



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, Antônia Elenir Amancio Oliveira

O tegumento é a principal estrutura da semente e está relacionada com a defesa física e química contra agressores, como o inseto *Callosobruchus maculatus*. Estudos realizados pelo nosso grupo mostraram que o tegumento de *Canavalia ensiformis* interrompe 100% a penetração das larvas do inseto *C. maculatus* e que proteínas isoladas desse tecido foram tóxicas para essas larvas. A toxicidade dessas proteínas pode estar relacionada a capacidade de ligação a quitina, presente na membrana que reveste o intestino das larvas. Nosso trabalho tem como objetivo isolar proteínas com afinidade a quitina do tegumento de *C. ensiformis* e avaliar a toxicidade para as larvas de *C. maculatus*. Tegumentos foram triturados e a farinha foi submetida a extração de proteínas que foram fracionadas em uma cromatografia de afinidade a quitina. Experimentos de *Western blotting* foram realizados para detecção de vicilinas e quitinases na fração retida em quitina. Na amostra retida também foi realizada a atividade quitinásica para confirmar a presença de quitinases ativas. Os níveis de vicilinas foram quantificados por ensaios de ELISA. As proteínas isoladas foram identificadas por espectrometria de massas. Análises da expressão de transcritos relacionados ao metabolismo de quitina foram investigadas no transcriptoma de ovários e embriões de *C. maculatus*. Tegumentos artificiais contendo 1% de calcofluor (ligante de quitina) também foram confeccionados. Nossos resultados mostraram a presença de proteínas com afinidade a quitina no tegumento de *C. ensiformis*. Os experimentos de *Western Blotting* e espectrometria de massas comprovaram a presença de vicilinas e quitinase nessa fração. A quitinase foi ativa na hidrólise do substrato *chitin azure*. Transcritos para quitina sintase, quitina desacetilase e quitinases foram identificados em embriões de *C. maculatus*, mostrando que o metabolismo de quitina já se encontra ativo nas fases iniciais do desenvolvimento do inseto. 1% de calcofluor foi tóxico para larvas. Análises bioquímicas das larvas de 20 DAO crescidas em sementes contendo calcofluor, mostraram variações nas atividades de α -amilases, lipases e proteinases cisteínicas e nos conteúdos de colesterol e triacilgliceróis. Esses dados indicam que interferência no metabolismo de quitina nas fases iniciais do desenvolvimento do inseto, é capaz de alterar o desenvolvimento e metabolismo das larvas.

Palavras-chave: Vicilinas, Tegumentos, Quitinases

Instituição de fomento: CNPq, FAPERJ, UENF