

EC-125. ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS ENZIMAS DIGESTIVAS DE *C. maculatus* RESPONSÁVEIS PELO PROCESSAMENTO DA CNTX

Fernanda Stanisquaski¹ - fers1981@cbiot.ufrgs.br
Melissa Postal¹
Juliana Salvadori¹
Célia R. Carlini¹ - ccarlini@ufrgs.br

1. Departamento de Biofísica (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500 prédio 43.422 CEP 91.501-970

Plantas possuem um arsenal de substâncias utilizadas como defesa. A possibilidade de utilizar tais substâncias como biopesticidas revolucionou o estudo das proteínas tóxicas. Em 1981 uma proteína tóxica foi isolada das sementes de *Canavalia ensiformis* – Canatoxina (CNTX). Esta proteína, uma isoforma da urease, causa convulsão e morte em camundongos quando injetada, mas é inócua quando dada por via oral. Buscando elucidar o papel de proteínas como a CNTX, diferentes testes foram realizados. A CNTX apresenta atividade fungicida e entomotóxica, sendo que somente são suscetíveis os insetos que apresentam digestão baseada em enzimas tipo catepsina. A CNTX não mostrou efeito inibitório sobre as enzimas digestivas, sendo “ativada” proteoliticamente por proteases tipo catepsina no trato digestivo dos insetos, liberando um fragmento de 10 kDa que produz o efeito inseticida. Neste trabalho visamos isolar e caracterizar as enzimas digestivas de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera) capazes de processar a CNTX *in vitro*, testar os produtos desta hidrólise em modelos de insetos e isolar os fragmentos tóxicos. Larvas de *C. maculatus* de 18 dias foram utilizadas para obtenção de um homogenato. Após gel-filtração em Resina Sephacryl S-200, as frações com atividade proteolítica foram reunidas e este pool foi utilizado para a hidrólise *in vitro* da CNTX. Para caracterizar o tipo de enzima, o pool foi cromatografado em Resina de Afinidade Peptatina-A Agarose. Os resultados obtidos indicam a formação de fragmentos da CNTX de baixo peso molecular quando esta é submetida a hidrólise pelo pool de enzimas de *C. maculatus* e que a enzima responsável por esta fragmentação é uma aspártico-protease.

Instituição de fomento: PRONEX, CNPq, CAPES, FAPERGS, PROCAD
Palavras-chave: Proteínas Inseticidas; Canatoxina; *C. maculatus*

EC-125-A. PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS ENZIMAS DIGESTIVAS DE *Dysdercus peruvianus* (HEMIPTERA): PYRRHOCORIDAE) RESPONSÁVEIS PELO PROCESSAMENTO DA CANATOXINA

Juliana Salvadori¹ - .jusalvadori@cbiot.ufrgs.br
Fernanda Stanisquaski¹
Célia R. Carlini¹

1. Laboratório de Proteínas Tóxicas, Departamento de Biofísica (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500 prédio 43.422 CEP 91.501-970

A semente do feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) é fonte de proteínas de interesse bioquímico e biotecnológico como urease e concanavalina-A e inibidores de tripsina. A canatoxina (CNTX), uma isoforma de urease desta semente, causa convulsões e morte em camundongos e mostrou-se tóxica para insetos com digestão ácida. *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera), *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) e *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera) têm servido como modelos em estudos de atividade tóxica desta proteína. Com o objetivo de demonstrar que o efeito entomocida da CNTX em *D. peruvianus* também é dependente da formação de um peptídeo de 10 kDa gerado por proteólise, estabeleceu-se uma metodologia para purificação e caracterização das enzimas presentes no homogenado de intestinos de ninfas de 3º instar desse percevejo. Duas enzimas, tipo aspártico e cisteíno-protease, foram detectadas com o máximo de atividade em pH 3,5 (hemoglobina) e 5,6 (azocaseína). O uso de inibidores específicos, pepstatina-A e E-64, e de agentes redutores como o ditiotreitol, confirmou a predominância das enzimas. As melhores condições de armazenamento (7 dias) do homogenado são diferentes para cada enzima: a catepsina B é mais ativa em temperatura de -20°C e pH 5,8-6,1 (original do extrato), enquanto para a catepsina D é fundamental manter o pH original e armazenar o extrato em glicerol 50%, a 4°C ou a -20°C. As enzimas foram parcialmente purificadas a partir do homogenado por troca iônica (CM-Sepharose em pH 6,0), possibilitando a separação das catepsinas nas etapas de eluição, enquanto grande parte do pigmento do extrato fica na fração não-retida da cromatografia. Os dados confirmam a possibilidade de ativação proteolítica da CNTX por catepsinas também em *D. peruvianus*.

Instituição de fomento: PRONEX, CNPq, CAPES, FAPERGS, PROCAD
Palavras-chave: Proteínas Inseticidas; Catepsinas; *D. peruvianus*; Canatoxina

EC-147. RESISTÊNCIA DE CULTIVARES E LINHAGENS DE *Phaseolus vulgaris* L. (FABACEAE) A *Zabrotes subfasciatus* (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE)

Luciana Zukovski¹ - luzukovski@yahoo.com.br
Cibele Stramare Ribeiro-Costa¹ - stra@ufpr.br

1. Depto de Zoologia/Setor de Ciências Biológicas (UFPR), C.P. 19.020, 81.531-980 Curitiba/Paraná

Visando avaliar a resistência de nove cultivares de feijoeiro, *Phaseolus vulgaris*, oito frequentemente utilizadas para cultivo no Paraná, e duas linhagens com arcelina, ao ataque de *Zabrotes subfasciatus*, praga de grãos armazenados, realizaram-se testes com e sem chance de escolha. As cultivares utilizadas foram TPS-Bionobre, IAC-Una, IPR-Uirapurú, IAPAR 44, IPR Juriti, IAPAR 81, Pérola, Carioca, Bolinha e arcelina 1 e 2. No teste sem chance de escolha foram avaliados o número total e viabilidade de ovos, o número de adultos emergidos, o período de desenvolvimento e o peso seco dos adultos. No teste com chance de escolha avaliou-se o número de adultos atraídos para cada material. Os testes foram realizados em câmara climatizada (27°C, fotofase 12h, 50±10%). As arcelinas 1 e 2 apresentaram resistência do tipo não-preferência para alimentação e/ou antibiose, pois em ambas o período de desenvolvimento foi muito longo e ocorreu alta mortalidade larval e/ou pupal. A arcelina 1 apresentou pouca atratividade enquanto a 2 figurou entre as três mais atrativas. Na arcelina 1 também foi registrado o menor peso de adultos e é menos estimulante para oviposição quando comparada à 2. Assim, sugere-se que estudos de melhoramento genético sejam intensificados para introdução da arcelina 1 em *P. vulgaris*. Dentre as cultivares, Iapar 44 destacou-se com relação à resistência, pois foi pouco atrativa e pouco estimulante para oviposição e pela baixa viabilidade dos ovos. Ao contrário, Pérola foi a cultivar mais estimulante para oviposição, com maior viabilidade de ovos, maior emergência de adultos e curto período de desenvolvimento sendo, portanto, com relação às perdas em armazenamento, a menos indicada para cultivo no Paraná.

Instituição de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Palavras-chave: *Zabrotes subfasciatus*; *Phaseolus vulgaris*; Arcelina; Resistência de Plantas; Bruchinae

EC-201. PROSPECÇÃO DE FENÓTIPOS DE MILHO CONTRASTANTES QUANTO À RESPOSTA AO *Schizaphis graminum* (RONDANI) (HEMIPTERA, APHIDIDAE).

José Magid Waquil¹ - waquil@cnpmembrapa.br
Hélio Teixeira Prates¹ - htprates@cnpmembrapa.br
Antônio A. C. Purcino¹ - corsetti@cnpmembrapa.br

1. Embrapa Milho Sorgo (EMBRAPA), Rod. MG 424, KM 65, CEP 35.701-970 Sete Lagoas, MG.

No banco de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo estão registrados 3887 acessos de milho. Baseando-se em estudos de variabilidade foi constituída uma coleção core com 275 acessos, representando cerca de 80% da variabilidade genética. Como o milho não está registrado na lista de hospedeiros do pulgão-verde, o conhecimento dos mecanismos de sua imunidade pode ter aplicação tanto na obtenção de genes de resistência quanto na análise de risco do pulgão-verde se tornar praga importante para o milho. Devido à especificidade hospedeira da interação inseto-planta e ao potencial para sua utilização no manejo de praga, este trabalho teve por objetivo avaliar a coleção “core” do milho para identificar fenótipos contrastantes em relação ao pulgão-verde, visando a prospecção química e gênica dessa característica. A coleção core foi avaliada, em casa de vegetação, quanto à sobrevivência de adultos e produção de ninfas. A frequência de acessos nos extremos observados, nenhum adulto sobrevivente ou nenhuma produção de ninfas e acima de 80% de sobrevivência ou acima de 10 ninfas/fêmea, foi cerca de 5% e 1%, respectivamente. Após reavaliação dos acessos contrastantes, foi possível identificar 4 grupos: baixa sobrevivência de adultos e baixa produção de ninfas (BA 007, Cuba 28, RR 117, SE 031, RS 229, PR 034 e PR 007); baixa sobrevivência de adultos e alta produção de ninfas (RN 005); alta sobrevivência de adultos e baixa produção de ninfas (RR 162, SP 054, SE 038, RO 019) e alta sobrevivência de adultos e alta produção de ninfas (DF 393, RR 044, RR 185, RS 230, Oaxaca 250). Responderam como imunes ao pulgão-verde os acessos: PR 034, WP 21, PR 007, RD 274 e RR 077 e como relativamente sensíveis, os acessos: MG 069, CTV, BA 019, MG 090 e Oaxaca 250.

Instituição de fomento: Embrapa/CNPq

Palavras-chave: *Zea mays*; Pulgão-verde; Manejo de pragas; Interação inseto-planta; Resistência de plantas a insetos