

A Ciência e os caminhos do desenvolvimento

**Metabolismo de quitina no inseto *Callosobruchus maculatus*:
Potencial de proteínas com afinidade a quitina de tegumentos de
Canavalia ensiformes para o controle dessa praga**

Geovanna Bastos Gallito, Kayan Eudorico Venture, Antônia Elenir Amancio Oliveira

As sementes são ricas em reservas nutricionais, sendo por isso alvos de ataques de insetos-praga, como o bruquídeo *Callosobruchus maculatus*. Esse ataque danifica a estrutura da semente, diminui seus nutrientes, seus valores comercial e germinativo. O tegumento da semente é a primeira barreira a entrar em contato com os possíveis agressores e estudos mostraram que os tegumentos de *Canavalia ensiformis* interrompem 100% a penetração das larvas de *C. maculatus*. No tegumento dessas sementes foram detectadas proteínas tóxicas para esse inseto. Nosso trabalho tem como objetivo estudar o metabolismo de quitina no inseto *C. maculatus* e investigar o potencial de proteínas com afinidade a quitina de tegumentos de *C. ensiformes* para o controle dessa praga. Buscas para transcritos relacionados com o metabolismo de quitina foram realizadas no transcriptoma do inseto *C. maculatus*. Para o isolamento de proteínas, tegumentos de sementes de *C. ensiformes* foram triturados e a farinha foi submetida a extração de proteínas e fracionada em cromatografia de afinidade a quitina. As proteínas foram identificadas por espectrometria de massas. Experimentos de *Western blotting* e ELISA foram realizados para comprovar a presença de vicilinas e quitinases na fração. A atividade quitinásica foi medida usando *chitin azure* como substrato. Para verificar o efeito tóxico da amostra foram feitas sementes artificiais revestidas por tegumentos finos e espessos contendo 2 ou 10% da fração. Sementes artificiais com feitos tegumentos contendo 1% do ligante de quitina, calcofluor também foram realizadas. Nossos resultados mostraram a presença de transcritos para quitina sintase, quitina desacetilase e quitinase no ovário, embriões, larvas pupas e adultos do inseto. Peptídeos provenientes dessas proteínas foram similares a quitinase e vicilinas. Experimentos de *Western blotting* confirmaram a presença de vicilinas e quitinase nessa fração. A quitinase do tegumento de foi ativa na hidrólise da *chitin azure*. Tegumentos finos contendo 2% e 10% dessa fração não foram tóxicos para *C. maculatus*. Resultados com tegumentos espessos contendo 1% calcofluor ou 2% da fração foram realizados e espera-se mostrar a relação entre espessura de tegumentos e toxicidade dessa fração.

Palavras-chave: Vicilinas, Tegumentos, Quitinases

Instituição de fomento: CNPq, FAPERJ, UENF