

## CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE PROTEINASES NO ESTÁGIO LARVAL DA LAGARTA-DO-CARTUCHO DO MILHO (*Spodoptera frugiperda*) VISANDO ESTRATÉGIAS PARA O CONTROLE DO INSETO

Pedro P. T. Oliveira\*, Eduardo C. M. Picelli, Henrique Marques-Souza. (\* Bolsista)

### Resumo

Uma das estratégias para controle de insetos-praga é atuar em proteínas essenciais à sua digestão, como tripsinas e quimiotripsinas, peptidases predominantes no intestino médio de larvas de *S. frugiperda* (Noctuidae). A análise dos níveis de expressão das principais proteases destes organismos pode ajudar na identificação de genes importantes à sua digestão e servir como base para estudos de controle dessa praga através de técnicas de silenciamento gênico. Esse trabalho tem como objetivo entender os níveis de expressão gênica dessas serino-proteases ao longo dos estágios de desenvolvimento larval de *S. frugiperda*, apontando aqueles com maiores níveis de expressão como potenciais alvos para estudos de silenciamento gênico. Os resultados esperados neste projeto poderão auxiliar na identificação de genes de proteínases essenciais desse inseto-praga e servir como base para futuros estudos que busquem o controle desse inseto utilizando o silenciamento dessas enzimas.

### Palavras-chave:

Serino-proteínases, análise de expressão gênica, silenciamento gênico.

### Introdução

A "lagarta-do-cartucho", *S. frugiperda* (J. E. Smith, 1797) é a principal praga na cultura do milho (*Z mays*), gerando danos diretos às lavouras com reduções significativas na produtividade da cultura. Uma das principais abordagens para o controle desse insetos-praga é objetivar proteínas essenciais para a digestão, como tripsinas e quimiotripsinas, peptidases mais comumente encontradas no intestino médio das larvas de *Spodoptera*<sup>1</sup>. Desta forma, estratégias que visem a regulação de vias digestivas podem ser importantes para o controle de praga de grande impacto na agricultura brasileira.

### Resultados e Discussão

Identificou-se em bancos genômicos públicos 30 sequências de serino-proteínases, sendo estas agrupadas em 13 grupos filogenéticos distintos (Tabela 1; Figura 1).

Tabela 1 – Grupos de sequências de serino-proteínases.

	Tipo	Referência		Quimiotripsina	Se1E13590-5-1
1	Quimiotripsina	AY251276.1	8	Quimiotripsina	KM083794.1
2	Quimiotripsina	KM083788.1	9	Quimiotripsina	KM083792.1
3	Quimiotripsina	KM083789.1	11	Tripsina	KM083785.1
4	Quimiotripsina	KM083791.1	12	Tripsina	KM083786.1
5	Quimiotripsina	KM083790.1	13	Tripsina	KM083786.1
6	Quimiotripsina	KM083789.1			
7	Quimiotripsina	KM083793.1			

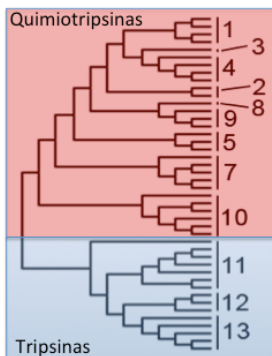


Figura 1 - Árvore filogenética das sequências de serino-proteínases. Foram diferenciados 13 grupos de serino-proteínases, sendo 29 sequências de quimiotripsinas e 15 sequências de tripsinas. Grupos de 1 a 10: quimiotripsinas; Grupos de 11 a 13: tripsinas.

Avaliou-se a expressão dos genes *gapdh* e  $\beta$ -actina em *S. frugiperda* por PCR semi-quantitativo. Até o momento, observou-se maior uniformidade de expressão do gene *gapdh* entre as diferentes amostras testadas (Figura 2). Entretanto, esse resultado será confirmado por qPCR. Para isso, avaliou-se a eficiência dos oligos para *gapdh* em qPCR (Figura 3), que foi de 108%, satisfatório para esse propósito.

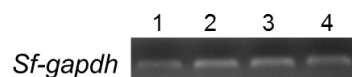


Figura 2 – Normalização do gene *gapdh* em amostras de *S. frugiperda* por PCR semi-quantitativo.

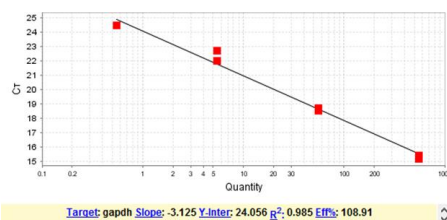


Figura 3 – Curva padrão para avaliação da eficiência do oligos do *gapdh* em qPCR.

Em seguida, o *gapdh* será avaliado quanto a uniformidade de expressão por qPCR (normalizador) para posterior análise comparativa da expressão gênica das serino-proteínases nos diferentes estágios larvais de *S. frugiperda*.

### Conclusões

Identificou-se 10 genes de quimiotripsinas e 3 de tripsinas em *S. frugiperda*. A normalização com *gapdh* e análise de expressão gênica das serino-proteínases estão em progresso e serão mostradas na apresentação final desse projeto.

<sup>1</sup> Terra WR. Biochemistry and Molecular Biology of Digestion [Internet]. Insect Molecular Biology and Biochemistry. Elsevier B.V.; 2012. 365-418 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384747-8.10011-X>