



## AVALIAÇÃO DA ALTERAÇÃO DE EXPRESSÃO DAS ESTERASES DURANTE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) APÓS CONTAMINAÇÃO COM O ORGANOFOSFORADO METAFÓS

Cláudia Regina das Neves Saez<sup>1</sup>; Maria Claudia C. R. Takasusuki<sup>2</sup>

**RESUMO:** Devido a grande importância da cana-de-açúcar, as áreas de plantio vêm se expandindo cada vez mais e com isso ocorre um aumento proporcional da população da praga que afeta esta cultura *Diatraea saccharalis*, conhecida como broca-da-cana, que, além de diminuir a produtividade agrícola, ainda causa problemas de fermentação nas usinas de álcool e açúcar. A infestação por *D. saccharalis* é controlada utilizando o controle biológico e o controle químico (através de inseticidas). Após a aplicação de inseticidas, parte das lagartas de *D. saccharalis* podem ser afetadas por quantidades subletais dos mesmos que não causarão a sua morte, contudo, podem ocorrer alterações na expressão de algumas enzimas, dentre elas as esterases. Tal alteração poderá ser mantida nas gerações futuras da broca-da-cana promovendo a resistência desses insetos ao organofosforado. O objetivo deste trabalho é desenvolver estudos com concentrações subletais do organofosforado metafós e analisar a expressão das esterases da *D. saccharalis* para identificar possíveis alterações na sua atividade, para posteriormente entender o seu papel na detoxificação da lagarta e entender sua importância para a resistência nesses insetos. O desenvolvimento do estudo será realizado com larvas de *D. saccharalis* mantidas em laboratório de criação do Departamento de Biologia Celular e Genética – UEM. Serão montados bioensaios com larvas do 2º ao 5º instar com diferentes concentrações subletais de metafós. Cada bioensaio será composto de 3 repetições e um controle. Os testes serão realizados separadamente para cada instar em diferentes concentrações do inseticida metafós. Os experimentos serão montados em placas de Petri contendo papel de filtro embebido com 1,5 mL de solução com inseticida e alimento preparado no laboratório. Em cada placa de Petri serão colocadas 25 larvas e mantidas por um período de 24 horas. Após esse tempo, as lagartas sobreviventes serão contadas, sacrificadas e submetidas à eletroforese de esterases. Para as eletroforeses, as amostras serão homogêneas individualmente em solução a 0,1% de 2-mercaptoetanol contendo glicerol a 10% mais 15µL de tetracloreto de carbono centrifugadas a 11751xg por 10 minutos com temperatura a 4°C. Do sobrenadante resultante 20 µL serão aplicados nos géis PAGE para análises das esterases. As eletroforeses PAGE serão realizadas utilizando géis de visualização a 12% e de empilhamento a 5%. O tampão de corrida utilizado será o Tris-glicina 0,1M pH 8,3. As eletroforeses serão realizadas a 200V por 6h a 5°C. Para a realização da coloração para esterase, primeiramente, o gel será incubado por 30 minutos em 50 mL da solução de tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,5. Em seguida o tampão será descartado e acrescentada a solução de coloração contendo os substratos alfa e beta naftil-acetato, onde o gel será incubado até o aparecimento das bandas. Posteriormente os géis permanecerão em solução conservante (ácido acético, glicerol e água). Após a visualização das bandas será realizada a comparação entre o controle e contaminados e posterior classificação das esterases. Os dados de mortalidade serão submetidos ao programa SPSS 13.0, para análise de correlação entre concentração do inseticida e mortalidade e estimativa do coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

**PALAVRAS-CHAVE:** Cana-de-açúcar; *Diatraea saccharalis*; Isoenzimas; Resistência.

<sup>1</sup> Discente do Curso de Ciências Biológicas habilitação Bacharelado. Departamento de Biologia Celular e Genética - DBC da Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá – Paraná. [claurasaez@hotmail.com](mailto:claurasaez@hotmail.com)

<sup>2</sup> Docente do Curso de Ciências Biológicas. Departamento de Biologia Celular e Genética - DBC da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. [claudia.ruvolo@gmail.com](mailto:claudia.ruvolo@gmail.com)