

## Avaliação das enzimas presentes nos espermatóforos de *Spodoptera frugiperda* resistentes e suscetíveis ao milho Bt de gene duplo

**Maria Clara Neves Gomes Rodrigues<sup>1</sup>**; Ana Cristina Rodrigues da Cruz<sup>1</sup>; Geisiane Aparecida Mariano<sup>1</sup>; Daniel Guimarães Silva Paulo<sup>1</sup>; Ian Lucas Batista Santos<sup>1</sup>; Milena Godoi Lima<sup>1</sup>; Halina Schultz<sup>1</sup>; Rafael Júnior de Andrade<sup>1</sup>; Humberto Josué de Oliveira Ramos<sup>1</sup>; Maria Goreti de Almeida Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa - Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular - maria.rodrigues4@ufv.br  
Ciências Biológicas e da Saúde  
ODS2

### Introdução

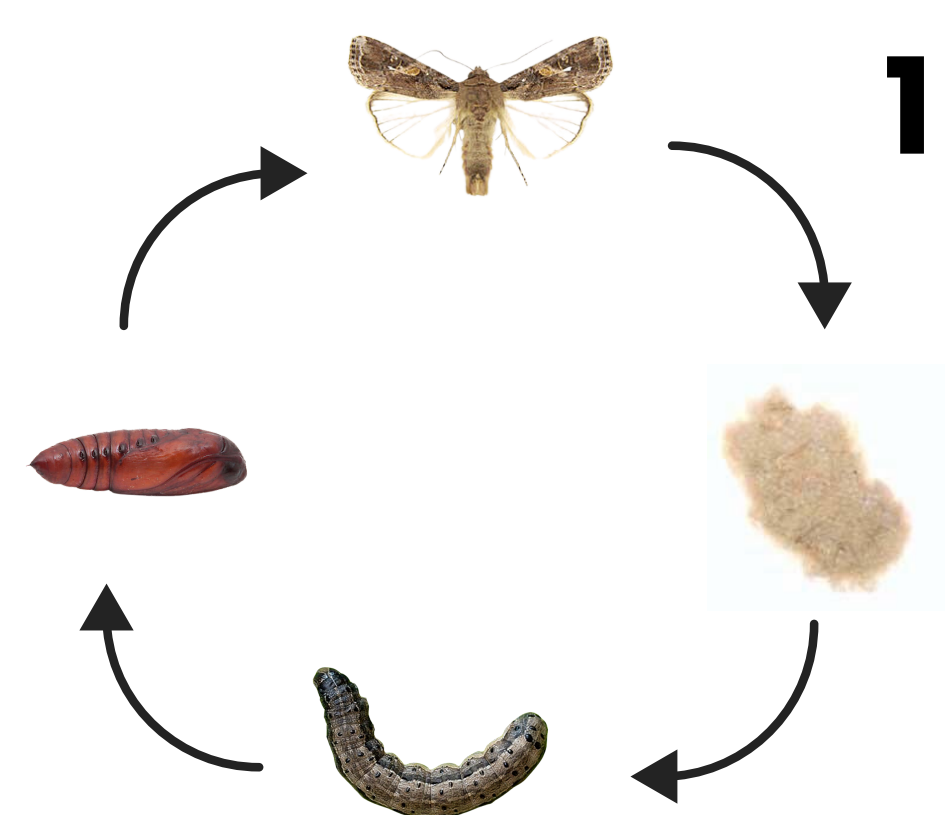
A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma das principais pragas das lavouras de milho, causando danos significativos à produtividade agrícola. Para o controle dessa praga, o milho Bt, que expressa proteínas inseticidas derivadas de *Bacillus thuringiensis*, tem sido amplamente utilizado desde sua comercialização em 2007. No entanto, o uso contínuo e indiscriminado dessa tecnologia levou ao surgimento de populações resistentes, comprometendo sua eficácia e desafiando a sustentabilidade dessa estratégia.

Este estudo investigou o impacto da resistência ao milho Bt sobre a atividade de hidrolases (lipases, amilases e proteases) nos espermatóforos da lagarta-do-cartucho, que são estruturas essenciais para a reprodução e a nutrição dos ovos. A resistência pode estar associada a custos adaptativos que afetam a capacidade reprodutiva dos insetos.

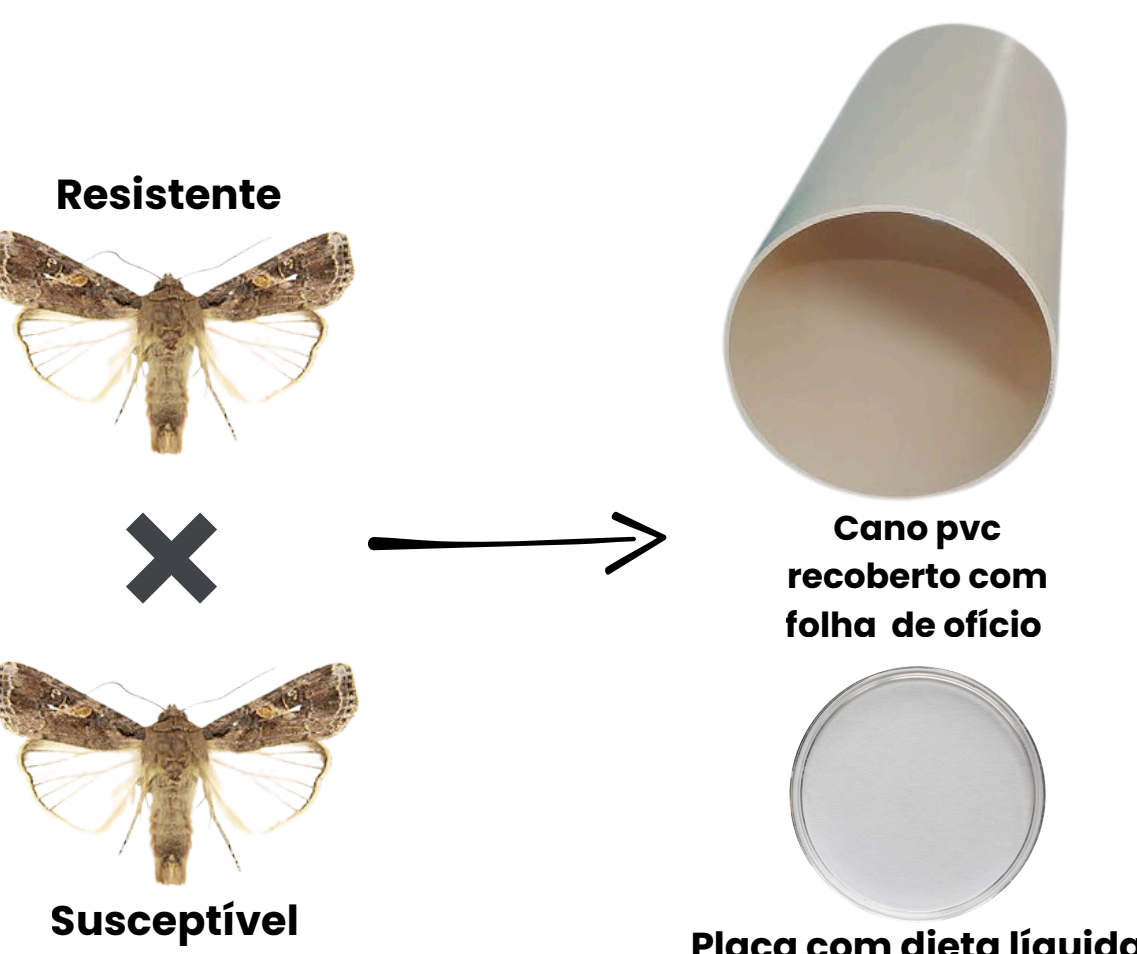
### Metodologia

#### Criação de *Spodoptera frugiperda*

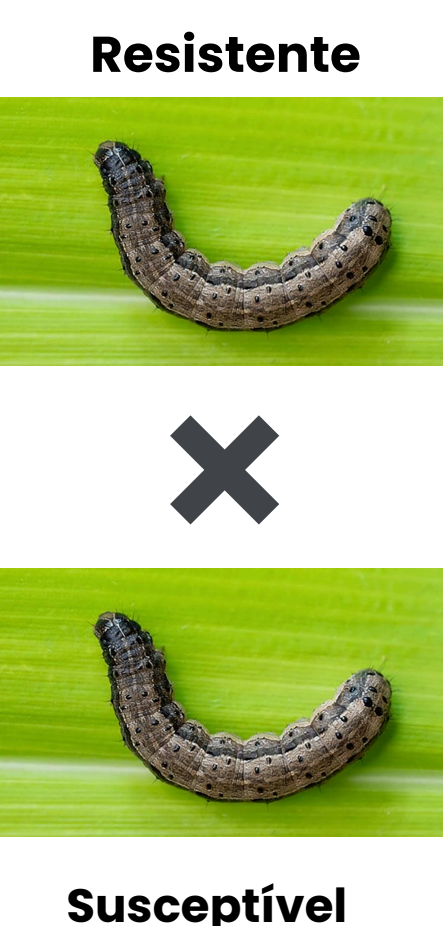
Os insetos de *Spodoptera frugiperda* foram criados em condições laboratoriais com temperatura, luz e umidade controladas.



**Figura 1.** Ilustração do ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda* em seus respectivos estágios: ovo, lagarta, pupa e adulto.



2



3

**Figuras 2 e 3.** Manutenção da criação em cada estágio de desenvolvimento.

#### Preparo do Extrato Bruto de Espermatóforos Extraídos de Fêmeas de *Spodoptera frugiperda*

Após o acasalamento, as fêmeas foram dissecadas para a extração dos espermatóforos. Os espermatóforos obtidos foram utilizados para o preparo dos extratos enzimáticos.

O conteúdo total de proteínas do sobrenadante (extrato enzimático) foi quantificado utilizando o método de Bradford (Bradford, M. M., 1976).

4

**Figura 4.** Imagem fotográfica dos espermatóforos de *Spodoptera frugiperda*.

#### Ensaio Enzimático para Atividade Proteolítica

##### Atividade de Protease Total

O ensaio foi realizado utilizando tampão Tris-HCl, azocaseína, fonte enzimática, TCA e NaOH.

##### Atividade de Protease do Tipo Tripsina Like

Um ensaio de atividade enzimática para proteases do tipo tripsina foi realizado utilizando o substrato DL-BAPNA.

##### Ensaio Enzimático para Atividade Amilolítica

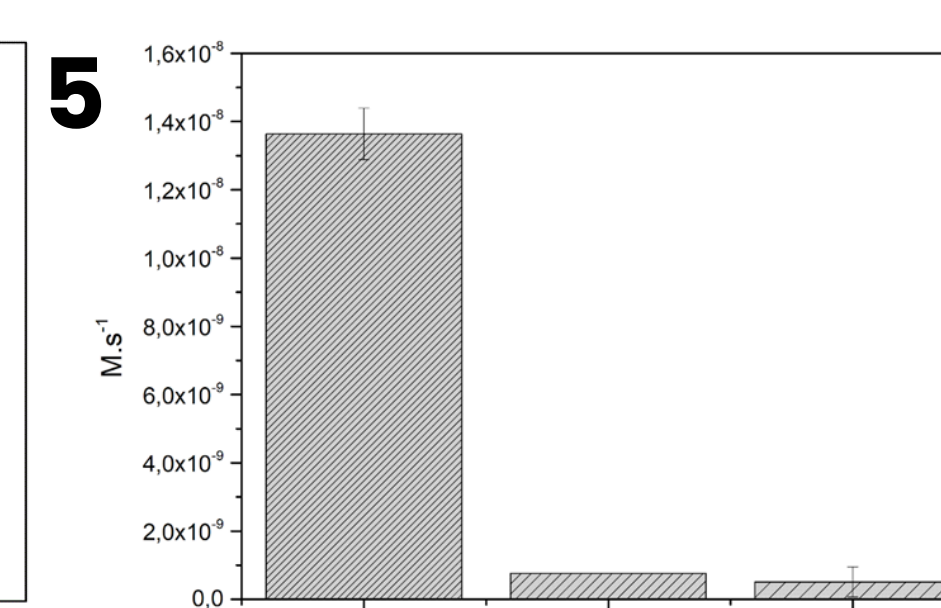
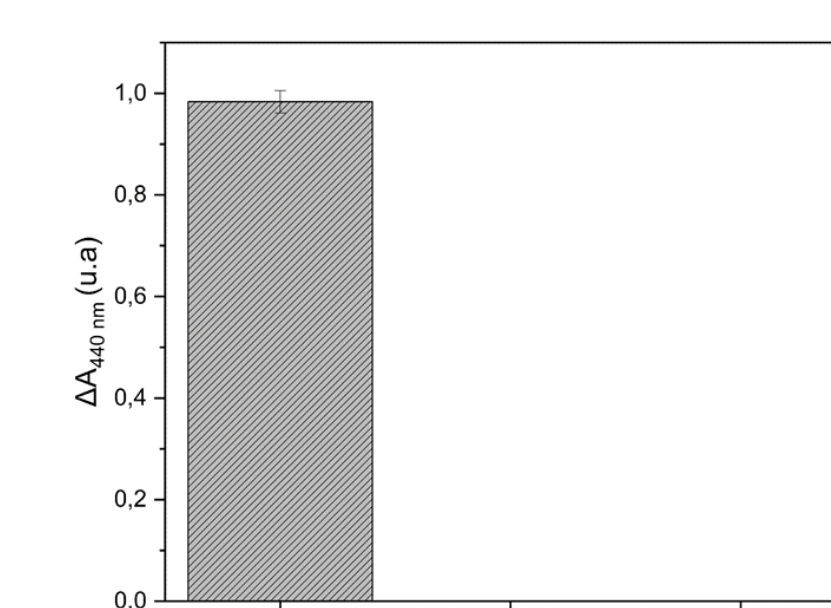
A atividade de amilase foi determinada utilizando kits de ensaio da Bioclin, referência K046-1.

##### Ensaio Enzimático para Atividade Lipolítica

A atividade de lipase também foi determinada utilizando kits de ensaio da Bioclin, referência K025-1.

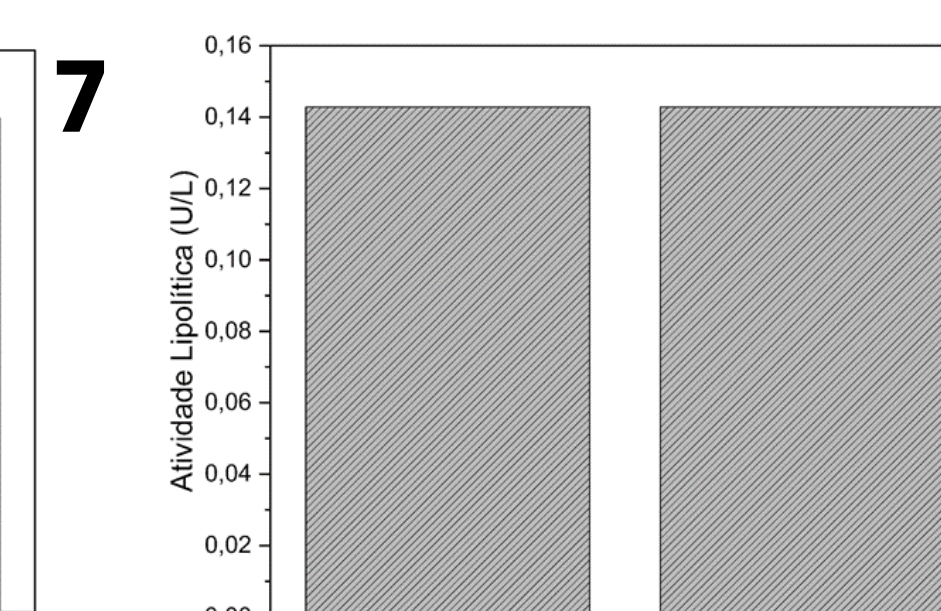
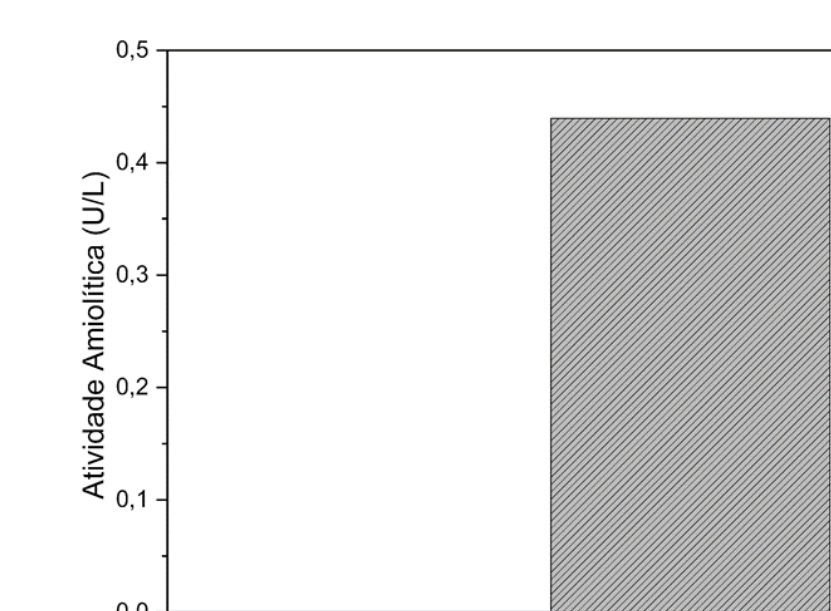
### Resultados

Os extratos enzimáticos obtidos apresentaram alta concentração proteica, sendo que o extrato da população resistente (RR) continha 6,19 mg/mL e o da população suscetível (SS) continha 6,25 mg/mL.



**Figura 5.** Gráfico comparando a atividade proteolítica total em espermatóforos de machos resistentes e suscetíveis.

**Figura 6.** Gráfico comparando a atividade do tipo tripsina em espermatóforos de machos resistentes e suscetíveis.



**Figura 7.** Gráfico comparando a atividade amilolítica em espermatóforos de machos resistentes e suscetíveis.

**Figura 8.** Gráfico comparando a atividade lipolítica em espermatóforos de machos resistentes e suscetíveis.

### Conclusões

A resistência de *Spodoptera frugiperda* ao milho Bt não alterou a concentração total de proteínas nos espermatóforos de machos RR e SS. Atividade de protease total: semelhante em ambos os grupos, com valores de absorbância negativos (provavelmente devido à degradação, e diluição da amostra).

Atividade da tripsina: ligeiramente reduzida em RR, mas sem significância estatística.

Amilase: a atividade foi 3 vezes maior em machos RR, sugerindo possíveis alterações no metabolismo de carboidratos.

Lipase: não houve diferenças entre os grupos.

Conclusão: a resistência ao Bt não afeta a produção total de proteínas, mas pode influenciar funções enzimáticas específicas.

### Bibliografia



### Apoio Financeiro