



Ciências Exatas e da Terra

PAPEL DO GENE GRAINYHEAD NA FORMAÇÃO E FUNÇÃO DA SEROSA DURANTE A EMBRIOGÊNESE DO BESOURO *TRIBOLIUM CASTANEUM*

Thamiris Menezes de Souza, Gustavo Lazzaro Rezende

Insetos possuem duas membranas extra-embrionárias, âmnio e serosa, que são apontadas como importantes para o sucesso evolutivo desse grupo. Durante a gastrulação as células que darão origem ao âmnio e embrião “mergulham” para dentro do vitelo, onde o âmnio cobrirá ventralmente o embrião. Paralelamente as células da serosa envolvem todo o embrião, âmnio e vitelo e secretam uma cutícula chamada cutícula serosa (CS). Ao secretar a CS o embrião é protegido contra a dessecação. No Coleoptera *Tribolium castaneum* a serosa expressa fatores de transcrição e genes efetores relacionados com a formação da CS, onde esta possui resistência ao cloro. Desta forma, o objetivo é definir como a serosa secreta a CS, interferindo na expressão do gene *grainyhead* (*grh*), que codifica um fator de transcrição que pode estar ligado com a atividade secretora das células da serosa. Especificamente, determinar a taxa de oviposição, quando a CS é formada e o desenho de primers para realização de RNAi para *grh*. A metodologia empregada consistiu em manutenção da colônia, avaliar a taxa de oviposição e o melhor cloro a ser utilizado, digestão de ovos com cloro, fixação de embriões e marcação com DAPI e WGA-FITC, e ferramentas e sítios de bioinformática para análise da estrutura gênica e protéica de *grh*. Como resultados, observamos que a oviposição se inicia tão logo os besouros são transferidos para farinha de oviposição; o cloro Leimar apresentou a maior eficiência para digerir os ovos; e a CS contendo quitina já está formada com 16 horas após a oviposição (HAO), quando o embrião encontra-se no estágio de extensão da banda germinal. Quanto à estrutura gênica de *grh*, observamos vários splices alternativos para *Drosophila melanogaster* e *Anopheles gambiae*, enquanto *T. castaneum* possui apenas um splice descrito. No entanto a análise da região gênica de *Tc-grh* sugere a existência de outros splices. Desenhamos primers para confirmar essa hipótese. A proteína GRH possui três sítios importantes: ativação, ligação ao DNA e dimerização, onde a região mais conservada ao longo da evolução é a região C-terminal, que possui os dois últimos sítios. Concluímos que nos embriões de *T. castaneum* a CS está formada com 16 HAO e observamos que há a possibilidade de ocorrer outros splices para *grh*. Em seguida realizaremos PCRs para *grh*, bem como clonagem e criação de sonda de *in situ* e dsRNA para este gene. Assim, pretendemos desvendar o papel de *grh* na formação e função da CS de *T. castaneum*.

Palavras-chave: *Tribolium castaneum*, Cutícula Serosa e *grainyhead*

Instituição de fomento: CNPq/FAPERJ/UENF

Email: menezes.thamiris@yahoo.com.br