



Papel dos genes *Dopa decarboxylase* e *grainyhead* na embriogênese de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)

Lucas Rodrigues Xavier, Matheus Lessa Cardozo, Gustavo Lazzaro Rezende

O besouro *Tribolium castaneum* é um modelo de inseto utilizado para investigações que empregam ferramentas genéticas. Nosso grupo utiliza-o para estudar a aquisição de resistência dos ovos à dessecação, em que participa a cutícula serosa (CS). A CS é a matriz extracelular secretada pela serosa, uma membrana extraembrionária. As células da serosa, poliplóides, se diferenciam das do embrião logo nas primeiras horas após a oviposição, envolvem todo o embrião e secretam a CS que é depositada de forma adjacente à casca do ovo, entre 13 e 17 horas após a oviposição (hao), garantindo a viabilidade de ovos expostos a ambientes secos. Dopa decarboxylase (*Ddc*) é uma enzima que participa das vias de esclerotização e melanização, sendo *grainyhead* (*grh*) um fator de transcrição que promove a sua expressão. No mosquito *Anopheles gambiae* tanto *Ddc* quanto *grh* são expressos na serosa, provavelmente relacionados com esclerotização da CS. Este estudo pretende verificar qual a importância de *Ddc* e *grh* de *T. castaneum* (*Tc-Ddc* e *Tc-grh*) em sua embriogênese. Dados de bioinformática obtidos nos bancos *BeetleBase*, *NCBI*, *BRENDA* e *Ensembl* foram empregados para o desenho de *primers* para realização de RT-PCR em diferentes pontos da embriogênese. Ambos os genes são expressos entre 2 e 48 hao, que compreende a primeira metade da embriogênese. Há um pico de expressão entre 10 e 28 hao, sugerindo a atuação destes genes na formação da CS. Amplicons de *Tc-Ddc* e *Tc-grh* foram clonados e sequenciados. Esses clones foram empregados para síntese de sondas de hibridização *in situ* (ISH) realizadas em ovos com idades entre 9 e 18 hao. A expressão de *Tc-Ddc* ocorre somente nas células do embrião, enquanto *Tc-grh* é expresso no início da embriogênese no blastoderma e a expressão migra para o embrião durante a diferenciação das células. Apesar de *Tc-Ddc* e *Tc-grh* serem expressos na primeira metade da embriogênese, os resultados de ISH mostram que a expressão de ambos, no período de formação da CS, se dá somente no embrião, contrariando a hipótese inicial de que seriam expressos na serosa. Experimentos de silenciamento de *Tc-Ddc* através de RNAi estão sendo realizados para elucidar qual é a importância deste gene na embriogênese. O silenciamento de *Tc-grh* será realizado posteriormente.

Palavras-chave: *Dopa decarboxylase*, *grainyhead*, Resistência à dessecação.

Instituição de fomento: FAPERJ, UENF, CNPq.