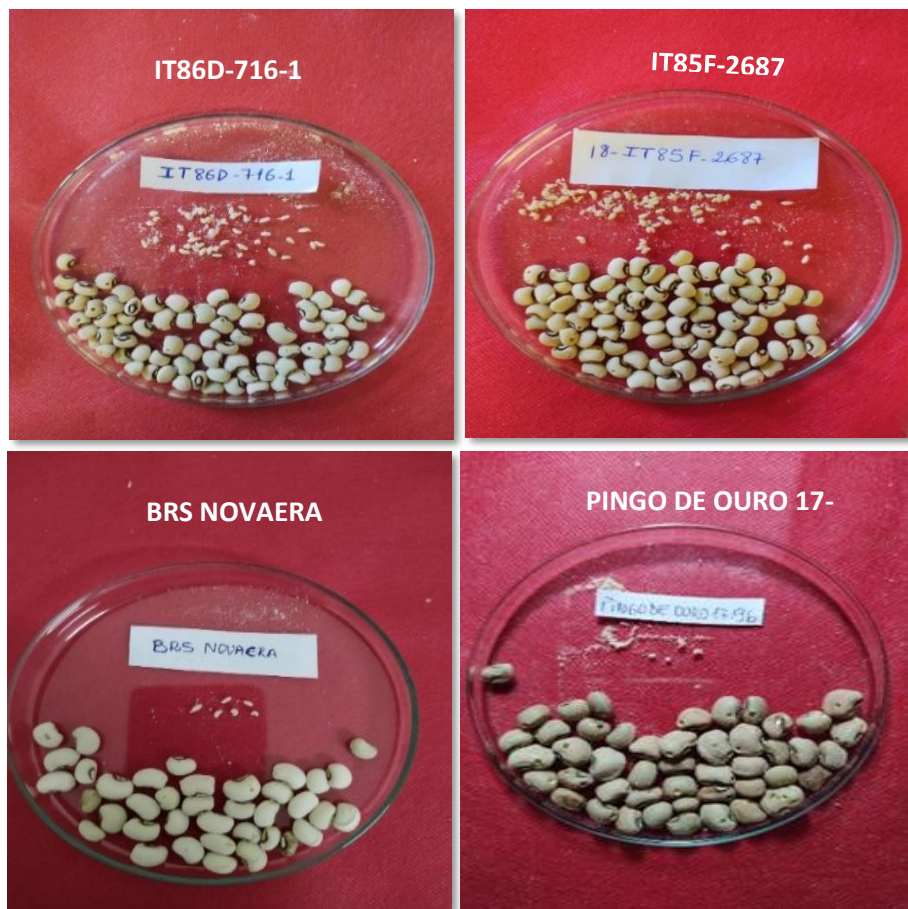


Figura 4. Larvas de *Callosobruchus maculatus* que saíram da parte interna de sementes de genótipos de feijão-caupi (A)- IT86D-716-1., (B)- IT85F-2687, (C)- BRS Novaera, (D)- Pingo de Ouro 17-96.

A saída precoce de larvas ocorreu na maioria dos genótipos (78%) avaliados. O genótipo IT85F-2687 embora tenha apresentado maior média de saída de larvas (169), reduziu a emergência de insetos (154), mesmo apresentando elevada média de total de ovos ($759 \pm 52,1$), elevada média de ovos viáveis ($712 \pm 52,4$) e viabilidade alta (94%). Verificou-se que IT86D-716-1 (102,0) e MNC05-828B-3-15 (102,0) apresentaram valores de média de larvas, que saíram da parte interna das sementes, acima de 100, quando comparado aos demais genótipos estudados, mas não apresentaram sobrevivência de insetos alta, como ocorreu com o genótipo IT85F-2687. O resultado apresentado por esses genótipos pode ser justificado, possivelmente, pela presença de fatores tóxicos na parte interna das sementes, que afetaram o processo alimentar das larvas de *C. maculatus* inviabilizando seu desenvolvimento, pois a média de ovos viáveis de todos os genótipos foi alta.

Cabe destacar que a saída precoce de larvas ocorreu em genótipos com tamanhos, cores e texturas distintos. Pode-se observar, também, que nos grãos de genótipos maiores como por exemplo, MNC05-828B-3-15, as larvas eram maiores que as oriundas de sementes menores como, Sanzi Zambili. A saída de larvas levantou a hipótese de que possivelmente, esse comportamento tenha ocorrido devido a competição entre elas na parte interna das sementes, originária não somente pelo número de insetos que foram utilizados para infestação, como também, o tempo em que as fêmeas ficaram em contato com as sementes dos genótipos avaliados levando um maior número de ovos postos e a grande proximidade entre eles nas sementes.

Sabe-se, portanto, que quanto maior o número de larvas no interior das sementes, maior o processo competitivo e isso pode ser mais intensificado, quando a semente é menor. A competição entre larvas é um problema para *C. maculatus*, cujos estágios larvais ocorrem no interior de uma semente que é considerada um sistema fechado, onde elas são incapazes de evitar esse processo se múltiplos ovos foram postos na mesma semente (Colegrave, 1995).

Dentre os poucos trabalhos existentes na literatura científica sobre a emergência de larvas da parte interna dos grãos de genótipos de feijão-caupi, pode-se destacar fato semelhante relatado por Batista (2021) em teste sem chance de escolha para avaliar a resistência de genótipos a *C. maculatus*. A autora observou que em todas as repetições do genótipo de feijão-caupi BRS Milênio ocorreu emergência de larvas. Grazziotin (2016) ao estudar a Introdução e expressão do gene da arcelina do feijão comum, *Phaseolus vulgaris*, em feijão-caupi para resistência aos carunchos *Zabrotes subfasciatus* e *C. maculatus* observou que, na quinta geração duas repetições apresentaram expulsão de larvas de *C. maculatus*. Nesse caso, esta autora condiciona esse comportamento à presença de arcelina nos grãos como fator tóxico às larvas.

O resultado desta pesquisa também está apoiado no encontrado por Castro (2013) que observou a saída de larvas da parte interna de grãos de genótipo de feijão-caupi IT85 F- 2687. A saída de larvas, antes da emergência de adultos, foi menor em experimento sem chance de escolha onde não se utilizou óleos essenciais, quando comparado ao experimento com uso de óleos essenciais, que potencializaram uma maior resistência dos grãos e viabilizaram maior saída das larvas da parte interna deles, segundo a autora, corroborando com essa pesquisa.

Comportamento similar também foi observado por Messina *et al.*, (2019), que ao avaliarem os componentes resistentes de sementes de feijão-caupi ao caruncho *C. maculatus*, constataram em três, das oito cultivares avaliadas, a saída substancial de larvas do interior das sementes IT84S 2246, IT93K 503-1 e SUVITA2 com percentagens de 20,7; 36,2 e 24,2%, respectivamente. Os autores aliaram esse comportamento às condições de laboratório, e não a qualidade das sementes das cultivares estudadas, pois, as IT84S 2246 e SUVITA2 apresentaram sobrevivência razoavelmente alta e baixa para a cultivar IT93K 503-1. Nesta pesquisa, todos os genótipos receberam o mesmo tratamento, os genótipos estudados se encontravam em condições iguais de laboratório, exigindo-se investigações mais aprofundadas para elucidar esse comportamento.

Para Chen *et al.* (2019) quanto mais ovipositada uma semente de feijão-caupi, maiores as chances de descendentes competindo por nutriente; essa competição fica mais acirrada se for um genótipo não hospedeiro, pois o sucesso do desenvolvimento larval do inseto *C. maculatus* só será possível se as larvas forem capazes de assimilar os compostos defensivos presentes nas sementes (Souza *et al.*, 2010). A degradação e absorção de proteínas presentes nos grãos de feijão-caupi é realizada por meio de enzimas presentes no intestino médio das larvas de insetos responsáveis por processar os nutrientes obtidos das plantas, necessários para seu desenvolvimento (Marsaro Junior; Lazzari; Pinto Junior, 2006). Todavia, os mecanismos de resistências bioquímicas em sementes de feijão-caupi envolvem substâncias químicas presentes nos cotilédones exercendo efeitos de antibiose em vários parâmetros do inseto como, por exemplo, no desenvolvimento de larvas (Cruz *et al.*, 2015) afetando peso, comprimento e sobrevivência.

Diante do exposto, a seleção de genótipos resistentes a *C. maculatus* é de suma importância não só como informação base para o programa de melhoramento genético de plantas cultiváveis, mas também dentro de um manejo racional desse inseto por qualidade de alimento, vida, porquanto reduz os custos de armazenamento e permite a conjugação do método de resistência de plantas com outros existentes dentro de um processo sustentável. Sousa *et al.* (2016) ressaltam que é de suma importância avaliar a resistência de genótipos não se baseando apenas em um parâmetro, mas em vários conjuntamente, conferindo assim, maior segurança na tomada de decisão. Costa; Boiça Junior (2004); Lara, (1991) e Jackai; Asante (2003)

estabelecem que a resistência do tipo antibiose é caracterizada pelo alongamento no período de ovo a adulto e a redução na emergência de insetos.

Nesse sentido, essa pesquisa levou em consideração duas variáveis para caracterizar os genótipos estudados como apresentando resistência do tipo antibiose: média de insetos emergidos e percentagem de insetos emergidos.

4 CONCLUSÃO

Os genótipos de feijão-caupi IT81D-1045, IT86D-716-1, IT85F-2687, Monteiro, MNC11-1020E-16 e MNC05-828B-3-15 apresentam resistência do tipo antibiose ao *Callosobruchus maculatus* por reduzirem o número e a percentagem de insetos emergidos.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, D. R. S. **Associação de constituintes químicos abundantes em óleos essenciais e cultivares resistentes no manejo de *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) em feijão-caupi**. 2015. 98 p. Tese (doutorado Agronomia/ Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2015.
- BATISTA, G. S. **Resistência de genótipos de feijão-caupi a *Callosobruchus maculatus* (FABR.)**. 2021. 51p. Dissertação (Mestrado Bioenergia e Grãos) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano- Rio Verde, 2021.
- BARRETO, P. D.; QUINDERÉ, M. A. Resistência de genótipos de caupi ao caruncho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 4, p. 779-785, 2000.
- Bastos, C.S. Ribeiro, A.V. Suinaga, F.A. Brito, S.M. Oliveira, A.S. Barbosa, T.M. Santos, P.J.S. Oliveira, D.V.V.; Teichmann, Y.S.K. 2015. Resistência de plantas a insetos: contextualização e inserção no MIP 32-73p. In: Visotto, L.E. Fernandes, F.L. Carvalho Filho, A. Lopes, E.A. Aquino, L.A. Fernandes, M.E.S. God. P.I.V.G. Ruas, R. A. A. Sousa Jr., M. **Avanços Tecnológicos Aplicados à Pesquisa na Produção Vegetal**. 556p
- BORÉM, A.; CARNEIRO, J. E. S. A cultura. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; BORÉM, A. (Eds.). **Feijão**. Viçosa: UFV, 2006. p. 13-18.
- CASTRO, M.J.P. 2013. 131f. **Efeito de genótipos de feijão-caupi e de espécies botânicas em diferentes formulações sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr.)**. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho', Botucatu, 2013.
- CARVALHO, R. O.; LIMA, A. C. S.; ALVES, J. M. A. Resistência de genótipos de feijão-caupi ao *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Agro@mbiente on-line**, v. 5, n. 1, p. 50-56, 2011.
- CHEN, Q., MA, J.; YANG, H.; GONG, J.; GONG, X.; WENG, Q. Seed-coat colour affects oviposition in the bean beetle, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). In: **Annales Zoologici Fennici**. Finnish Zoological and Botanical Publishing Board, 2019. p. 199-205.
- COLEGRAVE, N. The cost of exploitation competition in *Callosobruchus* Beetles. **Functional Ecology**, v. 9, n. 2, p. 191-196, 1995.
- COSTA, N. P. & BOIÇA JUNIOR, A. L. Efeito de genótipos de caupi, *Vigna unguiculata* (L) Walp., sobre o desenvolvimento de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). **Neotropical Entomology**, 33: 77-83. 2004.
- DE SÁ, L. F. R.; WERMELINGER, T. T.; RIBEIRO, E. S.; GRAVINA, G. A.; FERNANDES, K. V. S.; XAVIER-FILHO, J.; VENANCIO, T. M.; REZENDE, G. L.; OLIVEIRA, A. E. A. Effects of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) seed coat on the embryonic and larval development of the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Insect Physiology**. v. 60, p. 50–57, 2014.

DICK, K. M.; CREDILAND, P. F. Variation in the response of *Callosobruchus maculatus* (F.) to a resistant Variety of cowpea. **Journal Prod. Res.** v. 22, n. 1, p. 43-48, 1986.

CRUZ, L. P.; SÁ, L. F.R. de.; SANTOS, L. A.; GRAVINA, G. A.; CARVALHO, A. O.; FERNANDES, K. V. S. FREIRE FILHO, F. R.; GOMES, V. M. OLIVEIRA, A. E. Evaluation of resistance in diferente cowpea cultivars to *Callosobruchus maculatus* infestation, **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 1, p. 117-128, 2015.

Fernandes Jr, P. I.; Silva Jr, E. B.; Silva Jr, S.; Santos, C. E. R. S.; Oliveira, P. J.; Rumjanek, N. G.; Martins, L. M. V.; Xavier, G. R. Performance of polymer compositions as carrier to cowpea rhizobial inoculant formulations: survival of rhizobia in pre-inoculated seeds and field efficiency. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n.12, p. 2945-2951, 2012.

FAO.faostats. **Productions.crops and livestats**. Disponível em:<http://www.fao.org/fastats/em/#data/QCL>. Acesso em:28.nov.2021.

FERREIRA, S. R.; SILVA, K. M.; SIMÃO, B. R.; VENTURY, K. E. B.; PASCHOA, R.; SILVEIRA, V.; FERNANDES, K. V. S.; OLIVEIRA, A. E. A. Seeds of non-host species as sources of toxic compounds for the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (F.). **Pestic Biochem Physiol.** v. 200, p.105829, 2024.

GBAYE, O.A.; HOLLOWAY, G.J. Varietal effects of cowpea, *Vigna unguiculata*, on tolerance to malathion in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v.47, p. 365-371, 2011.

GRAZZIOTIN, M. A.G. D. 2016. 76p. **Introdução e expressão do gene da arcélina do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] para resistência aos carunchos *Zabrotes subfasciatus* e *Callosobruchus maculatus***. Tese (Doutorado), BRASÍLIA, DF,2016.

IBRAHIM, S. P. 2022. **Efeitos da alimentação induzida em feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) nas células do epitélio intestinal das larvas do caruncho *Callosobruchus maculatus***. Dissertação de Mestrado, UFSA. Florianópolis,53p.

JACKAI, L. E. N. & ASANTE, S. K. A case for the standardization of protocols used in screening cowpea, *Vigna unguiculata* for resistance to *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v.39, p. 251–263, 2003.

KENENI, G.; BEKELE, E.; GETU, E.; IMTIAZ, M.; DAMTE, T.; MULATU, B.; DAGNE, K. Breeding food legumes for resistance to storage insect pest: potential and limitations. **Sustainability**, v. 3, p. 1399-1415, 2011.

KONERGAY, J. C. C. e POSSO, C. E. Inheritance of resistance to Mexican bean weevil in common bean, determined by bioassay and biochemical tests. **Crop Science**, v. 33, n. 3, p. 589-594, 1993.

KOSINI, D.; NUKENINE, E. N.; SAIDOU, C.; NOUBISSIÉ, J. B. T.; & DOLINASSOU, S. Impact of environmental conditions and seed physico-chemical characteristics on the resistance of cowpea genotypes to *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae) infestation. **Bulletin of entomological research**, v. 109, n. 5, p. 595-603, 2019.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2ª ed. São Paulo: Ícone ,1991. 336p.

MACEDO, M. L. R.; ANDRADE, L. B. S.; MORAES, R. A.; XAVIER- FILHO, J. Vicilin variants and the resistance of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds to the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: **Comparative Pharmacology**, v. 105, n. 1, p. 89–94,1993.

MESSINA, F. J.; LISH, A. M. & GOMPERT, Z. Components of cowpea resistance to the seed beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Economic Entomology**, v. 20, n.20, p. 1-7, 2019.

MARSARO JUNIOR, A. L.; LAZZARI, S. M. N.; PINTO JUNIOR, A. R. Inibidores de enzimas digestivas de insetos-praga. **Revista Acadêmica**. V. 4, n. 1, p. 57-61, 2006.

MARSARO JUNIOR, A. L.; VILARINHO, A. A. Resistência de cultivares de feijão - caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelida: Bruchinae) em condições de armazenamento. **Revista Academica Ciências Agrárias e Ambiental**, v. 9, n.1, p. 51-55,2011.

MELO, A. F. et al. Resistência de genótipos de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Chrisomelidae: Bruchinae). **Arq. Inst. Biol.**, v. 79, n. 3, p.425-429, 2012.

MEDEIROS, W. R.; SILVA, J. D. C.; SILVA, P. R. R.; GIRÃO FILHO, J. E.; PADUA, L. E. de M.; FRANÇA, M. Resistência de genótipos de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] ao ataque do Caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrisomelidae). **Entomobrasilis**. v. 10, n. 1, p. 19-25, 2017.

MOHAMED, E. M.; ABDELMONEM, A. E.; GHARIB. M. S. A.; HAFEZ, S. F. Susceptibility of some cowpea varieties to two storage bruchids infestation, **Egyptian journal of Agricultural Researche**, v. 97, n. 1, 2019.

NYARKO, J.; ASARE, A. T.; MENSAH, B. A. & ADJEL, F. Assessment of the response of fifteen cowpea [*Vigna unguiculata* L. (Walp.)] genotypes to infestation by *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coloeptera: Bruchidae). **Cogent Food & Agriculture**, v.8, n. 1, p. 2095713, 2022.

OFUYA, T. I.; & CREDILAND, P. F. Responses of three populations of the seed beetle, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), to seed resistance in selected varieties of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Journal of Stores. Stored Products Research**, v. 31, n. 1, p.17-27, 1995.

REDDEN, R. J. & MCGUIRE, J. The genetic evaluation of bruchid resistance in seed of cowpea. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 34, n. 6, p. 707-715, 1983.

RIBEIRO-COSTA, C. S. & ALMEIDA, L. M. Bruchinae (Coleoptera: Chrysomelidae). In: Panizzi, A.R. & J. R. P. Parra. **Bioecologia e nutrição de insetos**. Brasília, DF: Embrapa, p. 523-567.2009.

SALES, M. P.; PIMENTA, P. P.; PAES, N. S.; GROSSI-DE-SÁ, M; F.; XAVIER-FILHO, J. Vicilins (7S storage globulins) of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds bind to chitinous structures of the midgut of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.34, p. 27-34, 2001.

SALES, M. P.; ANDRADE, L. B. S.; ARY, M. B.; MIRANDA, M. R. A.; TEIXEIRA, F. M.; OLIVEIRA, A. S.; FERNANDES, V. S.; XAVIER- FILHO, J. Performance of bean bruchis *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) reared on resistant (IT81D-1045) and susceptible (EPACE 10) *Vigna unguiculata* seeds: relationship with trypsin inhibitor and vicilin excretion. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.142, n. 4, p. 422-426, 2005.

SOARES, L. L. L. 2012.64f. **Avaliação da Resistência de genótipos de feijão-caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. ao caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Produção Vegetal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina- PI, 2012.

SOUSA, M. de.; SILVA, P. R. R.; FRANÇA, S. M. de.; SILVA, J. D. C.; SOUSA, F. M. Seleção de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) para resistência a *Callosobruchus maculatus*. **Revista Ciências Agrárias**, v. 59, n. 2, p. 190-195, 2016.

SOUZA, S. M.; UCHÔA, A. F.; SILVA, J. R.; SAMUELS, R. I.; OLIVEIRA, A. E. A.; OLIVEIRA, E. M.; LINHARES R. T.; ALEXANDRE, D.; SILVA, C. P. The fate of vicilins, 7S storage globulins, in larvae and adult *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Insect Physiology**, v. 56, n. 6, p. 1130–1138, 2010.

SOUZA, A. J.; FERREIRA, A. T. S.; PERALES, J.; BEGHINI, D. G.; FERNANDES, K. V. S.; XAVIER FILHO, J.; VENANCIO, T. M.; OLIVEIRA, A. E. A. Identification of Albizia lebbeck seed coat chitin-binding vicilins (7S globulins) with high toxicity to the larvae of the bruchid *Callosobruchus maculatus*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 45, n. 2, p. 118-124, 2012.

UCHÔA, A. F.; DA MATTA, R. A.; RETAMAL, C. A.; ALBUQUERQUE-CUNHA, J.; SOUZA, S. M.; SAMUEL, R. I.; SILVA, C. P.; XAVIER-FILHO, J. Presence of the storage seed protein vicilin in internal organs of larval *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Insect Physiology**, v.52, n. 2, p.169–178, 2006.

Uchôa, M. R.; Bastos, R. L. G.; Albiero, D.; Fernandes, F. R. B. Influência da rotação de trabalho de uma trilhadora estacionária na qualidade do feijão Caupi. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p.19678-19688, 2020.

CAPÍTULO 2 – Efeito tóxico de proteínas com afinidade à quitina de genótipos de feijão-caupi sobre o caruncho (*Callosobruchus maculatus*) (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE)

SANTOS, V. S. V.; OLIVEIRA, A. E. A.; SILVA, P. H. S.; ROCHA, M. M.

RESUMO

Os grãos de feijão-caupi, *Vigna unguiculata*, são de grande importância sócioeconômica para regiões tropicais e subtropicais no mundo, tanto para a alimentação de populações urbana como rural. Todavia, parte da produção desses grãos é perdida pelo ataque do caruncho, *Callosobruchus maculatus*, a principal praga de grãos e sementes armazenados de feijão-caupi. O controle dessa praga é feito com produtos químicos sintéticos, que desencadeiam problemas à saúde humana e a seleção de insetos resistentes. Sendo a seleção de genótipos resistentes, uma alternativa para minimizar o uso desses produtos. O objetivo desta pesquisa foi isolar proteínas com afinidade à quitina de genótipos de *V. unguiculata* (IT85F-2687, IT86D 716-1, Monteiro, MNC05828B 3-15 e MNC11 1020E-16) e avaliar a toxicidade para *C. maculatus*. Inicialmente foi avaliada a toxicidade das sementes integras e das farinhas dos cotilédones para o inseto. Proteínas dos cotilédones foram isoladas por cromatografia de afinidade à quitina. A toxicidade dessas proteínas ao inseto foi avaliada pela adição de 1% e 5% na dieta artificial do inseto. Os resultados mostraram que a oviposição nas sementes naturais dos genótipos não foi afetada, mas os genótipos IT85F-2687 e Monteiro afetaram a sobrevivência larval. A massa e o comprimento larval foram reduzidos pelos genótipos IT85F-2687 e MNC11-1020E-16. Em sementes artificiais com farinha de cotilédones dos genótipos, a maior sobrevivência larval foi encontrada no genótipo IT85F-2687. A massa larval não foi afetada por nenhum genótipo avaliado e o maior comprimento larval ocorreu no genótipo Monteiro. No entanto, o menor percentual de adultos emergidos foi encontrado no genótipo IT85F-2687 e o maior atraso na emergência de insetos nos genótipos IT86D-716-1 e IT85F-2687. Em sementes artificiais contendo 1% das proteínas com afinidade a quitina a sobrevivência, a massa e o comprimento larval foram afetados pelos genótipos IT85F-2687, MNC11-1020E-16. Sementes contendo 5% das frações causaram mortalidade de 100% das larvas. Os genótipos IT86D-716-1, MNC05828B-3-15, IT85F-2687 e MNC11-1020E-16 são tóxicos a *C. maculatus* por afetarem os parâmetros biológicos do inseto.

Palavras - chaves: *Vigna unguiculata*, Resistência de sementes, proteínas de armazenamento, antibiose.

CHAPTER 2 – Toxic effect of chitin-affinity proteins from cowpea genotypes on the weevil (*Callosobruchus maculatus*) (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE)

SANTOS, V. S. V.; OLIVEIRA, A. E. A.; SILVA, P. H. S.; ROCHA, M. M.

ABSTRACT

Cowpea grains, *Vigna unguiculata*, presents a great socioeconomic importance for tropical and subtropical regions of the world, both for feeding urban and rural populations. However, part of the production of these grains is lost due to the attack of the weevil *Callosobruchus maculatus*, the main pest of stored cowpea grains and seeds. The control of this pest is made by using synthetic chemicals, which cause problems for human health, and the selection of resistant insects. The selection of resistant genotypes is an alternative to minimize the use of these products. The objective of this research was to isolate proteins with affinity to chitin from *V. unguiculata* genotypes (IT85F-2687, IT86D 716-1, Monteiro, MNC05828B 3-15 and MNC11 1020E-16) and evaluate their toxicity to *C. maculatus*. Initially, the toxicity of whole seeds and cotyledon flours to the insect was evaluated. Cotyledon proteins were isolated by chitin affinity chromatography. The toxicity of these proteins to the insect was evaluated by adding 1% and 5% to the insect's artificial diet. The results showed that oviposition on natural seeds of the genotypes was not affected, but the genotypes IT85F-2687 and Monteiro affected larval survival. Larval mass and length were reduced by genotypes IT85F-2687 and MNC11-1020E-16. In artificial seeds with cotyledon flour of the genotypes, the highest larval survival was found in the IT85F-2687 genotype. Larval mass was not affected by any genotype evaluated, and the highest larval length occurred in the Monteiro genotype. However, the lowest percentage of emerged adults was found in genotype IT85F-2687 and the highest delay in insect emergence in genotypes IT86D-716-1 and IT85F-2687. In artificial seeds containing 1% of the proteins with affinity to chitin, larval survival, mass and length were affected by the genotypes IT85F-2687, MNC11-1020E-16. Seeds containing 5% of the fractions caused 100% mortality of the larvae. Genotypes IT86D-716-, MNC05828B-3-15, IT85F-2687 and MNC11-1020E-16 are toxic to *C. maculatus* as they affect the insect's biological parameters.

Keywords: *Vigna unguiculata*, Seed resistance, storage proteins, antibiosis.

1 INTRODUÇÃO

As sementes do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) são importantes fontes de proteína com custo baixo e qualidade nutricional de suma relevância às regiões Tropicais e Subtropicais em todo o mundo, com destaque para países em desenvolvimento (Keneni *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2014; Lopes *et al.*, 2018).

No Brasil, o feijão-caupi apresenta grande importância socioeconômica para o sistema produtivo, sobretudo para os pequenos agricultores familiares das regiões Norte e Nordeste. Apresenta baixa exigência hídrica e adaptação a solos pouco férteis, bem como, contém aminoácidos, fibras alimentares, carboidratos, minerais e teor baixo de lipídios (Freire Filho *et al.*, 2005), sendo alimento básico das populações rurais e urbanas (Gbayer; Holloway, 2011).

Todavia, parte da produção de sementes e grãos de feijão-caupi é perdida devido ao ataque de sua principal praga de pós-colheita, o gorgulho do feijão-caupi (*Callosobruchus maculatus*) (Messina; Lish, Gompert, 2021; Oliveira *et al.*, 2022) pois ataca as sementes e grãos durante o armazenamento. As fêmeas ovipositam sobre o tegumento das sementes, as larvas eclodem entre 3 e 5 dias, penetram na semente e se instalam nos cotilédones para se alimentarem (Becker; Blumer, 2014) levando a redução do peso e poder germinativo (Costa; Boiça Junior, 2004), podendo culminar com a inviabilização para o consumo, semeio e comercialização pelo agricultor.

O controle do caruncho do feijão-caupi é realizado com uso de produto químico sintético que tem causado problemas ao meio ambiente e à saúde humana (Satya *et al.*, 2016). Em trabalhadores agrícolas, esses produtos podem causar várias doenças como câncer, danos genômicos, estresse, distúrbios neurológicos, efeitos respiratórios, metabólicos e tireoidianos (Kalpna; Hajam; Kumar, 2022). Outros problemas como a ocorrência de insetos resistentes (Munawar *et al.*, 2020), aumento do custo da produção e risco à segurança alimentar (Keneni *et al.*, 2011).

Devido aos prejuízos significativos ocasionados pela ação de *C. maculatus*, a busca e identificação de genótipos resistentes consiste em uma estratégia para manter o rendimento e a qualidade das sementes e grãos, bem como, reduzir a dependência do uso de produtos químicos sintéticos. Nesse contexto, pesquisas têm sido realizadas com resultados promissores quanto a identificação de genótipos de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus*. Segundo Sing *et al.* (1985) mais de 8000 linhagens de germoplasma de feijão-caupi foram avaliados pelo Instituto Internacional

de Agricultura Tropical (IITA) quanto à resistência a *C. maculatus* e apenas três se apresentaram como resistentes: TVU 2027, TVU 11952, TVU 11953. Segundo Singh (1999) outros genótipos resistentes derivaram do Genótipo TVU 2027, como IT81D-1032 e IT81D-1045.

Embora a espécie *Vigna unguiculata* tenha coevoluído com *C. maculatus*, vários genótipos estudados têm apresentado algum grau de resistência ao referido inseto como, por exemplo, em pesquisa realizada por Dick e Crediland (1986) a resistência de TVU 2027 a três cepas de *C. maculatus* intercruzadas (IITA, Yemen e Campinas) na referida pesquisa, verificou-se que a sobrevivência larval foi reduzida significativamente em todos os híbridos avaliados e que a gerações sucessivas afetam a resistência do genótipo. Seck (1993) estudou a resistência de 80 genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* e encontrou seis resistentes: 59-12; 58-28; 66-50; 66-5; 58-16DI e 59-26.

Pesquisa realizada por Gatehouse *et al.* (1979) associou a resistência de genótipos de feijão - caupi a nível elevado de inibidor de tripsina. Macedo *et al.* (1993) atribuiu a resistência de genótipos de feijão-caupi à proteína de armazenamento vicilina, que quando isolada e incorporadas a 2% em sementes artificiais, causou toxicidade e afetou os parâmetros biológicos de desenvolvimento da praga *C. maculatus*. Para Sales *et al.* (2001) a explicação dos efeitos tóxicos das vicilinas no desenvolvimento de *C. maculatus* está relacionado com sua ligação à quitina presente na matriz peritrófica (ou membrana peritrófica), camada acelular que reveste o intestino médio do inseto.

Outros trabalhos também mostram a ação tóxica de proteínas do tipo vicilinas. Pesquisa realizada por Sales *et al.* (2005), avaliou o desempenho dos insetos *C. maculatus* e *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) criados em sementes de *Vigna unguiculata* resistente (IT81D-1045) e suscetível (Epace10), constatando que as vicilinas de sementes resistentes afetaram o período de desenvolvimento e reduziram significativamente a emergência dos insetos *C. maculatus*. Mota *et al.* (2003) mostraram que vicilinas do genótipo IT81D-1045, a 2% em dieta artificial se ligou à quitina no intestino de *Diatrea saccharalis* e causou antibiose. Paes *et al.* (2008) constataram que houve ligação de vicilinas do genótipo IT81D-1045 na concentração 2% à membrana peritrófica de *Tenebrio molitor* e isso afetou significativamente o desenvolvimento larval. Oliveira *et al.* (2014) concluíram que as vicilinas variantes presentes no genótipo IT81D-1053 foram tóxicas para as larvas de

C. maculatus e se apresentaram mais acumuladas no intestino médio das larvas que as vicilinas de genótipos susceptíveis (Epace 10).

Ferreira *et al.* (2021) ao realizarem pesquisa relacionada com a resistência da BRS cv. Xiquexique verificaram que tanto a proteína bruta contendo as vicilinas e quitinases, bem como as vicilinas isoladas afetaram o desenvolvimento larval de *C. maculatus*. Nesse sentido, esses resultados demonstram a versatilidade da proteína bruta e das vicilinas presentes em espécies diferentes que são capazes de realizar o controle sobre insetos distintos. Desta forma, é necessário que outras pesquisas sejam realizadas para selecionar e identificar os fatores de resistência de genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus*, contribuindo para a redução de seus danos em sementes e grãos de feijão-caupi armazenados, otimizando o custo na produção.

Portanto, esta pesquisa teve por objetivo isolar as proteínas com afinidade a quitina de genótipos de feijão-caupi e avaliar o efeito toxico para *C. maculatus*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Os ensaios foram realizados no laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos/LQFPP, no Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil.

2.2 CRIAÇÃO DE *Callosobruchus maculatus*

Os insetos foram obtidos da criação já existente no Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos-LQFPP. Para criação dos insetos e montagem dos bioensaios, foram utilizadas sementes de feijão-caupi cv. Fradinho, obtidas em mercados locais de Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. Os insetos foram colocados em contato com as sementes em frascos de vidro contendo tampas perfuradas para permitir a aeração interna e acondicionados em estufa B.O.D sob condições controladas com temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, fotofase 12 e Umidade Relativa $60 \pm 10\%$. Os insetos foram deixados em contato com as sementes por 24 h para oviposição. Após esse período, todos os insetos foram retirados dos frascos de vidro e a cada ciclo de 25 a 30 dias, havia emergência de insetos para novas infestações e

manutenção da criação para a obtenção da quantidade de insetos necessários para a montagem dos bioensaios.

2.3 GENÓTIPOS DE *Vigna unguiculata*

Com base nos resultados da avaliação inicial dos 60 genótipos do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI, com teste sem chance de escolha foram selecionados como os mais resistentes a *C. maculatus* os genótipos IT85F-2687, IT86D 716-1, Monteiro, MNC05828B 3-15 e MNC11 1020E-16 e IT81D-1045. No entanto, como existem muitos trabalhos confirmando a resistência do genótipo IT81D-1045 a *C. maculatus*, o que ratificado por esta pesquisa, ele foi retirado desse capítulo.

2.4 PERFORMANCE DE DESENVOLVIMENTO DAS LARVAS DE *C. maculatus* EM SEMENTES NATURAIS DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI

Para investigar a performance de desenvolvimento das larvas nas sementes naturais dos genótipos de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus*, 10 sementes de cada genótipo foram colocadas dentro de um tubo tipo Falcon de plástico (com tampa perfurada para permitir as trocas gasosas) e infestadas com 20 fêmeas de *C. maculatus* de dois dias de idade, por 24h para realização das posturas. Após esse período, as fêmeas foram retiradas e contado o número de ovos postos em cada genótipo. As sementes foram incubadas a $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa $60 \pm 10\%$. Com 20 dias da oviposição (DAO), as sementes foram desfeitas com o auxílio de um estilete para retirada das larvas sobreviventes, que foram contadas, pesadas para determinação da massa larval e fotografadas para determinação do comprimento larval usando o programa Image J. O controle foi constituído por 18 sementes cv Fradinho e 36 fêmeas de *C. maculatus* com a mesma idade acima citada. O experimento foi realizado em triplicata independente.

2.4.1 Performance de desenvolvimento de *C. maculatus* em sementes artificiais confeccionadas com farinha dos cotilédones dos genótipos de feijão-caupi

Para a verificação da presença de compostos tóxicos nos cotilédones dos genótipos selecionados de feijão-caupi IT85F-2687, IT86D-716-1, Monteiro, MNC05-

828B 3-15 e MNC11-1020E-16, as sementes que estavam armazenadas em freezer a -70°C , foram retiradas e deixadas sobre a bancada do laboratório por 3 horas para o equilíbrio higroscópico. Após, pesou-se 40 g de sementes por genótipo, das quais foram retirados os tegumentos e os cotilédones foram triturados em moinho para obtenção da farinha, que individualmente foram armazenadas em tubos falcon identificados. A confecção das sementes artificiais seguiu a metodologia descrita por Macedo et al., (1993), onde 400 mg da farinha de cada genótipo foram pesados e colocados dentro de um molde cilíndrico, prensado manualmente em máquina de prensar botão para a fabricação das sementes artificiais. Sementes controle foram confeccionadas com 400 mg de farinha de feijão-caupi cv. Fradinho. Todas as sementes dos genótipos foram avaliadas em triplicatas, onde utilizou-se tubos falcon, adicionando três sementes artificiais do mesmo genótipo por tubo. Para infestação, seis insetos fêmeas de *C. maculatus* com 2 dias de idade foram colocados em contato com as sementes por 24 h e após, retirou-se os insetos e o excesso de ovos, deixando-se apenas três ovos por semente. Os ovos com as sementes foram incubados a $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa $60 \pm 10\%$ por até 40 dias da oviposição (DAO). Aos 20 dias após a oviposição (DAO), parte das sementes foi aberta para avaliar a sobrevivência larval. As larvas foram contadas, pesadas para determinação da massa larval e fotografadas para determinação do comprimento larval usando o programa Image J. O restante das sementes permaneceu na incubadora para avaliação da emergência de insetos adultos, que foi observada entre o 30º e 40º DAO.

2.5 ISOLAMENTO DAS PROTEÍNAS COM AFINIDADE A QUITINA E TOXICIDADE PARA *C. maculatus*

2.5.1 Isolamento das proteínas com afinidade a quitina dos cotilédones dos genótipos de feijão-caupi

Extratos proteicos dos cotilédones dos genótipos de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus* foram obtidos dissolvendo-se a farinha dos cotilédones em tampão acetato de sódio 0,1 M, pH 6,0 na proporção 1g:10 mL. A mistura da farinha e da solução foi mantida em agitação durante 1h a 4°C . Após, foi levada para centrifugação por 10 min, a 4°C a 10000 x g. O precipitado foi descartado e o sobrenadante foi armazenado para isolamento das proteínas.

2.5.2 Cromatografia de afinidade à quitina

A solução proteica obtida dos cotilédones dos genótipos de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus* foi fracionada em cromatografia de afinidade à quitina conforme Ferreira et al. (2021). Para isso, 15 mL do extrato de proteínas foi incubado com a matriz de quitina (30mL) ressuspensa em acetato de sódio pH 6,0, 0,1 M. A mistura foi mantida sob agitação lenta por 30min à temperatura ambiente. Posteriormente, essa mistura foi montada em uma coluna de vidro sob um fluxo 1mL/min. As proteínas não retidas na matriz de quitina foram lavadas com o tampão acetato de sódio 0,1M, pH 6,0 até zerar a absorbância. A fração retida foi eluída com HCl 0,1M. Foram coletadas frações de 3mL/tubo. As absorbâncias das frações coletadas foram lidas a 280nm. As frações retidas em quitina foram dialisadas contra a água destilada por 48h e, posteriormente, secas por liofilização até a obtenção de um pó.

2.5.3 Eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE

Para visualização do perfil proteico das amostras fracionadas de proteínas que se ligam à quitina dos genótipos de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus* foi feito um gel de poliacrilamida contendo o detergente dodecil sulfato de sódio (SDS PAGE 12%) segundo metodologia descrita por Laemmli (1970). O gel principal foi constituído de água destilada 3,3 mL, Acrilamida 30% 4,0 mL, Tampão Tris HCL (1,5M pH 8,8) 2,5 mL; SDS (10%) 0,1mL; persulfato de amônia APS (10%) 0,1 mL, TEMED 0,004 mL. A mistura dessas soluções foi aplicada no sistema de eletroforese (BIORAD) montado com placas de vidro de 1,0 mm. Após o término da polimerização, adicionou-se a solução para composição do STACK gel (gel de empacotamento), composta por água destilada 2,7mL, Acrilamida 30% 0,67 mL, 1,0 M Tris (pH 6,8) 0,5 mL, SDS (10%) 0,04mL, APS (10%) 0,04 mL e TEMED 0,004. A mistura foi adicionada no sistema de eletroforese, sobre o gel principal já polimerizado. Os poços para aplicação das amostras foram feitos no gel de empacotamento, usando pentes moldes de 1,0mm. Após a polimerização da solução STACK, o pente foi retirado e o sistema contendo os géis foi posto dentro da cuba do sistema de eletroforese. A essa cuba foi adicionado tampão de corrida (pH 8,3) constituído de Tris, glicina e SDS.

As amostras das proteínas retidas na quitina dos diferentes genótipos foram diluídas na proporção de 1mg/100µL de tampão de amostra (tampão contendo 3,8 mL

água destilada, 1 mL tris HCl (0,5M pH 6,8), 0,8 mL de glicerol e 1,3 mL de SDS 10% e 0,4 mL de azul de bromofenol 1%). Um volume de 10µL da amostra de cada genótipo foi aplicado em cada poço. Foi aplicado em um dos poços, o padrão de peso molecular e, nos demais poços as amostras fracionadas dos diferentes genótipos. A corrida foi realizada com corrente de 60 V para corrida das amostras durante a passagem pelo gel STACK e 100 V, para corrida das amostras no gel principal. Após a corrida, o gel foi lavado com água destilada e corado overnight em solução corante (comassie blue R 250 0,1 %, álcool metílico 40 % e ácido acético 10 %). Após este período, o gel foi descorado com álcool metílico 40 % e ácido acético 10 %, sob agitação contínua por cerca de 12 h e posteriormente, foi deixado em água destilada para retirada do descorante e registro fotográfico.

2.6 ANÁLISE DA TOXICIDADE DAS PROTEÍNAS COM AFINIDADE A QUITINA PARA *C. maculatus*

Para a verificação da toxicidade das proteínas com afinidade a quitina isoladas dos genótipos de feijão-caupi IT85F-2687, IT86D-716-1, Monteiro, MNC05-828B-3-15 e MNC11-1020E-16, as frações retidas foram incorporadas em sementes artificiais, segundo Macedo et al. (1993) em concentrações de 1 e 5%. As amostras individualmente, foram misturadas com a farinha cotiledonar de feijão - caupi cv. Fradinho para perfazer um total de 400mg. A mistura correspondente às sementes de cada concentração por genótipo foi colocada em um cadinho para homogeneização do material e depois, adicionada em molde cilíndrico de latão e prensada manualmente em máquina de prensar botão para a obtenção da semente artificial. O controle foi constituído apenas de 400mg de farinha cotiledonar da cv. Fradinho. O experimento foi feito em triplicata, onde as sementes artificiais foram infestadas com seis insetos fêmeas por genótipo, com idade de 2 dias por 24h. Após a infestação, os insetos foram retirados e o excesso de ovos também, deixando-se apenas três ovos por semente. As sementes artificiais contendo os ovos foram incubadas a $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa $60 \pm 10\%$. Aos 20 dias da oviposição, as sementes foram abertas e as larvas que sobreviveram foram pesadas, fotografadas e medidas utilizando-se o Programa image J.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os experimentos foram realizados em triplicata biológica independentes. As médias, o desvio padrão e a análise de variância (ANOVA), seguida do teste Tukey a 5% de probabilidade foram realizados utilizando-se o software GraphPad Prism 7.0

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PERFORMANCE DE OVIPOSIÇÃO E DESENVOLVIMENTO DAS LARVAS DE *C. maculatus* EM SEMENTES NATURAIS DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI

Analisando a performance de oviposição de *C. maculatus* em sementes naturais de genótipos de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus*, foi possível observar que em nenhum dos genótipos estudados houve redução de oviposição comparados com o controle cv. Fradinho em 24h de oviposição (Figura 1A). Entretanto, os menores percentuais de sobrevivência larval aos 20 DAO foram apresentados pelos genótipos Monteiro, IT85F-2687 e MNC11-1020E-16 com 55,8 e 56,45 % e 62%, respectivamente em relação ao controle cv Fradinho (Figura 1B).

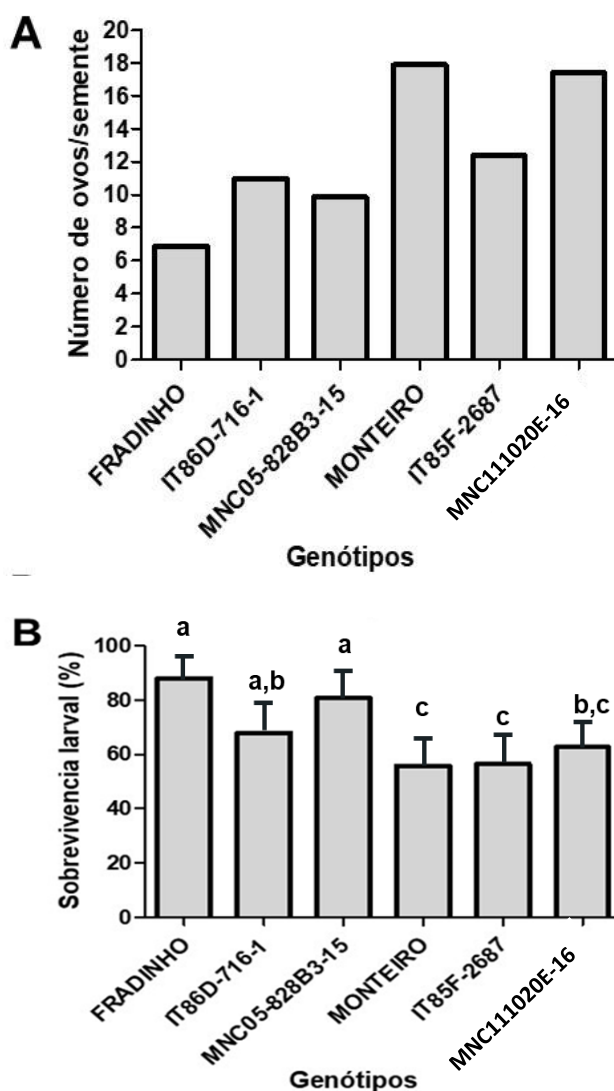


Figura 1. Oviposição e sobrevivência larval de *Callosobruchus maculatus* em sementes naturais de feijão-caupi cv. Fradinho (controle), e dos genótipos IT86D-716-1, MNC05-828B3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão-caupi. A: Número de ovos/semente ovipositados em 24h. B: Sobrevivência larval (%) 20 DAO (Dias Após a Oviposição). Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Embora não tenha havido redução de oviposição em relação ao controle (cv. Fradinho), a sobrevivência larval foi afetada, podendo ser devido a presença de substâncias inibidoras do processo alimentar das larvas de *C. maculatus* dentro da semente. A presença de substâncias tóxicas na parte interna de sementes tem sido relacionada com proteínas de defesas em sementes de feijão-caupi a *C. maculatus*

desde décadas passadas (Gatehouse *et al.*, 1979; Macedo *et al.*, 1993). Embora um genótipo possa apresentar oviposição elevada em relação a outros, não se pode afirmar que isso o torna susceptível ao inseto, porquanto a existência de fatores, na parte interna das sementes, afete o processo alimentar do inseto e atinja seu desenvolvimento (Lara, 1991). Em pesquisa desenvolvida por Medeiros (2020) em teste sem chance de escolha, os autores observaram que os genótipos de feijão-caupi BRS Pujante, Ligeiro e Tardão foram os mais ovipositados por fêmeas de *C. maculatus* e os mais susceptíveis.

Barbosa *et al.* (2011) ao avaliarem a resistência de genótipos de feijão caupi a *Zabrotes subfasciatus* em teste sem chance escolha observaram que o genótipo TVX 5059-09G apresentou maior número de ovos postos e insetos emergidos caracterizando-o como susceptível ao referido inseto. Semelhante pesquisa foi realizada por Messina, Lish e Gompert (2019), que ao avaliarem os componentes de resistência de oito genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus*, concluíram que as fêmeas ovipositaram em sete genótipos acima de 70% durante um período de 24h, todavia, esses genótipos apresentaram efeito variável na sobrevivência e afetaram a massa de adultos, mostrando que eles possuem resistência do tipo antibiose ao inseto. Nesta pesquisa mesmo não havendo redução de oviposição em relação ao controle cv fradinho, a sobrevivência larval foi afetada significativamente, indicando a ocorrência de antibiose, pois a redução na sobrevivência larval conduz a menor emergência de insetos e menor crescimento populacional em gerações subsequentes.

Para uma praga como *C. maculatus*, a susceptibilidade da semente dependerá do desempenho larval dentro das sementes e não, da preferência para a postura, (Messina; Jones, 2009; Messina; Johnson, 2014). Delobel *et al.* (2000) afirmam que a preferência para oviposição de *C. maculatus* está relacionada com estímulos vindos da semente como cheiro, textura e nível de umidade, bem como, o comportamento dos insetos pode ser afetado pela presença de fatores físicos, químicos ou estruturais da planta (Boiça Junior *et al.*, 2015), como observado nesta pesquisa.

Uma planta resistente causa mortalidade das formas jovens, redução do tamanho, redução do peso, na fecundidade e alterações no tempo de vida (Visotto *et al.* 2015; Baldin; Vendramim; Lourenção, 2019). Estudo semelhante realizado por Cruz *et al.* (2016) ao avaliarem a resistência em diferentes genótipos de feijão-caupi à infestação de *C. maculatus* em sementes naturais, constataram redução na oviposição em 40% nos genótipos BRS Guariba e BRS Tumucumaque, quando

comparado com o controle e genótipo BRS Xiquexique apresentou taxa de sobrevivência de apenas 30% em comparação ao feijão-caupi cv. Fradinho (controle) que foi de 90%. Neste trabalho a taxa individual de sobrevivência larval apresentada pelos genótipos Monteiro, IT85F-2687 e MNC11-102-E-16 foi inferior a 65% em relação ao controle (Fradinho) que foi de 90 %.

em estudo quanto a resistência de sementes naturais de feijão -caupi a *C. maculatus*, Ventury *et al.* (2022) mostraram que houve variação na oviposição (6 a 13 ovos) e que a linhagem P O 1-5-4 apresentou menor sobrevivência larval (40%). No presente trabalho, as menores sobrevivências foram apresentadas pelos genótipos MONTEIRO e IT85F-2687 e MNC11-102-E-16, respectivamente. A resistência de genótipos de feijão – caupi tem sido associada a presença de proteína de reserva na parte interna da semente que não são hidrolisadas pelas enzimas digestivas do inseto dificultando assim, seu desenvolvimento (Domingues *et al.*, 2006)

Andrade *et al.* (2020) ao avaliarem a toxicidade de sementes artificiais contendo tegumento artificial composto por 100% de farinha de tegumento de *Phaseolus vulgaris*, mostraram inibição de 100% na oviposição de fêmeas de *C. maculatus*. Nessa pesquisa, o resultado foi diferente em relação ao encontrado pelo autor Andrade *et al.* (2020), pois a oviposição em genótipos de feijão - caupi não foi reduzida em relação ao controle cv. Fradinho. Essa diferença de resultados pode ser explicada, pois *Phaseolus vulgaris* não é hospedeiro de *C. maculatus* e a sua resistência ao referido inseto está relacionada a presença de proteína de defesa como, inibidores de α -amilase e proteases que afetam as enzimas digestivas desse inseto na fase larval (Huesing *et al.*, 1991) dificultando seu desenvolvimento e levando à morte.

Quanto a massa larval de *C. maculatus* desenvolvidas aos 20 DAO após a oviposição, observou-se que todos os genótipos apresentaram redução, sendo os genótipos IT85F-2687 e MNC11-1020E-16, com melhores desempenhos reduzindo em quase 50% a massa das larvas quando comparados com o controle (Figura 2A). As larvas sobreviventes foram fotografadas (Figura 3) e medidas com uso do programa Image J (Figura 2B).

Quanto ao comprimento das larvas, estas desenvolvidas nos genótipos IT85F-2687, MNC11-1020E-16 e IT86D-716-1 apresentaram as menores médias inferiores a 3mm em relação ao controle cv. Fradinho (Figura 2B). As larvas sobreviventes foram fotografadas com uso do Programa Image J (figura 3).

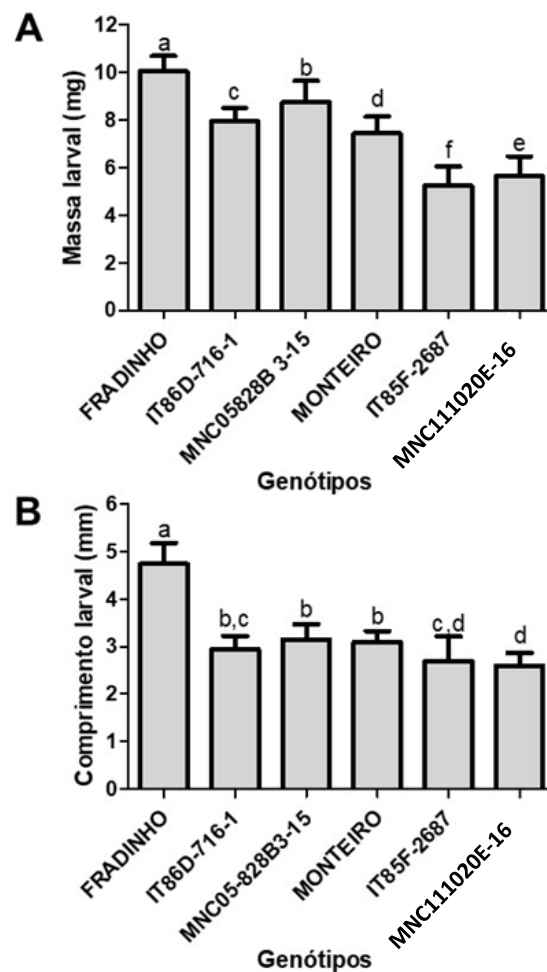


Figura 2. Performance de desenvolvimento larval de *Callosobruchus maculatus* em sementes naturais dos genótipos de feijão-caupi cv. Fradinho (controle), IT86D-716-1, MNC05-828B3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão-caupi. A: Massa das larvas (mg) 20 DAO (Dias Após a Oviposição). B: Comprimento das larvas (mm) 20 DAO. Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. Médias seguidas de mesma Letra não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

As menores massa e comprimento larval apresentados pelos genótipos supracitados, sugerem efeitos negativos presentes na parte interna das sementes, que afetaram a biologia do inseto por limitar o processo alimentar e esses efeitos negativos deixando as larvas mais raquíticas, caracterizam esses genótipos por apresentarem resistência do tipo antibiose.

Domingues *et al.* (2016) mostraram que as larvas que se alimentaram do tecido embrionário de sementes de genótipos resistente de *V. unguiculata* apresentaram massa muito superiores às larvas que se alimentaram dos cotilédones, ou seja, os

compostos tóxicos presentes nessas sementes se concentram nos cotilédones e não no eixo embrionário. Estas larvas atingiram 60-70% do peso das larvas que se alimentaram de sementes suscetíveis de feijão-caupi, como da cv. Epace 10. Nesta pesquisa, as maiores reduções em torno de 50% de massa larval foram apresentadas pelos genótipos IT85F-2687 e MNC111020E-16 em relação ao controle (cv. Fradinho). A ação tóxica de genótipo resistente está relacionada às vicilinas variantes que se ligam às células do intestino médio e são internalizadas e interferem na fisiologia normal dificultando o desenvolvimento larval (Oliveira *et al.* 2014).

Trabalhos também mostram que, para muitas sementes, o desenvolvimento da larva já é bloqueado no próprio tegumento. Pesquisa realizada com uma espécie de leguminosa não hospedeira *Canavalia ensiformis* mostrou o efeito tóxico do tegumento para as larvas, onde a penetração larval foi 100% bloqueada pelo tegumento da semente (De Sá *et al.*, 2017). Trabalhos sugerem que parte dos efeitos causados por essas toxinas das sementes está relacionado a interferência no processo digestivo das larvas, que utilizam as enzimas proteases cisteínicas, amilases e glicosidases na digestão, que ao serem afetadas pode prejudicar expressivamente o desenvolvimento dos insetos (Pedra *et al.*, 2003; De Sá *et al.*, 2014; De Sá *et al.*, 2017).

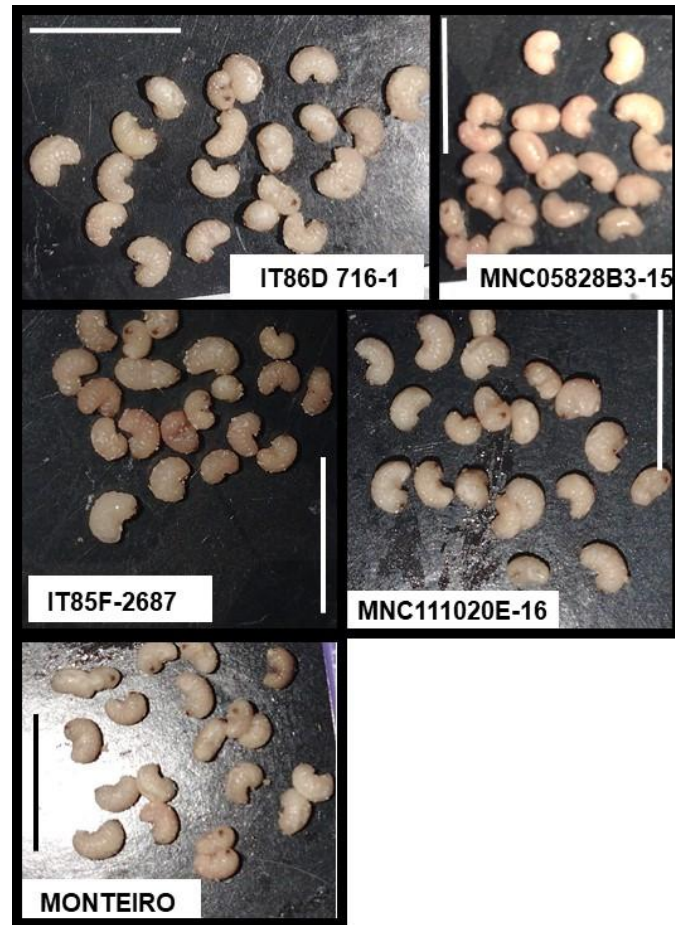


Figura 3. Fotografia das larvas de *Callosobruchus maculatus* desenvolvidas em sementes naturais dos genótipos resistentes de feijão-caupi IT86D-716-1, MNC05-828B-3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16. As larvas se desenvolveram por 20 DAO (Dias Após a Oviposição).

3.2 PERFORMANCE DE DESENVOLVIMENTO DE *C. maculatus* EM SEMENTES ARTIFICIAIS CONTENDO A FARINHA DOS COTILÉDONES DOS GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI

Sementes artificiais foram confeccionadas 100% com farinha dos cotilédones dos genótipos e, analisando a sobrevivência (Figura 4A) das larvas desenvolvidas nessas sementes artificiais observou-se que foi similar à sobrevivência das larvas desenvolvidas nas sementes controle confeccionadas apenas com farinha de cv. Fradinho. Resultado similar também foi observado para a massa larval aos 20 DAO (Figura 4B).

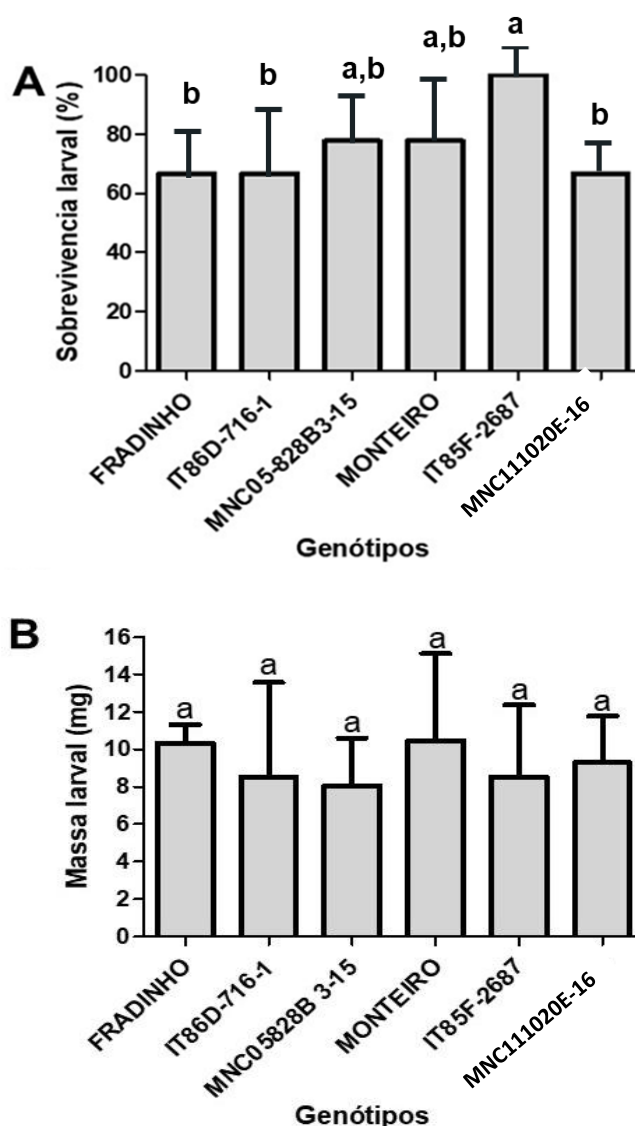


Figura 4. Sobrevivência e massa larval de *Callosobruchus maculatus* em sementes artificiais compostas 100% com farinha dos cotilédones dos genótipos cv. Fradinho (controle), IT86D716-1, MNC05-828B3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão-caupi. A: Sobrevivência larval (%) 20 DAO Dias Após a Oviposição). B: Massa das larvas 20 DAO. Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Com relação a sobrevivência larval, o genótipo IT85F-2687 se destacou com alta sobrevivência larval de quase 100% em relação aos genótipos IT86D-716-1, MNC11-1-2-E-16 e o controle (cv. Fradinho). Quanto à massa larval, pode-se perceber que não houve diferença estatística entre os genótipos avaliados e o controle (cv. Fradinho). Esse resultado pode ser um indicativo de que os efeitos das sementes

naturais na sobrevivência e massa larval pode ter a participação de componentes físicos, como dureza e, ainda, a interferência do tegumento, que é considerado a defesa primária da semente. Desta forma, as sementes quando desfeitas perderam parte de sua resistência, tornando o alimento mais palatável ao inseto permitindo um resultado diferente dos obtidos com sementes naturais quanto a sobrevivência, massa e comprimento larval.

O resultado desta pesquisa se alinha ao encontrado por Ferreira (2018), a qual constatou que as sementes artificiais formadas com farinhas de cotilédones das cultivares BRS Pajeú, BRS Guariba e BRS Xiquexique não interferiram negativamente na massa larval e nem houve diferença entre as cultivares avaliadas e o controle, entretanto, as sementes naturais desses genótipos interferiram na sobrevivência e massa larval do inseto (Cruz *et al.*, 2016). Para a autora, a integridade da semente é um fator de suma importância para a resistência de alguns desses genótipos, pela contribuição dos fatores físicos.

Embora para muitas sementes a destruição de suas características físicas possa interferir nas propriedades tóxicas, para outras parece não ter muito efeito, dada a alta toxicidade das farinhas. Ferreira *et al.* (2024) avaliando o efeito tóxico da farinha dos cotilédones de leguminosas não hospedeiras de *C. maculatus* concluíram que a concentração de 0,7% da farinha de cotilédones de *Ormosia arbórea* e *Sapindus saponária* causou 100% de mortalidade larval, enquanto 2% da farinha de cotilédones de *Myroxilon peruiferum* reduziu a sobrevivência larval em cerca de 45%. A massa das larvas de *C. maculatus* alimentadas com sementes artificiais contendo 0,05%- 2% de farinha dos cotilédones de *Ormosia arbórea*, *Sapindus saponária* e *Myroxilon peruiferum* foi reduzida em mais de 60% quando comparadas com as larvas controle.

Quanto ao comprimento larval, percebeu-se que o genótipo Monteiro foi quem se destacou apresentando comprimento larval acima de 3mm diferindo do genótipo MNC05828B-3-15 e o controle cv. Fradinho. (Figura 5A). Resultado das imagens referente às larvas nos genótipos estudados (Figura 5B)

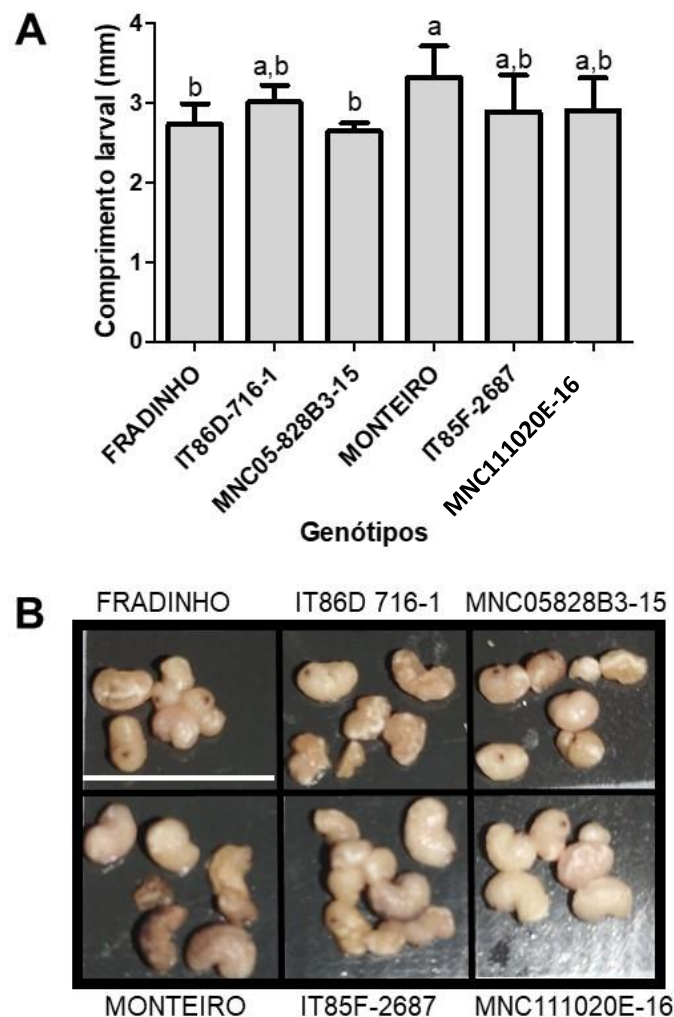


Figura 5. Comprimento e fotografia das larvas de *Callosobruchus maculatus* em sementes artificiais compostas 100% com farinha dos cotilédones dos genótipos cv. Fradinho (controle), IT86D-716-1, MNC05-828B3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão-caupi. A: Comprimento larval (mm) 20 DAO dias após a oviposição). B: Fotografia das larvas desenvolvidas em sementes artificiais. Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. As médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Embora não tenha sido observado redução na sobrevivência larval, no comprimento larval e diferença significativa entre os genótipos quanto a massa larval, foi possível constatar baixa emergência de insetos pelo genótipo IT81D-2687 de 20% em relação ao controle (cv. Fradinho) e atrasos na emergência dos insetos em dias.

Nas sementes utilizadas como controle (cv. Fradinho) o ciclo do *C. maculatus* se encerra entre 25 e 30 DAO, entretanto, nos genótipos estudados, foi possível observar emergência de insetos adultos só a partir do 30º DAO. Enquanto mais de 90% dos insetos adultos emergiram das sementes de Fradinho até o 30º DAO (dados não mostrados), o percentual total de emergência dos adultos, somados os insetos emergidos entre o 30º até o 40º DAO, variou de no máximo 66,6% para os genótipos IT86D-716-1, Monteiro e MNC11-1020E-16 até o menor percentual, que foi de 22,2 %, para a genótipo IT85F-2687 (Figura 6). Quando avaliada a emergência diariamente, a partir do 30º DAO (Figura 7), foi observado que o genótipo IT86D-716-1 (Figura 7A) foi o que apresentou o maior atraso, tendo emergência de insetos a partir do 32º até o 37º seguido pelo IT85F-2687 com início aos 31º até 37º DAO (Figura 7D).

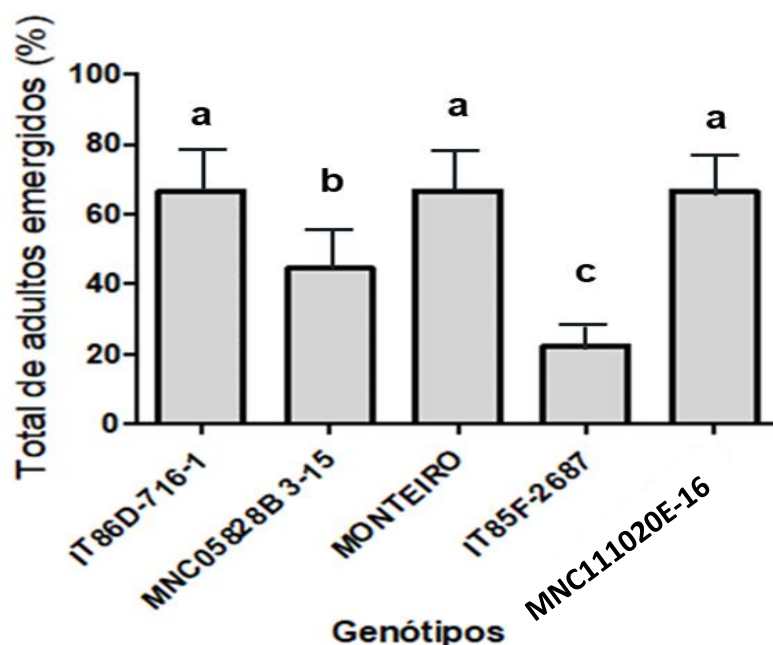


Figura 6. Emergência total de insetos adultos de *Callosobruchus maculatus* até 40 DAO (Dias Após a Oviposição) em sementes artificiais compostas 100% com farinha dos cotilédones de sementes dos genótipos IT86D-716-1, MNC05-828B-3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão-caupi. Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

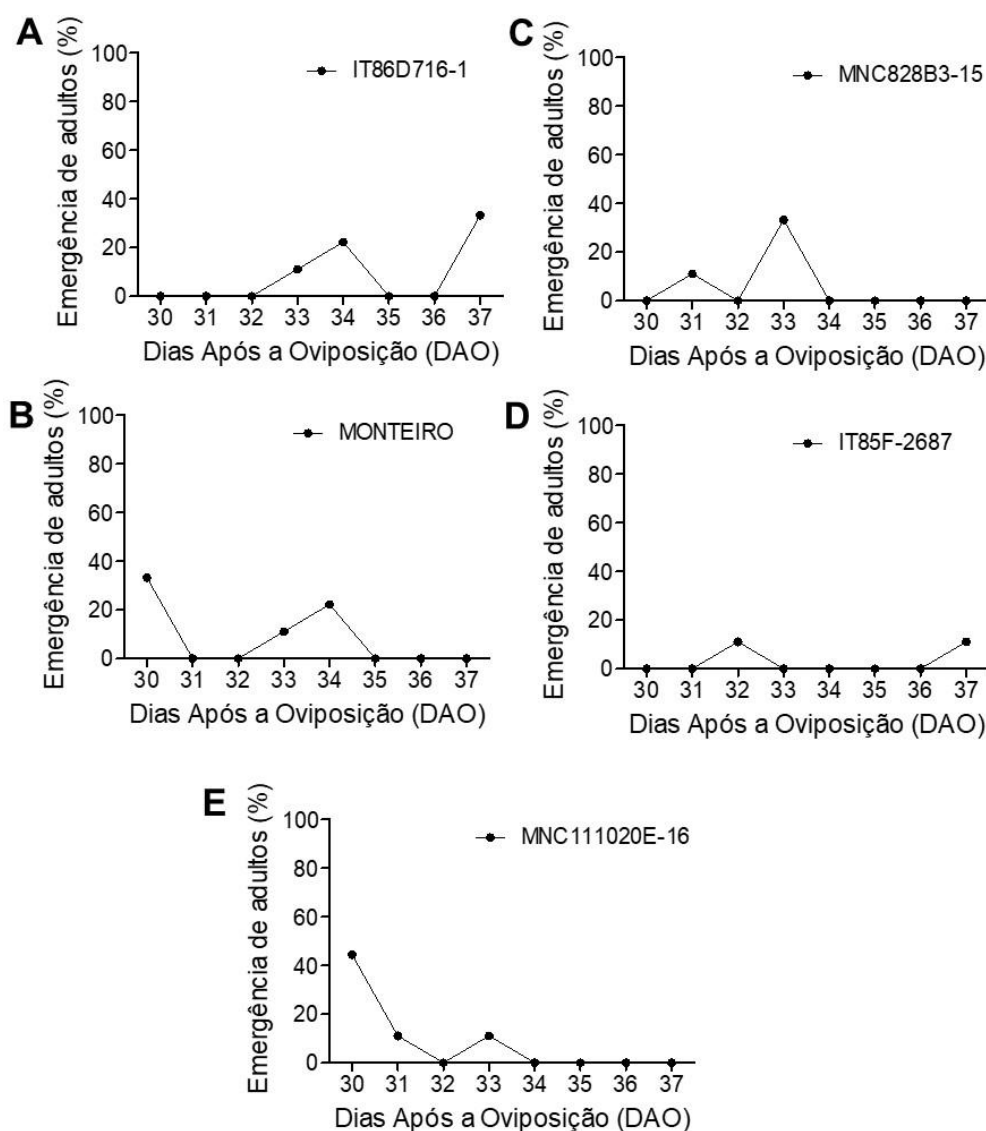


Figura 7. Emergência diária de insetos adultos de *Callosobruchus maculatus*, entre o 30º e 40º DAO (Dias Após a Oviposição) em sementes artificiais compostas 100% com farinha dos cotilédones de sementes dos genótipos IT86D716-1, MNC05-828B-3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC11-1020E-16 de feijão-caupi. A: IT86D-716-1, B: MNC05-828B-3-15, C: Monteiro, D: IT85F-2687 e E: MNC11-1020E-16.

Cruz *et al.* (2016) em estudo com genótipos de feijão-caupi avaliando a resistência em sementes naturais, constataram que a variedade BRS Guariba apresentou baixa emergência de insetos de *C. maculatus* (32,57%) e prolongamento no período de desenvolvimento (30,4 dias). Neste trabalho com sementes artificiais da farinha dos cotilédones, o genótipo IT85F-2687 foi quem apresentou menor

percentual de adultos emergidos de 22% e o prolongamento do período de desenvolvimento em 37 dias caracterizando-se com resistência do tipo antibiose a *C. maculatus*.

Para Araujo e Watt (1988) a resistência do tipo antibiose, caracteriza-se não só pelo alongamento no período de desenvolvimento do inseto, mas também, pela redução na emergência de *C. maculatus* em sementes de feijão-caupi. Melo *et al.* (2012) avaliando a resistência de genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* concluíram que o genótipo TE96-290-12G, em teste sem chance de escolha, apresentou menor emergência de insetos adultos considerando-o como o mais resistente.

Medeiros *et al.* (2017) avaliando a resistência de genótipos em sementes naturais observou que os genótipos IT85F-2687 apresentou a menor média de insetos emergidos (42,88) e do período médio de desenvolvimento em F1 e F2 (23,18 e 23,16, respectivamente). Embora esse trabalho tenha sido realizado com sementes artificiais da farinha de cotilédones dos genótipos de feijão-caupi, ele está alinhado com o resultado encontrado por Medeiros *et al.*, (2017) quanto à redução na emergência de insetos pelo genótipo IT85F-2687, diferindo quanto ao período médio de desenvolvimento do inseto em dias, pois em sementes artificiais ocorreu um atraso de cinco a seis dias (30 ou 31 dias) para início da emergência de adultos em relação às sementes naturais que ocorre aos vinte cinco a trinta dias.

Cabe ressaltar que esse comportamento, possivelmente, esteja relacionado com as características da semente. Pois uma semente integra possui sua dureza, porosidade, composição interna bem equilibrada. Quando essa semente é desfeita e refeita, sua dureza, porosidade equilíbrio composicional são alterados, dificultando, possivelmente, o desenvolvimento do inseto, além de fatores tóxicos nelas presentes. Uma digestão e absorção inadequadas podem prejudicar o desenvolvimento larval e levar ao prolongamento do período de desenvolvimento do inseto (Dantzger *et al.* 2015), reduzindo significativamente o número de gerações.

Resultado semelhante ao encontrado nessa pesquisa quanto a emergência de insetos foi observado por Castro *et al.* (2013) em sementes naturais de genótipos de feijão-caupi quando constataram baixa emergência de *C. maculatus* no genótipo IT85F-2687 com menos de 35 insetos e nos genótipos IT86D-716- 1 e Monteiro elevada emergência de insetos, 64 para os dois genótipos.

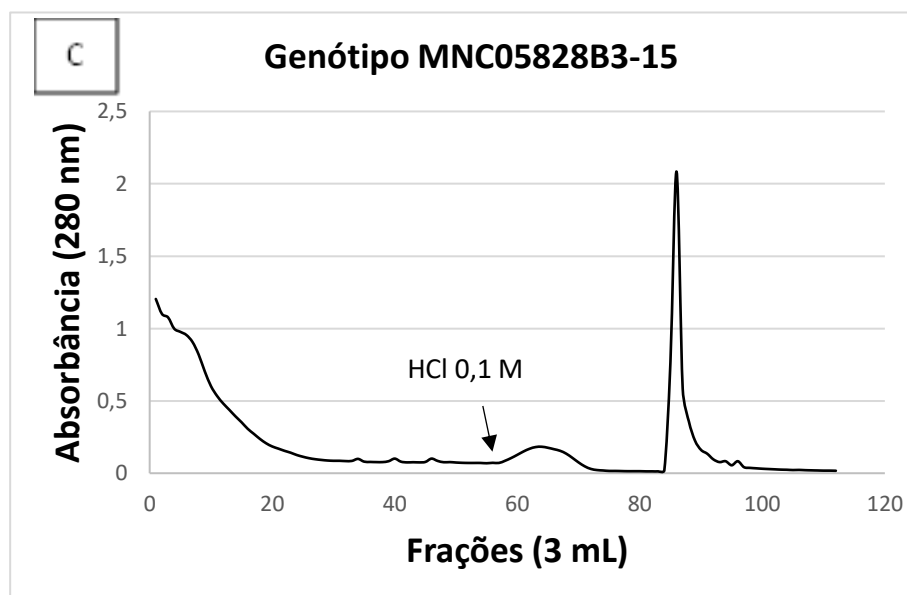
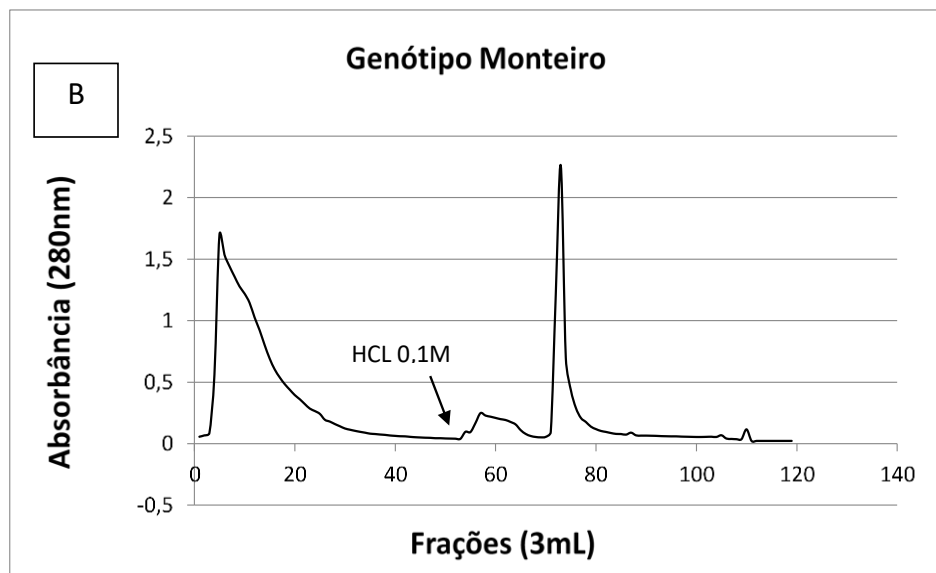
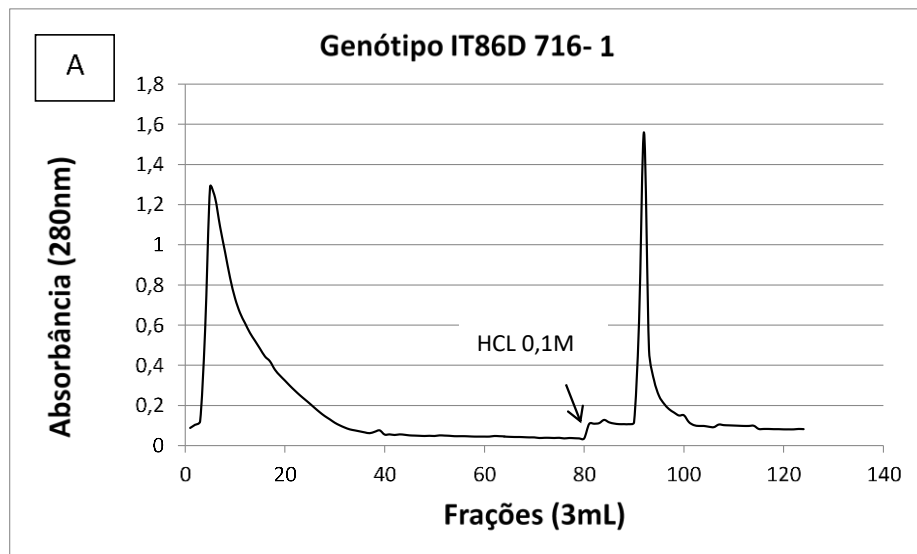
O número de insetos emergidos é considerado um parâmetro importante para se caracterizar um genótipo com resistência do tipo antibiose. A emergência de

insetos se constitui uma variável de relevância para se considerar um genótipo com antibiose devido a presença de inibidores de proteases presente nas sementes (Silva-Filho; Falcon, 2014) que afetam significativamente a alimentação e a conversão do alimento em ganho de peso e comprimento, dificultando o desenvolvimento e culminando com a mortalidade de larvas. A resistência de alguns genótipos de feijão-caupi tem sido relacionada com a presença de proteínas de reservas globulinas, do tipo vicilinas, que possuem afinidade à quitina. Essas proteínas se ligariam a matriz peritrófica, bloqueando processos importantes como a digestão, a absorção de nutrientes, a reciclagem das enzimas digestivas e as funções protetivas que essa matriz representa para o epitélio intestinal do inseto.

3.3 ISOLAMENTO E VISUALIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS COM AFINIDADE A QUITINA DOS COTILÉDONES DOS GENÓTIPOS DE FEIJÃO-CAUPI

As proteínas com afinidade a quitina foram isoladas por cromatografia de afinidade a partir de extratos proteicos totais dos cotilédones dos cinco genótipos. Os resultados mostraram a presença de frações retidas na coluna de quitina em todos os genótipos, indicando a presença de proteínas com afinidade a quitina nos genótipos estudados. Essas proteínas retidas à quitina foram eluídas com HCL 0,1M (Figura 8).

A visualização do perfil proteico das amostras de cada genótipo avaliado foi realizada por meio de gel poliacrilamida 12% (Figura 9). Os resultados mostram uma riqueza de bandas proteicas, com massas moleculares variadas, onde se pode observar uma predominância de proteínas com massas moleculares ente 70 e 40 KDa. Essas massas moleculares coincidem com as massas moleculares apresentadas pelos monômeros das proteínas do tipo vicilinas (Macedo *et al*, 1993; Ferreira *et al.*, 2021; Ventury *et al.*, 202



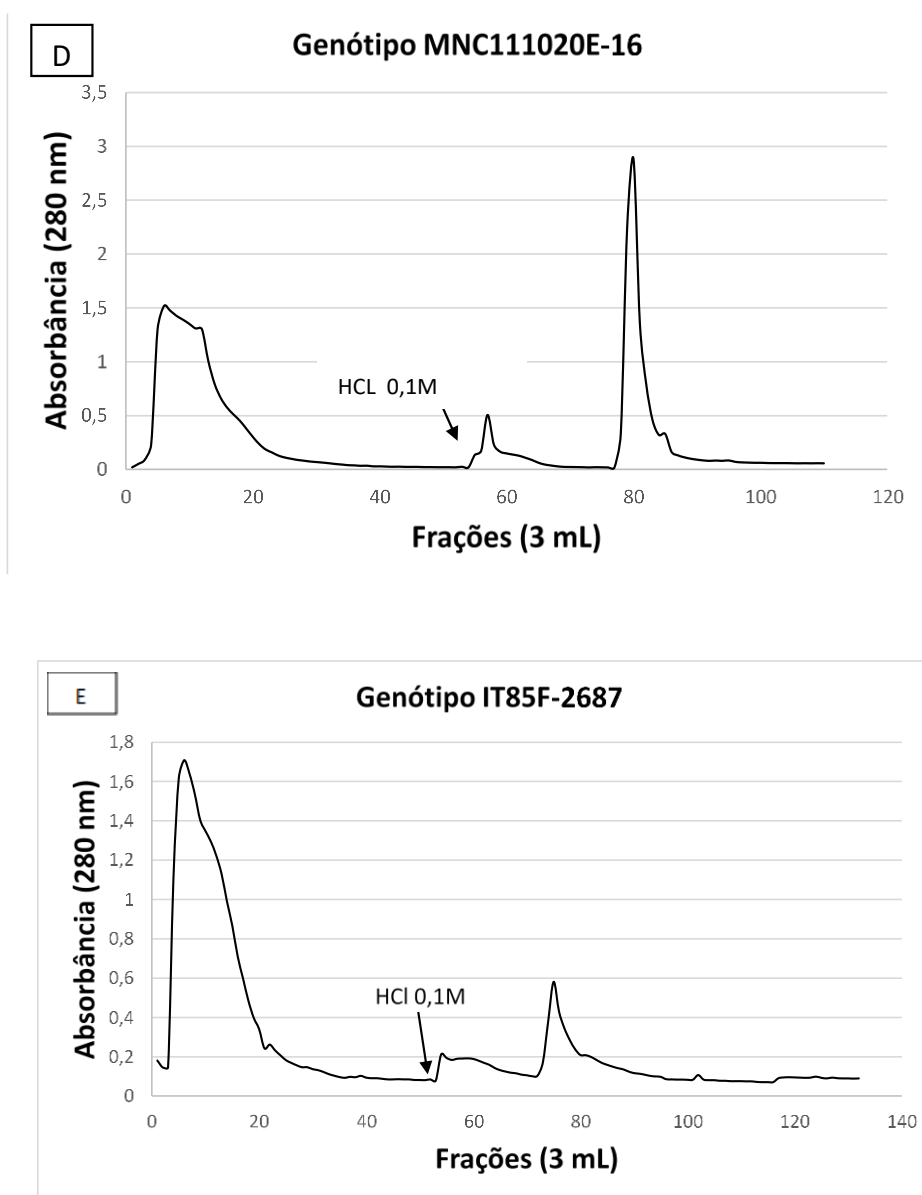


Figura 8. (A, B, C, D, E) Perfil cromatográfico em coluna de afinidade a quitina das proteínas extraídas dos cotilédones dos genótipos de feijão-caupi. A) IT86D716-1, B) MONTEIRO, C) MNC05828B-3-15, D) MNC111020E-16, E) IT85F-2687. As frações não retidas foram eluídas com tampão acetato de sódio pH 6,0 e as frações retidas foram eluídas com HCL 0,1M. A cromatografia se processou com um fluxo de 1mL/min e foram coletadas frações de 3mL/tubo. A absorbância das frações foi medida em comprimento de ondas de 280 nm.

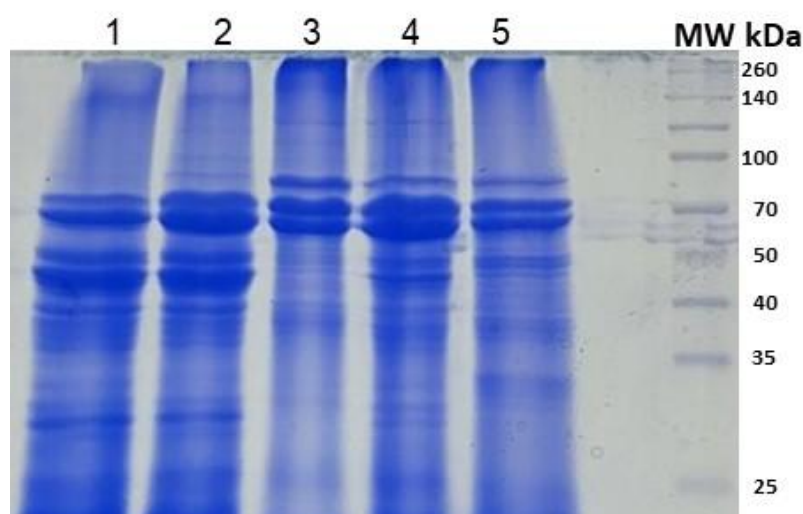


Figura 9. Visualização de proteínas em gel de eletroforese em poliacrilamida 12%, na presença do detergente dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Visualização das proteínas obtidas nas frações retidas na coluna de afinidade à quitina dos cotilédones dos genótipos 1) IT85F- 2687; 2) IT86D716-1; 3) MONTEIRO; 4) MNC05828B3-15; 5) MNC111020E-16. MW: Marcador de massa molecular em kDa.

3.4 PERFORMANCE DE DESENVOLVIMENTO DAS LARVAS DE *Callosobruchus maculatus* EM SEMENTES ARTIFICIAIS CONTENDO A FRAÇÃO DE PROTEÍNAS RETIDAS EM QUITINA

As frações das proteínas com afinidade a quitina foram incorporadas em sementes artificiais em concentração de 1 e 5%. A sobrevivência das larvas de *Callosobruchus maculatus* desenvolvidas em sementes artificiais contendo 1% das proteínas retidas em quitina dos genótipos foi semelhante ao controle (cv. Fradinho) (Figura 10). Entretanto não houve larva sobrevivente nas sementes contendo 5% das frações das proteínas retidas em quitina em nenhum dos genótipos (Dados não mostrados).

Ferreira *et al.*, (2021) ao avaliarem a toxicidade para *C. maculatus* de proteínas que se ligam à quitina isoladas da cv. Xiquexique mostraram que a 5% da fração de proteínas afetaram em 70% a sobrevivência larval. Nessa pesquisa, essa fração obtida de todos os genótipos avaliados foi letal às larvas de *C. maculatus*. Isso mostra que a potencial tóxico de cada genótipo de feijão-caupi ao referido inseto é intrínseco à cada um, estando relacionado com a sua composição química.

Oliveira *et al.* (2014) estudaram a atividade inseticida das vicilinas de feijão-caupi IT81D-1053 e mostraram que a 0,5% das vicilinas afetou a sobrevivência larval. Nesse trabalho, as proteínas que se ligam à quitina 1% não afetou a sobrevivência larval de *C. maculatus*.

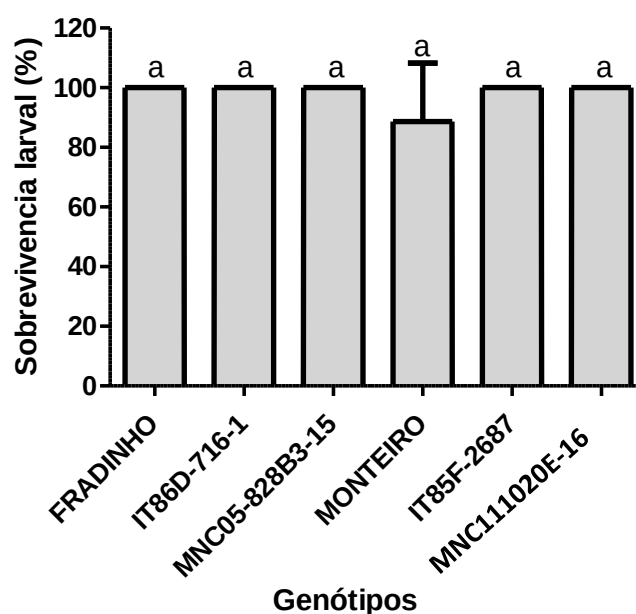


Figura 10. Sobrevivência larval de *Callosobruchus maculatus* em sementes artificiais contendo 0 e 1% da fração de proteínas que se ligam à quitina dos cotilédones dos genótipos IT86D716-1, MNC05-828B3-15, MONTEIRO, IT85F-2687, MNC111020E-16 de feijão-caupi. Sobrevivência larval (%) 20 DAO. Cv Fradinho (controle). Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. As médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

O efeito tóxico de alguns genótipos de feijão-caupi tem sido relacionado às Proteínas que se ligam à quitina como vicilinas e quitinases, as quais estão presentes em sementes, inclusive na espécie acima, afetando a sobrevivência de larvas de insetos (Silva *et al.*, 2018), pois essas proteínas se ligam à quitina do intestino médio do inseto e interfere nas funções importantes da matriz peritrófica dele que protege o epitélio absorptivo, da abrasão por partículas de alimento, ataque de micro-organismos, bem como, na reciclagem de enzimas digestivas (Terra, 2001). Isso tem sido sugerido em muitos trabalhos sobre a toxicidade de vicilinas com afinidade a quitina sobre o desenvolvimento de larvas de *C. maculatus* (Macedo *et al.*, 1993; Yunes *et al.*, 1998; Sales *et al.*, 2001, Oliveira *et al.*, 2014, Miranda *et al.*, 2020).

Quanto a massa e o comprimento larval, pode-se constatar que foram diminuídos aos 20 DAO em sementes contendo 1% das proteínas retidas em quitinas dos genótipos avaliados. As maiores reduções nas massas das larvas foram observadas nos genótipos MNC05-828B3-15 e IT86D716-1, IT85F-2687 e MNC11-1020E-16 com reduções de 81,6; 77,9%, 76% e 73%, respectivamente em relação ao controle (cv. Fradinho) que reduziu apenas 26,7% (Figura 11).

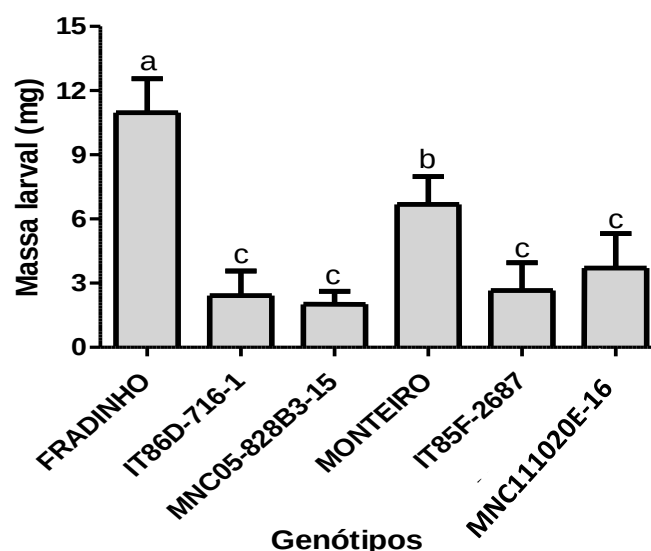


Figura 11. Massa larval de *Callosobruchus maculatus* em sementes artificiais contendo 1% da fração de proteínas que se ligam à quitina dos cotilédones dos genótipos resistentes de feijão-caupi IT86D-716-1, MNC05-828B3-15, Monteiro, IT85F-2687, MNC111020E-16. Sobrevivência larval (%) 20 DAO. Cv Fradinho (controle). Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. As médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Com relação as diminuições nos comprimentos, são observadas reduções próximas a 50% nas larvas desenvolvidas nas sementes contendo as frações dos IT86D-716-1, IT85F-2687, MNC05-828B-3-15 e MNC11-1020E-16 em relação ao controle (cv. Fradinho) que permitiu um comprimento de 3mm correspondendo a 75% do comprimento máximo (4mm) (Figura 12).

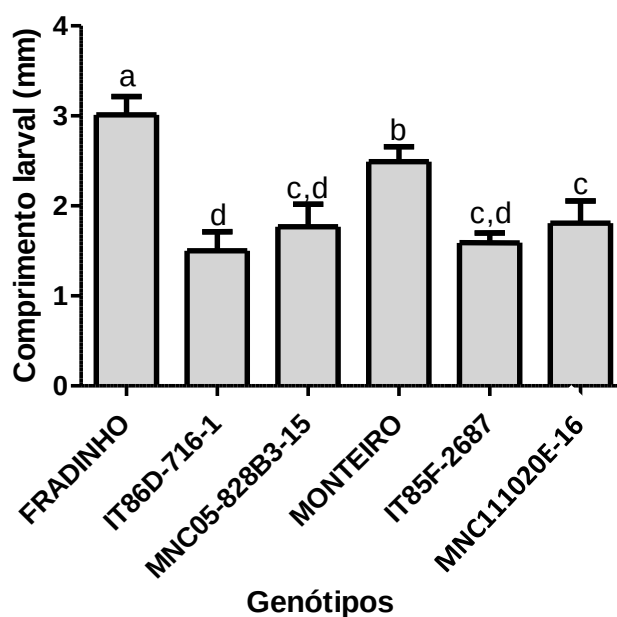


Figura 12. Comprimento larval de *Callosobruchus maculatus* em sementes artificiais contendo 1% da fração de proteínas que se ligam à quitina dos cotilédones dos genótipos IT86D716-1, MNC05-828B3-15, MONTEIRO, IT85F-2687, MNC111020E-16 de feijão- caupi. Sobrevivência larval (%) 20 DAO. Cv Fradinho (controle). Os dados representam médias de 3 experimentos independentes. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

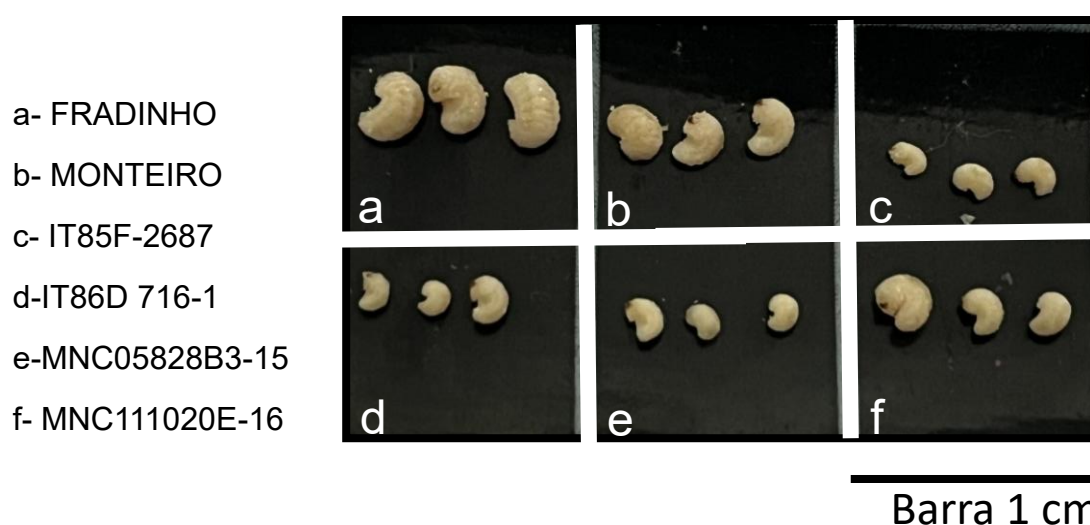


Figura 13. Fotografia das larvas de *Callosobruchus maculatus* desenvolvidas em sementes artificiais contendo 1% de fração de proteínas retidas em quitina dos genótipos avaliados. As larvas se desenvolveram por 20 DAO (Dias Após a Oviposição).

As Proteínas que se ligam à quitina como vicilinas e quitinases são consideradas fatores tóxicos presentes em sementes, inclusive em feijão-caupi, afetando a sobrevivência de larvas de insetos (Silva *et al.*, 2018) pois essa ligação interfere nas funções importantes da matriz peritrófica do inseto que protege o epitélio absorptivo, da abrasão por partículas de alimento, ataque de micro-organismos, bem como, na reciclagem de enzimas digestivas (Terra, 2001), o que vem sendo sugerido em muitos trabalhos sobre a toxicidade de vicilinas com afinidade a quitina sobre o desenvolvimento de larvas de *C. maculatus* (Macedo *et al.*, 1993; Yunes *et al.*, 1998; Sales *et al.*, 2001, Oliveira *et al.*, 2014, Miranda *et al.*, 2020).

Ventury *et al.* (2022) em pesquisa para a identificação de genótipos de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus*, mostraram que a concentração de 1% de proteínas que se ligam à quitina dos genótipos BO 1-5-19; BO 1-5-15 reduziram a massa larval em 81,4% e 76%, respectivamente, enquanto as frações isoladas dos genótipos PO 1-5-4 reduziu 50,7% e do genótipo BRS Imponente 60.1%. As maiores reduções de massa larval foram observadas nos genótipos MNC828B3-15, IT86D- 716- 1, IT85F-2687 e MNC11-1020E-16, com 81,6%; 77,6%; 76% e 73%, respectivamente. As reduções nos parâmetros biológicos do inseto como massa e comprimento larval é um indicativo de resistência do tipo antibiose pela ação antinutricional do alimento às

larvas, pelo fato de a matriz peritrófica que reveste as células epiteliais no trato digestivo de insetos, está diretamente exposta ao conteúdo da dieta, o que a torna possível alvo para proteínas de defesa de sementes (Peumans; Van Damme, 1995). Paes et al., (2008) observaram que as vicilinas que se ligam a quitina, isoladas da cv. IT81D 1045 em concentração de 2% prejudicaram o crescimento e a sobrevivência de *Tenebrio molitor* (Paes et al., 2008), pela ligação dessas proteínas a quitina constituinte da matriz peritrófica que reveste o intestino médio dessa praga, similarmente ao mostrado para *C. maculatus*.

Resultado obtido por França et al. (2021) ao realizarem pesquisa com vicilinas isoladas da espécie de leguminosa *Anadenathera colubrina* e adicionadas a dieta de *C. maculatus* em frações proteicas de 0,02; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 e 2,0 %, mostraram que a concentração 0,5% reduziu a sobrevivência larval. Nessa pesquisa a concentração de 1% de proteínas dos genótipos que se ligam à quitina não afetou a sobrevivência larval, mas a 5% foi letal às larvas de *C. maculatus*, indicando que as proteases presentes no intestino médio do inseto foram incapazes de hidrolisar essa fração proteica 5% que se ligou à quitina e dificultou a assimilação de nutrientes, levando à mortalidade de formas jovens. Para Macedo et al., (2008) vicilinas com afinidade a quitina, isoladas de genótipos de *V. unguiculata* resistentes a *C. maculatus*, além de se ligarem a quitina, ainda apresentam maior resistência à proteólise por proteases do intestino das larvas (Macedo et al. 2008), que tem sido considerado o fator de toxicidade ao referido inseto (Miranda et al., 2020).

Ademais, a falta de assimilação de nutrientes essenciais causa uma digestão deficiente em nutrientes essenciais às larvas, prejudicando significativamente o seu desenvolvimento. Uma alimentação inadequada alonga o período de desenvolvimento do inseto, fazendo com que a larva tenha dificuldade de atingir ecdises distintas, afeta o ganho de peso e comprimento e, até mesmo, a sobrevivência larval. Domingues et al. (2016) isolaram vicilinas tanto dos cotilédones como do eixo embrionário das sementes do genótipo resistente IT81D1045 e mostraram que as vicilinas dos cotilédones em concentrações de 2% e 4% reduziram em 44% e 94% a massa larval, respectivamente. Entretanto as vicilinas do eixo embrionário nas mesmas concentrações só reduziram as massas em 5 e 22% respectivamente, mostrando que essas vicilinas tem propriedades tóxicas distintas, embora sejam provenientes da mesma semente.

Vicilinas isoladas dos tegumentos de sementes de *Albizia lebbbeck* também apresentaram ação tóxica para *C. maculatus*. Em concentração de 0,1% essas vicilinas foram capazes de reduzir a massa larval em 78% (Souza *et al.*, 2012). Dentre as proteínas que se ligam à quitina, tem-se quitinases e algumas lectinas que também têm sido relatadas como tóxicas para *C. maculatus*. A exemplo, Salzman *et al.* (1998) em trabalho realizado com folhas de *Griffonia simplicifolia*, mostraram atividade inseticida de proteína lectina em dieta artificial e correlacionaram a toxicidade com a resistência à degradação proteolítica por extratos do intestino médio do inseto e com a ligação específica a quitina do trato digestivo do inseto. Percebe-se, portanto que mesmo sendo espécies distintas, e tecidos vegetais distintos, as proteínas de ligação à quitina, apresentam em comum, o potencial tóxico para *C. maculatus*.

4 CONCLUSÕES

4.1 Experimento com sementes naturais de genótipos de feijão – caupi

- Nenhum dos genótipos reduz a oviposição de *Callosobruchus maculatus*;
- A sobrevivência larval, a massa larval e o comprimento larval são afetados pelos genótipos de feijão-caupi, que apresentam resistência do tipo antibiose a *C. maculatus*;

4.2 Experimento com sementes artificiais com 100% da farinha dos cotilédones de genótipos de feijão – caupi

- A sobrevivência larval e o comprimento larval são afetados pelos genótipos de feijão-caupi, mas a massa não. Os genótipos afetam a emergência de insetos e provocam atrasos na emergência de insetos em dias.

4.3 Experimento com frações 1 e 5% de proteínas que se ligam a quitina presente na farinha dos cotilédones de genótipos de feijão – caupi

- Em todos os cotilédones dos genótipos de feijão-caupi avaliados são detectadas Proteínas com afinidade a quitina e as proteínas majoritárias isoladas nessas frações apresentam massas moleculares entre 70 e 40 kDa.
- A fração de 1% da proteína que se liga à quitina reduz a massa larval e o comprimento larval;
- Na concentração de 5%, as frações proteicas são letais para as larvas de *C. maculatus*.

Recomendações

De acordo com os resultados encontrados, os genótipos de feijão-caupi IT85F-2687, MNC11-1020E-16, IT86D- 716-1 e MNC05828B3-15 apresentam proteínas que se ligam à quitina e são tóxicas a *C. maculatus*. Nesse sentido, esses genótipos podem ser utilizados em futuros cruzamentos no programa de melhoramento do feijão-caupi.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, E. K. V.; RODRIGUES, R.; BARD, G. C. V.; PEREIRA, L. S.; BAPTISTA, K. E. V.; CAVALCANTI, T. F. M.; OLIVEIRA, A. E. A.; SOUZA, T. A. M.; GOMES, V. M. Identification, biochemical characterization and biological role of defense proteins from common bean genotypes seeds in response to *Callosobruchus maculatus* infestation. **Journal of stored Products Research**, v. 87, p. 101580, 2020.
- ARAÚJO, J.P.P.; WATT, E.E. **O caupi no Brasil**. Brasília: EMBRAPA-CNPAF, 1988. 722p.
- BARBOSA, D. R. S.; FONTES, L. S.; MELO, R. S.; ROCHA, L. I. R.; LIMA, M. S. Resistência de genótipos de feijão-caupi ao ataque de *Zabrotes subfasciatus* (BOHEMAN, 1833) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE:BRUCHINAE). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 4, p.70-77, 2011.
- BECK, C.W.; BLUMER, L. S. **A handbook on bean Beetle, *Callosobruchus maculatus***. National Science Foundation, p.1-17, 2014.
- CASTRO, M. J. P.; BALDIN, E. L.; CRUZ, P. L.; SOUZA, C. M.; SILVA, P. H. S. Characterization of cowpea genotype resistance to *Callosobruchus maculatus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.9, p.1201-1209, 2013.
- CRUZ, L. P.; DE SÁ, L. F. R.; SANTOS, L. A.; GRAVINA, G. A.; CARVALHO, A. O.; FERNANDES, K. V. S.; FREIRE FILHO, F. R.; GOMES, V. M.; OLIVEIRA, A. E. A. Evaluation of resistance in different cowpea cultivars to *Callosobruchus maculatus* infestation. **Journal of Pest Scienci**, v.89, n.1, p.117–128, 2016.
- COSTA, N. P.; BOIÇA -JUNIOR, A. L.; Efeito de genótipos de caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. sobre o desenvolvimento de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, n.1, p. 77-83, 2004.
- DANTZGER, M.; VASCONCELOS, I. M.; SCORSATO, V.; APARICIO, R.; MARANGONI, S.; MACEDO, M. L. R. Bowman–Birk proteinase inhibitor from *Clitoria fairchildiana* seeds: isolation, biochemical properties and insecticidal potential. **Phytochemistry**, v.118, p. 224-235, 2015.
- DE SÁ, L. F. R.; WERMELINGER, T. T.; RIBEIRO, E. S.; GRAVINA, G. A.; FERNANDES, K, V, S.; XAVIER-FILHO, J.; VENANCIO, T. M.; REZENDE, G. L.; OLIVEIRA, A. E. A.; Effects of *Phaseolus vulgaris* (Phabaceae) seed coat on the embryonic and larval development of the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal Insect Physiology**, v. 60, p. 50-57, 2014.
- DICK, K. M.; CREDLAND, P. F. Changes in the response of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) to a resistant variety of cowpea. **Journal Stored Product Research**, v. 22, n.4, p.227-233, 1986.
- DELOBEL, A. TRAN, M. SEMBENE, M. Influence du choix alimentaire sur la fécondité et le développement larvaire des caryedon des légumineuses (Coleoptera: Bruchidae) au Senegal. **Ann Soc. Entomol.**, v. 36, n. 1, p. 61-73, 2000.

DOMINGUES, S. J. S.; MELO, F. R.; AGUIAR, J. M.; AFFONSO, A. G.; GIULI, J. S. A.; ROSE, J. L.; SALES, M. P.; MACHADO, L. F.; AZEVEDO, C. C. R.; CUNHA, P. C.; UCHÔA, A. F.; OLIVEIRA, A. E. A.; XAVIER-FILHO, J.; FERNANDES, K. V. S. Resistance of *Vigna unguiculata* (cowpea) seeds to *Callosobruchus maculatus* is restricted to cotyledonary tissues. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 12, p. 1977-1985, 2006.

FERREIRA, S. R. **Toxicidade de proteínas com afinidade a quitina de cultivares de *Vigna unguiculata* para o inseto *Callosobruchus maculatus*** 2018. Dissertação (Mestrado em Biociência e Biotecnologia) Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2018.

FERREIRA, S. R.; ROCHA, M. M.; DAMASCENO-SILVA, K. J.; FERREIRA, A. T. S.; PERALES, J.; FERNANDES, K. V. S.; OLIVEIRA, A. E. A. The resistance of the cowpea cv. BRS Xiquexique to infestation by cowpea weevil is related to the presence of toxic chitin- binding proteins. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 173, p.104782, 2021.

FERREIRA, S. R.; SILVA, K. M.; SIMÃO, B. R.; VENTURY, K. E. B.; PASCHOA, R.; SILVEIRA, V.; FERNANDES, K. V. S.; OLIVEIRA, A. E. A. Seeds of non-host species as sources of toxic compounds for the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (F.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 200, p.105829, 2024.

FRANÇA, A. F. J.; ARAUJO, J. N.; SANTOS, Y. Q.; CARELLI, G. S. C.; SILVA, D. A.; AMORIM, T. M. L.; MIGLIOLO, L.; SANTOS, E. A.; OLIVEIRA, A. S.; UCHÔA, A. F. Vicilin from *Anadenanthera colubrina* seeds: an alternative tool to combat *Callosobruchus maculatus*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 9, p. 5229- 5237, 2020.

FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**, Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, 519p.

GATEHOUSE, A. M. R.; GATEHOUSE, J. A.; DOBIEA, P.; KILMINSTER, A. M.; BOULTER, D. Biochemical basis of Insect resistance in *Vigna unguiculata*. **Journal Sicence Food Agriculture**, v.30, n.10, p. 948-958, 1979.

GBAYER, O.; HOLLOWAY, G. Varietal effects of cowpea, *Vigna unguiculata*, on tolerance to malathionin *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of stored Products Research**, v. 47, n. 4, p. 365-371, 2011.

GARCIA, J. F.; PRADO, S. S.; VENDRAMIM, J. D.; BOTELHO, P. S. M. Effect of sugarcane varieties on the development of *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 37 n.1, p. 16-20, 2011.

HUESING, J. E.; SHADE, R. E.; CHRISPEELS, M. J.; MURDOCK, L. L. α -Amylase Inhibitor, not phytohemagglutinin, explains resistance of common Bean seeds to cowpea Weevil. **Plant Physiology**, v.96, n. 3, p. 993-996, 1991.

KALPINA, HAJAM, Y. A.; KUMAR, R. Management of stored grain pest with special reference to *Callosobruchus maculatus*, a major pest of cowpea: a review. **Helyon**, v. 8, e08703, 2022.

KÉBÉ, K.; ALVAREZ, N.; ESPÍNDOLA, A. Oviposition choice and larval development of the seed beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) on three cowpea varieties. **Journal of Stored Products Research**, v. 86, p. 101578, 2020.

KENENI, G.; BEKELE, E.; GETU, E.; IMTIAZ, M.; DAMTE, T.; MULATU, B.; DAGNE, K. Breeding food legumes for resistance to storage Insect pests: potential and limitations. **Sustainability**, v. 3, n. 9, p. 1399-1415, 2011.

LEPHALE, S.; ADDO-BEDIAKO, A.; AYODELE, V. Susceptibility of seven cowpea cultivars (*Vigna unguiculatus*) to cowpea beetle (*Callosobruchus maculatus*) **Agricultural Science Research Journal**, v. 2, n. 2, p. 65-69, 2012

MACEDO, M. L. R.; ANDRADE, L. B. S.; MORAES, R. A.; XAVIER- FILHO, J. Vicilin variants and the resistance of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds to the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*). **Camp. Biochem. Physiol.** v. 105, n. 1, p. 89-94, 1993.

MACEDO, L. L. P.; AMORIM, T. M. L.; UCHÔA, A. F.; OLIVEIRA, A. S.; RIBEIRO, J. K. C.; DE MACEDO, F. P.; SANTOS, E. A.; DE SALES, M. P. Larvicidal effects of a chitin -biding vicilin from *Erytrina velutina* seeds on the mediterranean fruit fly *ceratitis capitata*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 3, p. 802-808. 2008.

MEDEIROS, A. M. C. S. 2020. **Avaliação da resistência de genótipos crioulos de feijão-caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae)** Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal Rural de Pernambuco- Programa de Pós -Graduação em Produção Vegetal. Serra Talhada- PE, p.76, 2020.

MEDEIROS W. R.; SILVA, J. D. C.; SILVA, P. R. R.; GIRÃO-FILHO, J. E.; PÁDUA, L. E. M.; FRANÇA, S. M. Resistência de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) ao ataque do caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Entomobrasilis**, v. 10, n. 1, 2017.

MELO, A. F.; FONTES, L. S.; BARBOSA, D. R. S.; ARAUJO, A. A. R.; SOUSA, E. P. S.; SOARES, L. L. L.; SILVA, P. R. R. Resistência de genótipos de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.3, p.425-429, 2012.

MESSINA, F. J.; JOHNSON, D. Specificity of adaptation to a novel host plant by a seed beetle. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 153, n.3, p. 231-239, 2014.

MESSINA, F. J.; LISH, A. M.; GOMPERT, Z. Components of cowpea resistance to the seed beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Economic Entomology**, v.112, n.5, p. 2418–2424, 2019.

MESSINA, F. J.; JONES, J. C.; MENDENHALL, M.; MULLER, A. Genetic Modification of Host Acceptance by a Seed Beetle, *Callosobruchus Maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.102, n.1, p. 181-188, 2009.

OLIVEIRA, G. B.; KUNZ, D.; PERES, T. V.; LEAL, R. B.; UCHÔA, A. F.; SAMUEL, R. I.; MACEDO, M. L. R.; CARLINI, C. R.; RIBEIRO, A.; GRANJEIRO, T. B.; TERRA, W. R.; XAVIER-FILHO, J.; SILVA, C. P. Variant vicilins from a resistant *Vigna unguiculata* lineage (IT81D-1053) accumulate inside *Callosobruchus maculatus* larval midgut epithelium. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v. 168, p. 45–52, 2014.

OLIVEIRA, O. A.; FERREIRA, S. R.; RIBEIRO, E. S.; FERREIRA, A. T. S.; PERALES, J.; FERNANDES, K. V. S.; OLIVEIRA, A. E. A. Deleterious effects of *Schinus terebinthifolius* raddi seed flour on cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.), larval development. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 183, p. 105082, 2022.

PAES, E.V.; UCHÔA, A. F.; PINTO, M. S. T.; SILVA, C. P.; FERNANDES, K. V. S.; OLIVEIRA, A. E. A.; XAVIER-FILHO, J. Binding of *Vigna unguiculata* vicilins to the peritrophic membrane of *Tenebrio Molitor* affects larval development. **Entomol. Exp. Appl.** v.129, n.1, p. 11–17, 2008.

PEDRA, J. H. F.; LOBO, N. F.; WESTERMAN, R.; LI-BYARLAY, H. Transcriptome analysis of the cowpea weevil bruchid: Identification of putative proteinases and amylases associated with food breakdown. **Insect Molecular Biology**, v.12, n.4, p. 405–412. 2003.

SATYA, S.; KADIAN, N.; ARJOO; KAUSHIK, G.; SHARMA, U. Impact of chemical pesticides for stored grain protection on environment and human health. In: NAVARRO S., Jayas DS, Alagusundaram K, (Eds.) **Proceedings of the 10th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products**. CAF Permanent Committee Secretariat, Winnipeg, Canadá, p. 92-97, 2016.

SALES, M. P.; PIMENTA, P. P.; PAES, N. S.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; XAVIER-FILHO, J. Vicilins (7S storage globulins) of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds bind to chitinous structures of the midgut of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 27-34, 2001.

SALES, M. P.; ANDRADE, L. B.S.; ARY, M. B.; MIRANDA, M. R. A.; TEIXEIRA, F. M.; OLIVEIRA, A. S.; FERNANDES, K. V. S.; XAVIER-FILHO, J. Performance of bean bruchids *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) reared on resistant (IT81D-1045) and susceptible (Epace 10) *Vigna*

unguiculata seeds: relationship with trypsin inhibitor and vicilin excretion. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 142, n. 4, p. 422 – 426, 2005.

SECK, D. Resistance to *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) in some Cowpea varieties from Senegal. **Journal Stored Product Research**, v. 29, n. 01, p. 49-52, 1993.

SING, B. B.; SINGH, S. R.; ADJADI, O. Bruchid resistance in cowpea. **Crop Science**, v. 25, p. 736-739, 1985.

SILVA FILHO, M. C. F.; FALCO, M. C. Interação planta-inseto. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.2, n. 12, p. 38-42, 2000.

SOUSA, M.; SILVA, P. R. R.; FRANÇA, M. S.; SILVA, J. D. C.; SOUSA, F. M. Seleção de genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) para resistência a *Callosobruchus maculatus*. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and environmental Sciences**, v. 59, n. 2, p. 190-195, 2016.

SOUZA, A. J.; FERREIRA, A. T. S.; PERALES, J.; BEGHINI, D. G.; FERNANDES, K. V. S.; XAVIER- FILHO, J.; VENANCIO, T. M.; OLIVEIRA, A. E. A. Identification of *Albizia lebbbeck* seed coat chitin-binding vicilins (7S globulins) with high toxicity to the larvae of the bruchid *Callosobruchus maculatus*. **Brasilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, p. 118-124, 2012.

VENTURY, K. E.; FERREIRA, S. R.; ROCHA, M. M.; GRAVINA, G. A.; FERREIRA, A. T. S.; PERALES, J.; FERNANDES, K. V. S.; OLIVEIRA, A. E. A. Performance of cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (F.) infesting seeds of different *Vigna unguiculata* (L.) walpers genotypes: the association between bruchid resistance and chitin binding proteins. **Journal of Stored Products Research**, v.95, p.101925, 2022.