



Pistas para o controle biológico de praga que infesta a cana-de-açúcar

Quando o homem começou a cultivar plantas selvagens, diversos organismos foram encarados como concorrentes, por conta de seus efeitos negativos à produtividade, como insetos, roedores, pássaros, microrganismos e plantas (ervas daninhas). Hoje, dentre os principais concorrentes estão os insetos, que respondem por cerca de 20% dos prejuízos causados, por exemplo, às culturas do milho e do arroz. Entretanto, esses prejuízos podem ser maiores, variando de 20% a 40%, dependendo da cultura. A estratégia mais usada para o controle de insetos baseia-se na adoção de agroquímicos, sendo o Brasil um dos recordistas mundiais na sua utilização.

Mas um estudo de doutorado do Instituto de Biologia (IB) sugeriu que o inibidor de *Adenantha pavonina* (ApTI), árvore da família das leguminosas, desponta-se como promessa para o controle biológico da broca da cana-de-açúcar - a *Diatraea saccharalis*. Por outro lado, o trabalho também avaliou este inibidor agindo sobre a lagarta-do-cartucho - a *Spodoptera frugiperda*, que ainda prossegue sendo combatida por meio de agroquímicos, por ser um inseto resistente a vários inibidores de peptidases (enzimas intervenientes nos processos digestivos). Desirée Soares da Silva, autora da tese, investigou duas gerações desses dois insetos.

Segundo a bióloga, "falta compreender melhor a ação desse inibidor nos insetos para então propor ferramentas mais eficientes à sua utilização, inclusive na obtenção de culturas transgênicas", salienta Desirée, cuja tese foi orientada pela professora Maria Lígia Rodrigues Macedo e coorientada pelo professor Sérgio Marangoni.

Ela conta que o ApTI começou a ser estudado pelo grupo de pesquisa comandado por sua orientadora, o qual verificou que este inibidor retardava o crescimento dos insetos, reduzia o seu peso e agia sobre as enzimas digestivas tripsina e quimotripsina, responsáveis por 95% da quebra de proteínas da alimentação dos insetos. "Vimos então nesse inibidor um potencial para o controle biológico de pragas."

Ao criar obstáculo à quebra das proteínas, os inibidores atuam diretamente nos aminoácidos presentes nos alimentos que os insetos ingerem e, uma vez afetando a digestão, o seu desenvolvimento fica atrasado. "Os insetos podem morrer de inanição porque a sua digestão estará prejudicada", expõe. Em geral, estão presentes massivamente em regiões suscetíveis da planta: folhas, flores e sementes. A maior parte deles é encontrada em sementes de leguminosas, como a de *Adenantha pavonina*, árvore nativa da Ásia.

Trabalho

Desirée procurou testar o inibidor ApTI em pragas como *Diatraea saccharalis* [começou por ela] e *Spodoptera frugiperda*, este último um inseto reconhecido como altamente resistente a alguns inibidores de peptidases purificados de leguminosas.

A ideia era entender o que acontecia quando um inseto ingeria esse inibidor e tinha seu desenvolvimento comprometido. "Por isso buscamos compreender os seus mecanismos de ação, pois, mais do que ter um controle biológico dessas pragas, é conhecer a sua biologia, como ele se comporta, como fica a sua fisiologia ao ingerir tal inibidor, para daí sugerir meios de combate eficiente a esse inseto", acentua.

A *Diatraea saccharalis*, lembra ela, está disseminada em várias regiões do país, ligada à cana-de-açúcar, embora a maior concentração dessa cultura esteja no Estado de São Paulo. "O valor de estudar esses

dois insetos é que hoje o Brasil é o maior produtor de derivados de produtos da cana-de-açúcar - como o açúcar e o álcool - e vem se destacando mundialmente com os biocombustíveis. Logo, controlar essas pragas nas plantações é relevante para a economia do país", enfatiza.

As fêmeas dos insetos *Diatraea saccharalis* botam ovos na região abaxial (parte de baixo) das folhas da cana-de-açúcar. Quando esses ovos eclodem, as chamadas neonatas entram pelas gemas laterais do colmo da cana, formando galerias, que fazem com que haja a perda de peso da cana. Os túneis, quando transversais, podem ocasionar o tombamento da cana ou até sua perda total.

Essas galerias são uma porta de entrada para microrganismos como os fungos, que provocam, por exemplo, a podridão vermelha, uma das principais doenças da cana-de-açúcar. Ela recebe esse nome porque fica avermelhada e apodrece, degradando os colmos.

Enquanto a *Diatraea saccharalis* é um inseto especialista da cana, a *Spodoptera frugiperda* é uma espécie generalista, atacando vários tipos de cultura economicamente relevantes, como as culturas do milho e do arroz, produtos muito utilizados na alimentação. Na verdade, são a sua base, informa a doutoranda que, em seu estudo teve como foco ver como o inibidor atuava sobre o desenvolvimento desses insetos, sob os aspectos bioquímicos e de proteômica.

Resultados

A investigação da bióloga apontou que a *Diatraea saccharalis* foi sensível e mostrou um efeito positivo a esse inibidor em termos bioquímicos. Em relação à *Spodoptera frugiperda*, aconteceu o contrário. Esse inseto foi resistente ao inibidor. "Então fomos procurar técnicas que respondessem as nossas perguntas: por que um é tão suscetível a esse inibidor, suficiente para ser um possível candidato a combater esse inseto, e o outro não?", pergunta.

Desirée analisou os fluidos intestinais desses dois insetos através da proteômica e da espectrometria de massas. Com isso, foi possível ver quais eram todas as proteínas que estavam sendo mais, ou menos, expressas no intestino desses insetos, quando alimentados com tal inibidor.

Para *Diatraea saccharalis*, o inibidor teve um efeito bioquímico - reduziu atividade de tripsina, quimotripsina, peso e teve baixa deposição de ovos - em duas gerações consecutivas de insetos. A explicação, opina, é que *Diatraea saccharalis* não mostrou sinais de resistência até a segunda geração, sugerindo que o ApTI é um potencial no controle dessas pragas.

Quando analisadas as proteínas diferencialmente expressas no intestino de *Diatraea saccharalis*, "não obtivemos sucesso qualitativo e quantitativo dessas proteínas. Então não conseguimos validar o método de espectrometria de massas para identificar as vias metabólicas onde proteínas diferencialmente expressas participam e entender os mapas metabólicos desse inseto", explica. "Será necessário fazermos adaptações na metodologia adotada para que essas informações sejam respondidas através da espectrometria de massas."

Agora, mesmo a *Spodoptera frugiperda* sendo resistente ao ApTI, foram encontradas diferenças de expressão entre os insetos que foram alimentados sem inibidor e os alimentados com inibidor. Também foram achadas proteínas semelhantes aos dois insetos, como proteínas relacionadas ao crescimento e proteínas digestivas.

Nos insetos alimentados com inibidor, entre as proteínas mais abundantemente identificadas, estiveram aquelas ligadas à resistência contra estresse: proteínas do tipo heat shock (HSPs), ou seja, as proteínas de choque elétrico. "Isso era esperado, uma vez que o inibidor de peptidase ApTI atua negativamente no desenvolvimento do inseto."

Muitos estudos ainda precisam ser conduzidos, salienta a autora. "Já temos material para ser analisado, quantificado, para então ser possível fornecermos informações que possibilitem a implementação de novas estratégias para o uso de inibidores de peptidases no controle biológico de pragas."

Os insetos avaliados na tese de Desirée foram fornecidos pelo professor José Roberto Postali Parra, docente da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (**Esalq**), da Universidade de São Paulo (USP). A parte de proteoma foi desenvolvida em colaboração com o professor Carlos Alberto Labate, do Laboratório de Genética da **Esalq**, e os estudos bioquímicos foram efetuados no Laboratório de Química de Proteínas (Laquip) do professor Sérgio Marangoni (IB da Unicamp).

Publicação

Tese: "Estudo comparativo do efeito do inibidor de Adenantha pavonina (ApTI) sobre o desenvolvimento da broca-da-cana (*Diatraea saccharalis*) e da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*): aspectos biológicos, bioquímicos e de proteoma"

Autora: Desirée Soares da Silva

Orientadora: Maria Lígia Rodrigues Macedo

Coorientador: Sérgio Marangoni

Unidade: Instituto de Biologia (IB)

Financiamento: Capes