

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MESTRADO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

MAIARA CELINE DE MOURA

**LECTINA SOLÚVEL EM ÁGUA DE SEMENTES DE *Moringa oleifera*
(WSMoL): AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE INSETICIDA SOBRE *Ephestia*
(*Anagasta*) *kuehniella* (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) E *Callosobruchus*
maculatus (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)**

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. LUANA C. B. B. COELHO

CO-ORIENTADORAS: PROF^a. DR^a. MARIA L. R. MACEDO

PROF^a. DR^a. PATRÍCIA M. G. PAIVA

RECIFE

AGOSTO, 2012

MAIARA CELINE DE MOURA

**LECTINA SOLÚVEL EM ÁGUA DE SEMENTES DE *Moringa oleifera*
(WSMoL): AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE INSETICIDA SOBRE *Ephestia*
(*Anagasta*) *kuehniella* (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) E *Callosobruchus*
maculatus (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)**

Dissertação apresentada para o cumprimento
parcial das exigências para obtenção do título
de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela
Universidade Federal de Pernambuco.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho

Co-orientadoras: Prof^ª. Dra. Maria Lígia Rodrigues Macedo

Prof^ª. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva

RECIFE

AGOSTO, 2012

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

M929l Moura, Maiara Celine de

Lectina solúvel em água de sementes de *Moringa oleifera* (WSMoL): avaliação de atividade inseticida sobre *Ephestia* (*Anagasta*) *kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) e *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) / Maiara Celine de Moura. – Recife: O Autor, 2013.

76 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho

Coorientadoras: Maria Lígia Rodrigues Macedo, Patrícia Maria Guedes Paiva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, 2013.

Inclui bibliografia

1. Lectinas 2. *Moringa oleifera* 3. Mariposa 4. Inseticidas I. Coelho, Luana Cassandra Breitenbach Barroso (orientador) II. Macedo, Maria Lígia Rodrigues (coorientadora) III. Paiva, Patrícia Maria Guedes IV. Título.

572.6

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2013-124

MAIARA CELINE DE MOURA

**LECTINA SOLÚVEL EM ÁGUA DE SEMENTES DE *Moringa oleifera*
(WSMoL): AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE INSETICIDA SOBRE *Ephestia*
(*Anagasta*) *kuehniella* (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) E *Callosobruchus*
maculatus (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)**

Dissertação apresentada para o cumprimento
parcial das exigências para obtenção do título
de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela
Universidade Federal de Pernambuco.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho (orientadora)
(Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva
(Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão
(Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Dra. Marília Cavalcanti Coriolano
(Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Data: 22/08/2012

Dedico este trabalho a toda a minha família, em especial aos meus pais, Valter e Nadja, e a minha irmã, Uiara, responsáveis pela formação do meu carácter e inspiradores da minha vocação.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, pela saúde, pelo amor incondicional e por permanecer ao meu lado em todos os lugares e situações, difíceis ou não, sempre me guiando.

Aos meus pais, Valter e Nadja, pelo amor, pelo carinho, pela educação, pelo apoio e pelo incentivo, que me fizeram sempre seguir em frente.

À minha irmã, Uiara, e ao meu cunhado, Sérgio, exemplos na minha vida.

Aos meus maravilhosos tios, Sebastiana e Bezerra, pelo grande afeto, pelo amor, pelas orações e por todo o cuidado a mim dedicado.

Aos meus primos, Silvio e Sérgio, pelo carinho e pelo incentivo.

À Adelice e Bane pelo carinho e confiança.

À professora Luana, minha orientadora, pela oportunidade, dedicação, energia positiva, apoio e pelos ensinamentos transmitidos, que foram e serão fundamentais para o meu crescimento como pesquisadora.

À Profa. Patrícia Paiva pela co-orientação, apoio, alegria e torcida.

À Profa. Maria Lígia pela colaboração, apoio e estímulo à investigação científica.

Ao meu amigo Emmanuel, um presente que recebi de Deus, pelo companheirismo, pelos ensinamentos, pelo apoio, pela confiança e pelo carinho indispensáveis para o meu crescimento pessoal e científico.

Ao querido Thiago pela amizade, pelo carinho, pela torcida e pela disposição em ajudar sempre.

Aos meus amigos queridos, pelas confidências, pelas brincadeiras e pela sincera e eterna amizade, Raphaella, Larissa, Mércia, Isabel, Gustavo, Fernanda, Paulo César,

Luciana, Marília, Flaviana, Thamara, Thamirys, Mayara, Gabriela, Valdênia, André, Antônio, Diogo e Ananda.

A todos que compõem o Laboratório de Glicoproteínas, pelo convívio, pela troca de experiências e pela torcida, em especial, Nataly, Lidianne, Francis, Marília, Cynarha, Ana Patrícia, Kézia, Thâmarah, Belany, Felipe, Léo, Livia, Igor, Afonso e Bernardo pelos momentos descontraídos compartilhados e pela amizade.

“Tenho em mim todos os sonhos do mundo”

(Fernando Pessoa)

RESUMO

Inseticidas sintéticos têm sido amplamente utilizados para o controle de populações de insetos-praga. Entretanto, a resistência adquirida por alguns insetos e a elevada toxicidade desses compostos sobre o ambiente e organismos não-alvos têm levado a um aumento na busca por produtos naturais isentos de toxicidade e efetivos no controle de insetos. Lectinas - proteínas ou glicoproteínas que reconhecem carboidratos e aglutinam células - isoladas de plantas têm apresentado atividade inseticida. A lectina solúvel em água isolada de sementes de *Moringa oleifera* (WSMoL) foi efetiva contra o mosquito *Aedes aegypti*, causando mortalidade de embriões ainda dentro dos ovos e de larvas no quarto estágio. Este trabalho reporta: 1) o efeito de WSMoL no crescimento e sobrevivência de larvas de *Ephestia (Anagasta) kuehniella* (mariposa da farinha) e *Callosobruchus maculatus* (caruncho ou gorgulho do feijão); 2) os parâmetros nutricionais (ECI: eficiência de conversão do alimento ingerido; ECD: eficiência de conversão do alimento digerido; DA: digestibilidade aproximada; e CM: custo metabólico) de larvas de *E. kuehniella* alimentadas ou não com a lectina; 3) a avaliação da susceptibilidade de WSMoL à digestão por proteases intestinais dos insetos através de eletroforese em gel de poliacrilamida em presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). WSMoL foi isolada por cromatografia em coluna de quitina com alta atividade hemaglutinante específica (AHE, 1427), seguindo procedimento previamente estabelecido. A sobrevivência, o peso corporal e os parâmetros nutricionais das larvas de *E. kuehniella* não foram significativamente ($p > 0,05$) afetados quando WSMoL (1 e 2 %, p/v) foi incorporada na dieta, em comparação com o controle. SDS-PAGE de WSMoL incubada com extrato de intestino de larvas de *E. kuehniella* revelou progressiva digestão da lectina com o aumento do tempo de incubação; WSMoL foi completamente digerida após 8 h de incubação. A ausência de atividade inseticida de WSMoL é provavelmente devido à rápida digestão da lectina por *E. kuehniella*. Diferentemente, WSMoL (1 e 2%, p/v) induziu mortalidade (39–43%) e redução do peso (27–54%) de larvas de *C. maculatus* de forma dose-dependente. WSMoL não foi digerida por extratos de intestino de larvas de *C. maculatus* mesmo após 72 h de incubação. Em conclusão, WSMoL apresentou atividade inseticida contra *C. maculatus* e seu mecanismo de ação envolve resistência a proteases deste inseto.

Palavras-chave: *Moringa oleifera*; lectina; mariposa da farinha; caruncho do feijão; atividade inseticida.

ABSTRACT

Synthetic insecticides have been widely used to control populations of insect pests. However, the resistance acquired by some insects and the high toxicity of these compounds to the environment and non-target organisms have led to an increase in the search for natural products without toxicity and effective in controlling insects. Lectins - proteins or glycoproteins that recognize carbohydrates and agglutinate cells - isolated from plants have shown insecticidal activity. The water-soluble lectin isolated from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) was effective against the mosquito *Aedes aegypti* causing mortality of embryos still inside the eggs and larvae in the fourth stage. This paper reports: 1) the effect of WSMoL on growth and survival of *Ephestia (Anagasta) kuehniella* (flour moth) and *Callosobruchus maculatus* (cowpea weevil or bean weevil) larvae, 2) nutritional parameters (ECI: efficiency of conversion of ingested food, ECD: efficiency of conversion of digested food; AD: approximate digestibility, and MC: metabolic cost) of *E. kuehniella* larvae fed or not with lectin, 3) the assessment of WSMoL susceptibility to digestion by proteases from insect midgut by polyacrylamide gel electrophoresis in the presence of sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE). WSMoL was isolated by chromatography on chitin column with high specific hemagglutinating activity (SHA, 1427) following procedure previously established. The survival, body weight and nutritional parameters of *E. kuehniella* larvae were not significantly ($p > 0.05$) affected when WSMoL (1 and 2% w/v) was incorporated into the diet in regard to control. SDS-PAGE of WSMoL incubated with larval gut extract of *E. kuehniella* showed progressive digestion of lectin with the increase of incubation time; WSMoL was completely digested after 8-h incubation. The absence of insecticidal activity of WSMoL is probably due to a rapid digestion of lectin by *E. kuehniella*. In contrast, WSMoL (1 and 2% w/v) induced mortality (39-43%) and weight reduction (29-57%) of *C. maculatus* larvae in a dose-dependent manner. WSMoL was not digested by gut extracts from larvae of *C. maculatus* even after 72 hours of incubation. In conclusion, WSMoL showed insecticidal activity against *C. maculatus* and its mechanism of action involves resistance to proteases of this insect.

Keywords: *Moringa oleifera*; lectin; flour moth; cowpea weevil; insecticidal activity.

LISTA DE FIGURAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 1. Atividade Hemaglutinante de lectina.....	24
Figura 2. Aspectos de <i>M. oleifera</i>	30
Figura 3. <i>Ephestia (Anagasta) kuehniella</i>	34
Figura 4. <i>Callosobruchus maculatus</i>	35

ARTIGO

Figure 1. Effect of WSMoL on survival and body weight of <i>E. kuehniella</i> larvae.....	66
Figure 2. Effect of WSMoL on survival and body weight of <i>C. maculatus</i> larvae	68
Figure 3. SDS-PAGE patterns of WSMoL hydrolysis by midgut extracts of <i>E. kuehniella</i> and <i>C. maculatus</i> larvae for 0, 1, 8, 48 and 72 h.....	69

LISTA DE TABELAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Tabela 1. Insetos-praga e suas respectivas plantas-alvo.....	20
Tabela 2. Lectinas de plantas com ação inseticida.....	27

ARTIGO

Table 1. Differences between cMoL and WSMoL.....	66
Table 2. Nutritional parameters of <i>E. kuehniella</i> fourth-instar larvae fed on artificial diet containing WSMoL.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS

- ACLEC – lectina de *Annona coriacea* (do inglês *A. coriacea lectin*)
- AH – Atividade Hemaglutinante
- AHL – lectina de *Arisaema helleborifolium* (do inglês *A. helleborifolium lectin*)
- ASAL – lectina de *Allium sativum* (do inglês *A. sativum leaf lectin*)
- BmoLL – lectina de *Bauhinia monandra* (do inglês *B. monandra leaf lectin*)
- cMoL - lectina coagulante de *M. oleifera* (do inglês *coagulant M. oleifera lectin*)
- CM – carboximetilcelulose
- ConA – lectina de *Canavalia ensiformis* (*Concavalina A*)
- ConBR – lectina de *Canavalia brasiliensis*
- DDT – dicloro difenil tricloro etano
- DEAE – dietilaminoetil
- GNA – lectina de *Galanthus nivalis* (do inglês *G. nivalis agglutinin*)
- GSII – lectina II de *Griffonia simplicifolia* (do inglês *G. simplicifolia lectin II*)
- KpLec – lectina de *Koeleria paniculata* (do inglês *K. paniculata lectin*)
- L₄ – Quarto estágio de desenvolvimento larval de *Aedes aegypti*
- MoL – Lectina de *M. oleifera* (do inglês *M. oleifera lectin*)
- MuBL - lectina de entrecasca de *Myracrodruon urundeuva* (do inglês *M. urundeuva bark lectin*)
- MuHL - lectina de cerne de *M. urundeuva* (do inglês *M. urundeuva heartwood lectin*)
- MuLL - lectina de folha de *M. urundeuva* (do inglês *M. urundeuva leaf lectin*)
- OfiL – lectina de cladódios de *O. ficus indica* (do inglês *O. ficus indica lectin*)
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- POPs – Poluentes Orgânicos Persistentes
- RiPs – proteínas inativadoras de ribossomo (do inglês *ribosome-inactivating proteins*)

STA – lectina de *Solanum tuberosum* (do inglês *Solanum tuberosum agglutinin*)

WGA - aglutinina de gérmen de trigo (do inglês *wheat germ agglutinin*)

WSMoL – lectina solúvel em água de *M. oleifera* (do inglês *water-soluble M. oleifera lectin*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1 Interação planta-inseto	18
2.2 Controle dos insetos e resistência a inseticidas	19
2.3 Inseticidas naturais	23
2.4 Lectinas	23
2.4.1 Generalidades	23
2.4.2 Aplicações biotecnológicas e atividades biológicas de lectinas	25
2.4.3 Lectinas inseticidas e seus mecanismos de ação	26
2.5 <i>Moringa oleifera</i>	29
2.5.1 Lectinas de <i>M. oleifera</i>	32
2.6 <i>Ephestia (Anagasta) kuehniella</i>	33
2.7 <i>Callosobruchus maculatus</i>	35
3. OBJETIVOS	37
3.1 Objetivo geral	37
3.2 Objetivos específicos.....	37
4. REFERÊNCIAS	38
5. ARTIGO	57
6. CONCLUSÃO.....	76

1. INTRODUÇÃO

Insetos e plantas mantêm complexos mecanismos de interações na natureza que podem ser benéficos para ambos ou para apenas um deles (EDWARDS & WRATTEN, 1981; DEL-CLARO & SILINGARDI, 2001). Os mecanismos de defesa das plantas levam à redução do ataque dos insetos e, em resposta, os insetos evoluem de forma a quebrar as estratégias de defesa das plantas, em um processo conhecido como coevolução (HOLTZ *et al.*, 2003; VALUEVA & MOSLOV, 2004). Grande parte da evolução das interações entre insetos e plantas ocorre a nível químico (EDWARDS & WRATTEN, 1981; DEL-CLARO & SILINGARDI, 2001). A defesa química das plantas envolve a participação de metabólitos primários (por exemplo, proteínas de defesa) e secundários (por exemplo, alcalóides, flavonóides, taninos e rotenóides) (CHRISPEELS & RAIKHELB, 1991; PEUMANS & VAN DAMME, 1995; MELLO & SILVA-FILHO, 2002; NAPOLEÃO, 2012).

Para o controle de populações de insetos-praga são utilizados inseticidas químicos sintéticos, sendo descritos mais de 300 princípios ativos distribuídos em mais de 2.000 formulações (FLORES *et al.*, 2004). Entretanto, esses compostos possuem elevada toxicidade sobre o ambiente e organismos não-alvo, incluindo os humanos, podendo levar a distúrbios de saúde graves (FLORES *et al.*, 2004; BRAGA & VALLE, 2007; GHISELLI & JARDIM, 2007; LIMA *et al.*, 2009). Em adição, o uso indiscriminado de pesticidas tem originado o desaparecimento de algumas espécies de insetos úteis, aparecimento de novas pragas e a seleção de indivíduos resistentes (FLORES *et al.*, 2004).

A variedade de compostos vegetais que podem ser utilizados no controle de pragas aumentou nas últimas décadas (ALMEIDA *et al.*, 2004; TAVARES &

VENDRAMIM, 2005; BRAGA & VALLE, 2007; PEREIRA *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2008). Diferentes substâncias de origem vegetal apresentam efeitos repelente, inibidor de alimentação, regulador de crescimento e atividade ovicida/larvícida (SHAAYA *et al.*, 1997; ISMAN, 2000; MACEDO *et al.*, 2007; COELHO *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2011). Lectinas, proteínas ou glicoproteínas que ligam a carboidratos, são amplamente encontradas nas plantas e possuem um papel fisiológico importante na defesa contra microorganismos e insetos (GOLDSTEIN *et al.*, 1980; PEUMANS & VAN DAMME, 1995; RATANAPO *et al.*, 2001; NAPOLEÃO *et al.*, 2011). Lectinas de plantas apresentaram efeito entomotóxico contra insetos de diversas ordens, causando perturbações nutricionais, acarretando no atraso no desenvolvimento das larvas, bem como na redução do peso e sobrevivência dos adultos emergentes (MURDOCK *et al.*, 1990; ZHU-SALZMAN *et al.*, 1998; SADEGHI *et al.*, 2006; COELHO *et al.*, 2007; MACEDO *et al.*, 2007).

O mecanismo de ação inseticida de lectinas ainda é muito investigado (MACEDO *et al.*, 2007; COELHO *et al.*, 2009; NAPOLEÃO *et al.*, 2011; PAIVA *et al.*, 2011a, 2012a). Tem sido demonstrado que lectinas inseticidas: 1- atuam inibindo a ação de enzimas digestivas glicosiladas dos insetos, 2- se ligam a receptores glicosilados na superfície das células epiteliais digestivas ou 3- se ligam à matriz peritrófica interferindo na sua integridade (FITCHES & GATEHOUSE, 1998; HARPER *et al.*, 1998; SAUVION *et al.*, 2004; MACEDO *et al.*, 2007).

Moringa oleifera, planta nativa do nordeste da Índia, tem sido objeto de muitas pesquisas devido ao seu uso múltiplo na indústria e medicina (SUAREZ *et al.*, 2003, 2005; BEZERRA *et al.*, 2004; GHEBREMICHAEL *et al.*, 2005; KARADI *et al.*, 2006). Lectinas (MoL: *M. oleifera* lectin, cMoL: coagulant *M. oleifera* lectin e WSMoL: water-soluble *M. oleifera* lectin) foram isoladas das suas sementes (SANTOS *et al.*,

2005, 2009; KATRE *et al.*, 2008). WSMoL promoveu a mortalidade de larvas no quarto estágio (L₄) do mosquito *Aedes aegypti* (COELHO *et al.*, 2009) e de soldados e operários da espécie *Nasutitermes corniger* (PAIVA *et al.*, 2011a).

O trabalho teve como objetivos avaliar a ação de WSMoL sobre o crescimento e sobrevivência de larvas de *Ephestia (Anagasta) kuehniella* e *Callosobruchus maculatus* quando incorporado a dieta artificial; em adição, o efeito de WSMoL nos parâmetros nutricionais (taxa de consumo, taxa de crescimento relativo, eficiência na conversão do alimento ingerido, eficiência de conversão do alimento digerido, digestibilidade aproximada e custo metabólico) de *E. kuehniella* e avaliação da susceptibilidade da lectina à digestão por proteases intestinais de larvas de *E. kuehniella* e *C. maculatus* foram determinados.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Interação planta-inseto

Plantas e insetos coexistem no ambiente terrestre numa interação complexa e dinâmica (ERLICH & RAVEN, 1964; KANT & BALDWIN, 2007; PAIXÃO, 2010). As plantas dependem dos insetos para a dispersão de sementes, reprodução e defesa, enquanto que os insetos encontram nas plantas abrigo e alimento (DOAK *et al.*, 2007; FLEMING *et al.*, 2007; PAIXÃO, 2010). Entretanto, dependendo da intensidade do ataque, insetos fitófagos podem ser prejudiciais às plantas, promovendo injúrias suficientes para inviabilizar a sua reprodução ou levá-las a morte (MARON & CRONE, 2006; PAIXÃO, 2010).

Diversos mecanismos de defesa e adaptações são frequentemente encontrados nos seres vivos (PAIXÃO, 2010). As plantas possuem estratégias de defesa que levam à redução do ataque dos insetos e, em resposta, os insetos evoluem de forma a quebrar os mecanismos de defesa das plantas, em um processo conhecido como coevolução (HOLTZ *et al.*, 2003; VALUEVA & MOSLOV, 2004). Os mecanismos de defesa envolvidos podem ser químicos, físicos ou comportamentais e atuam diminuindo a chance de encontro com um inimigo natural ou aumentando a probabilidade de sobrevivência a este encontro (BEGON *et al.*, 2007). Um inseto torna-se praga apenas quando consegue adaptar-se aos mecanismos de defesa das plantas; associação com microorganismos, maior expressão de enzimas digestivas, expressão de outras classes de proteases, ativação dos mecanismos enzimáticos de detoxificação e modificação na escolha do tecido a ser predado são alguns exemplos de estratégias desenvolvidas pelos insetos (JONGSMA & BOLTER, 1997; XAVIER, 2006).

As substâncias envolvidas na defesa química das plantas incluem metabólitos primários, dentre os quais se destacam as proteínas de defesa, e secundários, como os alcalóides, flavonóides, taninos e rotenóides (CHRISPEELS & RAIKHELB, 1991; PEUMANS & VAN DAMME, 1995; MELLO & SILVA-FILHO, 2002; NAPOLEÃO, 2012). Esses compostos agem de diferentes formas apresentando os efeitos: I- repelente; II- deterrente alimentar; III- deterrente de oviposição; IV- inibidor de crescimento V- antimicrobiano e; VI- tóxico (CARLINI & GROSSI-DE-SÁ, 2002; MACEDO *et al.*, 2007; NAPOLEÃO *et al.*, 2012). Dentre as principais proteínas envolvidas, destacam-se as lectinas, proteínas inativadoras de ribossomo dos tipos 1 e 2 (RIPs), inibidores de enzimas e glicohidrolases (PEUMANS & VAN DAMME, 1995; KOIWA *et al.*, 1997; CARLINI & GROSSI-DE-SÁ, 2002). Essas proteínas são encontradas, em grande parte, nas sementes, desde que são os veículos de propagação e sobrevivência das espécies (CARLINI & GROSSI-DE-SÁ, 2002). A variedade de compostos produzidos pelas plantas envolvidos nos mecanismos de defesa contra herbívoros e patógenos pode ser explorada na busca por produtos naturais que possam ser utilizados na manutenção da fitossanidade e no controle de insetos que causam danos econômicos e à saúde humana (NAPOLEÃO, 2012).

2.2. Controle de insetos e resistência a inseticidas

Os insetos-praga afetam a produtividade de numerosas culturas em todo o mundo (DUTTA *et al.*, 2005). Estima-se que perdas na produção agrícola atinjam 37 % da produção total mundial, sendo 13 % relacionadas aos insetos-praga (GATEHOUSE *et al.*, 1992; LAWRENCE & KOUNDAL, 2002; MACEDO *et al.*, 2007). Nos Estados Unidos, o custo anual de medidas de controle de insetos que atacam plantações equivale

a US\$ 8 bilhões (LAWRENCE & KOUNDAL, 2002). A tabela 1 apresenta alguns insetos-praga e suas respectivas plantas-alvo.

Tabela 1. Insetos-praga e suas respectivas plantas-alvo.

Insetos-praga	Plantas-alvo	Referência
<i>Anthonomus grandis</i> (bicudo-do-algodoeiro)	<i>Gossypium</i> sp. (algodão)	Xavier-Filho (1992)
<i>Ceratitidis capitata</i> (cabeça-de-negro)	<i>Carica papaya</i> (mamoeiro)	Ogunwolu <i>et al.</i> (1991)
<i>Zabrotes subfasciatus</i> (caruncho)	<i>Phaseolus vulgaris</i> (feijão comum); <i>Vigna unguiculata</i> (feijão de corda)	Castillo <i>et al.</i> (2000)
<i>Callosobruchus maculatus</i> (gorgulho)	<i>Vigna unguiculata</i> (feijão de corda)	Macedo <i>et al.</i> (2007)
<i>Alabama argillacea</i> (curuquerê)	<i>Gossypium</i> sp. (algodão)	Oliveira <i>et al.</i> (2000)
<i>Diatraea saccharalis</i> (broca-da-cana-de-açúcar)	<i>Saccharum officinarum</i> (cana-de-açúcar)	Botelho <i>et al.</i> (1999)

Os inseticidas químicos sintéticos são amplamente utilizados para controlar populações de espécies-praga (NAPOLEÃO, 2012). Sua aplicação nas plantações é feita de forma direta ou indireta em concentrações adequadas para produzir mortalidade dos insetos (GALLO *et al.*, 2002; BRAGA & VALLE, 2007). Existem vários produtos químicos usados atualmente com mais de 300 princípios ativos distribuídos em mais de 2.000 formulações empregados nas mais variadas culturas, finalidades e modalidades de uso (FLORES *et al.*, 2004).

Os inseticidas químicos sintéticos fazem parte do grupo de Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) que possuem como características a persistência, toxicidade, bioacumulação e biomagnificação (FLORES *et al.*, 2004; GHISELLI & JARDIM, 2007). A persistência reflete a alta resistência da degradação desses compostos por agentes químicos, físicos e biológicos (FLORES *et al.*, 2004). Enquanto que os

processos de bioacumulação e biomagnificação se referem à acumulação desses compostos nos tecidos e órgãos animais, devido a sua alta lipossolubilidade, percorrendo rapidamente a cadeia alimentar (efeito acumulativo), com resultados desastrosos para diversas espécies, incluindo o homem, que ocupam o topo desta cadeia (FLORES *et al.*, 2004).

Dos compostos usados em grande escala, destacam-se os organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides (FLORES *et al.*, 2004). Estes compostos são encontrados na biota, nas águas, sedimentos e no material particulado rico em matéria orgânica, mesmo após terem deixado de serem produzidos industrialmente há várias décadas (GHISELLI & JARDIM, 2007). A poluição dos recursos hídricos e solos, efeitos deletérios sobre organismos não-alvos, bem como distúrbios de saúde graves em trabalhadores de grandes lavouras, levam a oneração dos custos de produção e constituem os principais problemas associados a sua utilização (BRAGA & VALLE, 2007; LIMA *et al.*, 2009; NAPOLEÃO *et al.*, 2011). Em adição, o uso indiscriminado de pesticidas tem originado consequências negativas, como o desaparecimento de algumas espécies úteis, aparecimento de novas pragas e a seleção de indivíduos resistentes (FLORES *et al.*, 2004).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a resistência dos insetos aos inseticidas ocorre devido à presença de genes de resistência que tornam alguns indivíduos da população hábeis para tolerar determinadas doses de tóxicos que, em condições normais, causaria sua morte. Um exemplo disso é o dicloro difenil etano (DDT), um dos primeiros inseticidas utilizados, que mostrou uma grande eficiência inicialmente que decaiu rapidamente devido a seleção de linhagens resistentes (CLARK & YAMAGUCHI, 2002; BRAGA & VALLE, 2007).

A taxa à qual a resistência evolui é dependente da pressão de seleção que é imposta na população e é controlada por três aspectos: 1- a biologia do inseto, 2- a química e especificidade do inseticida e 3- regime de tratamento utilizado (CLARK & YAMAGUCHI, 2002). Insetos que possuem alta taxa de reprodução, baixo comportamento migratório e um número restrito de hospedeiros tendem a se tornar resistentes mais rapidamente; enquanto que produtos químicos que persistem mais no ambiente, com um único modo de ação e são utilizados mais intensamente (alta dose e com maior frequência) tem maior potencial de gerar resistência (CLARK & YAMAGUCHI, 2002). Os mecanismos que conferem resistência aos insetos correspondem à diminuição da taxa de penetração do inseticida pela cutícula, detoxificação metabólica aumentada e diminuição da sensibilidade do sítio-alvo (BRAGA & VALLE, 2007).

Os problemas associados ao uso de pesticidas para o controle de insetos-praga têm levado a um aumento das pesquisas relacionadas com o desenvolvimento de métodos alternativos eficientes, seguros, mais econômicos e de ocorrência natural (PARRA *et al.*, 2002; MAMJUDER *et al.*, 2005). Os estudos visam buscar novos compostos capazes de promover a mortalidade de insetos resistentes, minimizar a eliminação de espécies benéficas e reduzir os riscos à saúde humana (MENEZES, 2005; PAIVA *et al.*, 2011a). Além disso, a ampliação do leque de substâncias naturais inseticidas aumenta as possibilidades de rotatividade, minimizando a aquisição de resistência pelos insetos (VIEGAS JÚNIOR, 2003; CAVALCANTE *et al.*, 2006).

2.3. Inseticidas naturais

A variedade de compostos vegetais que podem ser utilizados no controle de pragas aumentou nas últimas décadas (ALMEIDA *et al.*, 2004; TAVARES & VENDRAMIM, 2005; BRAGA & VALLE, 2007; PEREIRA *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2008). Diferentes substâncias de origem vegetal (pós, extratos aquosos e orgânicos, óleos e proteínas isoladas), têm sido amplamente avaliadas quanto à sua atividade inseticida, apresentando como principais efeitos a repelência, inibição de alimentação, regulação de crescimento e ovicida/larvicida (SHAAYA *et al.*, 1997; ISMAN, 2000; MACEDO *et al.*, 2007; COELHO *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2011). Geralmente, esses inseticidas são eficientes em baixas concentrações, possuem baixa toxicidade para o homem e meio ambiente, além de terem um baixo custo e facilidade de aquisição e utilização pelos produtores (PEREIRA *et al.*, 2008).

2.4. Lectinas

2.4.1. Generalidades e detecção

As lectinas são proteínas ou glicoproteínas de origem não-imunológica, que ligam a carboidratos, sendo capazes de induzir a aglutinação de diferentes tipos de células ao interagirem com glicoconjugados presentes na superfície celular (GOLDSTEIN *et al.*, 1980; KENNEDY *et al.*, 1995; PEUMANS & VAN DAMME, 1995; CORREIA *et al.*, 2008). A seletividade de ligação de lectinas com os carboidratos ocorre através de pontes de hidrogênio, interações de van der Waals e interações hidrofóbicas (PAIVA *et al.*, 2010).

A presença de lectinas em uma amostra é detectada através do ensaio de hemaglutinação, como ilustrado na Figura 1A, em que a lectina se liga aos carboidratos da superfície celular dos eritrócitos, promovendo a formação de uma rede entre eles (COELHO & SILVA, 2000; PAIVA *et al.*, 2010; PONTUAL, 2010). A confirmação da presença de lectinas é feito pela inibição da atividade hemaglutinante (AH) em presença de carboidratos livres em solução (Figura 1B) (PONTUAL, 2010).

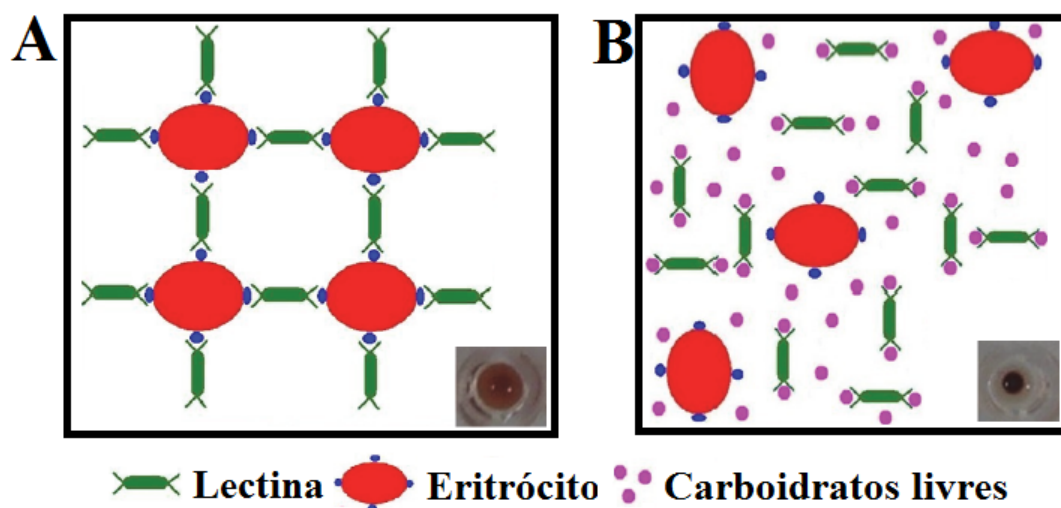


Figura 1. Atividade Hemaglutinante de lectina. (A) Representação esquemática da rede de eritrócitos formada pela ligação de lectinas aos carboidratos da superfície. (B) Inibição da atividade hemaglutinante pela adição de carboidratos livres. Fonte: Paiva *et al.* (2012b).

As lectinas apresentam uma ampla distribuição na natureza (RATANAPO *et al.*, 2001) e têm sido isoladas de diferentes microrganismos como vírus, bactérias e fungos (TRIGUEIROS *et al.*, 2003; ZHAO *et al.*, 2009), de invertebrados (WANG *et al.*, 2009) e vertebrados (KILPATRICK, 2002). Nas plantas, têm sido isoladas de frutos (THAKUR *et al.*, 2007), sementes (SANTOS *et al.*, 2009), folhas (GHOSH, 2008),

flores (ITO, 1986), cascas (INA *et al.*, 2005; SÁ *et al.*, 2009), rizomas (LIN *et al.*, 2008), cerne (SÁ *et al.*, 2008; NAPOLEÃO *et al.*, 2011) e raízes (WANG & NG, 2006). Geralmente, a maior parte das lectinas de uma planta é encontrada nos órgãos de armazenamento (RÜDIGER, 1998; COELHO, 2002; BOLETI *et al.*, 2009).

2.4.2 Aplicações biotecnológicas e atividades biológicas de lectinas

A específica interação das lectinas com glicoconjugados em solução ou na superfície celular dota estas moléculas de diversas atividades biológicas e as tornam ferramentas valiosas em diferentes aplicações biotecnológicas com os mais diversos fins (CORREIA *et al.*, 2008). Atualmente, as lectinas aparecem como ferramentas de destaque no campo da tecnologia de bioreconhecimento (NAPOLEÃO, 2012).

São amplamente utilizadas em estudos citoquímicos e histoquímicos na detecção de resíduos glicosilados em superfícies teciduais de humanos e animais (FRANCESCHINI *et al.*, 2000; PEDINI *et al.*, 2002; LIMA *et al.*, 2010), como moléculas de reconhecimento para diferenciação de tumores malignos e benignos (GORELIK *et al.*, 2001; WROBLEWSKI *et al.*, 2001), como moléculas bioadesivas no endereçamento de drogas (BIES *et al.*, 2004), na indução de apoptose celular (LIU *et al.*, 2009) e no isolamento de glicoconjugados quando imobilizados em suportes insolúveis (FRANCO-FRAGUAS *et al.*, 2003; BANERJEE *et al.*, 2004). Em adição, lectinas são usadas como ferramentas eficientes para decifrar o glicocódigo que reflete o estado fisiológico da célula, em técnicas de *microarrays*, área conhecida como lectinômica (GEMEINER *et al.*, 2009).

As atividades biológicas de lectinas incluem: a estimulação de linfócitos, macrófagos e neutrófilos (ANDRADE *et al.*, 1999; PAJIC *et al.*, 2002; TIMOSHENKO

et al., 1995), estimulação da produção de interferon γ por linfócitos (MELO *et al.*, 2010), atividade antiinflamatória (ASSREUY *et al.*, 1999; MELO *et al.*, 2010), antitumoral (ELSASSER-BEILE *et al.*, 2001; FANG *et al.*, 2010), antifúngica (FREIRE *et al.*, 2002; SÁ *et al.*, 2009; SANTANA *et al.*, 2009) antibacteriana (OLIVEIRA *et al.*, 2008; SÁ *et al.*, 2009; FERREIRA *et al.*, 2011), antiviral (SATO *et al.*, 2011), hipotensiva (WANG *et al.*, 1996), nematicida (GAOFU *et al.*, 2008) e inseticida (MACEDO *et al.*, 2007; COELHO *et al.*, 2009; SÁ *et al.*, 2009; NAPOLEÃO *et al.*, 2011; PAIVA *et al.*, 2011a). Lectinas que estão diretamente envolvidas nos mecanismos de defesa de plantas, possuem como característica principal a estabilidade a amplas faixas de pH, temperatura e a enzimas proteolíticas (COELHO, 2002; BOLETI, 2003).

2.4.3 Lectinas inseticidas e seus mecanismos de ação

Várias lectinas de plantas tem apresentado efeito entomotóxico contra larvas de diferentes estágios de desenvolvimento e formas maduras de insetos das ordens Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Homoptera, Hymenoptera, Isoptera, Lepidoptera e Neuroptera (Tabela 2). Em geral, lectinas inseticidas são resistentes às proteases intestinais dos insetos (MACEDO *et al.*, 2007; NAPOLEÃO *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2011). A ligação de lectinas a moléculas glicosiladas do intestino dos insetos pode interferir nas funções de enzimas digestivas e proteínas assimilatórias, inibindo a digestão e absorção de nutrientes (COELHO *et al.*, 2007).

Tabela 2. Lectinas de plantas com ação inseticida.

Inseto	Lectina (s)	Planta de origem	Referência
<i>Callosobruchus maculatus</i> (Coleoptera)	BmoLL GSII STA WGA TEL	<i>Bauhinia monandra</i> <i>Griffonia simplicifolia</i> <i>Solanum tuberosum</i> <i>Triticum aestivum</i> <i>Talisia esculenta</i>	Macedo <i>et al.</i> (2007) Zhu-Salzman <i>et al.</i> (1998) Murdock <i>et al.</i> (1990) Sadeghi <i>et al.</i> (2006) Macedo <i>et al.</i> (2004)
<i>Zabrotes subfasciatus</i> (Coleoptera)	BmoLL	<i>B. monandra</i>	Macedo <i>et al.</i> (2007)
<i>Aedes aegypti</i> (Diptera)	MuBL MuHL	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Sá <i>et al.</i> (2009)
	WSMoL	<i>Moringa oleifera</i>	Coelho <i>et al.</i> (2009)
<i>Bactrocera curcubitae</i> (Diptera)	AHL	<i>Arisaema helleborifolium</i>	Kaur <i>et al.</i> (2006)
<i>Lucilia cuprina</i> (Diptera)	ConA lentil lectin WGA	<i>Canavalia ensiformis</i> <i>Lens culinaris</i> <i>T. aestivum</i>	Eisemann <i>et al.</i> (1994) " "
<i>Acyrtosiphon pisum</i> (Hemiptera)	ConA	<i>C. ensiformis</i>	Sauvion <i>et al.</i> (2004)
<i>Nilaparvata lugens</i> (Hemiptera)	ConA GNA	<i>C. ensiformis</i> <i>Galanthus nivalis</i>	Powell <i>et al.</i> (1995) "
<i>Dysdercus cingulatus</i> (Homoptera) <i>Lypaphis erysimi</i> (Homoptera)	ASAL	<i>Allium sativum</i>	Bandyopadhyay <i>et al.</i> (2001)
<i>Atta opaciceps</i> (Hymenoptera)	ConBR	<i>Canavalia brasiliensis</i>	Isidro <i>et al.</i> (2001)
	MuHL	<i>M. urundeuva</i>	Napoleão <i>et al.</i> (2011)
<i>Nasutitermes corniger</i> (Isoptera)	OfiL WSMoL cMoL	<i>Opuntia ficus indica</i> <i>M. oleifera</i> <i>M. oleifera</i>	Paiva <i>et al.</i> (2011a) Paiva <i>et al.</i> (2011a)
	ACLEC	<i>Annona coriacea</i>	Coelho <i>et al.</i> (2007)
<i>Ephestia kuehniella</i> (Lepidoptera)	BmoLL KpLec	<i>B. monandra</i> <i>Koelreuteria paniculata</i>	Macedo <i>et al.</i> (2007) Macedo <i>et al.</i> (2003)
<i>Corcyra cephalonica</i> (Lepidoptera)	ACLEC	<i>A. coriacea</i>	Coelho <i>et al.</i> (2007)
<i>Chrysoperla cárnea</i> (Neuroptera)	GNA	<i>G. nivalis</i>	Hogervorst <i>et al.</i> (2006)

Fonte: PAIVA *et al.* (2011b) com modificações.

Tem sido demonstrado que lectinas inseticidas: 1- atuam modulando a ação de enzimas digestivas dos insetos, 2- se ligam a receptores glicosilados na superfície das células epiteliais digestivas ou 3- se ligam à matriz peritrófica interferindo na sua integridade (FITCHES & GATEHOUSE, 1998; HARPER *et al.*, 1998; SAUVION *et*

al., 2004; MACEDO *et al.*, 2007). Recentemente, estudos têm demonstrado que as lectinas podem se ligar à glicoproteínas da membrana de células epiteliais, dando início a uma cascata de transdução de sinais que leva a morte celular (HAMSHOU *et al.*, 2010). Dessa forma, o efeito entomotóxico de lectinas está relacionado com a sua propriedade de se ligar especificamente a carboidratos (MACEDO *et al.*, 2007; PAIVA *et al.*, 2011a; PAIVA *et al.*, 2012a).

A inibição de enzimas digestivas de insetos por lectinas é causada pela ligação à porção glicosilada dessas enzimas ou pela interação a sítios de ligação aos substratos (MACEDO *et al.*, 2007). Lectina de folhas de *M. urundeuva* (MuLL) inibiu a atividade de proteases e enzimas semelhantes a tripsina do intestino de larvas no 4º estágio de desenvolvimento (L₄) de *A. aegypti* e apresentou resistência à proteólise por enzimas digestivas das larvas (NAPOLEÃO *et al.*, 2012). ACLEC (lectina de sementes de *A. coriaceae*) foi capaz de diminuir a atividade da tripsina digestiva de *E. kuehniella* e aumentar a atividade trípica nas fezes desses insetos; os autores sugerem que a alta atividade enzimática nas fezes ocorreu devido a alterações na matriz peritrófica levando a descompartimentalização enzimática (COELHO *et al.*, 2007).

Os efeitos inibitórios no desenvolvimento dos insetos têm sido descritos em larvas alimentadas por dietas artificiais contendo lectinas de plantas; a ligação de lectinas a proteínas glicosiladas do trato intestinal das larvas interfere na digestão e absorção de nutrientes, causando uma perda de massa e, em geral, a transformação em pupa não ocorre (PAIVA *et al.*, 2012a). BmoLL (lectina de folhas de *B. monandra*) inibiu o desenvolvimento de larvas de *C. maculatus*, reduzindo o número de sobreviventes e diminuindo o peso corporal das larvas; a dose letal de BmoLL capaz de matar 50 % das larvas correspondeu a 0,32 % (MACEDO *et al.*, 2007); KpLec (lectina de sementes de *K. paniculata*) reduziu o peso corporal das larvas de *E. kuehniella* e foi

capaz de matar 50 % das larvas a 0,65 % de incorporação (MACEDO *et al.*, 2003); enquanto que cMoL (lectina coagulante de sementes de *M. oleifera*) causou perturbações nutricionais que acarretaram no atraso no desenvolvimento e redução do peso (45 %) de larvas de *E. kuehniella*, bem como interferiu na sobrevivência das pupas (27.6%) quando incorporada a 1 % (p/v) na dieta artificial (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A matriz peritrófica dos insetos, membrana que reveste o intestino composta por quitina (polímero de *N*-acetilglicosamina) e glicoproteínas como as peritrofinas, confere proteção contra infecção e danos mecânicos de partículas alimentares abrasivas (TELLAM *et al.*, 1999; COELHO *et al.*, 2009; HEGEDUS *et al.*, 2009; PAIVA *et al.*, 2011a). Estudos têm demonstrado que lectinas ligadoras de quitina interferem na integridade da matriz peritrófica (MACEDO *et al.*, 2007). Coelho *et al.* (2009) demonstrou que WSMoL (0,197 mg/mL), lectina ligadora de quitina, promoveu a destruição da matriz peritrófica de larvas L₄ de *A. aegypti*, visualizado em fotomicrografias.

2.5 *Moringa oleifera*

Moringa oleifera Lam. (Figura 2A), pertencente à família Moringaceae, é nativa do nordeste da Índia e está amplamente distribuída nos trópicos de todo o mundo (BEZERRA *et al.*, 2004; KARADI *et al.*, 2006). De acordo com Souza & Lorenzi (2008), a moringa é uma planta rústica, de rápido crescimento e produtora de frutos comestíveis. Cresce rapidamente e está extremamente adaptada às condições de seca, sendo capaz de sobreviver em solos pobres e com baixo teor de umidade (MCCONNACHIE *et al.*, 1999). Constitui um vegetal rico em nutrientes que se presta a uma vasta gama de aplicações industriais na produção de óleos, alimentos e

condimentos, dentre outras, e medicinais na produção de fitoterápicos (MAKKAR & BECKER, 1997; VIEIRA, *et al.*, 2010). Nas Filipinas, as folhas jovens, flores e vagens verdes são comuns na dieta (MAKKAR & BECKER, 1997). *M. oleifera* tem sido objeto de muitas pesquisas devido ao seu uso múltiplo (SUAREZ *et al.*, 2003, 2005; GHEBREMICHAEL *et al.*, 2005); em adição, devido ao seu uso na medicina popular, estudos têm sido feitos visando o isolamento de compostos bioativos (SANTOS, 2007).

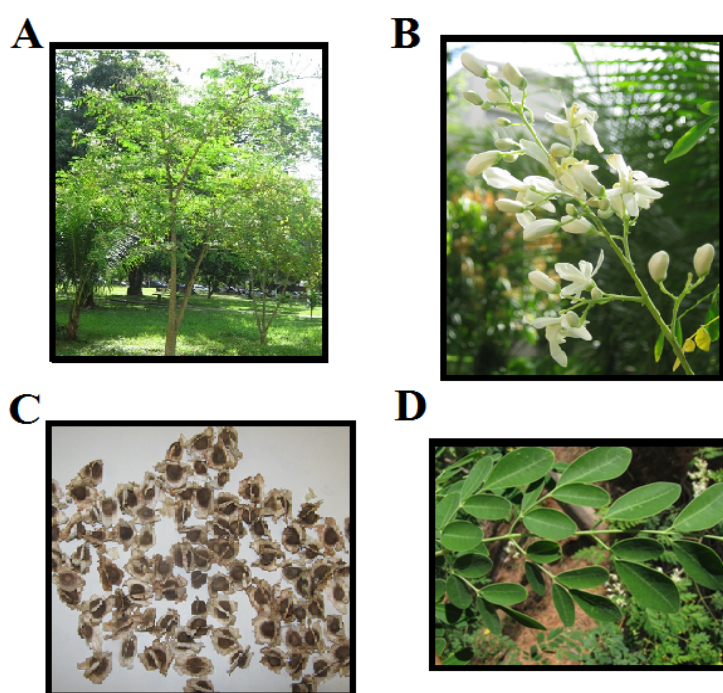


Figura 2. Aspectos de *M. oleifera*. A: Árvore; B: Flores; C: Sementes; D: Folhas.

Fonte: Moura, M. C., 2010 (A, B e C) e www.naturezadivina.org (D)

M. oleifera é utilizada para fins medicinais em Guiné, La Reunion, Madagascar, Guiana e Burma (KARADI *et al.*, 2006). É também consumida no sudoeste da Ásia, onde se acredita que apresente efeitos benéficos sobre a visão (LIU *et al.*, 2007). Suas folhas são ricas em β -caroteno, proteínas, vitamina C, cálcio e potássio, apresentando atividade antioxidante, além de atividade hipotensiva, hipocolesterolêmica

e contra o vírus herpes *simplex* tipo 1 (FAIZI *et al.*, 1995; DILLARD & GERMAN, 2000; GHASI *et al.*, 2000; LIPIPUN *et al.*, 2003; SIDDHURAJU & BECKER, 2003; LAKO *et al.*, 2007).

As raízes da moringa são dotadas de atividade antiurolítica e a casca do tronco apresenta atividade hipoglicemiante (KAR *et al.*, 2003; KARADI *et al.*, 2006). Suas flores (Figura 2B) são utilizadas para o tratamento de ascite, reumatismo, picadas venenosas e como estimulantes cardíacos (ANWAR *et al.*, 2003; 2007). São ricas em antioxidantes naturais como α - e γ -tocoferol e contém aminoácidos, sacarose, D-glicose, cera, além de serem ricas em íons potássio e cálcio (RUCKMANI *et al.*, 1998; SÁNCHEZ-MACHADO *et al.*, 2006); contém ainda inibidor de tripsina, atividade inseticida sobre cupins *N. corniger* e larvas de *A. aegypti* e antibacteriana frente bactérias patogênicas (FALASCA & BERNABÉ, 2008; PONTUAL, 2008, 2010; MOURA *et al.*, 2011; PONTUAL *et al.*, 2012).

As sementes de moringa (Figura 2C) são ricas em óleo e são amplamente utilizadas como coagulantes naturais na purificação de água para consumo humano em alguns países em desenvolvimento (KALOGO *et al.*, 2000; OKUDA *et al.*, 2001; ABDULKARIM *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2005; ANWAR *et al.*, 2007; UZAMA *et al.*, 2011). Resultados obtidos por Ghebermichael *et al.*, (2005) confirmaram que proteínas são os principais componentes coagulantes em extratos de sementes. Estudos mostram que as sementes apresentam atividade hipotensiva, antioxidante, antibacteriana, inseticida, antitumoral e antifúngica contra dermatófitos, em condições *in vivo* (FAIZI *et al.*, 1995; GUEVARA *et al.*, 1999; BROIN *et al.*, 2002; GHEBREMICHAEL *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2005; CHUANG *et al.*, 2007; FERREIRA *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2011; PAIVA *et al.*, 2011a).

2.5.1. Lectinas de sementes de *M. oleifera*

Nas sementes de *M. oleifera* já foram identificadas três diferentes lectinas, denominadas: 1- MoL (do inglês *M. oleifera* lectin) (KATRE *et al.*, 2008); 2- cMoL (do inglês coagulant *M. oleifera* lectin) (SANTOS *et al.*, 2009) e; 3- WSMoL (do inglês water-soluble *M. oleifera* lectin) (SANTOS *et al.*, 2005). MoL é uma lectina catiônica formada por subunidades de 7,1 kDa unidas por ligação dissulfeto; foi isolada por cromatografia em DEAE-Celulose e CM-Sephadex (KATRE *et al.*, 2008). Sua atividade não foi alterada em extremos valores de pH e alta temperatura; a atividade hemaglutinante de MoL foi inibida pela adição de tiroglobulina, fetuina e holotransferina (KATRE *et al.*, 2008).

O procedimento do isolamento de cMoL foi definido por Santos *et al.* (2009) através de cromatografia de gel de guar. Essa lectina foi ativa entre pH 4,0 e 9,0 e permaneceu com atividade após aquecimento à 100 °C durante 7 horas (SANTOS *et al.*, 2009); possui natureza catiônica e constitui uma proteína monomérica com peso aproximado de 26,5 kDa (SANTOS *et al.*, 2009). cMoL apresentou a propriedade coagulante e habilidade de se ligar à ácidos húmicos (SANTOS *et al.*, 2009, 2011) e atividade inseticida contra operários *N. corniger* e larvas e pupas de *E. kuehniella* (OLIVEIRA *et al.*, 2011; PAIVA *et al.*, 2011a). A atividade hemaglutinante de cMoL é inibida por vários carboidratos (glicose, rafinose, lactose, arabinose, trealose, ramnose e galactose), exceto frutose (SANTOS *et al.*, 2009).

Santos *et al.* (2005) detectaram a presença da lectina WSMoL em extratos aquosos de sementes de *M. oleifera*. Posteriormente, Coelho *et al.* (2009) estabeleceram o protocolo do isolamento de WSMoL através da cromatografia de coluna de quitina. WSMoL foi ativa em uma ampla faixa de pH (4,5 a 9,5) e permaneceu com atividade

quando aquecida a 100 °C durante 5 horas. Essa lectina reconhece D(+)-frutose e N-acetilglicosamina, uma vez que a presença desses carboidratos inibiu a atividade hemaglutinante (ROLIM *et al.*, 2011). WSMoL não apresenta genotoxicidade (ROLIM *et al.*, 2011) e foi ativa contra bactérias patogênicas e microorganismos provenientes da água natural eutrofizada (FERREIRA *et al.*, 2011); promoveu a mortalidade de larvas no quarto estágio larval (L₄) do mosquito *Aedes aegypti* (COELHO *et al.*, 2009) e de soldados e operários da espécie *N. corniger* (PAIVA *et al.*, 2011a).

2.6. *Ephestia (Anagasta) kuehniella*

Ephestia kuehniella (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) (Figura 3A), popularmente conhecida como traça-da-farinha do Mediterrâneo, está amplamente distribuída em todo o mundo (SILVA *et al.*, 2009). É uma praga de produtos alimentares armazenados, como o milho (*Zea mays*), o trigo (*Triticum aestivum*), o arroz (*Oryza sativum*) e o amendoim (*Arachis hypogea*) deixando-os, na maioria das vezes, impréstáveis para o consumo (COELHO, 2002; BOLETI, 2003; COELHO *et al.*, 2007; BOLETI *et al.*, 2009).

E. kuehniella multiplica-se rapidamente (BOLETI, 2003); uma única fêmea pode colocar cerca de 600 ovos, dependendo da temperatura e umidade ambiente (BOLETI *et al.*, 2009). De acordo com Gallo *et al.* (2002) o pico de oviposição ocorre nos três primeiros dias após a emergência. Seu ciclo de vida dura de 3 a 4 meses, sendo composto por ovo, larva, pupa e estágios adultos (PAIVA *et al.*, 2012a). Suas larvas (lagartas) (Figura 3B) possuem hábitos fitófagos e são as responsáveis pela infestação dos produtos armazenados (PAIVA *et al.*, 2012a). Em adição, as larvas produzem fios

de seda que podem paralisar moinhos; os fios posteriormente irão formar o casulo presente na fase pupal (GALLO *et al.*, 2002; LOECK, 2002; MACEDO *et al.*, 2007).

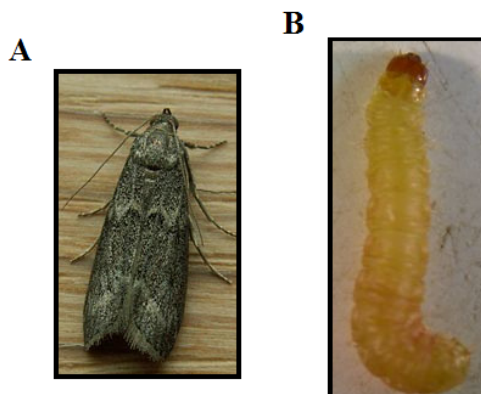


Figura 3. *Ephestia (Anagasta) kuehniella*. (A) Adulto; (B) Larva.

Fonte: http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/Ephestia/Index.htm

O controle de populações da *E. kuehniella*, assim como dos demais insetos-praga associados aos grãos armazenados, é realizado através de medidas de higienização e medidas preventivas e curativas com a utilização de inseticidas sintéticos, tóxicos aos animais e ao meio ambiente (MACEDO *et al.*, 2007). Sendo assim, vários produtos naturais, em especial, proteínas inseticidas, têm sido avaliadas frente esse inseto. ACLEC (COELHO *et al.*, 2007), BmoLL (MACEDO *et al.*, 2007), cMoL (OLIVEIRA *et al.*, 2011), pouterina (proteína de *Pouteria torta*) (BOLETI *et al.*, 2009), KpLec (MACEDO *et al.*, 2003), frações em diclorometano e acetato de etila de *Croton urucurana* (SILVA *et al.*, 2009) e óleo essencial de *Elettaria cardamomum* (ABBASIPOUR *et al.*, 2011) apresentaram efeito tóxico sobre larvas de *E. kuehniella* observados através da inibição do crescimento, redução da sobrevivência e peso médio das larvas.

2.7. *Callosobruchus maculatus*

O caruncho-do-feijão ou gorgulho, *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) (Figura 4A), é considerado a praga mais relevante do caupi, feijão macassar ou feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* L. Walp.), em regiões tropicais e subtropicais, podendo causar perdas da ordem de 60 % da produção (PEREIRA *et al.*, 2008). *C. maculatus* desenvolve-se bem em condições de temperatura e umidade relativamente elevadas e o seu ataque inicia-se na pré-colheita, intensificando-se no produto armazenado, gerando grandes perdas para os agricultores locais, devido ao baixo rendimento da cultura (ARRUDA & BATISTA, 1998; BARRETO & QUINDERÉ, 2000; AZEVEDO *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2008).

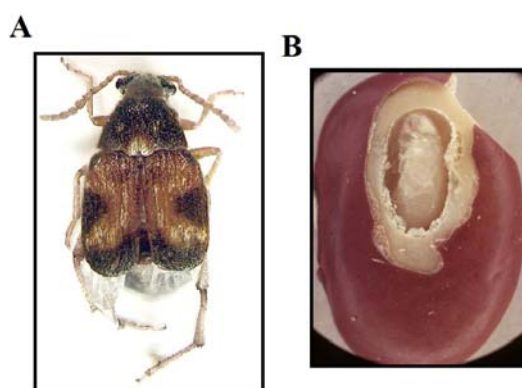


Figura 4. *Callosobruchus maculatus*. A: adulto; B: pupa.

Fonte: http://calphotos.berkeley.edu/cgi/img_query?seq_num=93334&one=T;

<http://www.zin.ru/animalia/coleoptera/eng/calmacdk.htm>

As fêmeas desta praga colocam seus ovos na superfície das sementes e, após eclosão, as larvas furam o tegumento das sementes e danificam os cotilédones subjacentes (Figura 4B) (MESSINA & JONES, 2009; GUSMÃO, 2012). Os danos decorrentes da penetração e alimentação das larvas no interior dos grãos ou sementes

proporcionam perdas de peso, redução do poder germinativo, do valor nutritivo e desvalorização comercial (GALLO *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2005).

Inseticidas organofosforados e piretróides são os mais utilizados como métodos preventivos e curativos (LORINI, 2008; ALMEIDA *et al.*, 2005). Os inseticidas vegetais são considerados promissores para o manejo integrado de *C. maculatus* nas unidades de armazenamento, atuando por contato, ingestão e fumigação (ALMEIDA *et al.*, 2005; SOUSA *et al.*, 2005). Várias espécies vegetais têm apresentado bioatividade em relação a *C. maculatus*, tais como: óleo de sementes de nim, *Azadirachta indica* A. Juss (LALE & ABDULRAHMAN, 1999); óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. (PASCUAL-VILLALOBOS & BALLESTA-ACOSTA, 2003); óleo essencial de *Melaleuca quinquernervia* L. (SERI-KOAUSI *et al.*, 2004); e extratos vegetais de *Arthemis nobilis* L., *A. indica*, *Camelia sinensis* L., *Croton tigilium* L. e *Piper nigrum* L. (ALMEIDA *et al.*, 2004). BmoLL (MACEDO *et al.*, 2007), lectina de sementes de *Talisia esculenta* (TEL) (MACEDO *et al.*, 2004), ConA (SADEGHI *et al.*, 2006) e GNA (SADEGHI *et al.*, 2006) (Tabela 2) são exemplos de lectinas que foram ativas contra *C. maculatus*. De todas as lectinas testadas contra *C. maculatus*, WGA e UDA (lectina de *Urtica dioica*) apresentaram melhor atividade contra esse bruquídeo (COELHO, 2002).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar a atividade inseticida da lectina WSMoL sobre larvas de *E. kuehniella* e *C. maculatus*.

3.2 Objetivos específicos

- Isolar a lectina WSMoL através de protocolo previamente estabelecido.
- Determinar o efeito de WSMoL na sobrevivência e crescimento de larvas de *E. kuehniella* e *C. maculatus* alimentadas com dieta artificial contendo a lectina.
- Avaliar os parâmetros nutricionais (ECI: eficiência de conversão do alimento ingerido; ECD: eficiência de conversão do alimento digerido; DA: digestibilidade aproximada; e CM: custo metabólico) para larvas de *E. kuehniella* alimentadas com dieta artificial contendo WSMoL.
- Obter extratos de intestino médio de larvas de *E. kuehniella* e *C. maculatus* contendo atividade proteolítica.
- Avaliar a susceptibilidade de WSMoL à digestão por proteases intestinais de larvas de *E. kuehniella* e *C. maculatus* através de eletroforese em gel de poliacrilamida em presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE).

4. REFERÊNCIAS

ABBASIPOUR, H.; MAHMOUDVAND, M.; RASTEGAR, F.; HOSSEINPOUR, M. H. Fumigant toxicity and oviposition deterrence of the essential oil from Cardamon, *Elettaria cardamomum*, against three stored product insects. **The Journal of Insect Science**, v.11, p. 1-10, 2011.

ABDULKARIM, S. M.; LONG, K.; LAI, O. M.; MUHAMMAD, S. K. S.; GHAZALI, H. M. Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. **Food Chemistry**, v. 93, p. 253-263, 2005.

ALMEIDA, S. A.; ALMEIDA, F. A. C.; SANTOS, N. R.; ARAÚJO, M. E. R.; RODRIGUES, J. P. Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, p. 67-70, 2004.

ALMEIDA, F. A. C.; ALMEIDA, S. A.; SANTOS, N. R.; GOMES, J. P.; ARAÚJO, M. E. R. Efeitos de extratos alcoólicos de plantas sobre caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, p. 585-590, 2005.

ANDRADE, J. L.; ARRUDA, S.; BARBOSA, T.; PAIM, L.; RAMOS, M. V.; CAVADA, B. S.; BARRAL-NETO, M. Lectin-induced nitric oxide production. **Cellular Immunology**, v. 194, p. 98-102, 1999.

ANWAR, F. S.; LATIF, S.; ASHRAF, M.; GILANI, A-H. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 17-25, 2007.

ANWAR, F.; BHANGER, M. I.; KAZI, T. G. Relationships of rancimat and active oxygen method values at varying temperatures for several oils and fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, p. 151-155, 2003.

ARRUDA, F. P.; BATISTA, J. L. Efeito da luz, de óleos vegetais e de cultivares de caupi na infestação do caruncho (*Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Caatinga**, v. 11, p. 53-57, 1998.

ASSREUY, A. M. S. ; MARTINS, G. J. ; MOREIRA, M. E. F.; BRITO, G. A. C.; CAVADA, B. S.; RIBEIRO, R. A.; FLORES, C. A. Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis by glucose-mannose binding plant lectins. **The Journal of Urology**, v. 16, p. 1988-1993, 1999.

AZEVEDO, F. R.; LEITÃO, A. C. L.; LIMA, M. A. A.; GUIMARÃES, J. A. Eficiência de produtos naturais no controle de *Callosobruchus maculatus* (Fab.) em feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) armazenado. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v. 38, p. 182-157, 2007.

BANDYOPADHYAY, S.; ROY, A.; DAS, S. Binding of garlic (*Allium sativum*) leaf lectin to the gut receptors of homopteran pests is correlated to its insecticidal activity. **Plant Science**, v. 161, p. 1025-1033, 2001.

BANERJEE, S.; CHAKI, S.; BHOWAL, J.; CHATTERJEE, B. P. Mucin binding mitogenic lectin from freshwater Indian gastropod *Belamya bengalensis*: purification and molecular characterization. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 421, p. 125-134, 2004.

BARRETO, P. D.; QUINDERÉ, M. A. Resistência de genótipos de caupi ao caruncho. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA**, v. 35, p. 779-785, 2000.

BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. **Ecologia de indivíduos a ecossistemas**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, p. 740, 2007.

BEZERRA, A. M. E.; MOMENTÉ, V. G.; FILHO, S. M. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p. 295-259, 2004.

BIES, C.; LEHR, C. M.; WOODLEY, J. F. Lectin – mediated drug targeting: history and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 425-435, 2004.

BOLETI, A. P. A. **Isolamento, caracterização físico-química e estudo da atividade inseticida e fungicida da lectina de sementes de *Pouteria torta* (MART.) RADLK.** Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas. 117 f. Dissertação de Mestrado (Biologia Funcional e Molecular), 2003.

BOLETI, A. P. A.; KUBO, C. E. G.; MACEDO, M. L. R. Effect of pouterin, a protein from *Pouteria torta* (Sapotaceae) seeds, on the development of *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 29, p. 24-30, 2009.

BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P.; NETO, J. F. C.; OLIVEIRA, C. P. B. Association of the egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) with the larval parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) to control the sugarcane Borer *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, p. 491-496, 1999.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: surveillance, resistance monitoring , and control alternatives in Brazil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, p. 295-302, 2007.

BROIN, M.; SANTAELLA, C.; CUINE, S.; KOKOU, K.; PELTIER, G.; JÖET, T. Flocculent activity of a recombinant protein from *Moringa oleifera* Lam. seeds. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 60, p. 114–119, 2002.

CARLINI, C. R., GROSSI-DE-SÁ, M. F. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potential as bioinsecticides. **Toxicon**, v. 40, p. 1515-1539, 2002.

CASTILLO, M. A.; MOYA, P.; HERNÁNDEZ, E.; PRIMO-YÚFERA, E. Susceptibility of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. **Biological Control**, v. 19, p. 274-282, 2000.

CAVALCANTE, G. M.; MOREIRA, A. F. C.; VASCONCELOS, S. D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 41, p. 9-14, 2006.

CHRISPEELS, M. J.; RAIKHELB, N. V. Lectins, lectin genes, and their role in plant defense. **Plant Cell**, v. 3, p.1–9, 1991.

CHUANG, P.; LEE, C. W.; CHOU, J. Y.; MURUGAN, M.; SHIEH, B. J.; CHEN, H. M. Antifungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 232-236, 2007.

CLARK, M.; YAMAGUCHI, I. Scope and status of pesticide resistance. In: Clark, J. (Ed.). **Agrochemical Resistance**, ACS Symposium Series. American Society, Washington, DC, 2002.

COELHO, L. C. B. B.; SILVA, M. B. R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 1-6, 2000.

COELHO, J. S.; SANTOS, N. D.; L.; NAPOLEÃO, T. H.; GOMES, F. S.; FERREIRA, R. S.; ZINGALI, R. B.; COELHO, L. C. B. B.; LEITE, S. P.; NAVARRO, D. M. A. F.; PAIVA, P. M. G. Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. **Chemosphere**, v. 77, p. 934-938, 2009.

COELHO, M. B. **Isolamento e caracterização de uma lectina de sementes de *Annona coriacea* e seu efeito sobre os insetos *Callosobruchus maculatus* e *Anagasta kuehniella***. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas. 86 f. Dissertação de Mestrado (Biologia Funcional e Molecular), 2002.

COELHO, M. B.; MARANGONI, S.; MACEDO, M. L. R. Insecticidal action of *Annona coriacea* lectin against the flour moth *Anagasta kuehniella* and the rice moth *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). **Comparative Biochemistry and Physiology C**, v. 146, p. 406-414, 2007.

CORREIA, M. T. S., COELHO, L. C. B. B., PAIVA, P. M. G. Lectins, carbohydrate recognition molecules: are they toxic? In: Siddique, Y. H. (Org.). **Recent Trends in Toxicology**. Kerala: Transworld Research Network, v. 37, p. 47-59, 2008.

DEL-CLARO, K.; SILINGARDI, H. M. T. Toma lá, dá cá: insetos e plantas mantêm relações complexas de coexistência; em alguns casos, ganham os insetos, noutros, as plantas. **Cultivar Hortaliças e Frutas**, v. 5. 2001.

DILLARD, C. J.; GERMAN, J. B. Phytochemicals: Nutraceuticals and human health: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1744-1756, 2000.

DOAK, P.; WAGNER, D.; WATSON, A. Variable extrafloral nectary expression and its consequences in quaking aspen. **Canadian Journal of Botany**, v. 85, v. 1-9, 2007.

DUTTA, I., SAHA, P., MAJUMDER, P., SARKAR, A., CHAKRABORTI, D., BANERJEE, S., DAS, S. The efficacy of a novel insecticidal protein, *Allium sativum* leaf lectin (ASAL), against homopteran insects monitored in transgenic tobacco. **Journal of Plant Biotechnology**, v. 3, p. 601-611, 2005.

EDWARDS, P. J.; WRATTEN, S. D. **Ecologia das interações entre insetos e plantas**. **Temas de Biologia**, v. 27. São Paulo, EPU/EDUSP. 1981.

EISEMANN, C. H.; DONAL DSON, R. A.; PEARSON, R. D.; CADOGAN, L. C.; VUOCOLO, T.; TELLAM, R. L. Larvicidal activity of lectins on *Lucilia cuprina* – mechanism of action. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 72, p. 1-10, 1994.

ELSASSER-BEILE, U.; RUHNAU, T.; FREUDENBERG, N.; WETTERAUER, U.; MENGES, U. Antitumoral effect of recombinant mistletoe lectin on chemically induced urinary bladder carcinogenesis in a rat model. **Cancer**, v. 91, p. 998–1004, 2001.

ERLICH, P. R.; RAVEN, P. H. Butterflies and plants: a study in coevolution. **Evolution**, v. 18, p. 586-608, 1964.

FAIZI, S.; SIDDIQUI, B. S.; SALEEM, R.; SIDDIQUI, S.; AFTAB, K.; GILANI, A-U-H. Fully acetylated carbamate and hypotensive thiocarbamate glycosides from *Moringa oleifera*. **Phytochemistry**, v. 38, p. 957–963, 1995.

FALASCA, S.; BERNABÉ, M. A. Potenciales usos y delimitación del área de cultivo de *Moringa oleifera* en Argentina. **Revista Virtual REDESMA**, v. 3, p. 1-16, 2008.

FANG, E. F.; LIN, P.; WONG, J. H.; TSAO, S. W.; NG, T. B. A Lectin with Anti-HIV-1 Reverse transcriptase, antitumor, and nitric oxide inducing activities from seeds of *Phaseolus vulgaris* cv. extralong Autumn purple Bean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 2221-2229, 2010.

FERREIRA, R. S.; NAPOLEÃO, T. H.; SANTOS, A. F. S.; SÁ R. A.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. M. C.; MORAIS, R. A.; SILVA-LUCCA, M. L. V. OLIVA, L. C. B. B. COELHO; PAIVA P. M. G. Coagulant and antibacterial activities of the water-soluble seed lectin from *Moringa oleifera*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 53, p. 186-192, 2011.

FITCHES, E.; GATEHOUSE, J. A. A comparison of the short and long term effects of insecticidal lectins on the activities of soluble and brush border enzymes of tomato moth larvae (*Lacanobia oleracea*). **Journal of Insect Physiology**, v. 44, p. 1213-1224, 1998.

FITCHES, E.; WILES, D.; DOUGLAS, A. E.; HINCHLIFFE, G.; AUDSLEY, N.; GATEHOUSE, J. A. The insecticidal activity of recombinant garlic lectins towards aphids. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 38, p. 905-915, 2008.

FLEMING, P. A.; HOFMYER, S. D.; NICOLSON, S. D. Role of insects in the polination of *Acacia nigrescens* (Fabaceae). **South African Journal of Botany**, v. 73, p. 49-55, 2007.

FLORES, A. V.; RIBEIRO, J. N.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, E. L. R. Organoclorados: Um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, v. 3, p. 111-124, 2004.

FRANCESCHINI, V.; LAZZARI, M.; CIANI, F. Lectin cytochemical localization of glycoconjugates in the olfactory system of the lizards *Lacerta viridis* and *Podarcis sicula*. **Anatomy & Embryology**, v. 202, p. 49-54, 2000.

FRANCO-FRAGUAS, L.; PLÁ, A.; FERREIRA, F.; MASSALDI, H.; SUÁREZ, N.; BATISTA-VIERA, F. Preparative purification of soybean agglutinin by affinity chromatography and its immobilization for polysaccharide isolation. **Journal of Chromatography B**, v. 790, p. 365-372, 2003.

FREIRE, M. G. M.; GOMES, V. M.; CORSINI, R. E.; MACHADO, O. L. T.; SIMONE, S. G.; NOVELLO, J. C.; MARANGONI, S.; MACEDO, M. L. Isolation and partial characterization of a novel lectin from *Talisia esculenta* seeds that interferes with fungal growth. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 61-68, 2002.

GALLO, D.; NAKANO, O. ; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. 2002. **Pragas das hortícolas e ornamentais**. In: Gallo, D.; Nakano, O. Silveira Neto, S.; Carvalho, R. P. L.; Baptista, G. C.; Berti Filho, E.; Parra, J. R.; Zucchi, R. A.; Alves, S. B.; Vendramim, J. D.; Marchini, L. C.; Lopes, J. R. S.; Omoto, C. (Eds.), **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, p. 714-769, 2002.

GAOFU, Q.; SHIQING, M.; FAYIN, Z.; ZHINIYU, Y.; XIUYUN, Z. In vitro assessment of plant lectins with anti-pinewood nematode activity. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, p. 40-45, 2008.

GATEHOUSE, A. M. R.; HILDER, V. A.; BOULTIER, D. Potential of plant-derived genes in the genetic manipulation of crops for insect resistance. **Biotechnology in Agriculture** no. 7: Plant Genetic Manipulation for crop protection. CAB Int., p. 155–181, 1992.

GEMEINER, P.; MISLOVIČOVÁ, D.; TKÁČ, J.; ŠVITEL, J.; PĀTOPRSTÝ, V.; HRABÁROVÁ, E.; KOGAN, G.; KOŽÁR, T. Lectinomics II. A highway to biomedical/clinical diagnostics. **Biotechnology Advances**, v.27, p.1–15, 2009.

GHASI, S.; NWOBODO, E.; OFILI, J. O. Hypcholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, p. 21–25, 2000.

GHEBREMICHAEL, K. A.; GUNARATNA, K. R.; HENRIKSSON, H.; BRUMER, H.; DALHAMMAR, G. A simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed. **Water Research**, v. 39, p. 2338-44, 2005.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v. 30, p. 695-706, 2007.

GOLDSTEIN, I. J.; HUGHES, R. C.; MONSIGNY, M.; OSAWA, T.; SHARON, N. What should be called a lectin? **Nature**, v. 285, p. 66, 1980.

GHOSH, M. Purification of a lectin-like antifungal protein from the medicinal herb, *Withania somnifera*. **Fitoterapia**, v. 80, p. 91-95, 2008.

GORELIK, E., GALILI, U., RAZ, A. On the role of cell surface carbohydrates and their binding proteins (lectins) in tumor metastasis. **Cancer and Metastasis Reviews**, v.20, p.245–277, 2001.

GUEVARA, A. P.; VERGAS, C.; SAKURAI, H.; FUJIWARA, Y.; HASHIMOTO, K.; MAOKA, T.; KOZUKA, M.; ITO, Y.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam. **Mutation Research**, v. 440, p. 181-188, 1999.

GUSMÃO, N. M. S. **Toxicidade por contato e fumigação e repelência de óleos essenciais de *Eucalyptus. citriodora* Hook., *Eucalyptus. staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt e *Foeniculum vulgare* Mill. no manejo de *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae).** Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife. 48 f. Dissertação de Mestrado (Entomologia Agrícola), 2012.

HAMSHOU, M.; SMAGGHE, G.; SHAHIDI-NOGHABI, S.; GEYTER, E.; LANNO, N.; VAN DAMME, E. J. M. Insecticidal properties of *Sclerotinia sclerotiorum* agglutinin and its interaction with insect tissues and cells. **Insect Biochemistry & Molecular Biology**, v. 40, p. 883-890, 2010.

HARPER, M. S.; HOPKINS, T. L.; CZAPLA, T. H. Effect of wheat germ agglutinin on the formation and structure of the peritrophic membrane in European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) larvae. **Tissue and Cell**, v. 30, p. 166-176, 1998.

HEGEDUS, D.; ERLANDSON, M.; GILLOTT, C.; TOPRAK, U. New Insights into Peritrophic Matrix Synthesis, Architecture, and Function. **Annual Review of Entomology**, v. 40, p. 285-302, 2009.

HOGERVORST, P. A.; FERRY, N.; GATEHOUSEB, A. M. R.; WÄCKERSC, F. L.; ROMEISA, J. Direct effects of snowdrop lectin (GNA) on larvae of three aphid predators and fate of GNA after ingestion. **Journal of Insect Physiology**, v. 52, p. 614-624, 2006.

HOLTZ, A. M.; OLIVEIRA, H. G.; PALLINI, A.; VENZON, M.; ZANUNCIO, J. C.; OLIVEIRA, C. L.; MARINHO, J. S.; ROSADO, M. C. Desempenho de *Thyriniteina arnobia* Stoll (Lepidoptera: Geometridae) em Eucalipto e Goiaba: o hospedeiro nativo não é um bom hospedeiro?. **Neotropical Entomolgy**, v. 32, p. 427-431, 2003.

INA, C.; SANO, K.; YAMAMOTO-TAKAHASHI, M.; MATSUSHITA-OIKAWA, H.; TAKEKAWA, H.; TAKEHARA, Y.; UEDA, H.; OGAWA, H. Screening for and purification of novel self-aggregatable lectins reveal a new functional lectin group in the bark of leguminous trees. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1726, p. 21-27, 2005.

ISIDRO, R.; SALES, F. J. M.; CAVADA, B. S.; GRANGEIRO, T. B.; MOREIRA, R. A. Ação de lectina de sementes de *Canavalia brasiliensis* Mart. sobre o comportamento da saúva do Nordeste (*Atta opaciceps* Borgmeier, 1939). **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 27, p. 77-89, 2001.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 8-10, 2000.

ITO, Y. Occurrence of lectins in leaves and flowers of *Sophora japonica*. **Plant Science**, v. 47, p. 77-82, 1986.

JONGSMA, M. A.; BOLTER, C. The adaptation of insects to plant protease inhibitors. **Journal of Insect Physiology**, v. 43, p. 885-895, 1997.

KALOGO, Y. F.; ROSILLON, F.; HAMMES, F.; VERSTRAETE, W. Effect of a water extract of *Moringa oleifera* seeds on the hydrolytic microbial species diversity of a

UASB reactor treating domestic wastewater. **Letters in Applied Microbiology**, v. 31, p. 259-264, 2000.

KANT, M. R.; BALDWIN, I. T. The ecogenetics and ecogenomics of plant-herbivore interactions: rapid progress on a slippery road. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 17, p. 519-524, 2007.

KAR, A.; CHOUDHARY, B. K.; BANDYOPADHYAY, N. G. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, p. 105-108, 2003.

KARADI, R. V.; GADGE, N. B.; ALAGAWADI, K. R. & SAVADI, R. V. Effect of *Moringa oleifera* Lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 306-311, 2006.

KATRE, U.V., SURESH, C.G., KHAN, M.I., GAIKWAD, S.M. Structure-activity relationship of a hemagglutinin from *Moringa oleifera* seeds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 42, p.203-207, 2008.

KAUR, M.; SINGH, K.; RUP, P. J.; SAXENA, A. K.; KHAN, R. H.; ASHRAF, M. T.; KAMBOJ, S. S.; SINGH, J. A tuber lectin from *Arisaema helleborifolium* Schott with anti-insect activity against melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) and anti-cancer effect on human cancer cell lines. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 445, p. 156-165, 2006.

KENNEDY, J. F.; PAIVA, P. M. G.; CORELLA, M.T.S.; CAVALCANTI, M.S.M.; COELHO, L.C.B.B. Lectins, versatile proteins of recognition: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, p. 219-30, 1995.

KILPATRICK, D. C. Review Animal lectins: a historical introduction and overview. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1572, p. 187– 197, 2002.

KOIWA, H.; SHADE, R. E.; ZHU-SALZMAN, K.; SUBRAMANIAN, L.; MURDOCK, L. L.; NIELSEN, S. S.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. Phage display can differentiate insecticidal activity of soybean cystatins. **Plant Journal**, v. 14, p. 371-380, 1997.

LAKO, J.; TRENERRY, V. C.; WAHLQVIST, M.; WATTANAPENPAIBOON, N.; SOTHEESWARAN, S.; PREMIER, R. Phytochemical flavonols, carotenoids and the

antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1727-1741, 2007.

LALE, N. E. S.; ABDULRAHMAN, H. T. Evaluation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil obtained by different methods and neem powder for the management of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in stored cowpea. **Journal of Stored Products Research**, v. 35, p. 135-143, 1999.

LAWRENCE, P. K.; KOUNDAL, K. R. Plant protease inhibitors in control of phytophagous insects. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.5, p. 1-17, 2002.

LIMA, A. L. R.; CAVALCANTI, C. C. B.; SILVA, M. C. C.; PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B.; BELTRÃO, E. I. C.; CORREIA, M. T. S. Histochemical evaluation of human prostatic tissues with *Cratylia mollis*. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2010, p. 1-6, 2010.

LIMA, E. P.; LOPES, S. M. B.; AMORIM, M. I. M.; ARAÚJO, L. H. S.; NEVES, R. T.; MAIA, E. R. Exposição a pesticidas e repercussão na saúde de agentes sanitários no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, p. 2221-2230, 2009.

LIN, L.; LU, J.; ZENG, H.; LIANG, Z.; ZHOU, Y.; LIN, J.; SUN, X.; TANG, K. Molecular cloning and characterization of a mannose-binding lectin gene from *Pinellia cordata*. **Molecular Biology Reports**, v.35, p. 641-647 2008.

LIPIUN, V.; KUROKAWA, M.; SUTTISRI, R.; TAWEECHOTIPAT, P.; PRAMYOTHIN, P.; HATTORI, M.; SHIRAKI, K. Efficacy of Thai medicinal plant extracts against herpes simplex virus type 1 infection in vitro and in vivo. **Antiviral Research**, v. 60, p. 175-180, 2003.

LIU, BO.; BIAN, HE-JIAO, BAO, JIN-KU. Plant lectins: Potential antineoplastic drugs from bench to clinic. **Cancer Letters**, v. 287, p. 1-12, 2009.

LIU, Y.; PERERA, C. O.; SURESH, V. Comparison of three chosen vegetables with others from South East Asia for their lutein and zeaxanthin content. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1533-1539, 2007.

LOECK, A. E. Principais pragas que atacam produtos armazenados. In: Loeck, A. E. (Ed.), **Pragas de produtos armazenados**. Pelotas, RS, EGUFP, p. 35-59, 2002.

LORINI, I. **Manual técnico para manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, p. 72, 2008.

MACEDO, M. L. R.; CASTRO, M. M.; FREIRE, M. G. M. Mechanisms of the insecticidal action of TEL (*Talisia esculenta* lectin) against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Insect Biochemistry and Physiology**, v. 56, p. 84-96, 2004.

MACEDO, M. L. R.; DAMICO, D. C. S.; FREIRE, M. G. M.; TOYAMA, M. H.; MARANGONI, S.; NOVELLO, J. C., Purification and characterization of an N-acetylglucosamine- binding lectin from *Koeleria paniculata* seeds and its effect on the larval development *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2980–2986, 2003.

MACEDO, M. L. R.; FREIRE, M. G. M.; SILVA, M. B. R.; COELHO, L. C. B. B. Insecticidal action of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 146, p. 486-498, 2007.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. **The Journal of Agricultural Science**, v. 128, p. 311-22, 1997.

MAJUMDER, P.; MONDAL, H. A.; DAS, S. Insecticidal activity of *Arum maculatum* tuber lectin and its binding to the glycosylated insect gut receptors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 6725-6729, 2005.

MARON, J. L.; CRONE, E. Herbivory: effects on plant abundance, distribution and population growth. **Proceedings of the Royal Society**, v. 273, p. 2575-2584, 2006.

MCCONHACHIE, G. L.; FOLKARD, G. K.; MTAWALI, M. A.; SUTHERLAND, J. P. Field trials of appropriate hydraulic flocculation processes. **Water Research**, v. 33, p. 1425-1434, 1999.

MELLO, M. O.; SILVA-FIHO, M. C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanism. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 14, p. 71-81, 2002.

MELO, C. M. L.; CASTRO, M. C. A. B.; OLIVEIRA, A. P.; GOMES, F. O. S.; PEREIRA, V. R. A.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G. Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 1631-1636, 2010.

MENEZES, E. L. A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modos de ação e uso agrícola. **Seropédica: Embrapa Agrobiologia**, 2005.

MESSINA, F. J.; JONES, J. C. Does rapid adaptation to a poor-quality host by *Callosobruchus maculatus* (F.) cause cross-adaptation to other legume hosts? **Journal of Stored Products Research**, v. 45, p. 215–219, 2009.

MOURA, M. C.; PONTUAL, E. V.; GOMES, F. S.; NAPOLEÃO, T. H.; XAVIER, H. S.; PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B. Preparations of *Moringa oleifera* flowers to treat contaminated water. In: Daniels, J. A. (Ed.), **Advances in Environmental Research**. New York, NY: Nova Science Publishers, Inc., v. 21, p. 269–285, 2011.

MURDOCK, L. L.; HUESING, J. E.; NIELSEN, S. S.; PRATT, R. C.; SHADE, R. E. Biological effects of plant lectins on the *Cowpea weevil*. **Phytochemistry**, v. 29, p. 85-89, 1990.

NAPOLEÃO, T. H. **Atividade inseticida e mecanismos de ação de lectinas de *Myracrodruon urundeuva* contra *Nasutitermes corniger*, *Aedes aegypti* e *Sitophilus zeamais***. Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife. 142 f. Tese de Doutorado (Bioquímica e Fisiologia), 2012.

NAPOLEÃO, T. H.; GOMES, F. S.; LIMA, T. A.; SANTOS, N. D. L.; SÁ, R. A.; ALBUQUERQUE, A. C.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G. Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, p. 52-59, 2011.

NAPOLEÃO, T. H.; PONTUAL, E. V.; LIMA, T. A.; SANTOS, N. D. L.; SÁ, R. A.; COELHO, L. C. B. B.; NAVARRO, D. M. A. E.; PAIVA, P. M. G. Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. **Parasitology Research**, v. 110, p. 609-616, 2012.

OGUNWOLU, E. O.; REAGAN, T. E.; FLYNN, J. L.; HENSLEY, S. D. Effects of *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) damage and stalk rot fungi in sugarcane yield in Louisiana. **Crop Protection**, v. 10, p. 57-61, 1991.

OKUDA, T.; BAES, A. U.; NISHIJIMA, W.; OKADA, M. Isolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleifera* seed by salt solution. **Water Research**, v. 35, p. 405-410, 2001.

OLIVEIRA, R. H.; SOARES, J. J.; JÁCOME, A. G. Influência de genótipos de algodoeiro (*Gossypium* sp.) na biologia de *Alabama argillaceae*. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibras**, v. 4, p. 9-12, 2000.

OLIVEIRA, C. F. R.; LUZ, L. A.; PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B.; MARANGONI, S.; MACEDO, M. L. R. Evaluation of seed coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) as a bioinsecticidal tool with potential for the control of insects. **Process Biochemistry**, v. 46, p. 498-504, 2011.

PAIVA, P. M. G.; GOMES, F. S.; NAPOLEÃO, T. H.; SÁ, R. A.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. In: Méndez-Vilas, A. (Ed.), **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, p. 396-406, 2010.

PAIVA, P. M. G.; PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H.; COELHO, L. C. B. B. Effects of plant lectin and trypsin inhibitors on development, morphology and biochemistry of insect larvae. In: Pourali, K.; Raad, V. N. (Eds.), **Larvae: Morphology, biology and life cycle**. Nova Publishers, Inc, p. 37-55, 2012a.

PAIVA, P. M. G.; NAPOLEÃO, T. H.; SÁ, R. A.; COELHO, L. C. B. B. Insecticide activity of lectins and secondary metabolites. In: Perveen, F. (Ed.), **Insecticides – Advances in Integrated Pest Management**. In Tech, p. 579-598, 2012b.

PAIVA, P. M. G.; NAPOLEÃO, T. H.; SANTOS, N. D. L.; CORREIA, M. T. S.; NAVARRO, M. A. F.; COELHO, L. C. B. B. Plant compounds with *Aedes aegypti* larvicidal activity and other biological properties. In: Liong, M-T (Ed.), **Bioprocess Sciences and Technology**. New York, NY: Nova Science Publishers, Inc., p. 271-296, 2011b.

PAIVA, P. M. G.; SANTANA, G. M. S.; SOUZA, I. F. A. C.; ALBUQUERQUE, L. P.; AGRA-NETO, A. C.; ALBUQUERQUE, A. C.; LUZ, L. A.; NAPOLEÃO, T. H.; COELHO, L. C. B. B. C. Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, p. 982-989, 2011a.

PAIXÃO, G. P. **Efeito de berenil, um inibidor de proteases do tipo obis-benzamidina, nas respostas bioquímica, fisiológica e comportamental de lagarta da soja *Anticarsia gemmatilis***. Universidade Federal de Viçosa - UFV, Minas Gerais. 128 f (Pós-Graduação). 2010.

PAJIC, I.; KLJAJICB, Z.; DOGOVICC, N.; SLADICA, D.; JURANICD, D.; GASIC, M. J. A novel lectin from the sponge *Haliclona cratera*: isolation, characterization and biological activity. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 132, p. 213-221, 2002.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. **Controle biológico no Brasil: Parasitóides e predadores**. Editora: Manole Ltda., São Paulo, 2002.

PASCUAL-VILLALOBOS, M. J.; BALLESTA-ACOSTA, M. C. Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, p. 673-679, 2003.

PEDINI, V.; SCOCCO, P.; GARGIULO, A. M.; CECCARELLI, P.; LORVIK, S. Glycoconjugate characterization in the intestine of *Umbrina cirrosa* by means of lectin histochemistry. **Journal of Fish Biology**, v. 61, p. 1363-1372, 2002.

PEREIRA, A. C. R. L.; OLIVEIRA, J. V.; JUNIOR, M. G. C. G.; CÂMARA, C. A. G. Insecticide activity of essential and fixed oils in *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) in Cowpea grains [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 1413-7054, 2008.

PEUMANS, W. J., VAN DAMME, E. J. M. Lectins as plant defense proteins. **Plant Physiology**, v. 109, p. 347-352, 1995.

PONTUAL, E. V. **Avaliação de atividades biológicas em flores de *Moringa oleifera***. Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas/Bacharelado), 2008.

PONTUAL, E. V. **Extrato de flores de *Moringa oleifera*: Atividade larvicida e efeito sobre tripsina e acetilcolinesterase de larvas de *Aedes aegypti***. Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife. 70 f. Dissertação de Mestrado (Bioquímica e Fisiologia), 2010.

PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H.; ASSIS, C. R. D.; BEZERRA, R. S.; XAVIER, H. S.; NAVARRO, D. M. A. F.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G. Effect of *Moringa oleifera* flower extract on larval trypsin and acetylcholinesterase activities in *Aedes aegypti*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 79, p. 135–152, 2012.

POWELL, K. S.; GATEHOUSE, A. M. R.; HILDER, V. A.; GATEHOUSE, J. A. Antifeedant effects of plant-lectins and an enzyme on the adult stage of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 75, p. 51-59, 1995.

RATANAPO, S.; NGAMJUNYAPORN, W.; CHULAVATNATOL, M. Interaction of a mulberry leaf lectin with a phytopathogenic bacterium, *P. syringae* pv *mori*. **Plant Science**, v.160, p. 739–744, 2001.

ROLIM, L. A. D. M. M.; MACÊDO, M. F. S.; SISENANDO, H. A.; NAPOLEÃO, T. H.; FELZENSZWALB, I.; AIUB, C. A. F.; COELHO, L. C. B. B.; MEDEIROS, S. R. B.; PAIVA, P. M. G. Genotoxicity evaluation of *Moringa oleifera* seed extract and lectin. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 53-58, 2011.

RUCKMANI K.; KAVIMANI, S.; ANANDAN, R.; JAYKAR, B. Effect of *Moringa oleifera* Lam on paracetamol-induced hepatotoxicity. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 60, p. 33–35, 1998.

RÜDIGER, H. Plant lectins - more than just tools for glycoscientists: occurrence, structure, and possible functions of plant lectins. **Acta Anatomica**, v. 161, p. 130-152, 1998.

SÁ, R. A.; NAPOLEÃO, T. H.; SANTOS, N. D. L.; GOMES, F. S.; ALBUQUERQUE, A. C.; XAVIER, H. S.; COELHO, L. C. B. B. C.; BIEBER, L. W.; PAIVA, P. M. G. Induction of mortality on *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae) by *Myracrodruon urundeuva* heartwood lectin. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 62, p. 460-464, 2008.

SÁ, R. A., SANTOS, N. D. L., SILVA, C. S. B., NAPOLEÃO, T. H., GOMES, F. S., CAVADA, B.S., COELHO, L. C. B. B., NAVARRO, D. M. A. F., BIEBER, L.W. PAIVA, P. M. G. Larvicidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* on *Aedes aegypti*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C, Toxicology & Pharmacology**, v.149, p.300 - 306, 2009.

SADEGHI, K.; WESSNER, B.; LAGGNER, U.; PLODER, M.; TAMANDI, D.; FRIEDL, J.; ZÜGEL, U.; STEINMEYER, A.; POLLAK, A.; ROTH, E.; BOLTZ-NITULESCU, G.; DR., A. S. Vitamin D3 down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. **European Journal of Immunology**, v. 36, p. 361-370, 2006.

SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; VÁZQUEZ, N. J. R. Highperformance liquid chromatography method to measure α and β -tocopherol in leaves, flowers and fresh beans from *Moringa oleifera*. **Journal of Chromatography A**, v. 1105, p. 111-114, 2006.

SANTANA, G. M. S.; ALBUQUERQUE, L. P.; SIMÕES, D. A.; COELHO, L.C.B.B.; PAIVA, P.M.G.; GUSMÃO, N.B. Isolation of lectin from *Opuntia ficus-indica* cladodes. **Acta Horticulturae**, v. 43, p. 352-358, 2009.

SANTOS, A. F. S.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; TEIXEIRA, J. A.; PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B.; NOGUEIRA, R. Interaction of *Moringa oleifera* seed lectin with humic acid. **Chemical Papers**, v. 65, p. 406-411, 2011.

SANTOS, A. F. S. **Moléculas bioativas de *Moringa oleifera*: Detecção, isolamento e caracterização**. Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife. 112f. Tese de Doutorado (Ciências Biológicas), 2007.

SANTOS, A. F. S.; ARGOLO, A. C. C.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. **Water Research**, v. 39, p. 975-980, 2005.

SANTOS, A. F. S., LUZ, L. A., ARGOLO, A. C. C., TEIXEIRA, J. A., PAIVA, P. M. G., COELHO, L.C.B.B. Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. **Process Biochemistry**, v. 44, p. 504-508, 2009.

SATO, Y.; MORIMOTO, K.; HIRAYAMA, M.; HORI, K. High mannose-specific lectin (KAA-2) from the red alga *Kappaphycus alvarezii* potently inhibits influenza virus infection in a strain-independent manner. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 405, p. 291-296, 2011.

SAUVION, N.; NARDON, C.; FEBVAY, G.; GATEHOUSE, A. M. R.; RAHBÉ, Y. Binding of the insecticidal lectin Concanavalin A in pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris) and induced effects on the structure of midgut epithelial cells. **Journal of Insect Physiology**, v. 50, p. 1137-1150, 2004.

SERI-KOUASSI, B. P.; KANKO, C.; ABOUA, L. R. N.; BEKON, K. A.; GLITHO, A. I.; KOUKOUA, G.; N'GUESSAN, Y. T. Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* **Comptes rendus de l'Académie des sciences**, v. 7, p. 1043-1046, 2004.

SHAAYA, E.; KOSTJUKOVSKI, M.; EILBERG, J.; SUKPRAKARN, C. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. **Journal of Stored Research**, v. 33, p. 7-15, 1997.

SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agro-climatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 15, p. 2144-2155, 2003.

SILVA, L. B.; SILVA, W.; MACEDO, M. L. R.; PERES, M. T. L. P. Effects of *Croton urucurana* extracts and crude resins on *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Biological and Applied Sciences**, v. 52, p. 653-664, 2009.

SILVA, J.; MARIANO, Z. F.; SCOPEL, I. A dengue no Brasil e as políticas de combate ao *Aedes aegypti*: da tentativa de erradicação às políticas de controle. **Hygeia**, v. 3, p. 163-175, 2008.

SOUSA, A. H.; MARACAJÁ, P. B.; SILVA, R. M. A.; MOURA, A. M. N.; ANDRADE, W. G. Bioactivity of vegetal powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in caupi bean and seed physiological analysis. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v. 5: p. 1-5, 2005.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativa e exóticas no Brasil**, baseado em APG II. 2 ed. Nova Odessa,: Instituto Plantarum, 2008.

SUAREZ, M.; ENTENZA, J. M.; DOERRIES, C.; MEYER, E.; BOURQUIN, L.; SUTHERLAN, J.; MARISON, I.; MOREILLON, P.; MERMOD, N. Expression of a plant-derived peptide harboring water-cleaning and antimicrobial activities. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 81, p. 13-20, 2003.

SUAREZ, M.; HAENNI, M.; CANARELLI, S.; FISCH, F.; CHODANOWSKI, P.; SERVIS, C.; MICHELIN, O.; FREITAG, R.; MOREILLON, P.; MERMOD, N. Structure-function characterization and optimization of a plant-derived antibacterial peptide. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, p. 3847-57, 2005.

TAVARES, M. A. G. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade da Erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 319-323, 2005.

TELLAM, R. L.; WIJFFELS, G.; WILLADSEN, P. Peritrophic matrix proteins. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 29, p. 87-101, 1999.

THAKUR, A.; RANA, M.; LAKHANPAL, T. N.; AHMAD, A.; KHAN, M. I. Purification and characterization of lectin from fruiting body of *Ganoderma lucidum*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1770, p. 1404-1412, 2007.

TIMOSHENKO, A. V.; CHERENKEVICH, S. N.; GABIUS, H. J. *Viscum album* agglutinin-induced aggregation of blood cells and the lectin effects on neutrophil function. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 49, p. 153-155, 1995.

TRIGUEIROS, V.; LOUGARRE, A.; ALI-AHMED, D.; RAHBÉ, Y.; GUILLOT, J.; CHAVANT, L.; FOURNIER, D.; PAQUEREAU, L. *Xerocomus chrysenteron* lectin: identification of a new pesticidal protein. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1621, p. 292-298, 2003.

UZAMA, D.; THOMAS, S. A.; ORISHADIPE, A. T.; CLEMENT, O. A. The development of a blend of *Moringa oleifera* oil with diesel engines. **Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences**, v. 2, p. 999-1001, 2011.

VALUEVA, T. A.; MOSLOV, V. V. Role of inhibitors of proteolytic enzymes in plant defense against phytopathogenic microorganisms. **Biochemistry**, v. 69, p. 1305-1309, 2004.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003.

VIEIRA, G. H. F.; MOURÃO, J. A.; ÂNGELO, A. M.; COSTA, R. A.; VIEIRA, R. H. S. F. Antibacterial effect (*in vitro*) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* against gram positive and gram negative bacteria. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 52, p. 129-132, 2010.

XAVIER, L. P. Purificação parcial, propriedades e caracterização cinética de proteases tripsina-like do intestino médio da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*.

Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa. 127 f. Tese de Doutorado (Bioquímica Agrícola), 2006.

XAVIER-FILHO, J. The biological roles of serine and cysteine proteinase inhibitors in plants. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 4, p. 1-6, 1992.

WANG, H. X.; Hypotensive and vasorelaxing activities of a lectin from the edible mushroom *Tricholoma mongolicum*. **Pharmacology and Toxicology**, v. 79, p. 318-323, 1996.

WANG, H. X.; NG, T. B. Concurrent isolation of a Kunitz-type trypsin inhibitor with antifungal activity and a novel lectin from *Pseudostellaria heterophylla* roots. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 342, p. 349-353, 2006.

WANG, X-W., ZHANG, X-W., XU, W-T., ZHAO, X-F., WANG, J-X. A novel C-type lectin (FcLec4) facilitates the clearance of *Vibrio anguillarum* in vivo in Chinese white shrimp. **Developmental & Comparative Immunology**, v.33, p.1039-1047, 2009.

WROBLEWSKI, B. M.; SINEY, P. D.; FLEMING, P. A. Triple taper polished cemented stem in total hip arthroplasty: Rationale for the design, surgical technique, and 7 years of clinical experience. **The Journal of Arthroplasty**, v. 16, p. 37-41, 2001.

ZHAO, J. K., WANG, H. X., NG, T. B. Purification and characterization of a novel lectin from the toxic wild mushroom *Inocybe umbrinella*. **Toxicon**, v.53, p.360–366, 2009.

ZHU-SALZMAN, K.; SHADE, R. E.; KOIWA, H.; SALZMAN, R. A.; NARASIMHAN, M.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M.; MURDOCK, M. L. Carbohydrate binding and resistance to proteolysis control insecticidal activity of *Griffonia simplicifolia* lectin II (GSII). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, p. 15123-15128, 1998.

5. ARTIGO

INSECTICIDAL ACTIVITY OF WATER-SOLUBLE LECTIN FROM *Moringa oleifera* SEEDS (WSMoL) AGAINST *Ephestia (Anagasta) kuehniella* (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) AND *Callosobruchus maculatus* (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)

A ser submetido ao periódico “Process Biochemistry”

(Impacto: 2.627)

Insecticidal activity of water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) against *Ephestia* (*Anagasta*) *kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae)

Maria Lígia Rodrigues Macedo^{a*}, Maiara Celine de Moura^b, Patrícia Maria Guedes Paiva^b, Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho^b

^a*Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária s/n, Caixa Postal 549, Campo Grande 79070-900, MS, Brazil.*

^b*Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, 50670-420, Recife-PE, Brazil.*

*Corresponding author. Tel.: +55 67 33457612; Fax: +55 67 33457400.

E-mail address: bioplant@terra.com.br (M.L.R. Macedo).

Abstract

Ephestia kuehniella and *Callosobruchus maculatus* are important stored grain pests, whose control has been based on synthetic insecticides. These compounds are highly toxic to non-target organisms and insect populations resistant to many of them have been detected. Plant lectins with insecticidal activity represent alternatives for crop protection and can be used in insecticide rotation programs avoiding the emergence of resistant pests. This work describes the effect of the water-soluble *Moringa oleifera* lectin (WSMoL) on survival and growth of *E. kuehniella* and *C. maculatus* larvae. In addition, the effect of WSMoL on nutritional parameters of *E. kuehniella* and its resistance to proteolysis by enzymes from gut of *E. kuehniella* and *C. maculatus* larvae were determined. The survival and body weight, as well as the nutritional parameters of *E. kuehniella* larvae were not significantly ($p>0.05$) affected by ingestion of WSMoL. The lectin killed and reduced the body weight of *C. maculatus* larvae in a dose dependent manner. SDS-PAGE revealed that WSMoL was progressively digested by proteases from *E. kuehniella* larval gut, while resisted to hydrolysis by *C. maculatus* enzymes up to 72 h- incubation. In conclusion, WSMoL is a new tool for crop protection against *C. maculatus* and its activity involves the resistance to hydrolysis by proteases from larval gut.

Keywords: *Moringa oleifera*; lectin; *Ephestia kuehniella*; *Callosobruchus maculatus*; insecticidal activity.

1. Introduction

The losses in agricultural productivity due to attack of insect pests correspond to above 13% of total damages to crops worldwide (Gatehouse et al., 1992; Dutta et al., 2005; Macedo et al., 2007). The deterioration and degradation of stored grains by insects can affect food security and have a great ecological impact since energy, land, water and non-renewable resources were employed in production of grains that will never be consumed, leading to loss of several billion dollars (FAO, 2009).

The Mediterranean flour moth *Ephestia (Anagasta) kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) attacks stored grains, fruits, and nuts worldwide making it the major economic important flour and grain feeder. Additionally, *E. kuehniella* is often a severe pest in flour mills (Van Damme et al., 1998; Macedo et al., 2003). The bruchid weevil *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) is a major insect pest of the cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) whose attack begins in the pre-harvesting and intensifies in the storing, heavily damaging the quality of grains (Hall et al., 1997; Lima et al., 1999; Pereira et al., 2008).

The conventional control of storage pests involves hygiene measures as well as preventive or curative applications of synthetic insecticides (Almeida et al., 2005). However, the intensive use of these chemicals can induce the selection of resistant insects, the emergence of new pests or the resurgence of others (Xianchun et al., 2007). Furthermore, this practice is costly and environmentally hazardous since it can lead to deleterious effects on non-target organisms. (Braga and Valle, 2007; Lima et al., 2009; Napoleão et al., 2011). In this scenario, natural compounds isolated from plants with insecticidal activity constitute alternative for crop protection since they can be used in insecticide rotation programs avoiding the emergence of resistant pests (Almeida et al., 2004; Tavares and Vendramim, 2005; Braga and Valle, 2007; Pereira et al., 2008; Silva et al., 2008; Napoleão et al., 2012).

Lectins, carbohydrate binding proteins, are widely found in several plant tissues (Goldstein et al., 1980; Peumans and Van Damme, 1995; Ratanapo et al. 2001). These proteins are involved in defense of plants against the attack of insects from several orders (Macedo et al., 2002, 2007; Coelho et al., 2009; Lam and Ng, 2011; Napoleão et al., 2012). The *Myracrodruon urundeuva* bark and leaf lectins killed *Nasutitermes corniger* workers (LC₅₀ of 0.248 and 0.374 mg/mL, respectively) and soldiers (LC₅₀ of

0.199 and 0.432 mg/mL, respectively) and the authors showed that the termiticidal activity can involve resistance to proteolytic degradation by termite gut enzymes, chitin binding property and antibacterial effect against symbiotic bacteria from *N. corniger* gut. (Napoleão et al., 2011). The *Talisia esculenta* seed lectin (TEL) showed larvicidal activity against *C. maculatus* with lethal concentration of 2% (w/w), as well as reduced in 50% the weight of insect when incorporated in artificial diet at 1% (Macedo et al., 2004).

Moringa oleifera (Moringaceae family), native to northeastern India, has been the subject of several researches due to its industrial and medicinal properties (Suarez et al., 2003; Suarez et al., 2005; Bezerra et al., 2004; Ghebremichael et al., 2005; Karadi et al., 2006). Its seeds, which have been used to treat water for human consumption and contain coagulant proteins and an organic polyelectrolyte of 3 kDa able to remove water turbidity (Okuda et al., 2001; Ghebremichael et al., 2005; Santos et al., 2005). The water-soluble *M. oleifera* lectin (WSMoL) is an insecticidal agent active against *Aedes aegypti* fourth instar larvae (LC₅₀ of 0.197 mg/mL); analysis of photomicrographs revealed that the incubation of larvae with WSMoL resulted in morphological changes including hypertrophy of the segments and absence of epithelial layer that delimits the larval gut (Coelho et al., 2009). Additionally, Santos et al. (2012) showed that WSMoL is effective for *A. aegypti* control also by stimulating the oviposition by gravid females and preventing the development of embryos inside the eggs, as well as by killing the embryos of stored eggs. The coagulant *M. oleifera* seed lectin (cMoL) also showed insecticidal activity since induced nutritional disturbances and delay in development of *E. kuehniella* larvae as well as reduction in weight and survival of pupae (Oliveira et al., 2011). WSMoL and cMoL at concentrations of 1.0 and 1.5 mg/mL, respectively, were termiticidal agents against *Nasutitermes corniger* workers and soldiers (Paiva et al., 2011).

This work describes the effects of WSMoL in survival and feeding of *E. kuehniella* and *C. maculatus* larvae when incorporated into artificial diets. In addition, the effect of WSMoL on nutritional parameters (relative consumption rate, relative growth rate, efficiency in conversion of ingested food, efficiency in conversion of digested food, approximate digestibility and metabolic cost) of *E. kuehniella* and the resistance of lectin to proteolysis by enzymes from gut of *E. kuehniella* and *C. maculatus* larvae were determined.

2. Materials and Methods

2.1 Plant material

M. oleifera Lam. (Moringaceae) has the vernacular name “moringa” in Portuguese, “árbol del ben” in Spanish and horseradish tree in English. The seeds were collected in Recife City, State of Pernambuco, Northeastern Brazil. A voucher specimen is deposited under number 73345 at the herbarium “Dárdano de Andrade Lima” (Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, IPA, Recife, Brazil).

2.2 Insects

The colonies of *E. kuehniella* used in this study were supplied by the Departamento de Entomologia, ESALQ/ USP, Piracicaba (SP), Brazil, and maintained in the Laboratório de Purificação de Proteínas e suas Funções Biológicas (LPPFB), Departamento de Ciências Naturais, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Três Lagoas (MS), Brazil. The colonies of *C. maculatus* were reared in the LPPFB. The colonies of *C. maculatus* and *E. kuehniella* were housed in standard conditions of 28±1 °C, 65–75% relative humidity and a 16:8 (light:dark) photoperiod.

2.3 Lectin isolation

The procedure of isolation of WSMoL was performed according to Coelho et al., 2009. Mature seeds of *M. oleifera* were dried at room temperature (28 °C), milled to a fine powder (10 g) and then homogenized with distilled water (100 ml) in a magnetic stirrer (200 rpm, 16 h at 4 °C). Following homogenization, the mixture was filtered through cotton gauze and centrifuged at 3000 g for 15 min. The supernatant was treated with ammonium sulfate solution at saturation of 60% (Green and Hughes, 1955). The precipitated proteins were collected after centrifugation (3000 g, 15 min, 4 °C), dissolved in 0.15 M NaCl and then submitted to dialysis (3.5 kDa cut-off membrane) against 0.15 M NaCl (6 h at 4 °C). The dialysed fraction (0–60f; 50 mg of proteins) was applied to a chitin column (7.5-1.5 cm) equilibrated with 0.15 M NaCl (0.3 ml/min flow rate). The adsorbed proteins (WSMoL) were eluted with 1.0 M acetic acid and dialysed (3.5 kDa cut-off membrane) against distilled water by 6 h at 4 °C.

2.4 Protein evaluation

The protein concentration was estimated according to the method described by Lowry et al. (1951) using bovine serum albumin (31–500 µg/ml) as standard.

2.5 Hemagglutinating activity

Hemagglutinating activity (HA) was carried out in microtitre plates (Kartell S.P.A., Italy) according to Paiva and Coelho (1992). The samples (50 µL) were serially twofold diluted in 0.15 M NaCl before incubation (45 min) with 2.5 % suspension of rabbit erythrocytes (50 µL). The HA (titer) was defined as the lowest protein concentration that showed hemagglutination. Specific HA (SHA) was defined as the ratio between the titer and protein concentration (mg/ml).

HA inhibitory assay was performed by incubation (15 min) of samples (50 µL) with 200 mM D(+)-fructose solution before addition of 2.5 % (v/v) suspension of rabbit erythrocytes (50 µL).

2.6. Effects of WSMoL on growth and survival of *E. kuehniella* and *C. maculatus*

Neonate first instar larvae of *E. kuehniella* were selected and routinely maintained on an artificial diet prepared by mixing whole wheat flour, whole wheat husks, whole wheat, and yeast (8:2:1.9:0.1, w/w), according to Macedo et al. (2007). WSMoL (1% or 2% w/w) or distilled water were added to the test and control diets, respectively. Each treatment was set up in 250 mg clear plastic, airtight containers and five larvae were transferred to each plastic container (n = 60). After fourth instars of development, the relationship between lectin content and larval weight and number of survivors was determined.

C. maculatus larvae were fed with artificial seeds (400 mg each) prepared from finely ground cowpea seeds (Epace 10 cultivar) using a cylindrical brass mal and hand press. Distilled water (control diet) or 1% and 2% (w/w) WSMoL (test diet) were added to artificial seeds by thoroughly mixing the samples with cowpea seed meal and pressing as described above. Each treatment consisted of 10 artificial seeds for each of the above concentrations. After 48 h for adjustment in the growth chamber, the seeds were offered to nine 2-3-day-old fertilized females. After 24 h had been allowed for oviposition, the number of eggs per seed was reduced to four (n = 40). Following

incubation for 20 days, the seeds were opened and the weight and survival of larvae were determined.

2.7 Measurement of nutritional parameters

Several nutritional parameters were used to compare fourth instars of *E. kuehniella* fed on the control diet with those fed on a diet containing 1 and 2 % WSMoL. The larvae, faeces and remaining uneaten food were separated, dried and weighed. The indices of consumption, digestion and food utilization were calculated as described by Scriber and Slansky (1982). The efficiency of the conversion of ingested food (ECI) estimates the percentage of ingested food that is converted to biomass, and was calculated as: $[\text{biomass gained (mg fresh mass)}/\text{food ingested (mg dry mass)}]\times 100$. The efficiency of the conversion of digested food (ECD) estimates the efficiency with which digested food is converted to biomass, and was calculated as: $\text{biomass gained (mg fresh mass)}/[\text{food ingested (mg dry mass)} - \text{feces (mg dry mass)}]\times 100$. Approximate digestibility (AD) estimates the amount of ingested food that was digested, and was calculated as: $[\text{food ingested (mg dry mass)} - \text{feces (mg dry mass)}]/\text{food ingested (mg dry mass)}\times 100$. Metabolic cost (MC) estimates the amount of energy that was allocated to the metabolism and was calculated as: $100 - \text{ECD}$.

2.8 Midgut preparation

Homogenates of the larval guts were prepared according to Macedo et al. (2003). Fourth instar larvae were cold-immobilized and dissected in cold 0.15 M NaCl. The midguts were surgically removed from the larvae using tweezers. The gut portion taken was posterior to the proventriculus and anterior to the malpighian tubules. After removing all extraneous tissue and freeing the lumen of its contents by rinsing in 0.15 M NaCl, the midgut tissues were homogenized in cold 0.15 M NaCl using a hand-held Potter–Elvehjem homogenizer immersed in ice. Midgut homogenates were centrifuged at $14,000\times g$ for 20 min at 4 °C and the supernatants were collected in a known volume of phosphate buffer and stored at –20 °C.

2.9 Resistance of WSMoL to digestion by *E. kuehniella* and *C. maculatus* midgut proteases

The resistance of WSMoL to insect proteases was carried out according to Macedo et al. (2007). The lectin (2 mg/mL) was incubated with midgut homogenates of *E. kuehniella* or *C. maculatus* larvae in Tris-HCl 0.1 M pH 8.0. WSMoL and midgut homogenates were mixed (protein ratio of 1:10, w/w) and incubated for 1, 8, 24, 48 and 72 h at 37 °C. Next, the reaction was stopped by immersing the tubes in boiling water for 2 min and the mixtures were evaluated by SDS-PAGE using a 12.5% gel as described by Laemmli (1970). Polypeptides and molecular mass markers (ovalbumin, 45 kDa; carbonic anhydrase, 34.7 kDa; trypsinogen, 24 kDa; beta-lactoglobulin, 18.4 kDa and lysozyme, 14.3 kDa from Bio-Rad, Hercule) were stained with 0.02% (v/v) Coomassie Brilliant Blue in 10% (v/v) acetic acid.

2.10 Statistical Analysis

The results were expressed as the mean between the treatments and the data were compared using one-way analysis of variance (ANOVA) (general linear models of the GLM procedure) followed by the Student-Neuman-Keul test to identify the means that differed if ANOVA indicated significance. A *p* value of <0.05 indicated significance.

3. Results and Discussion

WSMoL (7.18 mg) was isolated through affinity chromatography on chitin column with specific hemagglutinating activity (1427) higher than that obtained for the extract (42) and the precipitated protein fraction (122.5). HA of WSMoL on rabbit erythrocytes was inhibited by D(+)-fructose. These data corroborates with that reported by Coelho et al. (2009) and Rolim et al. (2011).

Because WSMoL is active against the disease vector *A. aegypti* and the wood damaging termite *N. corniger* we investigated its effect on the crop pests *E. kuehniella* and *C. maculatus*. The survival and body weight of *E. kuehniella* larvae were not significantly ($p>0.05$) affected after ingestion of WSMoL at 1% or 2% in regards to those of larvae fed with the control diet (Figure 1). The concentration range of WSMoL in our experiments is in accordance with that reported for similar investigations with other plant lectins (Down et al., 1996; Machuka et al., 2000; Macedo et al., 2007).

Similarly to WSMoL, the *Pouteria torta* seed lectin, the *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL) and cMoL did not significantly decreased the survival of *E. kuehniella* larvae (Macedo et al., 2007; Boleti et al., 2009; Oliveira et al., 2011). On the other hand, these lectins decreased the body weight of *E. kuehniella* larvae in 71.4%, 40% and 45%, respectively, when incorporated at 1% in artificial diet. WSMoL and cMoL differ in the specificity of carbohydrate-binding site, charge nature, and molecular mass (Table 1) and this can be some reason for the different sensitivity of *E. kuehniella* larvae to *M. oleifera* seed lectins.

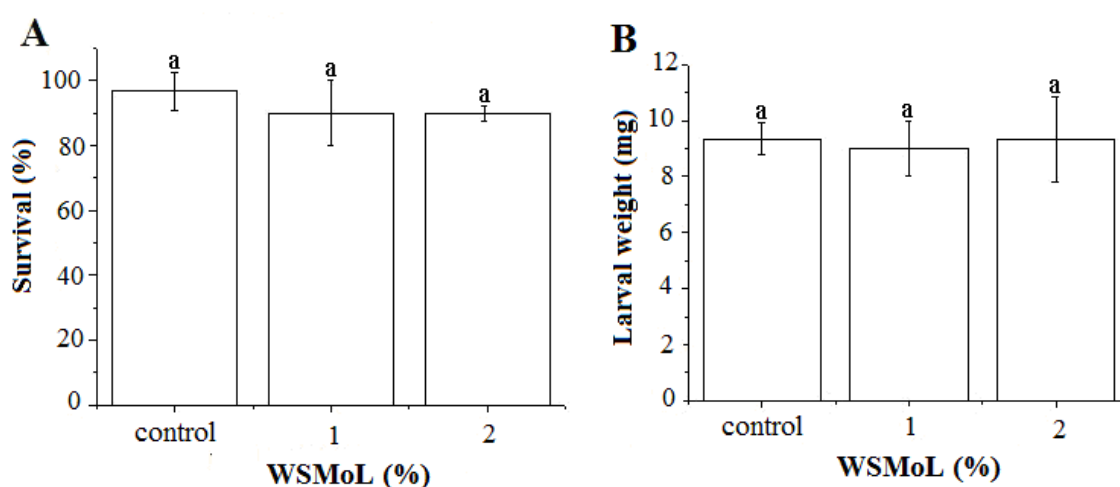


Figure 1. Effect of WSMoL on survival (A) and body weight (B) of *E. kuehniella* larvae. Error bars indicate standard error of the mean. Different letters indicate significant differences between treatments ($p < 0.05$).

Table 1. Differences between cMoL and WSMoL

Characteristics	cMoL	WSMoL
Charge nature	Positive*	Negative**
Molecular mass	26.5 kDa (under denaturing conditions)*	5 kDa (under denaturing and reducing conditions)***
Inhibitors	Glucose, raffinose, lactose, arabinose, trehalose, rhamnose and galactose*	Fructose, glucose, mannose and <i>N</i> -acetylglucosamine****

*According to Santos et al. (2009); ** According to Paiva et al. (2011); *** According to Coelho et al. (2009); **** According to Rolim et al. (2011).

The effect of WSMoL on the relative consumption rate, the relative growth rate, and the efficiency in conversion of ingested food by *E. kuehniella* was investigated in order to identify whether the lectin could be causing some damage to the insect physiology. However, the ingestion of WSMoL did not significantly ($p>0,05$) altered the nutritional parameters of larvae (Table 2). This result shows why WSMoL did not kill or alter the weight of *E. kuehniella* larvae. Similarly to WSMoL, the *Annona coriacea* seed lectin at 2 % did not impair the assimilation of ingested food by *E. kuehniella* and *C. cephalonica* larvae (Coelho et al., 2007).

Table 2. Nutritional parameters of *E. kuehniella* fourth-instar larvae fed on artificial diet containing WSMoL.

Nutritional indices (mean $\pm$ SE)				
Treatment (%)	ECI (%)	ECD (%)	AD (%)	MC (%)
Control	11.71 $\pm$ 0,72 ^a	12.69 $\pm$ 0,70 ^a	86.30 $\pm$ 2,00 ^a	88.73 $\pm$ 0,14 ^a
1.0	13.25 $\pm$ 0,52 ^a	11.34 $\pm$ 0,69 ^a	90.41 $\pm$ 2,37 ^a	85.66 $\pm$ 0,69 ^a
2.0	10.91 $\pm$ 0,56 ^a	11.93 $\pm$ 0,2 ^a	91.57 $\pm$ 0,82 ^a	88.07 $\pm$ 4,00 ^a

ECI: efficiency of the conversion of ingested food; ECD: efficiency of the conversion of digested food; AD: approximate digestibility; MC: Metabolic cost. Means within a column followed by the same letter are not significantly different, $p>0.05$; based on Tukey's test.

WSMoL was toxic to *C. maculatus* larvae by affect its survival (Figure 2A) and body weight (Figure 2B) in a dose dependent manner. The survival rate (98 %) and the average weight (5.8 mg) of larvae fed with the control diet assure that the conditions used here were proper to perform the bioassay. The ingestion of WSMoL at 1% and 2% resulted in a reduction of 39% and 43% in larval survival, in regard to the control group, respectively. The *Koeleria paniculata* seed lectin (KpLec) and BmoLL were more toxic to *C. maculatus* larvae than WSMoL since they killed 50% of larvae when incorporated to artificial diet at the concentrations of 0.7% and 0.3%, respectively (Macedo et al, 2003, 2007).

A decrease of 29% and 57% in larval weight was detected when WSMoL was incorporated to artificial diet at 1% and 2%, respectively. BmoLL (0.4%) and KpLec (1%) reduced in 50% the weight of *C. maculatus* larvae (Macedo et al., 2003, 2007). The lectin from *Olneya tesota* seeds also impaired *C. maculatus* life cycle since reduced

its oviposition and prevented the emergence of adult beetles (Lagarda-Diaz et al., 2009). The effect of WSMoL on nutritional parameters of *C. maculatus* larvae cannot be determined due to the high fecal content mixed with diet.

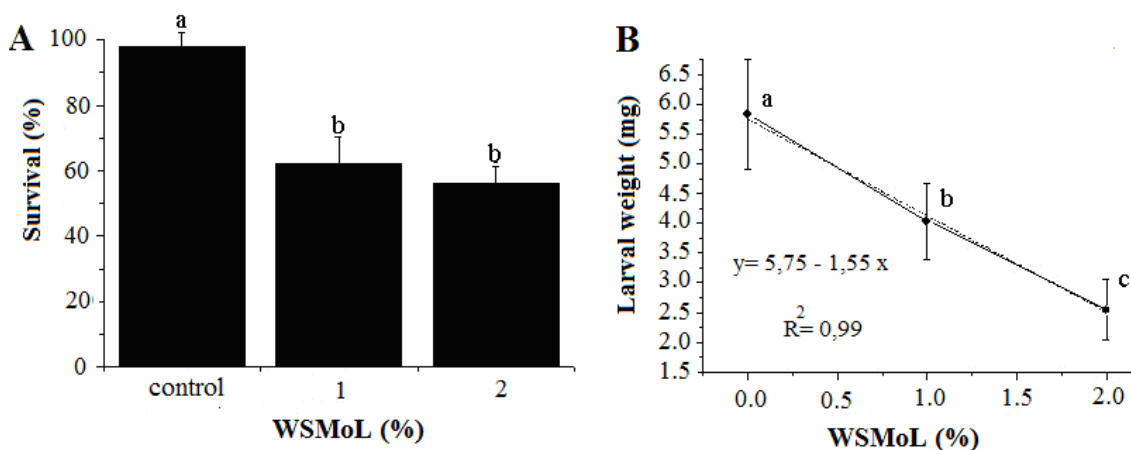


Figure 2. Effect of WSMoL on survival (A) and body weight (B) of *C. maculatus* larvae. Error bars indicate standard error of the mean. Different letters indicate significant differences between treatments ($p < 0.05$).

Insects belonging to different orders may respond differently to the same insecticidal agent. This work expands the characterization of WSMoL insecticide spectrum by investigating the effect of this lectin against two insects from distinct orders, which showed different sensitivity to WSMoL treatment. Another plant lectins have shown similar behavior. BmoLL was more effective against larvae of *C. maculatus* and *Zabrotes subfasciatus* than against *E. kuehniella* larvae (Macedo et al., 2007). The *Annona coriacea* seed lectin was toxic to *E. kuehniella* larvae but did not affect the *Corcyra cephalonica* larvae (Coelho et al., 2007). Differently from WSMoL, cMoL caused nutritional disturbances and delay in larval development and killed pupae of *E. kuehniella*, however it was not able to kill *A. aegypti* larvae (Oliveira et al., 2011; Agra-Neto et al., 2012).

Besides the ability to bind chitin, which allows lectins to interact with glycosylated molecules present at gut lumen, epithelial cells or peritrophic matrix disrupting the intestinal tract organization, the insecticidal mechanisms of lectins can involve the resistance to hydrolysis by proteases from insect gut (Zhu-Salzman and Salzman, 2005; Coelho et al., 2009; Napoleão et al., 2012; Paiva et al., 2012). In this

sense, the effects of incubation of WSMoL with midgut extracts of *E. kuehniella* and *C. maculatus* larvae were determined.

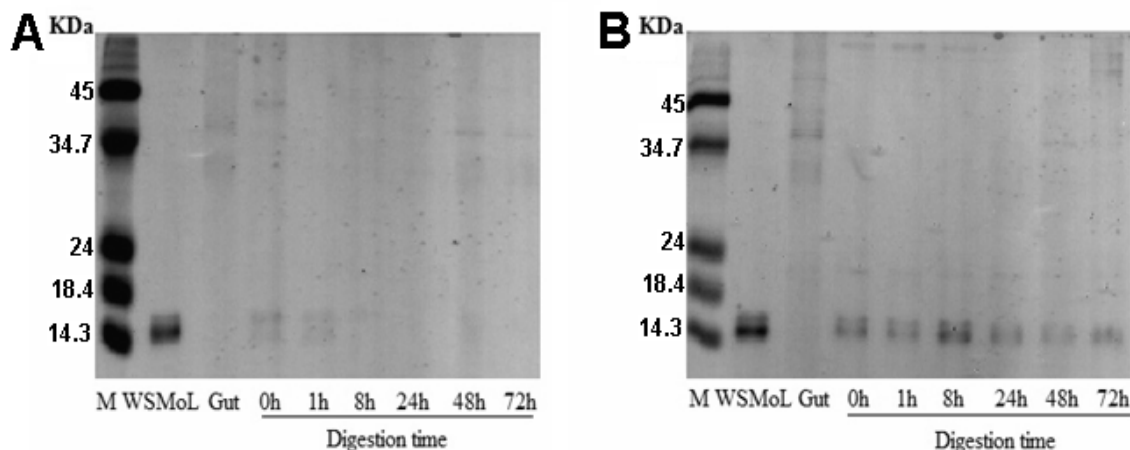


Figure 3. SDS-PAGE patterns of WSMoL hydrolysis by midgut extracts of *E. kuehniella* (A) and *C. maculatus* (B) larvae for 0, 1, 8, 48 and 72 h. The gels were stained with Coomassie Brilliant Blue.

SDS-PAGE revealed that WSMoL was progressively digested by midgut extract of *E. kuehniella* larvae as indicated by the decrease in the intensity of WSMoL polypeptide bands (Figure 3A). WSMoL has been completely hydrolyzed after 8 h-incubation and this finding suggests that the lectin was not active against *E. kuehniella* larvae probably because it was not able to remain intact during passage through the digestive tract of the insect. On the other hand, WSMoL was not digested by midgut extract of *C. maculatus* larvae up to 72 h-incubation since the SDS-PAGE profile of WSMoL was not altered during the experiment (Figure 3B).

The synthesis of compounds that resist to proteolysis by enzymes from insect gut represents a defense strategy of plants (Brunelle et al., 2004). The resistance of insecticidal plant lectins to digestion by insect proteases has been reported (Powell et al., 1998; Zhu-Salzman et al., 1998; Macedo et al., 2003, 2007; Lagarda-Diaz et al., 2009; Oliveira et al., 2011). Agra-Neto et al. (2012) reported that WSMoL resisted to proteolysis by enzymes from gut of *A. aegypti* larvae. The *Olneya tesota* lectin resisted to 24 h-incubation with midgut enzymes from *Z. subfasciatus* larvae (Lagarda-Diaz et al., 2009). Also, the *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin remained its activity after incubation with the larval gut extract of *A. aegypti* (Napoleão et al., 2012).

4. Conclusions

The results described here demonstrate that WSMoL reduced the survival and body weight of *C. maculatus* larvae and indicate the lectin as a new tool for crop protection. The resistance to hydrolysis by proteases from larval gut can be involved in insecticidal mechanism of WSMoL.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for research grants and fellowship (PMGP and LCBBC). We are also grateful to the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for financial support. We thank Maria Barbosa Reis da Silva for technical assistance.

References

- Agra-Neto AC, Napoleão TH, Pontual EV, Santos NDL, Luz LA, Oliveira CMF, Melo-Santos MA, Navarro DMAF, Coelho LCBB, Paiva PMG. Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and activity of enzymes from *Aedes aegypti* organophosphate-susceptible and resistant larvae. 2012. Submitted for publication.
- Almeida AS, Almeida FAC, Santos NR, Araújo MER, Rodrigues JP. Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). Revista Brasileira de Agrociência 2004; 10:67-70.
- Almeida FAC, Almeida AS, Santos NR, Gomes JP, Araújo MER. Efeitos de extratos alcoólicos de plantas sobre caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental 2005; 9:585-590.
- Bezerra AME, Momenté VG, Filho SM. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. Horticultura Brasileira 2004; 22:295-259.
- Boleti APA, Kubo CEG, Macedo MLR. Effect of pouterin, a protein from *Pouteria torta* (Sapotaceae) seeds, on the development of *Anagasta kuehniella*

- (Lepidoptera: Pyralidae). International Journal of Tropical Insect Science 2009; 29: 24-30.
- Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: surveillance, resistance monitoring, and control alternatives in Brazil. Epidemiologia e Serviços de Saúde 2007; 16:295-302.
- Brunelle F, Cloutier C, Michaud M. Colorado potato beetles compensate for tomato cathepsin D inhibitor expressed in transgenic potato. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 2004; 55:103–113.
- Coelho JS, Santos NDL, Napoleão TH, Gomes FS, Ferreira RS, Zingali RB, Coelho LCBB, Leite SP, Navarro DMAF, Paiva PMG. Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. Chemosphere 2009; 77:934-938.
- Coelho MB, Marangoni S, Macedo MLR. Insecticidal action of *Annona coriacea* lectin against the flour moth *Anagasta kuehniella* and the rice moth *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). Comparative Biochemistry and Physiology C 2007; 146:406-414.
- Down RE, Gatehouse AMR, Hamilton WDO, Gatehouse JA. Snowdrop lectin inhibits development and decreases fecundity of the glasshouse potato aphid (*Aulacorthum solani*) when administered in vitro and via transgenic plants both in laboratory and glasshouse trials. Journal of Insect Physiology 1996; 42:1035–45.
- Dutta I, Saha P, Majumder P, Sarkar A, Chakraborti D, Banerjee S, Das S. The efficacy of a novel insecticidal protein, *Allium sativum* leaf lectin (ASAL), against homopteran insects monitored in transgenic tobacco. Journal of Plant Biotechnology 2005; 3:601-611.
- FAO. Post-harvest losses aggravate hunger. FAO Media Centre 2009. Available in: <http://www.fao.org/news/story/en/item/36844/icode>.
- Gatehouse AMR, Hilder VA, Boulter D. Potential of plant-derived genes in the genetic manipulation of crops for insect resistance. Biotechnology in Agriculture: Plant Genetic Manipulation for Crop Protection 1992; 7:155–181.
- Ghebremichael KA, Gunaratna KR, Henriksson H, Brumer H, Dalhammar G. A simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed. Water Research 2005; 39:2338-44.
- Goldstein IJ, Hughes RC, Monsigny M, Osawa T, Sharon N. What should be called a lectin? Nature 1980; 285: 66.

- Green AA, Hughes WL. Protein fractionation on the basis of solubility in aqueous solution of salts and organic solvents. In: Colowick S, Kaplan N. Methods in Enzymology Academic Press, New York, 1955; 1:67-90.
- Hall AE, Singh BB, Ehlers JD. Cowpea breeding. Plant Breeding Reviews 1997; 15:217-274.
- Karadi RV, Gadge NB, Alagawadi KR, Savadi RV. Effect of *Moringa oleifera* Lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. Journal of Ethnopharmacology 2006; 105:306-311.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970; 227:680-5.
- Lagarda-Diaz I, Guzman-Partida AM, Urbano-Hernandez G, Ortega-Nieblas MM, Robles-Burgueño MR, Winzerling J, Vazquez-Moreno L. Insecticidal action of PF2 lectin from *Olneya tesota* (Palo Fierro) against *Zabrotes subfasciatus* Larvae and midgut glycoconjugate binding. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2009; 57: 689-694.
- Lam SK, Ng TB. Lectins: production and practical applications. Applied Microbiology and Biotechnology 2011; 89:45-55.
- Lima EP, Lopes SMB, Amorim MIM, Araújo LHS, Neves RT, Maia ER. Exposição a pesticidas e repercussão na saúde de agentes sanitários no Estado do Ceará, Brasil. Ciência & Saúde Coletiva 2009; 14:2221-2230.
- Lima JE, Sampaio ALF, Henriques MGMO, Barja-Fidalgo C. Lymphocyte activation and cytokine production by *Pisum sativum* agglutinin (PSA) *in vivo* and *in vitro*. Immunopharmacology 1999; 41:147-155.
- Lowry DH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randal RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry 1951; 193:265-275.
- Macedo MLR, Castro MM, Freire MGM. Mechanisms of the insecticidal action of TEL (*Talisia esculenta* lectin) against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Insect Biochemistry and Physiology 2004; 56: 84-96.
- Macedo MLR, Damico DCS, Freire MGM, Toyama MH, Marangoni S, Novello JC. Purification and characterization of an *N*-acetylglucosamine- binding lectin from *Koeleria paniculata* seeds and its effect on the larval development *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and *Anagasta kuehniella*

- (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Agricultural and Food Chemistry 2003; 51:2980–2986.
- Macedo MLR, Freire MGM, Silva MBR, Coelho LCBB. Insecticidal action of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 2007;146:486-498.
- Macedo MLR, Mello GC, FreireMGM, Novello JC, Marangoni S, Matos DGG. Effect of a trypsin inhibitor from *Dimorphandra mollis* seeds on the development of *Callosobruchus maculatus*. Plant Physiology and Biochemistry 2002;40:891–8.
- Machuka JS, Okeola OG, Chrispeels MJ, Jackai LEN. African yam beans seed lectin affects the development of the cowpea weevil but does not affect the development of larvae of legume pod borer. Phytochemistry 2000; 53:667–74.
- Napoleão TH, Gomes FS, Lima TA, Santos NDL, Sá RA, Albuquerque AC, Coelho LCBB, Paiva PMG. Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. International Biodeterioration and Biodegradation 2011; 65:52-59.
- Napoleão TH, Pontual EM, Lima TA, Santos NDL, Sá RA, Coelho LCBB. Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. Parasitology Research 2012; 110:609-616.
- Okuda T, Baes AU, Nishijima W, Okada M. Isolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleifera* seed by salt solution. Water Research 2001; 35: 405-410.
- Oliveira CFR, Luz LA, Paiva PMG, Coelho LCBB, Marangoni S, Macedo MLR. Evaluation of seed coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) as a bioinsecticidal tool with potential for the control of insects. Process Biochemistry 2011; 46:498-504.
- Paiva PMG, Coelho LCBB. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (camaratu bean). Applied Biochemistry and Biotechnology 1992; 36:113-118.
- Paiva PMG, Pontual EV, Napoleão TH, Coelho LCBB. Effects of plant lectin and trypsin inhibitors an development, morphology and biochemistry of insect larvae.

- In: Pourali K, Raad VN. (Eds.), Larvae: Morphology, biology and life cycle. Nova Publishers, Inc 2012; 37-55.
- Paiva PMG, Santana GMS, Souza IFAC, Albuquerque LP, Agra-Neto, AC, Albuquerque AC, Luz LA, Napoleão TH, Coelho LCBB. Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. International Biodeterioration and Biodegradation 2011; 65:982-989.
- Pereira ACRL, Oliveira JV, Junior MGCG, Câmara CAG. Insecticide activity of essential and fixed oils in *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) in Cowpea grains [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. Ciência e Agrotecnologia 2008; 32:1413-7054.
- Peumans WJ, Van Damme EJM. Lectins as plant defense proteins. Plant Physiology 1995;109:347-352.
- Powell KS, Gatehouse AMR, Hilder VA, Gatehouse JA. Antifeedant effects of plant-lectins and na enzyme on the adult stage of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. Entomologia Experimentalis et Applicata 1998; 75:51-59.
- Ratanapo S, Ngamjunyaporn W, Chulavatnatol M. Interaction of a mulberry leaf lectin with a phytopathogenic bacterium, *P. syringae* pv *mori*. Plant Science 2001; 160:739-744.
- Rolim LADMM, Macêdo MFS, Sisenando HA, Napoleão TH, Felzenszwalb I, Aiub CAF, Coelho LCBB, Medeiros SRB, Paiva PMG. Genotoxicity evaluation of *Moringa oleifera* seed extract and lectin. Journal of Food Science 2011; 76:53-58.
- Santos AFS, Argolo ACC, Coelho LCBB, Paiva PMG. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. Water Research 2005; 39:975-980.
- Scriber JM, Slansky Jr F. The nutritional ecology of immature insects. Annual review of entomology 1982; 26:183-211.
- Silva J, Mariano ZF, Scopel I. A dengue no Brasil e as políticas de combate ao *Aedes aegypti*: da tentativa de erradicação às políticas de controle. Hygeia 2008; 3:163-175.
- Suarez M, Entenza JM, Doerries C, Meyer E, Bourquin L, Sutherlan J, Marison I, Moreillon P, Mermoud N. Expression of a plant-derived peptide harboring water-

- cleaning and antimicrobial activities. *Biotechnology and Bioengineering* 2003; 81:13-20.
- Suarez M, Haenni M, Canarelli S, Fisch F, Chodanowski P, Servis C, Michielin O, Freitag R, Moreillon P, Mermoud N. Structure-function characterization and optimization of a plant-derived antibacterial peptide. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005; 49:3847-57.
- Tavares MAGC, Vendramim JD. Bioatividade da Erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Neotropical Entomology* 2005; 34:319-323.
- Van Damme EJM, Peumans WJ, Barre A, Rougé P. Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Critical Reviews in Plant Sciences* 1998;17:575–692.
- Xianchun L, Schuler MA, Berenbaum MR. Molecular mechanism of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology* 2007; 52: 231-253.
- Zhu-Salzman K, Salzman RA. Functional mechanics of the plant defensive *Griffonia simplicifolia* lectin II: resistance to proteolysis is independent of glycoconjugate binding in the insect gut. *Journal of Economic Entomology* 2005; 94:1280–1284.
- Zhu-Salzman K, Shade RE, Koiwa H, Salzman RA, Narasimhan M, Bressan RA, Hasegawa PM, Murdock LL. Carbohydrate binding and resistance to proteolysis control insecticidal activity of *Griffonia simplicifolia* lectin II. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1998; 95:15123–8.

6. CONCLUSÃO

- WSMoL não interferiu na sobrevivência de larvas de *E. kuehniella* e nenhuma alteração nos parâmetros nutricionais do inseto foi detectada.
- A lectina foi progressivamente digerida após incubação com o extrato de intestino de larvas de *E. kuehniella*.
- WSMoL foi tóxica para larvas de *C. maculatus* por causar mortalidade e prejudicar o crescimento dos insetos.
- WSMoL foi resistente à hidrólise pelas proteases do intestino de larvas de *C. maculatus* indicando que o mecanismo de ação inseticida da lectina pode envolver a resistência à degradação proteolítica por enzimas do intestino dos insetos.
- Os resultados deste trabalho indicam WSMoL como uma nova ferramenta para proteção contra pragas agrícolas.