

SISTEMAS ENZIMÁTICOS DE *Sitotroga cerealella*  
(Lepidoptera, Gelechiidae) E ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE RESISTÊNCIA A INSETICIDAS

J.R. DE ALMEIDA<sup>1</sup> Y. MIZUGUCHI<sup>1</sup> C.E. DOS SANTOS<sup>2</sup>

ABSTRACT

Enzymatic systems of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera, Gelechiidae) and some considerations about its insecticides' resistance

The authors comment insects' resistance metabolism to insecticides and functional importance of enzymatic systems in this process. The authors analyse the esterase's pool of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera, Gelechiidae) through electrophoretic methods.

INTRODUÇÃO

Vários fatores conferem aos insetos, resistência a grande parte dos inseticidas usados atualmente. Na sua maioria são mecanismos fisiológicos: armazenamento em estruturas não sensíveis ou inertes quimicamente, aumento na intensidade de excreção ou degradação a produtos não tóxicos, e, diminuição do ponto crítico. Em todos esses casos, os sistemas enzimáticos têm ação acentuada.

Obviamente esses mecanismos de resistência são controlados geneticamente (ao menos as enzimas) e sua evolução sofreu e sofre ainda, pressão seletiva, representada de um modo geral, pelo uso indiscriminado de biocidas, permitindo que mutações recorrentes somadas à genótipos resistentes possam ser mantidos por esse processo, acumulando-se ao nível de populações. Numerosos casos de resistência têm sido citados, principalmente para organo-fosforados (OPPENORTH & Van ASPEREN, 1960; O'BRIEN, 1967; MENZIE, 1969).

Apesar do desconhecimento do mediador químico no sistema nervoso estomatogástrico e na transmissão neuro-muscular no inseto, sabe-se que os fosforados e clorofosforados inibem a ação reserva da colinesterase, ocasionando acúmulo de acetil-colina no SNC. Os carbamatos não polarizados também atuam no SNC do inseto, ao nível de sinapses colinéreas.

---

Recebido em 02/10/78.

<sup>1</sup>Área de Biologia - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

<sup>2</sup>Bolsista do CNPq.

géticas. Os clorados caracterizam-se pelo alto poder de lipossolubilidade, o que lhes assegura afinidade à membrana do axônio, formando-se um complexo que interfere no fluxo iônico  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ . Esse complexo desequilibra o balanço de íons entre os compartimentos intra e extra-celular, alterando a transmissão nervosa.

A ação fisiológica de resistência aos inseticidas é basicamente a degradação metabólica do princípio ativo em compostos menos tóxicos. Naturalmente que esses caminhos metabólicos serão tão eficientes quanto mais eficientes forem as enzimas participantes em desdobrar o tóxico em produtos inativos. Os fosforados por exemplo, são degradados pela ação das fosfatases (fosfo-hidrolases) que atuam por hidrólise nos ésteres de fósforos com ligações tipo: P-O-C (Figura 1).

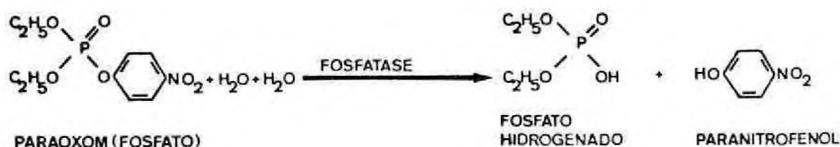


FIGURA 1 - Ação hidrolítica de fosfatase.

Eles também podem ser desdobrados por outra via, é o caso da ação hidrolítica das carboxiesterases, nas ligações de esterases tipo COOR (Figura 2).



FIGURA 2 - Ação hidrolítica de carboxiesterase.

A desintoxicação para os carbamatos é desenvolvida pelas carbamatas, elas hidrolizam a ligação O-C, originando derivados do fenol e de ácido carbâmico (Figura 3).

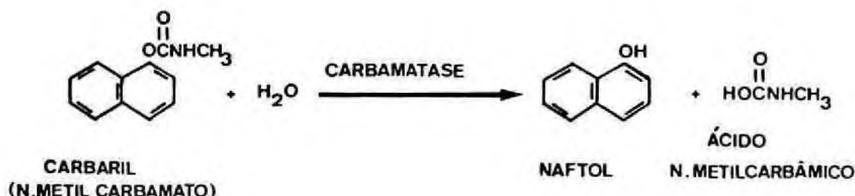


FIGURA 3 - Ação hidrolítica de carbamatase.

Por sua vez os inseticidas clorados, compreendendo os ciclodienos e hidrocarbonetos halogenados são desdobráveis até epóxidos correspondentes (os primeiros) e os hidrocarbonetos halogenados são transformados em produtos inócuos (pela ação de clorinases) e armazenados em células adiposas.

Pode-se concluir que os diversos sistemas enzimáticos têm papel fundamental na resistência do inseto a inseticidas. Tratam-se de enzimas pertencentes principalmente a classe das hidrolases. Na realidade são esterases que catalizam a hidrólise de ésteres e ácidos carboxílicos, ésteres de ácido fosfórico ou ésteres fenólicos. Portanto, o objetivo deste trabalho é contribuir para o conhecimento e a caracterização de "pool" de esterases existentes em *S. cerealella* (Lepidoptera Geliichiidae), uma das pragas mais sérias do milho (CANDURA, 1926; LEPAGE, 1939; COTTON, 1941; COSTA LIMA, 1945; MISRA, 1961; ROSSETTO, 1969; MARCONI, 1977).

#### MATERIAIS E MÉTODOS

As mariposas utilizadas no experimento faziam parte de colônias em constante repique, tendo milho como substrato. Fez-se macerado total de adultos, tanto macho como fêmea, em diferentes estados fisiológicos (1 a 15 dias) até F<sub>8</sub>. O macerado obtido em água destilada era centrifugado a 5000 rpm por 10 minutos, a 5°C. Intumesceram-se pequenos entes (3 x 3 mm) de papel Whatman nº 3 no sobrenadante e inseriu-se no gel de amido (16%), em cima de placa de gelo.

O sistema de migração eletroforética estava de acordo com recomendações de SHAW (1969), sistema tris-citrato descontínuo I, com tampão borato, 0,3M, pH 8,2 (eletrodos) e tampão tris 0,076M com ácido cítrico 0,005M, pH 8,7 (gel). Na técnica histoquímica de coloração dos "spots" usaram-se como substrato o alfa-naftilacetato e o beta-naftilacetato, diluídos em acetona, tampão fosfato pH 5,8 fast garnet GBC (4%) e propanol. O gel cortado em três fatias era incubado a 36°C em estufa, sem luz, por um período de 4 horas. Finalmente procedeu-se a análise de zimograma.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultado de uma caracterização geral do "pool esterásico", tem-se:

1 - O número máxímo de 11 "spots", com distância em mm do ponto de aplicação, é da ordem de seis, 10, 13, 18, 22, 26, 30, 31, 40, 44 e 46. Estes "spots" alteram-se nos perfis eletroforéticos permitindo uma enorme variação de tipos (Figura 4 e Quadro 1).

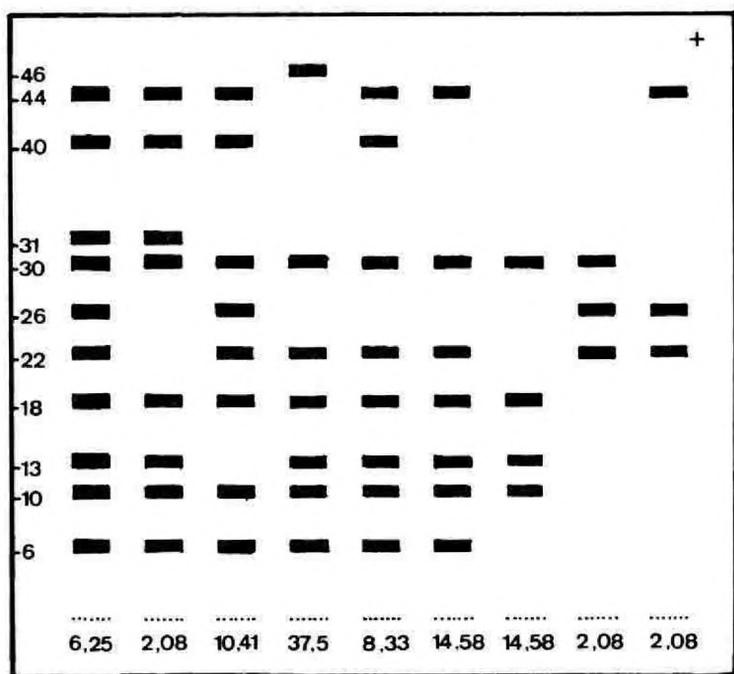


FIGURA 4 - Caracterização do "pool esterásico" de *S. cerealella*. A linha pontilhada representa o ponto de aplicação, os números a esquerda a distância percorrida em mm e os números abaixo, a frequência relativa dos perfis eletroforéticos mais comuns na amostragem (400 indivíduos).

QUADRO 1 - Frequência (%) de spots esterásicos em fêmeas e machos de *Sitotroga cerealella*.

Spot Rf	Frequência do spot nas fêmeas (%)	Frequência do Spot nos machos (%)
46	6.15	3.50
44	32.30	28.07
40	36.92	40.35
31	12.30	21.05
30	76.92	65.08
26	58.46	66.66
22	44.61	70.17
18	80.00	71.92
13	60.00	54.38
10	20.00	45.61
6	53.84	63.15

2 - Na competição pela afinidade por tipos diversos de substrato, notou-se que os "spots" seis, 10 e 13 somente coram-se por alfa naftil acetato. Enquanto os "spots" 40, 44 e 46 são afins apenas pelo beta naftil acetato. Os "spots" intermediários 18, 22, 26, 30 e 31 têm afinidade indistinta por ambos os substratos testados. Isto sugere que as enzimas de afinidade restrita sejam esterases de alta especificidade (talvez carboxiesterases, fosfoesterases, etc...) e as intermediárias sejam esterases de baixa especificidade (talvez algumas fosfomonoesterases).

3 - Não foi observada variação significativa quanto ao número de isoenzimas entre indivíduos adultos de ambos os sexos e diferentes idades. Possivelmente isto está associado ao fato destas enzimas serem importantes no mecanismo de resistência à inseticidas.

4 - Os "spots" relativos a esterases possivelmente de baixa especificidade, notadamente o 18 e o 30, na fêmea, e 18 e o 22, no macho, são mais freqüentes na amostragem, que os de alta especificidade (Quadro 1). Talvez isto represente uma ampla flexibilidade nas vias bioquímicas de desintoxicação.

5 - A resolução obtida ainda é muito baixa em relação a esperada complexidade dos mecanismos de resistência. No entanto, cada fração colorida pode ser mistura de diversos polipeptídeos de carga elétrica redundante e igual peso molecular.

#### LITERATURA CITADA

- CANDURA, G.S. Contributo alla conoscenza della vera tignola del grano (*Sitotroga cerealella* Oliv.), *Boll. Lab. Zool. Gen. Agr. R. Scuola Agric. Portici*, 19:19-102, 18 figs, 1926.
- COTTON, R.T. *Insect pest of stored grain products, identification, hab*

- its and methods of control*. Minnesota, Burges Co. 1941, 242 p. 39 figs.
- LIMA, A. da C. *Insetos do Brasil*, Lepidopteros, 1a. parte. Rio de Janeiro, Escola Nacional de Agronomia, V. 5 (série didática nº 7), 1945, 379p., ilust.
- LEPAGE, H.S. & L.I. GONÇALVES. *Insetos prejudiciais ao milho armazenado*. São Paulo, Secr. Agric. Ind. Com., Dep. Fom. Prod. Veg. (ce reais), 1939, 37p., 29 figs. (Boletim 2).
- MISRA, C.P.; C.M. CHRISTENSEN & A.C. HODSON. The angoumois grain moth *S. cerealella*, and storage fungi. *J. Econ. Entomol.*, 54(5):1032-33, 1961.
- MARICONI, F.A.M. *Insetos daninhos às plantas cultivadas*. São Paulo, Ed. Nobel, 1977, 124p., 60 figs.
- MENZIE, C.M. *Metabolism of pesticides*. Washington, U.S.D.I., Bureau of Sport fisheries and wildlife, 487p., 1969.
- OPPENORTH, F.J. & K. von ASPEREN Allelic genes in the housefly producing modified enzymes that cause organophosphate resistance. *Science*, 132:298-299, 1960.
- O'BRIEN, R.D. *Insecticides - Action and Metabolism*. New York, Academic Press, 1967, 332p.
- ROSSETO, C.J.; A. ACCIOLI; L.B. OLIVEIRA & D.M. SOUZA. Influência da região de plantio de arroz sobre a infestação da traça dos cereais, *S. cerealella* (Oliver.) (Lepidoptera, Gelechiidae). *Bragantia*, Campinas, 28:195-204, 1969.
- SHAW, C. Isoenzymes: classification, frequency and significance. *Int. Rev. Cytol.*, 25:297-332, 1969.

## RESUMO

São feitas algumas considerações sobre metabolismo de resistência de insetos à inseticidas e papel dos sistemas de enzimas nesse processo. Os autores analisaram através da técnica de eletroforese, o "pool esterásico" de uma amostra de *S. cerealella* (Lepidoptera, Gelechiidae) mantida em repiques.