



PROSPECÇÃO DE MUTAÇÕES NO GENE DA PROTEÍNA 16 KDA REGULADA POR ECDISTEROIDES RELACIONADAS A MECANISMOS DE RESISTÊNCIA INATA AOS LARVICIDAS EM MOSCA-DOS-ESTÁBULOS

PROSPECTING MUTATIONS IN THE ECDYSTEROID-REGULATED 16 KDA PROTEIN GENE RELATED TO MECHANISMS OF INNATE RESISTANCE TO LARVIDES IN STABLE FLY

Fernanda Nunes Bennett^{1*}; Paulo H. Durante Cançado²; Isaura Megumi Naka²; Nilton Guimarães²; Antonio Thadeu Barros²; Andréa Alves do Egito²

* Autor correspondente: fernanda.bennett@colaborador.embrapa.br
1 Bolsista PIBIC/Embrapa Gado de Corte; 2 Embrapa Gado de Corte

RESUMO: A mosca-dos-estábulos é um inseto hematófago que se alimenta de animais de sangue quente provocando sérios prejuízos na pecuária e na agricultura, em especial no setor sucroenergético. Por também atingir seres humanos, o manejo dessa praga deve ser pensado dentro dos princípios do sistema de Saúde Única. Vários relatos indicam que a mesma já possui resistência a diferentes classes de inseticidas, mas o seu controle, até o momento, limita-se ao aumento das práticas de manejo sanitário e aplicação de inseticidas para suprimir os estágios larvais. A resistência aos inseticidas é um fenômeno genético onde mutações podem afetar as proteínas alvos dos inseticidas e/ou o seu metabolismo. Neste estudo avaliou-se o gene da proteína 16 kda regulada por ecdisteroides, possível alvo de mutações para à resistência aos larvicidas devido ao seu envolvimento na maturação larval e na metamorfose controlada pelo sistema endócrino. A partir de um bioensaio utilizando o ingrediente ativo ciromazina, obteve-se o DNA de seis pupas, sendo três deformadas e três normais mediante a sua extração com o uso do kit Dneasy Blood & Tissue (Qiagen). A quantidade e a qualidade do DNA foram analisadas em um espectrofotômetro e a integridade verificada em gel de agarose a 1% corado com Syber Gold após visualização sob luz UV. A amplificação dos fragmentos alvo foi realizada utilizando-se distintos iniciadores desenhados a partir da sequência referência do GenBank (NW_013173580). Após a padronização das PCRs, onde foram consideradas ótimas as temperaturas de anelamento de 58°C e a concentração final de 1,5mM de MgCl₂, realizou-se a amplificação do sitio alvo em um volume final de 20ul contendo em média 50ng de DNA. O sequenciamento foi feito pelo método de Sanger com o kit BigDye®Terminator v3.1 (Applied Biosystems) purificado em sistema EXO-sAP em um sequenciador automático ABI3130. Os eletroferogramas foram editados e alinhados à sequência referência por meio do programa SeqScape®, sendo as sequências consenso exportadas no formato FASTA e alinhadas à sequências existentes no GenBank utilizando-se o programa BLASTN. Foi possível sequenciar uma região contendo 361pb onde foram observadas cinco mutações. Destas, quatro eram polimorfismos de base única (SNPs) e uma deleção. A partir destes resultados verifica-se que existe variabilidade genética na região, existindo mutações passíveis de estarem relacionadas à resistência/susceptibilidade da mosca-dos-estábulos. Estudos futuros, envolvendo um número maior de indivíduos, serão realizados a fim de averiguar esta hipótese.

Palavras-chave: mosca-dos-estábulos, polimorfismos de base única, indels, variabilidade genética.