

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DA LECTINA DE CLADÓDIOS DE *OPUNTIA FICUS INDICA* SOBRE O GORGULHO DO MILHO (*SITOPHILUS ZEAMAI*S)

Carolina de Santana Souza¹; Thiago Henrique Napoleão²

¹Estudante do Curso de Ciências Biológicas/Bacharelado- CCB – UFPE; E-mail: carolina.santana.cs@hotmail.com, ²Docente/pesquisador do Depto de Bioquímica – CCB – UFPE. E-mail: thiago86@yahoo.com.br.

Sumário: O presente trabalho avaliou a atividade inseticida da lectina de cladódios de *Opuntia ficus indica* (OfiL) sobre adultos de *S. zeamais*. Os ensaios foram realizados utilizando dieta artificial constituída por discos de farinha de trigo contendo a lectina nas concentrações de 15, 60 ou 95 mg/g (mg de lectina por g de farinha) ou NaCl 0,15 M (controle). A taxa de mortalidade dos insetos mantidos nos diferentes tratamentos foi avaliada após 7 e 15 dias. Parâmetros nutricionais (taxa relativa de ganho de biomassa, taxa de consumo relativo e eficiência de conversão do alimento ingerido) foram calculados após 7 dias de experimento. Por fim, foi determinado o efeito de OfiL nas atividades de proteases e tripsina. A ingestão de OfiL não resultou em indução de mortalidade após 7 e 15 dias em nenhuma das concentrações testadas; contudo, nas concentrações de 60 e 95 mg/g resultou em valores negativos de taxa de ganho relativo de biomassa e eficiência de conversão do alimento ingerido. A taxa de consumo relativo não foi alterada, indicando ausência de efeito deterrente. A lectina apresentou efeito estimulatório sobre a atividade de proteases. Em conclusão, OfiL exerceu efeitos deletérios sobre adultos de *S. zeamais*, prejudicando a conversão do alimento ingerido em energia e, assim, o ganho de biomassa pelos insetos. A atuação de OfiL foi provavelmente a nível de interferência nos processos de digestão e absorção de nutrientes.

Palavras-chave: atividade inseticida; lectina; palma forrageira.

INTRODUÇÃO

O gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais*) é um inseto-praga que ataca grãos estocados, resultando em perda de massa e valor nutricional, baixa percentagem de germinação e redução drástica do valor de mercado (YUYA *et al.*, 2009; TEFERA *et al.*, 2011). O controle de pragas de grãos armazenados tem sido realizado a partir da limpeza e secagem dos grãos, manutenção da aeração, regulação da temperatura e aplicação de inseticidas de contato e por fumigação (NAPOLEÃO *et al.*, 2015). Estudos relatam prejuízos provocados pelos inseticidas atualmente utilizados a organismos não-alvo e ao homem, além da persistência no ambiente. Ainda, tem sido descrita a resistência de diversas espécies-praga, incluindo *S. zeamais*, a inseticidas como Malation, Lindane, deltametrina e fosfinas (PEREZ-MENDOZA, 1999). Dessa forma, estratégias alternativas aos inseticidas sintéticos para controle de *S. zeamais* têm sido investigadas.

Os inseticidas de origem vegetal geralmente apresentam baixa persistência e ação residual. Lectinas – proteínas que reconhecem e interagem com carboidratos– de origem vegetal têm sido descritas como agentes inseticidas contra insetos de várias ordens. A lectina OfiL foi isolada dos cladódios da palma forrageira (*Opuntia ficus indica*) e apresentou ação antifúngica e atividade inseticida contra cupins da espécie *Nasutitermes corniger* (SANTANA *et al.*, 2009; PAIVA *et al.*, 2011). O trabalho teve por objetivo avaliar a atividade inseticida de OfiL sobre adultos de *S. zeamais*.

MATERIAIS E MÉTODOS

- **Materiais de estudo:** Cladódios de *O. ficus indica* foram coletados na cidade de Limoeiro, Pernambuco, de acordo com autorização n° 36301-3 (SISBIO) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Os insetos da espécie *S. zeamais* são mantidos no Laboratório de Bioquímica de Proteínas (BIOPROT) da UFPE, também conforme a mesma autorização do ICMBio.
- **Isolamento de OfiL:** OfiL foi isolada de acordo com o protocolo descrito por Santana *et al.* (2009). A quantificação proteica foi realizada de acordo com Lowry *et al.* (1951), utilizando-se curva padrão (31,25–500 µg/mL) de albumina sérica bovina.
- **Ensaio de toxicidade por ingestão:** Para cada bioensaio, uma alíquota de uma solução-estoque de OfiL foi diluída com água destilada para um volume de 5 mL e a solução-teste foi adicionada a 2,0 g de farinha de trigo. No tratamento controle, NaCl 0,15 M foi adicionado no lugar da lectina. A mistura foi homogeneizada para obter uma suspensão e, em seguida, cinco alíquotas de 200 µL foram dispostas em cada placa de Petri para formar discos que foram postos para secar a 56°C por 16 h. Ao final, 20 insetos foram transferidos para cada placa. Cada concentração (15, 60 e 95 mg de OfiL por g de farinha de trigo) foi testada em quadruplicata e os ensaios foram mantidos no escuro a 28±2°C. A taxa de mortalidade foi registrada após 7 e 15 dias de experimento. Para cada ensaio, os discos de farinha e o grupo de vinte indivíduos foram pesados antes do início do teste e após 7 dias. Com base nos valores obtidos, os seguintes índices nutricionais foram calculados: taxa de crescimento relativo, taxa de consumo relativo e eficiência de conversão do alimento ingerido (NAPOLEÃO *et al.*, 2013).
- **Obtenção de preparações de intestino de *S. zeamais*:** Grupos de 50 adultos de *S. zeamais* foram coletados e imobilizados por resfriamento a 4°C por 10 min. Em seguida, os intestinos foram removidos e imediatamente homogeneizados com 1 mL de tampão Tris (Tris-HCl 0,1 M pH 8,0 contendo CaCl₂ 0,02 M e NaCl 0,15 M). Os homogenatos foram centrifugados (14.000 g, 15 min) e os sobrenadantes (extratos de intestino de *S. zeamais*) analisados quanto à concentração de proteínas (LOWRY *et al.*, 1951).
- **Efeito de OfiL na atividade proteolítica do extrato de intestino de *S. zeamais*:** A atividade de proteases foi determinada usando o substrato azocaseína, de acordo com Azeez *et al.* (2007). A atividade de tripsina foi determinada pela incubação (30 min, 37°C) do extrato com o substrato *N*-benzoi-DL-arginil-*p*-nitroanilida (BAPNA), de acordo com Kakade *et al.* (1969). O efeito de OfiL nas atividades enzimáticas foi avaliado por meio da incubação (30 min a 37°C) dos extratos de intestino com a lectina antes da realização do ensaio de determinação da atividade enzimática como descrito acima. Ensaio controle foi realizado submetendo a preparação de OfiL investigada às mesmas etapas da reação.
- **Análise estatística:** Os resultados foram analisados através do teste de Tukey (nível de significância: $p < 0,05$) utilizando o software Action2.8.29.357.515.

RESULTADOS

Os resultados dos ensaios de toxicidade demonstraram que a ingestão de OfiL não resultou em indução de mortalidade após 7 e 15 dias em nenhuma das concentrações testadas. A avaliação dos parâmetros nutricionais (Figura 1) revelou que a taxa de ganho relativo de biomassa foi negativa nos tratamentos com as maiores concentrações. Já a taxa de consumo relativo foi similar ao controle em todas as concentrações. Os valores de eficiência de conversão do alimento ingerido também foram negativos nos tratamentos a 60 e 95 mg/g.

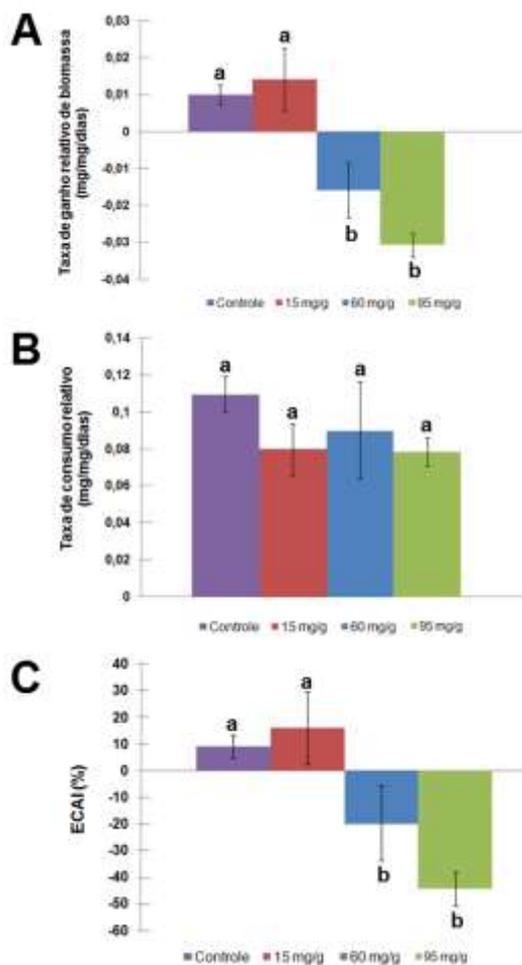


Figura 1. Parâmetros nutricionais de adultos de *S. zeamais* que ingeriram dieta artificial composta por discos de farinha de trigo contendo OfiL (15, 60 e 95 mg/g) ou não (controle). ECAI: eficiência de conversão do alimento ingerido. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

lectina à estrutura do trato digestivo das larvas. Os resultados dos testes de atividade de tripsina revelam que essa enzima não está entre as proteases estimuladas por OfiL.

CONCLUSÕES

A partir deste estudo, pode-se concluir que a lectina de *O. ficus indica* exerce efeitos deletérios sobre adultos de *S. zeamais*, prejudicando a conversão do alimento ingerido e, assim, o ganho de biomassa pelos insetos. A atuação de OfiL foi provavelmente por interferência nos processos de digestão e absorção, uma vez que não foram observadas alterações nas taxas de consumo. OfiL foi capaz de interferir na atividade de enzimas proteolíticas do trato digestivo desse inseto, o que pode resultar em desregulação do processo digestório e danos a estruturas intestinais.

Em relação aos testes enzimáticos, a lectina apresentou efeito estimulatório sobre a atividade de proteases (Figura 2). No teste de atividade de tripsina, não foi detectada nenhuma alteração na atividade dessa enzima quando o extrato de intestino dos insetos foi incubado com a lectina.

DISCUSSÃO

A avaliação dos parâmetros nutricionais demonstrou que a ingestão da lectina (60 e 95 mg/g) resultou em diminuição do peso corporal dos insetos. A ausência de alterações na taxa de consumo relativo indica que a presença de OfiL não interferiu na ingestão da dieta pelos insetos, indicando ausência de efeito deterrente. Dessa forma, OfiL estaria interferindo no processo de digestão e assimilação de nutrientes e, conseqüentemente, a energia gasta pelos insetos foi maior do que a quantidade de energia que pôde ser aproveitada a partir da alimentação.

O efeito estimulatório de OfiL sobre a atividade de proteases pode ser positivo para os insetos, caso facilite a digestão, mas também pode ser negativo, pois uma proteólise descontrolada pode afetar o intestino a ponto de danificar a sua organização, bem como causar a hidrólise indevida de outras proteínas, incluindo enzimas. Esses efeitos prejudicariam tanto a digestão quanto a absorção dos nutrientes. Agra-Neto *et al.* (2014) publicaram resultados semelhantes quanto ao efeito da lectina WSMoL sobre a atividade proteolítica de intestino de larvas de *A. aegypti*; os autores relacionaram o estímulo da atividade proteolítica com danos causados por essa

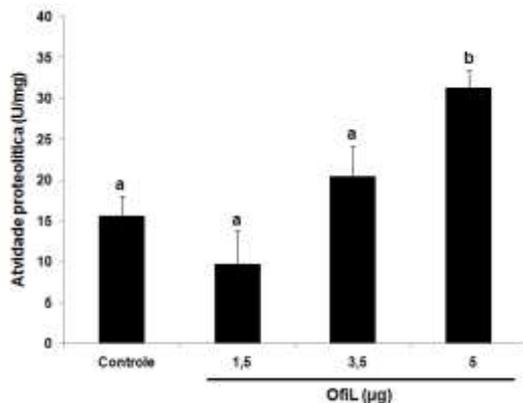


Figura 2. Atividade de protease em extrato de intestino de *S. zeamais* após incubação com OfiL e na ausência da lectina (controle).

AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro: PIBIC-UFPE, CNPq, FACEPE, CAPES e MCTI. Os autores agradecem aos estudantes de Doutorado Tamara Figueiredo Procópio e Bernardo do Rego Belmonte pela participação na realização dos experimentos e ao Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual da Universidade Federal Rural de Pernambuco e à Profa. Dra. Lidiane Pereira de Albuquerque da Universidade Federal do Piauí.

REFERÊNCIAS

- Azeez, A., Sane, A. P., Bhatnagar, D. & Nath, P. 2007. Enhanced expression of serine proteases during floral senescence in *Gladiolus*. *Phytochemistry* 68: 1352-1357.
- Agra-Neto, A. C., Napoleão, T. H., Pontual, E. V., Santos, N. D. L. *et al.* 2014. Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and enzyme activities of *Aedes aegypti* larvae susceptible and resistant to organophosphate. *Parasitol. Res.* 113: 175-184.
- Kakade, M. L., Simons, N. & Liener, I. E. 1969. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cereal Chem.* 46: 518-526.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Napoleão, T. H., Agra-Neto, A. C., Belmonte, B. R., Pontual, E. V. & Paiva, P. M. G. 2015. Biology, ecology and strategies for control of stored-grain beetles: A review. In: *Beetles: Biodiversity, Ecology and Role in the Environment* (C. Stack, ed.). Nova Science Publishers, New York, p. 105-122.
- Napoleão, T. H., Belmonte, B. R., Pontual, E. V., Albuquerque, L. P. *et al.* 2013. Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). *J. Stor. Prod. Res.* 54: 26-33.
- Paiva, P. M. G., Santana, G. M. S., Souza, I. F. A. C., Albuquerque, L. P. *et al.* 2011. Effects of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. *Int. Biodeter. Biodegr.* 65: 982-989.
- Perez-Mendoza, J. 1999. Survey of insecticide resistance in Mexican populations of maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stor. Prod. Res.* 35: 107-115.
- Santana, G. M. S., Albuquerque, L. P., Simões, D. A., Gusmão, N. B., Coelho, L. C. B. B. & Paiva, P. M. G. 2009. Isolation of lectin from *Opuntia ficus indica* cladodes. *Acta Horticulturae* 811: 281-286.
- Tefera, T., Kanampiu, F., De Groot, H., Hellin, J. *et al.* 2011. The metal silo: An effective grain storage technology for reducing post-harvest insect and pathogen losses in maize while improving smallholder farmers' food security in developing countries. *Crop Prot.* 30: 240-245.
- Yuya, A. I., Tadesse, A., Azerefegne, F. & Tefera, T. 2009. Efficacy of combining Niger seed oil with malathion 5% dust formulation on maize against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stor. Prod. Res.* 45: 67-70.