

023 - INIBIDORES DE ENZIMAS DE *Enterolobium contortisiliquum* (TIMBAÚBA) ATIVOS CONTRA AMILASES E PROTEINASES DE *Spodoptera frugiperda* (Inhibitors from *Enterolobium contortisiliquum* (Timbaúba) activies against amilases and proteinases from *Spodoptera frugiperda*)

Daga, C.J.¹, Barbosa, T.¹, Vitalino, R.C.², Ferreira, C.H.³, Grossi-de-Sá, M.F.⁴, Bloch Jr., C.⁵, Melo, F.R.⁶

Inibidores de proteinases e de amilases ocorrem em diversas espécies de plantas. Estas proteínas podem funcionar como reguladores de atividade endógenas nas sementes durante o processo de germinação e como defesa contra o ataque de pragas e patógenos. Foi preparado um extrato bruto das sementes de timbaúba usando 0,1M NaCl, 0.01M HCl numa proporção de 1:5 (p/v). O material foi centrifugado a 10.000 rpm, a 4°C por 20 minutos e o sobrenadante foi utilizado para preparar a fração protéica com sulfato de amônio (0-60%). Esta fração foi usada para testes de atividade de inibição de amilase in vitro de acordo com Bernefeld (1965), e inibição de proteinase de acordo com Solomon et al. 1999 e Kunitz (1997). Os testes de inibição foram realizados com a fração protéica (0-60%), resultando em uma inibição da atividade amilásica de 16% para *Anthonomus grandis* (bicudo do algodoeiro) e de 45 % para *Spodoptera frugiperda*, já para proteinase observou-se uma inibição de 17% e 65% , para os respectivos insetos. Para a purificação dos inibidores foi usada inicialmente cromatografia de afinidade em coluna de Red- Sepharose CL-6B. Seguindo o processo, estão sendo realizadas cromatografias em HPLC (Akta) em coluna Surphedex 75 10/30. Para a visualização das proteínas usou-se eletrofore em gel de poliacrilamida, SDS-PAGE conforme Laemmli (1970), sendo determinadas as massas moleculares por espectrometria de massa (MALDI TOF). Proteínas com 12,85 kDa, 13,47 kDa e 15,50 kDa foram observadas no pico retido em Red-Sepharose. Após purificação dos inibidores de amilase e de proteinase, pretende-se fazer testes biológicos contra larvas dos insetos-alvo objetivando gerar opções para a produção de plantas transgênicas resistentes a pragas.

¹Agronomia, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

²Agronomia, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

³Zootecnista, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Bióloga, Ph.D., União Pioneira de Integração Social-UPIS