



## A relação entre a resistência de *Vigna unguiculata* (cultivar BRS Xiquexique) à infestação por *Callosobruchus maculatus* e a presença de proteínas com afinidade à quitina

Sarah Rodrigues Ferreira, Maurisrael de Moura Rocha, Kaesel Jackson Damasceno-Silva, Andre T. S. Ferreira, Jonas Perales, Katia V.S. Fernandes, Antônia Elenir Amâncio Oliveira

O feijão-caupi (*V. unguiculata*) é uma importante fonte alimentar e compõe a dieta de populações, principalmente na África, Ásia, Américas Central e do Sul. Entretanto, o cultivo destas sementes é acometido por inúmeras pragas, principalmente na fase de estocagem, deixando-as inviáveis para cultivo, comercialização e consumo. O caruncho do feijão, *C. maculatus*, é a principal praga que infesta essas sementes. Trabalhos anteriores identificaram alguns cultivares de *V. unguiculata* que apresentaram algum grau de resistência a infestação de *C. maculatus*. Para alguns desses cultivares essa toxicidade pode estar relacionada a proteínas de reservas de sementes do tipo vicilina, que apresentam a capacidade de se ligarem a componentes de quitina no intestino das larvas do inseto. O objetivo deste trabalho foi isolar e caracterizar proteínas ligantes de quitina do cultivar de *V. unguiculata* BRS Xiquexique (resistente ao inseto) e avaliar a toxicidade para *C. maculatus*. Proteínas dos cotilédones foram extraídas e fracionadas em cromatografia de afinidade à quitina. A visualização do perfil proteico das amostras foi feita em gel de poliacrilamida. A presença de vicilinas e quitinases nas frações retidas foi confirmada através de *western blotting*, utilizando anticorpos específicos. A identidade das proteínas foi confirmada por espectrometria de massas. A toxicidade foi avaliada pela incorporação da fração na dieta artificial dos insetos. Proteases majoritárias do intestino do inseto foram investigadas em dados de proteômica e transcriptômica das larvas. Os resultados mostraram retardos no desenvolvimento das larvas alimentadas com as proteínas ligantes à quitina. Proteínas presentes na fração retida em quitina foram identificadas como vicilinas e quitinases. Essas proteínas reagiram com anticorpos específicos. A fração rica em vicilina foi hidrolisada com papaína, tripsina e quimiotripsina e alguns peptídeos obtidos apresentaram afinidade à quitina. A sequência total da proteína foi deduzida a partir dos peptídeos obtidos por espectrometria de massas e submetida a hidrólise, *in silico*, com proteases intestinais do inseto, para identificar os peptídeos que se ligam a quitina. A identificação de proteínas tóxicas para *C. maculatus* e seus mecanismos de toxicidade podem representar uma ferramenta para melhorar a produção de sementes resistentes, minimizando o uso de pesticida e consequentemente, seus impactos ambientais e na saúde animal.

Palavras-chave: Resistência de sementes; Proteínas tóxicas, Vicilinas.

Instituição de fomento: CNPq, FAPERJ, UENF, CAPES