



TOXICIDADE DE SEMENTES DE *Canavalia rosea* (Sw.) DC. E *Canavalia gladiata* (Jacq.) DC. PARA O BRUQUÍDEO *Callosobruchus maculatus* (F.)

Aline da Gama Melila Licurgo, Vanildo Silveira, Roberta Pena da Paschoa, Katia Valevski Sales Fernandes, Antônia Elenir Amâncio Oliveira

O ataque de *Callosobruchus maculatus* a grãos armazenados de *Vigna unguiculata* acarreta na redução de seu peso, valor comercial, nutritivo e do vigor germinativo. Como alternativa à utilização de inseticidas, que tem impacto negativo na saúde e no meio ambiente, se faz necessário o estudo dos compostos naturais de defesa das plantas, principalmente compostos de sementes que apresentem toxicidade a insetos-praga como o *C. maculatus*. Algumas sementes não-hospedeiras, como as do gênero *Canavalia*, têm se mostrado excelentes fontes de compostos bioinseticidas, incluindo as proteínas com afinidade a quitina. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é elucidar o mecanismo de toxicidade das sementes de *C. rosea* e *C. gladiata* para *C. maculatus*. Os efeitos tóxicos foram analisados através da infestação de sementes naturais e artificiais com o inseto e a avaliação da oviposição, eclosão larval, massa, comprimento e sobrevivência das larvas. Frações proteicas foram extraídas dos cotilédones das sementes e submetidas à cromatografia de afinidade à quitina. O perfil proteico foi analisado por SDS-PAGE. Análise proteômica comparativa dos cotilédones das sementes foi realizada através de espectrometria de massas. A análise morfológica do desenvolvimento embrionário do inseto foi realizada através da marcação dos embriões com DAPI. Nossos resultados mostram que sementes naturais de ambas as espécies afetaram negativamente a oviposição e bloquearam em 100% a eclosão larval, sendo 100% letais para as larvas. Sementes artificiais contendo 60mg de tegumentos artificiais de *C. rosea* reduziram a massa larval em 58%, mas não afetaram a penetração e a sobrevivência das larvas. Sementes artificiais contendo tegumentos artificiais de *C. gladiata* em diferentes espessuras afetaram em até 100% a sobrevivência das larvas. A incorporação de 10% de farinha de cotilédones de *C. gladiata* e *C. rosea* em sementes artificiais foi 100% letal para as larvas. Frações proteicas de *C. rosea* retidas em quitina, quando incorporadas na concentração de 1% em sementes artificiais, afetaram em 100% a eclosão larval e a sobrevivência das larvas. A análise proteômica comparativa identificou 304 proteínas, quando comparadas entre as espécies, 60 foram up reguladas e 49 down reguladas em *C. gladiata*; 10 proteínas foram identificadas unicamente em *C. rosea* e 8 em *C. gladiata*. Nossos resultados indicam que as sementes de *C. rosea* e *C. gladiata* são ricas em compostos com atividades bioinseticidas, incluindo proteínas com afinidade a quitina. A identificação de compostos naturais com propriedades bioinseticidas pode auxiliar no desenvolvimento de estratégias mais sustentáveis de controle de pragas.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
Eixo temático: 4.2 UENF - PPG Biotecnologia Vegetal
Fomento da bolsa (quando aplicável): FAPERJ

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:

APOIO:



TOXICITY OF *Canavalia rosea* (Sw.) DC. AND *Canavalia gladiata* (Jacq.) DC. SEEDS FOR THE BRUCHID *Callosobruchus maculatus* (F.)

Aline da Gama Melila Licurgo, Vanildo Silveira, Roberta Pena da Paschoa, Katia Valevski Sales Fernandes, Antônia Elenir Amâncio Oliveira

The attack of *Callosobruchus maculatus* on *Vigna unguiculata* stored seeds leads to a reduction in their weight, commercial and nutritional value and germination vigor. As an alternative to the use of insecticides, which have a negative impact on health and the environment, it is necessary to study natural plant defense compounds, mainly seeds compounds that are toxic to insect pests such as *C. maculatus*. Some non-host seeds, such as *Canavalia* seeds, have been shown to be excellent sources of bioinsecticidal compounds, including chitin-binding proteins. In this context, the objective of this work is to elucidate the toxicity mechanism of *C. rosea* and *C. gladiata* seeds for *C. maculatus*. The toxic effects were analyzed through the infestation of natural and artificial seeds with the insect and the evaluation of oviposition, larval hatching, mass and length of larvae and survival. Protein fractions were extracted from seed cotyledons and subjected to chitin affinity chromatography. The protein profile was analyzed by SDS-PAGE. Comparative proteomic analysis of seed cotyledons was performed using mass spectrometry. The morphological analysis of the insect's embryonic development was performed by marking the embryos with DAPI. Our results show that natural seeds of both species negatively affected oviposition and blocked larval hatching by 100%, being 100% lethal for larvae up to 20 days after oviposition (DAO). Artificial seeds containing 60mg of artificial seed coat of *C. rosea* reduced larval mass by 58%, but did not affect larval penetration and survival. Artificial seeds containing different concentrations of artificial seed coat of *C. gladiata* affected larval survival in up to 100%. The incorporation of 10% of *C. gladiata* and *C. rosea* cotyledon flour in artificial seeds was 100% lethal for the larvae. Chitin-binding proteins at a concentration of 1% in artificial seeds, affected larval hatching by 100% and, consequently, larval survival. Comparative proteomic analysis identified 304 proteins, when compared between species, 60 were up-regulated and 49 down-regulated in *C. gladiata*; 10 proteins were unique in *C. rosea* and 8 in *C. gladiata*. Our results indicate that *C. rosea* and *C. gladiata* seeds are rich in compounds with bioinsecticide activities, including chitin-binding proteins. The identification of natural compounds with bioinsecticide properties can help in the development of more sustainable pest control strategies.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Eixo temático: 4.2 UENF - PPG Biotecnologia Vegetal

Fomento da bolsa (quando aplicável): FAPERJ

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:

APOIO: