

Resistência do tipo antixenose em cultivares de *Capsicum* spp. em relação ao afídeo *Aphis gossypii*

João Gomes da Costa¹, Edjane Vieira Pires², Antônio Euzébio Goulart Santana³

Resumo

O objetivo deste estudo foi identificar fontes de resistência do tipo antixenose em cultivares de *Capsicum* spp. ao pulgão *Aphis gossypii*. Para isso dois ensaios de preferência foram realizados, em 2008, em condições de casa de vegetação com 14 cultivares comerciais sendo avaliadas. As plantas foram infestadas 60 dias após o plantio com a liberação de dez adultos de *A. gossypii* por planta. Os resultados mostraram diferenças significativas no número médio de *A. gossypii* entre as cultivares, aos dez dias após a infestação. A cultivar Cambuci foi uma das menos preferidas. Para testar a hipótese que a resistência era do tipo antixenose, bioensaios comportamentais foram conduzidos com *A. gossypii* usando compostos orgânicos voláteis (COVs) coletados da cultivar não-preferida Cambuci e da preferida All Big. Os pulgões foram significativamente repelidos somente pelos COVs da cultivar Cambuci infestado. Além disso, a análise de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) dos COVs liberados por plantas antes e após a infestação por *A. gossypii* revelou que a cultivar não preferida Cambuci emitiu nove compostos a mais, após a infestação, incluindo 6-metil-5 hepten-2-ona, um semioquímico de defesa de planta envolvido em interações entre plantas e pulgões. Estes resultados sugerem que semioquímicos liberados por cultivares não-preferidas têm potencial para ser usado em programas de melhoramento visando à produção de cultivares de *Capsicum* spp resistentes ao *A. Gossypii*.

Introdução

Capsicum spp. é uma hortaliça de grande importância sócio-econômica no Brasil, devido principalmente à área cultivada e o número de empregos gerados (Frizzone et al., 2001). Para Lorentz e Lucio (2009), esta cultura é uma das mais importantes entre as olerícolas, sendo bem adaptada ao cultivo protegido e constituindo-se em uma alternativa de renda para os pequenos produtores e a agricultura familiar. Desta forma, ultimamente tem-se observado um aumento significativo no uso de cultivo protegido de pimentão, porém, há uma incidência acentuada de afídeos como *Aphis gossypii* e *Mizus persicae* que vem causando danos significativos.

Cultivares de *Capsicum* spp., resistentes, ou não preferidas, podem oferecer uma forma potencial de controle, que seria complementada por predação/parasitismo por inimigos naturais, reduzindo ao mesmo tempo a necessidade de aplicações de inseticidas. Estudos identificaram cultivares de cevada (*Hordeum vulgare*) a *Rhopalosiphum padi* L. (Kellner et al., 2010), de repolho (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) a *Brevicoryne brassicae* L. (Broekgaarden et al., 2008) e de algodão (*Gossypium hirsutum*) a *A. gossypii* (Furtado et al., 2009). Alguns acessos de *Capsicum* têm mostrado resistência a *A. gossypii*, mas estes não apresentam resistência ou tolerância ao ataque de *M. persicae* (Weintraub, 2007). Frantz et al. (2004) concluíram que há fatores espécie-específicos para resistência em *Capsicum*, similar ao que tem sido observado em acessos de tomateiro. Como os estudos anteriores sugerem que a resistência em plantas pode estar associada com a liberação de semioquímicos voláteis (Bruce e Pickett, 2007), o objetivo deste estudo foi identificar resistência do tipo antixenose em *Capsicum* spp. ao *A. gossypii*, deve-se a semioquímicos, e isolar e identificar compostos orgânicos voláteis que podem ser total ou parcialmente responsável por esta resistência.

Material e Métodos

As sementes das cultivares de *Capsicum* spp. utilizadas nos ensaios foram obtidas da empresas Isla, Rio Grande do Sul. Utilizaram-se as seguintes cultivares: Pimentão All Big, Pimentão Comprido Amarelo,

1 Pesquisador Embrapa Tabuleiros Costeiros, Maceió, AL. e-mail: João-gomes.costa@embrapa.br

2 Doutorando do Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia – UFAL/Maceió, AL. e-mail: ujfigueiredo@yahoo.com.br

Professor Adjunto do Departamento de Biologia – UFLA/Lavras. e-mail: jarnunes@dbi.ufla.br

3 Professor do Instituto de Química e Biotecnologia – UFAL/Maceió, AL; e-mail: aegs@qui.ufal.br

Pimentão Yolo Wonder, Pimentão Cambuci, Pimentão Casca dura Ikeda, Pimentão Itapuã 501 e Pimentão Amarelo Satrapo. As plantas foram cultivadas em casa-de-vegetação com temperatura de 27 ± 2 °C, Umidade Relativa de $75 \pm 5\%$ e 12 horas de fotoperíodo. As sementes de cada cultivar foram semeadas em vasos plásticos com 1.500 mL de capacidade, preenchidos com substrato comercial. Colocaram-se duas sementes por vaso e, posteriormente, foi feito desbaste deixando-se uma planta por vaso. A irrigação foi realizada diariamente, sem molhar as folhas.

Os pulgões *Aphis gossypii* foram criados em plantas de pimentão da cultivar Yolo Wonder em casa de vegetação com temperatura e luminosidade naturais, e protegidas em gaiolas (1,0 x 1,0 x 0,5m). Foram realizados dois ensaios com diferentes genótipos de *Capsicum* visando a repetibilidade dos resultados em épocas distintas. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação da Embrapa Tabuleiros Costeiros/UEP Rio Largo, em Rio Largo, Alagoas (Latitude 9° 29' 45" S, Longitude 35° 49' 54" O e 165 m de altitude) durante os meses de janeiro a abril e outubro a dezembro de 2008. Sessenta dias após o plantio as plantas foram infestadas com dez fêmeas adultas de *A. gossypii* por planta, e colocadas em gaiolas com as dimensões de 1,0 x 1,0 x 0,5m, sendo que cada gaiola recebeu uma planta de cada cultivar (onze plantas por gaiola no primeiro ensaio, e sete no segundo). A partir do momento da infestação, decorridos cinco dias, foram retiradas as fêmeas adultas que infestavam as plantas, anotando-se o número remanescente de insetos em cada genótipo. Depois de decorridos cinco dias da retirada das fêmeas do pulgão das plantas, fez-se uma segunda avaliação, contando-se as ninfas, sem separá-las por instar. O número total de insetos por cultivar foi utilizado para avaliar a resistência dos mesmos. Os insetos utilizados para a infestação foram retirados de criações mantidas separadas do experimento. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados com 11 e 7 tratamentos, respectivamente para o primeiro e segundo ensaios, e quatro repetições, sendo a parcela experimental representada por uma planta por vaso. Os dados de número de pulgões por planta foram transformados pela fórmula $\sqrt{x+1}$ e submetidos à análise de variância, aplicando-se o teste de Tukey para comparações de médias.

Os compostos voláteis foram coletados das plantas infestadas e não-infestadas por *A. gossypii* usando adsorvente Porapak Q (80/100 mesh, 0,05 g; Supelco) como descrito por Stewart-Jones e Poppy (2006), isolando o solo e vaso com papel alumínio. Ao término das aerações, a dessorção foi realizada passando-se 500 µL de éter dietílico nos tubos contendo o adsorvente, e armazenando-se a solução a -20°C até a sua injeção em um sistema de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (CG/EM).

Ensaio comportamentais com afídeos foram conduzidos usando os extratos contendo os constituintes voláteis extraídos das cultivares de pimentão All Big (considerada suscetível ao *Aphis gossypii*) e Cambuci (considerada resistente ao *A. gossypii*). Os testes foram realizados utilizando olfátometro de quatro braços (Pettersson, 1970), iluminado com uma lâmpada difusa uniforme e à temperatura de 25 ± 2 °C. O ar foi sugado a uma vazão de 350 mL/min. Dos quatro braços em direção ao centro do aparelho. Aliquotas (10 µL) das amostras foram aplicadas a uma tira de papel-filtro, e o solvente foi deixado evaporar durante 30 s. O papel-filtro foi então colocado no final do braço do lado tratado. Os três braços controle foram igualmente tratados com 10 µL de éter dietílico em papel-filtro. Os insetos foram introduzidos na câmara pelo orifício central, e o tempo gasto em cada braço foi registrado usando o software OLFA durante um período de 16 min. O aparelho foi girado a cada 4 minutos para eliminar o viés direcional. Cada experimento foi repetido 20 vezes e os resultados analisados por estatística não-paramétrica (teste de Wilcoxon). A média do tempo gasto nos braços do tratamento foi comparada com a média de tempo gasto nos braços dos controles.

Resultados e Discussão

Os resultados da análise de variância revelaram diferenças significativas para o número de *A. gossypii* entre as diferentes cultivares de *Capsicum spp.* nos testes de preferência (Tabela 1). O maior número médio de pulgões foi registrado para o Itapuã 501 (488 indivíduos/planta) e as menores infestações foram observadas em Cambuci (15 indivíduos/planta). Os bioensaios de olfatométrica mostraram que *A. gossypii* foi significativamente repellido pelos COVs de 'Cambuci' infestados, em relação ao controle (Figura 1B). No entanto, *A. gossypii* não foi significativamente repellido pelos COVs de 'All Big' infestada quando comparada ao controle (Figura 1D). Também não houve diferença significativa na atividade comportamental de *A. gossypii* entre COVs de plantas não-infestadas, em comparação com o controle, tanto para 'Cambuci'

quanto para ‘All Big’ (Figs. 1A e C). Os resultados deste estudo evidenciam a existência de preferência diferencial de *A. gossypii* por cultivares de *Capsicum* spp., como verificado por Weintraub (2007) em outras cultivares. A cultivar Cambuci foi uma das menos preferidas nos dois ensaios realizados. De acordo com os resultados obtidos com os bioensaios de olfatométrica essa cultivar possui resistência do tipo não-preferência ou antixenose. Resultados semelhantes foram obtidos por Bosland e Ellington (1996), onde foi sugerido que a resistência de *C. pubescens* para *Mizus persicae* é devido a antixenose (não-preferência).

Embora seja possível que uma série de mecanismos sejam responsáveis pelo efeito da não-preferência observada, o papel de semioquímicos voláteis foi evidenciado pelos experimentos de olfatométrica, que mostraram que os COVs liberados pelas plantas de ‘Cambuci’ infestadas por *A. gossypii* foram significativamente repelentes a este inseto. Além disso, o perfil de COVs emitidos por ‘Cambuci’ foi modificado pela infestação de *A. gossypii*. Resultados semelhantes foram obtidos em *V. faba*, após a infestação com o pulgão da ervilha, *Acyrtosiphon pisum*, o que levou ao aumento da produção de certos componentes, a redução da produção de outros, e à formação de alguns novos compostos (Du et al., 1998; Pickett et al., 2003).

Em nosso estudo, a cultivar não-preferida Cambuci emitiu nove COVs adicionais, incluindo 6-metil-5-hepten-2-ona, após a infestação com *A. gossypii*. Este composto é conhecida por repelir *R. padi* (Quiroz et al., 1997), atrair os parasitóides de pulgões, *Aphidius ervi* (Du et al., 1998) e *A. Funebris* (Pareja et al., 2007), e também foi relatado como um repelente de fêmeas de *Cephus norton cintus*, uma praga de trigo na América do Norte (Piesik et al., 2008).

Tabela 1 – Número médio de *Aphis gossypii* sobre *Capsicum* spp. contados dez dias após a infestação. Rio Largo, Alagoas, Brasil. Média de dois ensaios: Janeiro a Abril e Outubro a Dezembro de 2008.

Genótipos		Afídeo/planta
Cambuci (C)		15d
All Big (AB)		110c
Comprido Amarelo (CA)		88c
Casca Dura Ikeda (CDI)		89c
Yolo Wonder (YW)		198b
Itapuã 501 (I501)		488a
Amarelo Satrapo (AS)		97 c
Média		155
Coeficiente de variação (%)		11,42

Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ($P > 0,05$) pelo teste de Tukey. (DMS=41,27).

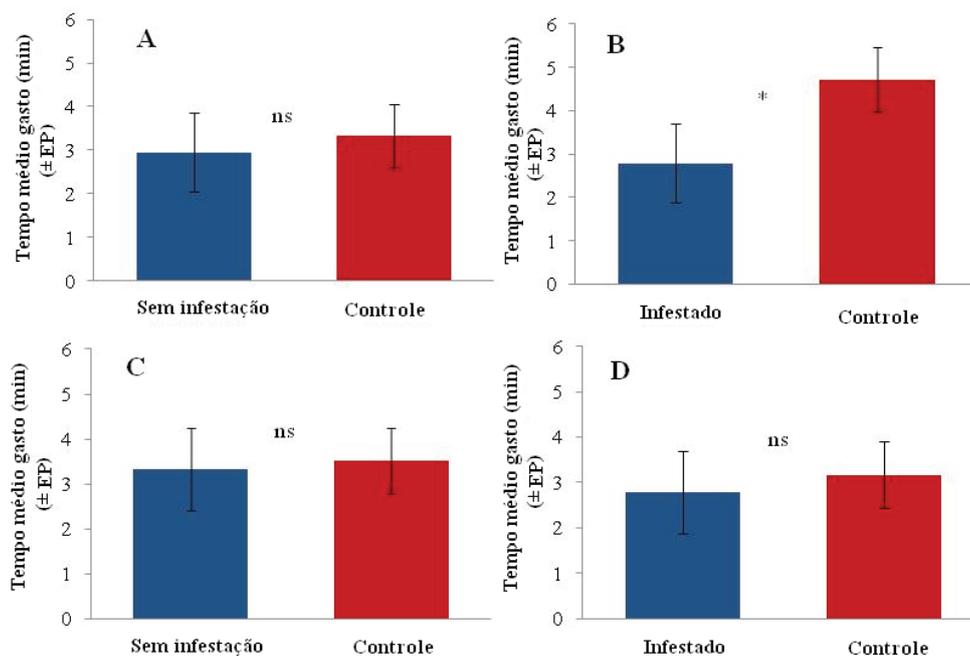


Figura 1. Resposta de *Aphis gossypii* aos compostos orgânicos voláteis liberados por cultivares de *Capsicum* sp. A = cultivar Cambuci não infestado por *A. gossypii*; B = cultivar Cambuci infestado por *A. gossypii*; C = cultivar All Big não infestado por *A. gossypii*; D = cultivar All Big infestado por *A. gossypii*. Asteriscos indicam que as respostas entre tratamentos x controles foram significativamente diferentes (* $P < 0.01$). NS denota atividade não significativa (teste de Wilcoxon).

A partir dos resultados obtidos constata-se que existe variabilidade entre cultivares de *Capsicum* spp. em relação às preferências de *A. gossypii*. A cultivar Cambuci apresentou o menor número de *A. gossypii* por planta demonstrando ser uma fonte de resistência do tipo antixenose ao pulgão em estudo. Esta cultivar emitiu nove COVs adicionais após a infestação por *A. gossypii*, que pode atuar como semioquímicos voláteis que conferem não-preferência para pulgões. Estes dados sugerem que a cultivar não preferida tem potencial para ser usado em programas de melhoramento visando à produção de cultivares de *Capsicum* spp. resistentes ao *A. Gossypii*.

Referências

- Bosland PW, Ellington JJ (1996) Comparison of *Capsicum annuum* and *C. pubescent* for antixenosis as a means of aphid resistance. **HortScience** 31:1017–1018.
- Broekgaarden C, Poelman EH, Steenhuis G, Voorrips RE, Dicke M, Vosman B (2008) Responses of *Brassica oleracea* cultivars to infestation by the aphid *Brevicoryne brassicae*: an ecological and molecular approach. **Plant Cell Environ.** 31:1592–1605
- Bruce TJA, Pickett JA (2007) Plant defence signalling induced by biotic attacks. **Curr Opin Plant Biol** 10:387–392.
- Du YJ, Poppy GM, Powell W, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (1998) Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract the parasitoid *Aphidius ervi*. **J Chem Ecol** 24:1355–1368.
- Frantz JD, Gardner J, Hoffmann MP, Jahn MM (2004) Greenhouse screening of *Capsicum* accessions for resistance to green peach aphid (*Myzus persicae*). **Hortic Sci** 39:1331–1335
- Frizzone JA, Gonçalves ACA, Rezende R. (2001) Produtividade do pimentão amarelo, *Capsicum annuum* L., cultivado em ambiente protegido, em função do potencial mátrico de água no solo. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.23, n.5, p.1111-1116
- Furtado RF, Silva FP, Lavor MTFC, Bleicher E (2009) Susceptibilidade de cultivares de *Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch a *Aphis gossypii* Glover. **Rev Ciência Agron** 40:461–464

- Kellner M, Brantestam AK, Ahman I, Ninkovic V (2010) Plant volatile-induced aphid resistance in barley cultivars is related to cultivar age. **Theor Appl Genet.** 121:1133-1139
- Lorentz LH, Lúcio AD (2009) Tamanho e forma de parcela para pimentão em estufa plástica. **Ciência Rural**, v.39, n.8, p.2380-2387.
- Pareja M, Moraes MCB, Clark SJ, Birkett MA, Powell W (2007) Response of the aphid parasitoid *Aphidius funebris* to volatiles from undamaged and aphid-infested *Centaurea nigra*. **J Chem Ecol** 33:695–710.
- Pickett JA, Rasmussen HB, Woodcock CM, Mathes M, Napier JA (2003) Plant stress signaling: understanding and exploiting plant-plant interactions. **Biochem Soc Trans** 31:123–127.
- Quiroz A, Pettersson J, Pickett JA, Wadhams LJ, Niemeyer HM (1997) Semiochemicals mediating spacing behavior of bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* feeding on cereals. **J Chem Ecol** 23:2599–2607.
- Piesik D, Weaver DK, Runyon JB, Buteler M, Peck GE, Morrill WL (2008) Behavioural responses of wheat stem sawflies to wheat volatiles. **Agr Forest Entomol** 10:245–253.
- Stewart-Jones A, Poppy GM (2006) Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. **J Chem Ecol** 32:845–864.
- Weintraub PG (2007) Integrated control of pests in tropical and subtropical sweet pepper production. **Pest Manag Sci** 63:753–760.