

ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DE *Spodoptera frugiperda* VISANDO A IDENTIFICAÇÃO DE GENES *UPTAKE*

SELENE HENSE LILGE¹; DANIELA PERES MARTINEZ²; MOISÉS JOÃO ZOTTI³.

¹Universidade Federal de Pelotas – selenelilge04@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – daanmartinez2@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – moises.zotti@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A *Spodoptera frugiperda* pertencente à ordem *Lepidoptera* da família *Noctuidae*, popularmente conhecida como lagarta-do-cartucho, é uma importante praga em diversas culturas, como milho, soja, algodão e arroz (Nagoshi *et al.*, 2019). Por possuírem forte capacidade reprodutiva, alta densidade populacional e padrões alimentares ávidos podem causar grandes perdas econômicas (Day *et al.*, 2017). Com isso, se faz necessário o uso de inseticidas químicos para o seu controle, o que gera efeitos indesejáveis aos seres humanos e ao meio ambiente, além de gerar linhagens de lagartas resistentes (Lira *et al.*, 2020). Dessa forma surge a necessidade de novas tecnologias para o controle biológico, como o RNA de interferência (RNAi).

O RNAi, é um mecanismo de silenciamento gênico pós transcricional (PTGS, *post-transcriptional gene silencing*) preservado em eucariotos, que vem apresentando potencial no controle de insetos predadores. O mecanismo do RNAi é desencadeado na presença de uma molécula de RNA dupla fita (dsRNA, *double strand RNA*), a qual é reconhecida por uma endonuclease chamada *Dicer*, capaz de clivar as moléculas de dsRNA em pequenos RNAs interferentes (siRNA, *small interfering RNA*), esses são agrupados a um complexo enzimático RISC (*RNA-induced silencing complex*), onde a proteína Argonauta cliva a fita *sense*, enquanto a fita *antisense* é guiada até o RNA mensageiro (mRNA) do gene alvo, resultando na degradação do mRNA e consequente silenciamento gênico (Joga *et al.*, 2016).

Entretanto, o sucesso do silenciamento gênico via RNAi pode ser prejudicado em casos de mau funcionamento dos componentes essenciais da maquinaria de RNAi, dificuldades na captação e distribuição do dsRNA no sistema e a clivagem por dsRNases (Yao *et al.*, 2022). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar o transcriptoma de *Spodoptera frugiperda* buscando identificar a presença de genes *uptake*, responsáveis pela entrada do dsRNA na célula, bem como a captação mediada por canais transmembranas e endocitose (Huvenne; Smagghe, 2010). A identificação da presença desses genes permite compreender a capacidade

molecular da espécie em responder a estímulos de RNAi, fornecendo contribuições para o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas de controle da praga.

2. METODOLOGIA

O transcriptoma de *S. frugiperda* utilizado está depositado no BIPAA (Bioinformatics Platform for Agroecosystem Arthropods) na última versão (Assembly 7.0). Para buscar os genes associados ao RNAi, foram selecionadas sequências referências de *uptake* genes, já descritos em outras espécies de insetos (Cagliari *et al.*, 2020; Dias *et al.*, 2019). Essas sequências foram obtidas no NCBI e organizadas em arquivo FASTA, para posterior busca por similaridade.

Os alinhamentos foram realizados utilizando a ferramenta BLAST (tBLASTn) local. Embora tenham retornado múltiplos hits para cada sequência, foi considerado apenas o primeiro hit (mais significativo). Após, foram selecionadas as sequências de *S. frugiperda* com as quais ocorreram alinhamento, que foram utilizadas para um novo BLAST (BLASTx) na plataforma do NCBI.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A metodologia utilizada permitiu prever a presença de genes associados à maquinaria de RNAi no transcriptoma de *Spodoptera frugiperda*. Esses resultados foram organizados em uma tabela para os *uptake* genes (Tabela 1).

Tabela 1 – Genes *uptake* identificados no transcriptoma de *Spodoptera frugiperda*.

Nome	Melhor Hit	Resultado BLASTx	Código	Espécie	Identidade	E-value
Scavenger receptor	SFRUCORN0000032767	protein peste-like isoform X2	XP_035433639.2	<i>Spodoptera frugiperda</i>	90,44%	0.0
Eater	SFRUCORN0000013439	hypothetical protein SFRURICE_011660	KAF9802649.1	<i>Spodoptera frugiperda</i>	99,14%	0.0
Clathrin Heavy Chain	SFRUCORN0000001565	clathrin heavy chain	NP_001136443.1	<i>Bombyx mori</i>	96,87%	0.0
FBX011	SFRUCORN0000005523	F-box only protein 11-like	XP_026745377.1	<i>Trichoplusia ni</i>	90,69%	0.0
HPS4=CG4966	SFRUCORN0000005933	hypothetical protein PYW07_004292	KAJ8731128.1	<i>Mythimna separata</i>	81,90%	0.0
Adaptor Protein 50 (Ap50)	SFRUCORN0000002332	unnamed protein product	CAH4028542.1	<i>Pieris brassicae</i>	91,03%	0.0

TRF3	SFRUCORN000 0030799	transferrin	XP_022827957.1	<i>Spodoptera litura</i>	96,05%	0.0
Sortilin Like Receptor	SFRUCORN000 0025566	basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein isoform X5	XP_050560227.1	<i>Spodoptera frugiperda</i>	92,64%	0.0
Innexin2 (Gap Junction)	SFRUCORN000 0015047	innexin 2	NP_001037203.1	<i>Bombyx mori</i>	94,99%	0.0
Low Density Lipoprotein	SFRUCORN000 0027401	low-density lipoprotein receptor-related protein 6	XP_050561395.1	<i>Spodoptera frugiperda</i>	81,15%	0.0
TRF2	SFRUCORN000 0027008	melanotransferrin	XP_022827416.1	<i>Spodoptera litura</i>	94,26%	0.0
Epsin 2 (Epn2)	SFRUCORN000 0019186	hypothetical protein HW555_010518	KAF9410392.1	<i>Spodoptera exigua</i>	86,89%	500E-14 5

Dentre os genes associados à internalização do dsRNA, o Scavenger receptor e Eater estão envolvidos no processo de endocitose mediado por receptores, sendo responsáveis por cerca de 90% da captação de dsRNA em células de insetos (Aung *et al.*, 2011; Ulvila *et al.*, 2006).

A identificação desses genes no transcriptoma de *Spodoptera frugiperda*, indica que a espécie apresenta componentes moleculares necessários para a entrada de dsRNA nas células, essencial para que o silenciamento gênico mediado por RNAi ocorra, contribuindo para a predição de alvos moleculares, auxiliando na seleção de genes candidatos ao silenciamento mediado por RNAi. Além disso, esse trabalho permite direcionar futuros experimentos de validação, como a microinjeção de moléculas de dsRNA.

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi possível identificar genes associados ao processo de captação das moléculas de dsRNA em *Spodoptera frugiperda*, indicando que a espécie possui elementos necessários para responder ao silenciamento gênico, demonstrando o potencial de ser controlada por meio de estratégias que se baseiam em RNAi. Essa estratégia ainda possui vantagens por possibilitar o desenvolvimento de biopesticidas espécie-específicos, minimizando impactos no meio ambiente. Estudos futuros ainda são necessários para avaliar a capacidade da espécie em processar perfeitamente as moléculas de dsRNA, por meio da identificação de genes de *core*-RNAi.

5. REFERÊNCIAS

AUNG, Kyaw Min *et al.* Scavenger Receptor Mediates Systemic RNA Interference in Ticks. **PLOS ONE**, v. 6, n. 12, p. e28407, 1 dez. 2011.

CAGLIARI, Deise *et al.* First transcriptome of the Neotropical pest *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) with dissection of its siRNA machinery. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 4856, 17 mar. 2020.

DAY, Roger *et al.* Fall Armyworm: Impacts and Implications for Africa. **Outlooks on Pest Management**, v. 28, n. 5, p. 196–201, 1 out. 2017.

DIAS, Naymã *et al.* The South American Fruit Fly: An Important Pest Insect With RNAi-Sensitive Larval Stages. **Frontiers in Physiology**, v. 10, 27 jun. 2019.

HUVENNE, Hanneke; SMAGGHE, Guy. Mechanisms of dsRNA uptake in insects and potential of RNAi for pest control: A review. **Journal of Insect Physiology**, v. 56, n. 3, p. 227–235, 1 mar. 2010.

JOGA, Mallikarjuna R. *et al.* RNAi Efficiency, Systemic Properties, and Novel Delivery Methods for Pest Insect Control: What We Know So Far. **Frontiers in Physiology**, v. 7, 17 nov. 2016.

LIRA, Ewerton C. *et al.* Resistance of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to spinetoram: inheritance and cross-resistance to spinosad. **Pest Management Science**, v. 76, n. 8, p. 2674–2680, 2020.

NAGOSHI, Rodney N. *et al.* Genetic characterization of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Ecuador and comparisons with regional populations identify likely migratory relationships. **PLOS ONE**, v. 14, n. 9, p. e0222332, 19 set. 2019.

ULVILA, Johanna *et al.* Double-stranded RNA Is Internalized by Scavenger Receptor-mediated Endocytosis in *Drosophila* S2 Cells*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 20, p. 14370–14375, 19 maio 2006.

YAO, Yang *et al.* Multiple dsRNases Involved in Exogenous dsRNA Degradation of Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Frontiers in Physiology**, v. 13, 5 maio 2022.