

Plantas inseticidas: interações e compostos

Marinez Salete Tagliari¹, Neiva Knaak² e Lidia Mariana Fiuza³

Resumo - Para sobreviver, durante sua evolução, as plantas desenvolveram mecanismos de resposta às pragas e doenças. Adaptação e resistência traduzem-se por alterações no metabolismo da célula vegetal, entre elas a síntese de proteínas de defesa, expressas por genes específicos, ativados através de mecanismos complexos. Tais proteínas exercem vários papéis na resistência e sobrevivência da planta, de forma direta, combatendo o agente agressor, ou indireta, mantendo a estrutura e as funções celulares. Os mecanismos de resposta e as substâncias envolvidas nos processos de defesa vêm sendo bastante pesquisados. Saber como os vegetais se protegem é essencial para obter, através da bioengenharia, variedades agrícolas mais resistentes, o que pode aumentar a produção e a qualidade dos alimentos. Esta revisão trata da interação planta e inseto, incluindo substâncias derivadas de compostos químicos e moléculas produzidas a partir do processamento de proteínas, consideradas toxinas inseticidas.

Palavras-chave: Inseto, inseticida, proteína, toxina.

Insecticide plants: interactions are composed

Abstract - Throughout their evolution plants developed reaction mechanisms against pests and diseases. Adaptation and resistance are translated into changes in the metabolism of the plant cell, among which is the synthesis of defense proteins expressed through specific genes, activated by complex mechanisms. These proteins play many roles in the resistance and survival of the plant, either directly, by fighting the aggressive agent or indirectly by keeping the cell structure and functions. Reaction mechanisms and substances involved in the defense processes have been gone through intense research. Knowing how plants protect themselves is fundamental to get, through bioengineering, more resistant growing varieties which can increase the production and quality of food. This review focus on the plant and insect interaction, including substances from chemical compounds and molecules made through the processing of proteins seen as insecticide toxins.

Key words: Insect, insecticide, protein, toxin.

¹ Estudante de Mestrado em Biologia - PPGB: Diversidade e Manejo de Vida Silvestre, Ciências da Saúde-Microbiologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, UNISINOS, C. P. 275, CEP 93001-970, São Leopoldo, RS.

² Doutora em Ciências Agronômicas- PPGB: Diversidade e Manejo de Vida Silvestre, Ciências da Saúde - Microbiologia - UNISINOS e Consultora da Estação Experimental do Arroz - Instituto Riograndense do Arroz, CEP 94630-030, Cachoeirinha, RS. E-mail: fiuza@bios.unisinos.br.

Recebido para publicação em 10/05/2004.

a ingestão de fenóis pelos insetos, reduz o valor nutricional da sua alimentação.

O fenol via oral pode ser tolerado ou desintoxicado, dependendo do nível das enzimas oxidantes, citocromo P450, esterases, bem como o pH intestinal (REY et al., 2000).

Trabalhos com insetos-praga têm demonstrado uma variedade de conseqüências negativas associadas com a ingestão de compostos fenólicos, incluindo danos nas células epiteliais, redução no nível de proteínas e lipídios (BI e FELCON, 1995), deformações letais (BARBEHENN e MARTIN, 1994) e redução da disponibilidade dos aminoácidos essenciais (FELTON et al., 1989).

O "glucosinolate" é outro exemplo do metabolismo secundário na interação planta-inseto. Nessa classe, as moléculas variam qualitativamen-

te, gerando diversas combinações em resposta às mudanças herbívoras ou outras pressões seletivas (KLIEBENSTEIN et al., 2001). Para Botting et al. (2002) esse composto interfere na oviposição, na alimentação e no crescimento do inseto, o qual se acumula nos tecidos vegetais que quando são atacados pelos insetos, o composto é hidrolisado por enzimas, formando moléculas menores e voláteis.

Moléculas inseticidas derivadas de proteínas

Na Tabela 2 estão relacionadas algumas enzimas e proteínas vegetais com suas propriedades inseticidas.

Tabela 2. Moléculas inseticidas derivadas de proteínas vegetais

Proteínas e Enzimas	Ação em insetos	Autores
Inibidores de α -amilase	Inibem as enzimas digestivas	Silva et al. (2001)
Inibidores de α -cisteínicas	Danificam as células do sistema digestivo	Falco et al. (2001)
Lectinas	Interferem na absorção dos nutrientes, aumentam a absorção de substâncias tóxicas	Falco et al. (2001)
Inibidores de proteinase	Inibidores de enzimas digestivas	Pompermayer et al. (2001)

Inibidores de α -amilase

As α -amilases são enzimas monoméricas que constituem uma família da endoamilases, as quais catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas de α -1,4 do amido, glicogênio e outros carboidratos. Essas enzimas têm um papel importante no mecanismo dos carboidratos em plantas, animais e outros organismos (FRANCO et al., 2000).

Diversos autores relatam que os inibidores de α -amilase são abundantes em espécies vegetais (MARSHALL e LAUDA, 1975; GROSSI-DE-SÁ et al., 1997; FRANCO et al., 2000; IULEK et al., 2000), os quais atuam como mecanismo de defesa das plantas.

Os inibidores de α -amilase de trigo são potentes inibidores de α -amilase de vários insetos de grãos armazenados, incluindo espécies dos gêneros *Tenebrio*, *Tribolium*, *Sitophilus* e *Oryzaepilus* (FRANCO et al., 2000).

Entre os inibidores de α -amilase, os mais estudados encontram-se no trigo (*Triticum aestivum*), e no feijão comum (*Phaseolus vulgaris*). No feijão, foi demonstrada a presença de dois inibidores de α -amilase conhecidos como: α -A11, α -A12, que diferem em suas especificidades contra diferentes α -amilase. Enquanto o α -A11, inibe a α -amilase dos bruquídeos, *Callosobruchus maculatus* e *Callosobruchus chinensis* (KASAHARA et al., 1996), o inibidor α -A12 inibe as α -amilases de *Zabrotes subfasciatus* (GROSSI-DE-SÁ e CHRISPEELS, 1997). De acordo com Franco et al. (2002), o mecanismo de interação e especificidade do inibidor α -amilase é extremamente complexo, ainda não estando totalmente descrito.

Recentemente, Grossi-de-Sá et al. (1997), mostraram que a inibição de *Z. subfasciatus*, causada pelo α -A12 é dependente tanto do tempo de ação quanto do pH. Em adição, La-Jolo et al. (1991) demonstraram que a formação do complexo tem pH ótimo de

5,5 e inibem assim as α -amilase de alguns coleópteros, os quais possuem um pH ácido em seu intestino médio, e não inibem as α -amilase de lepidópteros que possuem um pH alcalino em seu intestino médio.

Os inibidores de α -amilase e de proteinases apresentam grande potencial por reduzirem ou impedirem a atividade das enzimas digestivas dos insetos, causando destruição e redução do desenvolvimento larval (PUSZTAI et al., 1990). Esses autores relatam que a mortalidade das larvas dos insetos depende diretamente dos níveis de expressão dos inibidores de α -amilase e de proteinases nas plantas.

Inibidores de proteinase (IPs)

Durante a evolução, as plantas desenvolveram diferentes mecanismos para reduzir o ataque dos insetos, incluindo respostas específicas que ativam diferentes vias metabólicas, as quais alteram suas características químicas e físicas (MELLO e SILVA-FILHO, 2002). Alguns autores sugerem que as plantas desenvolveram IPs com propriedades contra as proteinases dos insetos (RAKWAL et al., 2001), as quais resistem à proteólise e permanecem ativas sob diversos pHs intestinais (CHRISPEELS et al., 1998), devido a produção bifuncional dos inibidores que são ativados por amilases e proteinases (ROY e GUPTA, 2000) e pelo complexo aumento dos inibidores que difere das propriedades químicas durante a produção dos mesmos (TIFFIN e GAUT, 2001).

As plantas são capazes de armazenar IPs em quantidade maiores que a necessária para inibir a proteinase dos insetos (TELANG et al., 2003). O nível dos IPs em plantas isentas por insetos é normalmente baixo, mas eles podem ser ativados para aumentar o nível quando as plantas são atacadas.

A ingestão de IPs pelos insetos herbívoros interfere no processo de degradação de proteínas no intestino médio, assim sendo os inibidores são considerados como agentes antimetabólicos, pois interferem no processo digestivo dos insetos (RYAN, 1990), inibindo as atividades proteolíticas (JONGSMA e BOLTER, 1997). Para Wolfson e Murdock (1995), os IPs diminuem a disponibilidade dos aminoácidos, prejudicando o crescimento, desenvolvimento e reprodução dos insetos e eventualmente causariam sua morte. De acordo com Jongsma e Bolter (1997), tais efeitos ocorrem pela inibição da proteinase ou devido à alta produção de

enzimas digestivas. Alguns inibidores podem afetar o desenvolvimento dos insetos via indireta, aumentando a produção de proteinase digestiva para compensar o baixo nível de aminoácido disponível ou diminuindo o grupo de aminoácidos requeridos à produção de proteínas essenciais (BROADWAY e DUFFEY, 1986). O desenvolvimento e o crescimento de lagartas de várias espécies é afetado após a ingestão crônica de inibidores de proteinase incorporada na dieta artificial, ou quando presente em altos níveis em plantas (DUAN et al., 1996). De acordo com Broadway (1995), o mecanismo de ação de um inibidor de proteinase baseia-se na inibição competitiva de outra proteinase, via bloqueio de sua atividade proteolítica. Em 1996, os mesmos autores mostram que a deficiência de aminoácido essencial resulta da hiper produção de proteinase em lagartas de *Spodoptera exigua* e *Heliothis zea*, seguida de uma redução da atividade proteolítica intestinal. Então os inibidores de serine proteinase são considerados como defesa fitoquímica contra insetos herbívoros. No entanto, nem todos os insetos com serina proteinase são suscetíveis a inibidores de serina proteinase. Tripsina e quimiotripsina apresentam atividades inseticidas às larvas de *Pieris rapae* e *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae), porém não foram inibidas *in vitro* por inibidores de tripsina e quimiotripsina em crucíferas.

O potencial dos inibidores de proteinases depende da compatibilidade estrutural com a proteinase do organismo alvo, das condições fisiológicas internas do intestino médio (pH) e da qualidade do sistema proteinase (BROADWAY e DUFFEY 1988). Os insetos obtêm muitos dos aminoácidos essenciais utilizando proteinase extracelular que atuam no lúmen intestinal. Os lepidópteros são selecionados como modelo, porque eles usam primeiramente a serina proteinase para a digestão proteolítica (BROADWAY e DUFFEY, 1986).

Os inibidores mais abundantes e bem estudados são as proteinases serínicas, que se assemelham à tripsina e a quimiotripsina de mamíferos e àqueles capazes de inibir as serina-proteinases (tripsinas e quimiotripsinas) encontradas em insetos da ordem Lepidoptera (TERRA e FERREIRA, 1994).

A síntese e o acúmulo de uma variedade de proteinases de reserva mostram estar intimamente relacionadas com propriedades entomotóxicas

como: a-amilase, inibidores de proteinase, lectinas e globulinas. Essas proteínas estão usualmente presentes em sementes e tecidos vegetativos das plantas leguminosas (SALES et al., 2000; FRANCO et al., 2002).

Conforme sua especificidade, as proteinases podem ser divididas em quatro classes: serínicas, cisteínicas, aspárticas e metalo-proteinases (KOIWA et al., 1997). De acordo com Terra e Ferreira (1994), a proteinase serínica está presente como uma enzima digestiva principal quando o lúmen do intestino médio contém um pH neutro ou alcalino (Lepidoptera), enquanto as proteinases cisteínicas e aspárticas são estabelecidas em intestino com pH ácido (Coleoptera).

Os inibidores de proteinases do tipo serina e cisteína apresentam efeitos inseticidas através da redução na fecundidade, redução do peso, alta mortalidade e deformações nas diferentes fases de vida do inseto (MURDOCK et al., 1988).

Os inibidores cisteínicos são amplamente distribuídos em plantas e insetos, e podem funcionar protegendo as células de uma proteólise desnecessária ou em um colapso de proteínas intra e extracelular (NAGATA et al., 2000).

Os inibidores de proteinases cisteínicos, também conhecidos como cistatinas, se ligam as proteínas cisteínicas inibindo sua atividade. Em animais, existem três tipos de cistatinas de acordo com sua massa molecular, número de pontes dissulfeto, localização subcelular e estruturas primárias, conhecidas como: cistatinas I, II, III (RYAN et al., 1998; NAGATA et al., 2000). As plantas mostram uma seqüência de aminoácidos semelhante às cistatinas dos animais e podem ser classificadas dentro da família de fitocistatinas (KRAMER e MUTHUKRISHNAN, 1997). A cistatina do arroz foi a primeira fitocistatina definida, sendo a mais bem caracterizada. Muitas fitocistatinas têm uma seqüência de aminoácidos conhecida e encontra-se nessa seqüência uma região altamente conservada no sítio de ligação (Gln, Val, Ala, Gly). Ocorrem em endospermas do arroz (*Oryza sativa* L.) e apresentam atividades inibidoras contra papaína e várias outras proteinases cistatinas (NAGATA et al., 2000).

As proteinases cisteínicas também são enzimas digestivas importantes para os insetos como os coleópteros *Callosobruchus maculatus* e *Acanthoscelides obtectus* (XAVIER-FILHO et al., 1996).

Quanto à quitina, Jouanin et al. (1998) mencionam que esta se encontra em vários tecidos dos insetos, não como um único material no exoesqueleto, mas também na membrana peritrófica podendo interferir na digestão do inseto. Brandt et al. (1978) relatam que a quitinase causa deformação na membrana, facilitando a entrada de patógenos nos tecidos dos insetos susceptíveis. Coudron et al. (1989) complementa dizendo que as quitinases facilitam também a entrada de fungos entomopatogênicos pela cutícula.

Lectinas

As lectinas são carboidratos ligados às proteínas, como as glicoproteínas e os glicolipídios ou polissacarídeos com alfa-afinidade. São encontradas em leguminosas, principalmente nos órgãos de reserva e estruturas de proteção (RAMOS et al., 2001). Segundo Carlini e Grossi-de-Sá (2002), o mecanismo de defesa das plantas contra insetos concentra-se em sementes, visto que elas são o meio de propagação e sobrevivência, porém existem evidências que componentes do sistema de defesa de algumas plantas pode ter sido perdido durante a seleção natural imposta pela domesticação. Devido sua ligação específica possuem a capacidade de servir como reconhecimento das moléculas dentro das células, entre as células ou entre os organismos. Isso reforça que as lectinas têm um papel biológico fundamental nas plantas, porque estão presentes em vários tecidos e espécies. No feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) encontram-se três classes dessas proteínas inseticidas: fitohemoglutina, arcelina e inibidores a-amilase (CHRISPEELS e RAIKHEL, 1991).

Quanto à atividade inseticida, a lectina obtida do feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), mostrou interferência no desenvolvimento dos fitófagos *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera) e *Myzus persicae* (Hemiptera), assim como do hematófago *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) (GATEHOUSE et al., 1999; FERREIRA-DA-SILVA et al., 2000). Em geral, as lectinas inseticidas têm sítios de ligação nas células epiteliais do sistema digestivo, bem como na membrana peritrófica (CHRISPEELS e RAIKHEL, 1991; PEUMANS e VAN DAMME, 1996). Esses autores relatam que as células epiteliais, ao longo do trato digestivo dos insetos, são diretamente expostas ao conteúdo da dieta e,

portanto são possíveis, sítios de ligação das proteínas de defesa das plantas. Algumas glicoproteínas são os principais constituintes da defesa do sistema digestivo do inseto, cujo lúmen do intestino pode ficar revestido por lectinas provocando efeitos negativos ao inseto, como inibição do crescimento e morte ao inseto (PEUMANS e VAN DAMME, 1995).

As lectinas nas gramíneas estão presentes em pequenas quantidades (MISHKIND et al., 1980), acumulando-se em células específicas e tecidos das sementes (MISHKIND et al., 1982), que entram em contato direto com o meio ambiente através da germinação. Ao longo do tempo foi demonstrado seu papel na proteção da planta, como mecanismo de defesa contra infecções fúngicas (CHRISPEELS e RAIKHEL, 1991), por outro lado, em 1999 foi proposto por Hirsch à função das lectinas na nodulação das leguminosas.

Muitas lectinas são estáveis numa ampla escala de pH e são resistentes às proteases do inseto. Elas assemelham-se com outras defesas relacionadas com proteínas, assim como alguns inibidores de proteinases (quitinase e gliconase) inibidores de α -amilases e proteínas antifúngicas. No entanto, as lectinas de algumas plantas são degradadas *in vivo* por alguns herbívoros, que possuem proteases no seu intestino capazes de degradar as lectinas em sua alimentação. Embora toda a planta esteja exposta aos ataques de pragas e doenças, alguns tecidos ou órgãos necessitam de proteção extra, visto que eles têm o papel chave para a sobrevivência do indivíduo ou da espécie (PEUMANS e VAN DAMME, 1995).

As proteínas classificadas como lectinas possuem como propriedade comum a habilidade de reconhecer e se ligar reversivelmente e com alta especificidade a resíduos de carboidratos, sem, contudo alterar a estrutura química dos participantes.

Ao interagirem com glicoconjugados da superfície celular, as lectinas podem promover a formação de ligações cruzadas entre células adjacentes, causando a aglutinação das mesmas (PEUMANS e VAN DAMME, 1995). A interação das lectinas com receptores glicídicos da membrana celular é a base molecular às várias respostas que essas proteínas são capazes de induzir nos mais diversos sistemas biológicos.

Considerações

A busca de novos produtos naturais com atividade inseticida é um caminho promissor. Uma alternativa é o desenvolvimento de bioinseticida ou o uso de proteínas vegetais no controle de insetos-praga, onde os genes que codificam essas proteínas com atividades inseticidas, revelam um amplo potencial de utilização.

Nesse caminho o desenvolvimento das técnicas de biologia molecular, que possibilitam a manipulação de genes de interesse, aliado às metodologias de transformação genética de plantas proporciona a obtenção de plantas tolerantes ou resistentes aos ataques dos insetos-praga.

Nesse caso, é importante fazer uso de combinações, como por exemplo, de inibidores de proteinase, com outras proteínas que podem induzir o estresse, ou inibir o crescimento, ou desenvolvimento do inseto. Quando essas combinações representarem diferentes mecanismos de ação nos insetos-alvo, o sucesso no controle de pragas será mais efetivo e com maior espectro de ação. Dessa forma é de grande relevância compreender os mecanismos de defesa das plantas quando predadas por insetos e as formas pelas quais elas se adaptam, tornando-se naturalmente resistentes.

Referências

- BALDWIN, I. T.; PRESTON, C. A. The Eco-Physiological Complexity of Plant Responses to Insect Herbivores. *Planta*, Springer-Verlag, v. 208, p.137-145, 1999.
- BALDWIN, I.T. An Ecologically Motivated Analysis of Plant-Herbivore Interactions in Native Tobacco. *Plant Physiology*, Rockville, v. 127, p.1449-1458, 2001.
- BARBEHENN, R. V.; MARTIN, M. M. Tannin Sensitivity in Larvae of *Malacosoma disstria* (Lepidoptera): Roles of the Peritrophic Envelope and Midgut Oxidation. *Journal of Chemical Ecology*, Plenum, v. 20, p.1985-2001, 1994.
- BARBEHENN, R. V.; SPENCER, U. P. Semiquinone and Ascorbyl Radicals in the Gut Fluids of Caterpillars Measured with EPR Spectrometry. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Riverside, v.33, p.125-130, 2003.
- BERNAYS, E. A.; COOPER, DRIVER, G; BILGENER, M. Herbivores and Plant Tannins. *Advances in Ecological Research*, Oxford, v.19, p.263-302, 1989.

- BI, J. L.; FELCON, G. W. Foliar Oxidative Stress and Insect Herbivory: Primary Compounds, Secondary Compounds Secondary Metabolites, and Reactive Oxygen Species as Components of Induced Resistance. *Journal of Chemical Ecology*, Plenum, v.21, p.1511-1530, 1995.
- BIRKETT, M. A.; CAMPBELL, C. A. M.; CHAMBERLAIN, K.; GUERRIERI, E.; HICK, A. J.; MARTIN, J. A.; POPPY, G. M.; POW, E. M.; PYE, B. J.; SMART, L. E.; WADHAMS, G. H.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. New Roles for Cis-jasmone as an Insect Semiochemical and in Plant Defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, v. 97, p. 9329-9334, 2000.
- BOTTING, C. H.; DAVIDSON, N. E.; GRIFFITHS, D. W.; BENNETT, R. N.; BOTTING, N. P. Analysis of Intact Glucosinolates by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v.50, p. 983-88, 2002.
- BRANDT, C. R.; ADANG, M. J.; SPENCE, K. D. The Peritrophic Membrane: Ultrastructural Analysis and Function as a Mechanical Barrier to Microbial Infection in *Orygia pseudotsugata*. *Journal of Invertebrate Pathology*, Anchorage, v. 32, p. 12-24, 1978.
- BROADWAY, R. Are Insects Resistant to Plant Proteinase Inhibitors? *Journal of Insect Physiology*, Columbus, v. 41, p.107-116, 1995.
- BROADWAY, R. M.; DUFFEY, S. The Effect of Plant Protein Quality on Insect Digestive Physiology and the Toxicity of Plant Proteinase Inhibitors. *Journal of Insect Physiology*, Columbus, v.34, p.1111-1117, 1988.
- BROADWAY, R. M.; DUFFEY, S. S. Plant Proteinase Inhibitor: Mechanism of Action and Effect on the Growth and Digestive Physiology of Larval *Heliothis zea* and *Spodoptera exiqua*. *Journal of Insect Physiology*, Columbus, v. 32, p. 827-833, 1986.
- BRUXELLES, G. L. DE; ROBERTS, M. R. Signals Regulating Multiple Responses to Wounding and Herbivores. *Critical Reviews in Plant Sciences*, Apopka, v. 20, p.487-521, 2001.
- CARLINI, C. R.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. Plant Toxic Proteins with Insecticidal Properties. A Review on their Potentialities as Bioinsecticides. *Toxicon*, Scotland, v. 40, p. 1515-1539, 2002.
- CHRISPEELS, M. J.; RAIKHEL, N. V. Lectins, Lectin Genes, and Their Role in Plant Defense. *Plant Cell*, Rockville, v. 3, p. 1-9, 1991.
- CHRISPEELS, M. J.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; HIGGINS, T. J. V. Genetic Engineering with Alpha-Amylase Inhibitors Makes Seeds Resistant to Bruchids. *Seed Science Research*, Wallingford, v.8, p. 257-263, 1998.
- COUDRON, T. A.; KROHA, M. J.; IGNOFFO, C. M. Levels of Chitinolytic Activity During Development of Three Entomopathogenic Fungi. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Vancouver, v.79B, p. 339-348, 1989.
- DUAN, X.; LI, X.; XUE, Q.; ABO-EL-SAAD, M.; XU, D.; WU, R. Transgenic Rice Plants Harboring an Introduced Potato Proteinase Inhibitor II Genes are Insect Resistant. *Nature Biotechnology*, Fairbanks, v.14, p. 494-498, 1996.
- ENAN, E. Insecticidal Activity of Essential Oils: Octopaminergic Sites of Action. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Vancouver, v. 130, p. 325-337, 2001.
- FALCO, M. C.; MARBACH, P. A. S.; POMPERMAYER, P.; LOPES, F. C. C.; SILVA-FILHO, M. C. Mechanism of Sugarcane Response to Herbivory. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 24, p. 113-122, 2001.
- FEENEY, P. Seasonal Changes in Oak Leaf Tannins and Nutrients as a Cause of Spring Feeding by Winter Moth Caterpillars. *Ecology*, Washington, v. 51, p. 565-581, 1970.
- FELTON, G. R.; BROADWAY, R. M.; DUFFEY, S. S. Inactivation of Proteinase Inhibitor Activity by Plant-Derived Quinines: Complications for Host-Plant Resistance Against Noctuid Herbivores. *Journal of Insect Physiology*, Columbus, v. 35, p. 981-990, 1989.
- FERREIRA-DA-SILVA, C. T.; GOMBAROVITS, M. E.; MASUDA, H.; OLIVEIRA, C. M.; CARLINI, C. R. Proteolytic Activation of Canatoxin, a Plant Toxic Protein, by Insect Cathepsin-Like Enzymes. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, Weinheim, v.41, p. 62-171, 2000.
- FRANCO, O. L.; RIGDEN, D. J. MELO, F. R.; BLOCH, C. Jr.; SILVA, C. P.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. Activity of Wheat α -Amylase Inhibitors Towards Bruchid α -Amylase and Structural Explanation of Observed Specificities. *European Journal of Biochemistry*, Oxford, v. 195, p.2166-2173, 2000.
- FRANCO, O. L.; RIGDEN, D. J.; MELO, F. R.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. Plant Alpha-Amylase Inhibitors and Their Interaction with Insect Alpha-Amylases-Structure, Function and Potential for Crop Protection. *European Journal of Biochemistry*, Oxford, v. 269, p. 397-412, 2002.
- GATEHOUSE, A. M. R.; DAVISON, G. M.; STEWART, J. N.; GALEHOUSE, L. N.; KUMAR, A.; GEOGHEGAN, I. E.; BIRCH, A. N. E.; GATEHOUSE, J. A. Concanavalin A Inhibits Development of Tomato Moth (*Lacanobia oleracea*) and Peach-Potato Aphid (*Myzus persicae*) when Expressed in Transgenic Potato Plant. *Molecular Breeding*, Dordrecht, v. 5, p. 153-165, 1999.

- GROSSI-DE-SÁ, M. F.; CHRISPEELS, M. J. Molecular Cloning of Bruchid (*Zabrotes subfasciatus*) Alpha-Amylase cDNA and Interactions of the Expressed Enzyme with Bean Amylase Inhibitors. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Riverside, v. 27, p. 271-281, 1997.
- GROSSI-DE-SÁ, M. F.; MIRKOV, T. E.; ISHIMOTO, M.; COLUCCI, G.; BATEMAN, K. S.; CHRISPEELS, M. J. Molecular Characterisation of a Bean α -Amylase Inhibitor that Inhibits the α -Amylase of the Mexican Bean Weevil *Zabrotes subfasciatus*. *Planta*, Springer-Verlag, v. 203, p. 295-303, 1997.
- GUNDERSON, C. A.; SAMUELIAN, J. H.; EVANS, C. K.; BRATTSTEN, L. B. Effects of Mint Monoterpene Pulegone on *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, v. 14, p. 859-863, 1985.
- HARUTA, M.; MAJOR, I. T.; CHRISTOPHER, M. E.; PATTON, J. J.; CONSTABEL, C. P. A Kunitz Trypsina Inhibitor Gene Family from Trembling Aspen (*Populus tremuloides* Michx.): Cloning Functional Expression, and Induction by Wounding and Herbivory. *Plant Molecular Biology*, Georgia, v. 46, p. 347-359, 2001.
- HARWOOD, S. H.; MOLDENKE, A. F.; BERRY, R. E. Toxicity of Peppermint Monoterpenes to the Variegated Cutworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 83, p. 1761-1767, 1990.
- HIRSCH, A. M. Role of Lectins (and Rhizobial Exopolysaccharides) in Legume Nodulation. *Current Opinion in Plant Biology*, London, v. 2, p. 320-326, 1999.
- HOUGH-GOLDSTEIN, J. A. Antifeedant Effects of Common Herbs on the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, v. 19, p. 234-238, 1990.
- HUMMELBRUNNER, L. A.; ISMAN, M. B. Acute, Sublethal, Antifeedant, and Synergistic Effects of Monoterpenoid Essential oil Compounds on the Tobacco Cutworm, *Spodoptera liture* (Lep., Noctuidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 49, p. 715-720, 2001.
- IULEK, J.; FRANCO, O. L.; SILVA, M. SLIVINSKI, C. T.; BLOCH, C. Jr.; RIGDEN, D. J.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. Purification, Biochemical Characterization and Partial Primary Structure of a New α -Amylase Inhibitor of Common Bean. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Malden, v. 79, p. 309-315, 2000.
- JONGSMA, M. A.; BOLTER, C. The Adaptation of Insects to Plant Protease Inhibitors. *Journal of Insect Physiology*, Columbus, v. 43, p. 885-895, 1997.
- JOUANIN, L.; BONADE-BOTTINO, M.; GIRARD, C.; MORROT, G.; GIBAND, M. Transgenic Plant for Insect Resistance. *Plant Science*, Shannon, v. 131, p. 1-11, 1998.
- KASAHARA, K.; HAYASHI, K.; ARAKAWA, T.; PHILO, J. S.; WEN, J.; HARA, S.; YAMAGUCHI, H. Complete Sequence, Subunit Structure and Complexes with Pancreatic α -Amylase of an α -Amylase Inhibitor from *Phaseolus vulgaris* white Kidney Beans. *Journal of Biochemistry*, Tokyo, v. 120, p. 177-183, 1996.
- KLIEBENSTEIN D. J.; KROYMANN, J.; BROWN, P.; FIGUTH, A.; PEDERSEN, D.; GERSHENZON, J. MITCHELL-OLDS, T. Genetic Control of Natural Variation in *Arabidopsis* Glucosinolate Accumulation. *Plant Physiology*, Rockville, v. 126, p. 811-825, 2001.
- KOIWA, H.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M. Regulation of Protease Inhibitors and Plant Defense. *Trends in Plant Science*, London, v. 2, p. 379-384, 1997.
- KOLEHMAINEN, J.; JULKUNEN-TIITTO, R.; ROININEN, H.; TAHVANAINEN, H. Phenolic Glucosides as Feeding Cues for Willow-Feeding Leaf Beetles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Malden, v. 74, p. 235-243, 1995.
- KRAMER, K. J.; MUTHUKRISHNAN, S. Insect Chitinase: Molecular Biology and Potential Use as Biopesticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Riverside, v. 27, p. 887-900, 1997.
- LA-JOLO, F. M.; FINARDI-FILHO, F.; MENDES, E. W. Amylase Inhibitors in *Phaseolus vulgaris* Bean. *Food Technology*, Chicago, v. 8, p. 119-121, 1991.
- LEE, S.; TSAO, R.; PETERSON, C. J.; COATS, J. R. Insecticidal Activity of Monoterpenoids to Western Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae), Twospotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae), and House fly (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 90, p. 883-892, 1997.
- MARSHALL, J. J.; LAUDA, C. M. Purification and Properties of Phaseolamin, an Inhibitor of α -Amylase, from the Kidney Bean, *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Biological Chemistry*, Cambridge, v. 250, p. 8030-8037, 1975.
- MASON, J. R. Evaluation of d-Pulegone as an Avian Repellent. *Journal of Wildlife Management*, Washington, v. 54, p. 130-135, 1990.
- MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant-Insect Interactions: an Evolutionary Arms Race Between two Distinct Defense Mechanisms. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Londrina, v. 14, p. 71-81, 2002.
- MISHKIND, M.; KEEGSTRA, K.; PALEVITZ, B. A. Distribution of Wheat Germ Agglutinin in Young Wheat Plants. *Plant Physiology*, Rockville, v. 66, p. 950-955, 1980.

- MISHKIND, M.; RAIKHEL, N. V.; PALEVITZ, B. A.; KEEGSTRA, K. Immunocytochemical Localization of Wheat Germ Agglutinin Wheat. *Journal of Cell Biology*, New York, v. 92, p. 753-764, 1982.
- MIYAZAWA, M.; OHSAWA, M. Biotransformation of α -Terpineol by the Larvae of Common Cutworm (*Spodoptera litura*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 50, p. 4916-4918, 2002.
- MIYAZAWA, M.; TAKASHI, W. Biotransformation of β -Terpinene and (-) α -Phellandrene by the Larvae of Common Cutworm (*Spodoptera litura*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 48, p. 2893-2895, 2000.
- MURDOCK, L. L.; SHADE, R. E.; POMEROY, M. A. Effects of E-64, a Cysteine Proteinase-Inhibitor, on Cowpea Weevil Growth, Development, and Fecundity. *Environmental Entomology*, v. 17, p.467-469, 1988.
- NAGATA, K.; KUDO, N.; ABE, K.; ARI, S.; TANOKURA, M. Three-Dimensional Solution Structure of Oryzacystatin-I, a Cysteine Proteinase Inhibitor of the Rice, *Oryza sativa* L. japonica. *Journal of Biochemistry*, Tokyo, v. 39, p.14753-14760, 2000.
- NISHIDA, R. Sequestration of Defensive Substances from Plants by Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, v. 47, p.57-92, 2002.
- PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. M. Lectin as Plant Defense Proteins. *Plant Physiology*, Rockville, v. 109, p.347-52, 1995.
- PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. M. Prevalence, Biological Activity and Genetic Manipulation of Lectins in Foods. *Trends in Food and Science Technology*, Norwich, v. 7, p.132-138, 1996.
- POMPERMAYER, P. LOPES, A. R.; TERRA, W. R.; PARRA, J. R. P.; FALCO, M. C.; SILVA, M. C. Effects of Soybean Proteinase Inhibitor on Development, Survival and Reproductive Potential of the Sugarcane Borer, *Diatrea saccharalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Malden, v. 99, p. 79-85, 2001.
- PUSZTAI, A. EWEN, S. W. B.; GRANT, G.; PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. M.; RUBIO, L.; BARDOCZ, S. The Relationship Between Survival and Binding of Plant Lectins During Small Intestine Passage and their Effectiveness as Growth Factors. *Digestion*, Basel, v. 46, p. 308-316, 1990.
- RAMOS, M.V.; SAMPAIO, A. H.; CAVADA, B. S.; CALVETE, J. J.; GRANGEIRO, T. B.; DEBRAY, H. Characterization of the Sugar-Binding Specificity of the Toxic Lectins Isolated from *Abrus pulchellus* Seeds. *Glycoconjugate Journal*, Boston, v.18, p. 391-400, 2001.
- RAKWAL, R.; AGRAWAL, G. K.; JWA, N. S. Characterization of a Rice (*Oryza sativa* L.) Bowman-Birk Proteinase Inhibitor: Tightly Light Regulated Induction in Response to cut, Jasmonic Acid, Ethylene and Protein Phosphatase 2A Inhibitors. *Gene*, Amsterdam, v. 263, p.189-198, 2001.
- REY, D.; DAVID, J. P.; CUANY, A.; AMICHOT, M.; MEYRAN, J. C. Comparative Ability to Detoxify Alder Leaf Litter in Field Larval Mosquito Strain. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, Weinheim, v. 44, p.1-8, 2000.
- ROY, I.; GUPTA, M. N. Purification of a "Double-Headed" Inhibitor of Alpha- Amylase/Proteinase K from wheat Germ by Expanded bed Chromatography. *Bioseparation*, Dordrecht, v. 9, p.239-245, 2000.
- RYAN, C. A. Protease Inhibitors in Plants: Genes for Improving Defenses Against Insects and Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 28, p. 425-449, 1990.
- RYAN, S. N.; LAING, W. A.; McMANUS, M. T. A Cysteine Proteinase Inhibitor Purified from Apple Fruit. *Phytochemistry*, Oxford, v. 49, p. 957-963, 1998.
- SAITO, M.L.; F. LUCCHINI. *Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente*. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. 46p.
- SALES, M. P.; GERHARDT, I. R.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; XAVIER-FILHO, J. Do Legume Store Proteins Play a Role in Defending Seeds Against Bruchids? *Plant Physiology*, Rockville, v.124. p.515-522, 2000.
- SAWAMURA, M.; SUM, S. H.; OZAKI, K.; ISHIKAWA, J.; UKEDA, H. Inhibitory Effects of Citrus Essential Oils and their Components on the Formation of N-Nitrosodimethylamine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 47, p. 4868-4872, 1999.
- SCOTT, J. G.; WEN, Z. M. Cytochromes P450 of Insects: the Tip of the Iceberg. *Pest Management Science*, West Sussex, v. 57, p.958-967, 2001.
- SILVA, C. P.; TERRA, W. R.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; SAMUELS, R. I.; ISEJIMA, E. M.; BIFANO, T. D.; ALMEIDA, J. S. Induction of Digestive α -Amylases in Larvae of *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) in response to ingestion of common bean α -Amylase Inhibitor. *Journal of Insect Physiology*, Columbus, v. 47, p.1283-1290, 2001.
- SIMMONDS, M. S. J. Flavonoid-Insect Interactions: Recent Advances in our Knowledge. *Phytochemistry*, Oxford, v. 64, p.21-30, 2003.

- TELANG, M.; SRINIVASAN, A. PATANKAR, A.; HARSULKAR, A.; JOSHI, V.; DAMLE, A. DESHPANDE, V.; SAINANI, M.; RANJEKAR, P.; GORAKH, G. BIRAH, A.; RANI, S.; KACHOLE, M.; GIRI, A.; GUPTA, V. Bitter Gourd Proteinase Inhibitors: Potential Growth Inhibitors of *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. **Phytochemistry**, Osford, v. 63, p. 643-642, 2003.
- TERRA, W. T.; FERREIRA, C. Insect Digestive Enzymes: Properties, Compartmentatization and Function. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Vancouver, v. 109B, p.1-62, 1994.
- TIFFIN, P.; GAUT, B. S. Molecular Evolution of the Wound-Induced Serine Protease Inhibitor Will in *Zea* and Related Genera. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 18, p. 2092-2101, 2001.
- WATANABE, K.; SHONO, Y.; KAKIMIZU, A.; OKADA, A.; MATSUO, N.; SATOH, A.; NISHIMURA, H. New Mosquito Repellent from *Eucalyptus camaldulensis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 41, p. 2164-2166, 1993.
- WOLFSON, J. L.; MURDOCK, L. L. Potential Use of Protease Inhibitors for Host-Plant Resistance: a Test Case. **Environmental Entomology**, College Park, v. 24, p. 52-57, 1995.
- XAVIER-FILHO, J.; SALES, M. P.; FERNANDES, K. V. S.; GOMES, V. M. The Resistance of Cowpea (*Vigna unguiculata*) Seeds to the Cowpea Weevil (*Callosobruchus maculatus*) is Due to the Association of Variant Vicilins (7S storage proteins) to Chitinous Structures in the Insects Midgut. **Biology and Technology**, New York, v. 39, p. 693-699, 1996.
- ZANGERL, A. R. Furanocoumarin Induction in Wild Parsnip: Evidence for an Induced Defense Against Herbivores. **Ecology**, Washington, v. 71, p. 1926-1932, 1990.