



Universidade de Brasília - UnB

Instituto de Ciências Biológicas - IB

Programa de Pós-graduação em Biologia Molecular

Potenciais genes-alvo para o controle do bicho mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) identificados por meio da análise proteômica

BRUNA DE OLIVEIRA NASCIMENTO

Orientador: Prof. Dr. Wagner Fontes

Coorientador (a): Dra. Angela Mehta

Brasília - DF

2026

Universidade de Brasília - UnB
Instituto de Ciências Biológicas - IB
Programa de Pós-graduação em Biologia Molecular

**Potenciais genes-alvo para o controle do bicho mineiro do
cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) identificados por meio da
análise proteômica**

Dissertação apresentada ao Departamento de
Biologia Molecular do Instituto de Ciências
Biológicas da Universidade de Brasília, como
requisito parcial à obtenção do título de Mestre
em Ciências Biológicas (Biologia Molecular).

Bruna de Oliveira Nascimento

Brasília - DF

2026

FICHA CATALOGRÁFICA

Nascimento, Bruna de Oliveira.

Potenciais genes-alvo para o controle do bicho mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) identificados por meio da análise proteômica

Brasília, 2026. Número de páginas p.: 109 il.

Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, Brasília-DF.

I. Proteômica- *Leucoptera coffeella*

I. Universidade de Brasília. PPG/BIOMOL

II. Análise Proteômica comparativa dos estágios larvais do Bicho Mineiro do Cafeeiro (*Leucoptera coffeella*)

Universidade de Brasília - UnB
Instituto de Ciências Biológicas - IB
Programa de Pós-graduação em Biologia Molecular

Dissertação de Mestrado, autoria de Bruna de Oliveira Nascimento, intitulada: **Potenciais genes-alvo para o controle do bicho mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) identificados por meio da análise proteômica**, apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Molecular) pela Universidade de Brasília, em 19 de março de 2026, definida e aprovado pela banca examinadora abaixo assinada:

Prof. Dr. Wagner Fontes
Orientador
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Molecular) - UnB

Dr. Carlos André Ornelas Ricart
Membro 1
Departamento de Biologia Celular- Instituto de Biologia - UnB

Dr. Daniel David Noriega Vasques
Membro 2
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – EMBRAPA

Dra. Mariana Castro
Suplente
Departamento de Ciências Fisiológicas – Instituto de Biologia - UnB

Dedico, a Deus e aos meus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

Em primeiro lugar a Deus, pois sem Ele nada se faz. O caminho percorrido até aqui se fez possível pela graça, amor e bondade da presença do meu Senhor e criador que se manifestou a cada dia. O meu mais sincero, obrigada meu Deus, pois sem ti eu nada seria. A ti toda honra e toda glória, pelos séculos sem fim.

Ao longo dessa jornada eu não poderia deixar de ressaltar a importância de todos aqueles que estiveram ao meu lado. Este trabalho carrega um pedaço de cada pessoa que caminhou comigo.

Aos meus incríveis orientadores, Dr. Wagner Fontes e Dra. Angela Mehta, obrigada por toda a atenção, carinho, conhecimento, compreensão, ajuda e encorajamento que me deram durante todo esse tempo. Vocês são fonte de inspiração para mim. Obrigada por acreditarem no meu potencial e por me ensinarem muito mais que ciência. Parte do que sou hoje devo a vocês. Palavras não seriam suficientes para expressar toda a minha gratidão por confiarem em mim para a realização deste projeto.

Aos queridos Dr. Thales Lima Rocha e Professor Dr. Nicolau Brito, obrigado por reacenderem a chama no coração, o brilho nos olhos e a alegria de entender e compreender a beleza da biologia.

Ao meu querido amigo Dr. Ivonaldo Reis Santos, que a pesquisa me presenteou, obrigada por todos os momentos de risos e alegria, sou eternamente grata por sua amizade. Obrigada por não hesitar em ajudar todas as vezes que precisei. Obrigado por me encorajar e incentivar nas vezes que pensei em desistir. Obrigada por compartilhar comigo até os momentos de ansiedade, que me fizeram compreender que eu não estou sozinha. Sem seu apoio eu não teria chegado até aqui. Ao meu amigo Abner Reurisson, obrigada por sempre explicar com entusiasmo minhas dúvidas e compartilhar a alegria de discutir e entender a ciência, essa caminhada ficou muito mais divertida contigo. Obrigada pelos momentos de café e bolinho que retiraram toda a tensão dos dias, assim como todo o período que estive por aqui. Este trabalho também só foi possível com sua ajuda.

Aos meus amigos de vida, Patrícia Alves, Paula Darliny, Yohanne Camilla, Karolina Santos, Paulo Roberto, Rayka Santos, Karine Barros, Yumi Nayara e Juliana de Oliveira que durante a minha trajetória nunca soltaram a minha mão. Vocês são essenciais na minha vida. Obrigada por sempre me entenderem e aliviarem o peso dos dias.

Aos meus pais Lorivan Paixão do Nascimento (*in memorian*) e Magna de Oliveira Silva Nascimento, obrigada pela vida. Vocês são minha fortaleza. Obrigada por toda dedicação, amor e suporte para que eu chegasse até aqui.

A minha família, que sempre foi meu alicerce. Obrigada por tudo.

Ao meu pequeno Davi Miguel de Oliveira, obrigada por ser a minha razão de viver. Você é minha luz. É tudo por você e para você.

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia obrigada pela disponibilização da estrutura, recursos e os equipamentos necessários para a realização deste trabalho. Obrigada também a toda a equipe do Laboratório de Genômica e Proteômica. Sou grata por fazer parte de um time tão incrível.

A Universidade de Brasília, ao Departamento de Biologia Molecular e ao Laboratório de Bioquímica e Química de Proteínas, obrigada pela oportunidade de ingressar no curso, realizar o meu mestrado com ótimas referências e pela realização de toda pesquisa até aqui.

A CAPES obrigada pelo apoio financeiro, através da concessão da bolsa que garantiu o meu sustento durante esse período.

A todos vocês, de todo meu coração, deixo aqui registrado o meu carinho e gratidão!

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”
Arthur Schopenhauer

RESUMO

NASCIMENTO, Bruna de Oliveira. **Potenciais genes-alvo para o controle do bicho mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) identificados por meio da análise proteômica** 2026. 109 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Biologia Molecular) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

O café, uma das bebidas mais apreciadas do mundo, está entre as principais *commodities* agrícolas que movem a economia, não apenas do Brasil, mas do mundo. Atualmente uma das grandes preocupações está centrada no controle dos agentes de estresses bióticos que atacam esta cultura. *Leucoptera coffeella*, também conhecido como Bicho Mineiro do Cafeeiro (BMC) é considerado uma das principais pragas do setor e é responsável por perdas que causam graves prejuízos para a cadeia produtiva do grão. A principal ação causadora dos danos gerados por esta praga está relacionada às características comportamentais de alimentação da fase larval do inseto. As larvas se alimentam no mesófilo foliar formando minas que reduzem a capacidade fotossintética da planta e levam a graves problemas de desfolha. O controle do bicho mineiro é majoritariamente realizado por inseticidas sintéticos, porém o uso indiscriminado desses meios causa danos preocupantes ao meio ambiente e à saúde humana, além de promover a ocorrência de espécies resistentes e danos a organismos não alvo. Apesar de ser uma praga que representa elevada relevância econômica dentro da cadeia produtiva de café, as características moleculares capazes de serem empregadas em estratégias de manejo mais seguras são pouco exploradas, dificultando a obtenção de inovações tecnológicas que promovam um controle viável, seguro, específico e ecoamigável deste inseto. Neste contexto, este trabalho apresenta uma avaliação pioneira do proteoma dos diferentes estágios larvais de desenvolvimento do BMC, fornecendo informações ômicas de grande valor para a determinação de estratégias de controle desta praga. Nas análises geradas neste estudo foram identificadas proteínas através de duas abordagens. Na primeira análise, foi utilizado um banco de dados de *Plutella xylostella* (Proteômica 1) enquanto na segunda análise, foi feito uso do banco de dados do próprio organismo predito através de dados de genoma e transcriptoma (Proteômica 2). Na análise proteômica 1, foram identificadas 141 proteínas diferencialmente abundantes entre os estágios larvais L2, L3 e L4, enquanto na análise proteômica 2, 324 proteínas diferencialmente abundantes foram obtidas. Os resultados demonstraram a predominância de proteínas diretamente envolvidas em processos biológicos atrelados a manutenção, crescimento e especialização celular, além da descoberta de proteínas associadas a funções fundamentais do organismo e com alto potencial para utilização em estratégias de controle desta importante praga cafeeira. Dentre estas, sete proteínas com papéis centrais na adaptação do inseto às condições ambientais foram selecionadas e submetidas a análise via RT-qPCR para a confirmação da sua expressão diferencial. Os resultados obtidos mostram que ambos os bancos de dados utilizados na identificação proteica revelaram informações complementares e permitiram a identificação de alvos a serem utilizados em estratégias biotecnológicas para o controle desta relevante praga podendo levar à redução do uso de pesticidas.

Palavras-Chave: Proteoma, doença da cultura de café, biotecnologia, expressão gênica.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Bruna de Oliveira. **Potenciais genes-alvo para o controle do bicho mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) identificados por meio da análise proteômica** 2026. 109 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Biologia Molecular) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

Coffee, one of the most popular beverages in the world, is among the main agricultural commodities that drive the economy, not only in Brazil, but around the world. Currently, one of the major concerns is focused on controlling biotic stress agents that attack this crop. *Leucoptera coffeella*, also known as the Coffee leaf miner (CLM), is considered one of the main pests in this sector and is responsible for important losses caused by the damage induced from this insect to the grain production chain. The main cause of the damage generated by this pest is related to the feeding behavior of the insect's larval stage. The larvae feed on the leaf mesophyll, forming mines that reduce the plant's photosynthetic capacity and lead to serious defoliation problems. Coffee Leaf Miner control is mainly carried out using synthetic insecticides, but the indiscriminate use of these agents causes serious damage to the environment and human health, in addition to promoting the emergence of resistant species and damage to non-target organisms. Despite being a pest of high economic relevance within coffee production, the molecular characteristics that could be used in safer management strategies are under-exploited, which hinders the development of technological innovations capable of promoting viable, safe, specific, and eco-friendly control for this insect. In this context, this work presents a pioneering evaluation of the proteome across the different larval developmental stages from the CLM, providing highly valuable omics information to determining control strategies for this pest. The proteins were identified through two different proteomic approaches. The first analysis used a *Plutella xylostella* database (Proteomics 1), while the second analysis used the organism's own database, which was predicted from genome and transcriptome data (Proteomics 2). In Proteomics Analysis 1, 141 differentially abundant proteins (DAPs) were identified among the larval stages L2, L3, and L4, whereas in Proteomics Analysis 2, 324 DAPs were obtained. The results demonstrated the predominance of proteins directly involved in biological processes related to maintenance, growth, and cellular specialization, as well as the discovery of proteins associated with fundamental organism functions and with high potential for use in strategies for controlling this important coffee pest. Among these, seven proteins with central roles in the insect's adaptation to environmental conditions were selected and subjected to RT-qPCR analysis to confirm their differential expression. The results showed that both databases used in protein identification provided complementary information and allowed the identification of targets to be used in biotechnological strategies for controlling this significant pest, potentially leading to a reduction in pesticide use.

Keywords: Proteome, coffee crop disease, biotechnology, gene expression.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estágios do ciclo de vida de *Leucoptera coffeella*, abrangendo ovo, quatro ínstaras larvais, pupa e adulto. A imagem ilustra de forma sequencial as etapas de desenvolvimento do bicho mineiro do cafeeiro, destacando as transformações morfológicas ao longo do ciclo. A variação da duração do ciclo muda de acordo com a temperatura podendo variar de 16 a 50 dias de extensão. Fonte: Dantas et al., (2021) com modificações. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/insects12121130> Acessado em: Outubro de 2024.

Figura 2. Folhas de café minadas com a presença de larvas de *Leucoptera coffeella*. **A** e **C**- Minas causadas pela alimentação das larvas do inseto em diferentes níveis de infestação. **B**- Folha minada pela predação do bicho mineiro do cafeeiro com comprometimento intenso do tecido foliar. Fonte: Acervo pessoal.

Figura 3. Características morfológicas de *Leucoptera coffeella*. **(A)** Larva do primeiro ínstar. **(B)** Cápsula cefálica do primeiro ínstar larval. A seta indica o aparelho bucal mastigador. **(C)** Larva do segundo ínstar. A seta indica o primeiro segmento corporal. **(D)** Cápsula cefálica do segundo ínstar larval. **(E)** Larva do terceiro ínstar. **(F)** Cápsula cefálica do terceiro ínstar larval. **(G)** Larva do quarto ínstar. **(H)** Cápsula cefálica do quarto ínstar larval. Fonte: Motta et al, (2021). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-9665-RBENT-2020-0122>. Acesso em: jan. 2025.

Figura 4. Esquema representativo do fluxo operacional da análise de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série (LC-MS/MS).

Figura 5. Coleta de larvas de *Leucoptera coffeella* em folhas de café infestadas. **(A)** Folhas minadas indicando a presença de bicho mineiro provenientes de casa de vegetação. **(B)** Minas observadas em lupa para a coleta das larvas. **(C)** Separação dos ínstaras larvais. **(D)** Congelamento imediato das larvas coletadas em nitrogênio líquido, após a separação. Fonte: Acervo pessoal.

Figura 6: Árvores filogenéticas de *Leucoptera coffeella* obtidas pelo método de Máxima Verossimilhança usando 13 genes codificadores de proteínas do genoma mitocondrial concatenados com dados de **(A)** sequências de nucleotídeos e **(B)** sequências de aminoácidos. Os valores de *bootstrap* são indicados em cada ramo. O círculo amarelo indica os organismos lepidópteros minadores de folhas. Fonte: Santos et al., (2024).

Figura 7: Análise de Componentes Principais (PCA) mostrando o agrupamento das réplicas biológicas e a distinção entre as condições experimentais. A cor cinza indica cada proteína diferencialmente abundante identificadas na análise e os pontos coloridos indicam a posição de cada amostra analisada. As cores representam as condições e pontos da mesma cor indicam réplicas. Azul = L2; roxo = L3; laranja = L4.

Figura 8: Análises de comportamento proteico entre as fases analisadas. **A**- 3D sPLS-DA mostrando a formação de grupos entre as réplicas e diferenciação entre condições relacionados em três eixos de componentes principais. O eixo x corresponde ao Componente 1 (64% de representatividade dentro do conjunto), no eixo y o Componente 2 (10,4%) e no eixo z o Componente 3 (7,5%). Os pontos vermelhos indicam as réplicas amostrais de L2, verde representam as réplicas de L3 e azul representam as réplicas do ínstar L4. **B**- Dendrograma mostrando a formação de grupos de proteínas de acordo com seus perfis de abundância. As

cores dos grupos (*clusters*) correspondem às cores dos perfis de abundância relativa mostrados em C. C- Perfis de abundância relativa de proteínas agrupadas. A coluna azul corresponde a fase L2, roxa corresponde a L3 e laranja corresponde a L4.

Figura 9: Mapa de correlação (*Heatmap*) dos padrões de abundância normalizados e das condições de agrupamento para o conjunto completo de proteínas reguladas. Roxo= L2; vermelho= L3; verde = L4. Tons de vermelho indicam correlação positiva, tons de azul, correlação negativa.

Figura 10. Quantidade de proteínas diferencialmente abundantes (DAP) identificadas nas três comparações entre os ínstares de *Leucoptera coffeella* na análise proteômica 1. As barras em vermelho representam o número de proteínas com abundância aumentada, enquanto as barras em azul indicam proteínas com abundância diminuída em cada comparação.

Figura 11: Enriquecimento por Ontologia Gênica. (A) Enriquecimento de Processo Biológico. (B) Enriquecimento de Função Molecular. Em ambas as visualizações, círculos maiores indicam maior número de proteínas associadas ao respectivo processo biológico ou função molecular. A cor dos círculos corresponde ao valor de FDR (*False Discovery Rate*), utilizado como medida de significância estatística. No painel (A), os processos biológicos representados em tons de verde apresentam os menores valores de FDR, indicando maior relevância estatística. No painel (B), as funções moleculares com menor FDR são destacadas em tons de laranja. A similaridade semântica (*cutoff* = 0,8) entre os grupos foi organizada por cores, permitindo visualizar o agrupamento funcional dos termos enriquecidos.

Figura 12. Gráfico de dispersão mostrando os termos GO (FDR <0,05) mais enriquecidos entre as proteínas reguladas na categoria processos biológicos (BP). O agrupamento reflete a similaridade semântica entre os termos. A cor representa o valor de FDR relacionado ao enriquecimento do termo e sua significância estatística. O tamanho corresponde à representatividade do termo em relação ao banco de dados.

Figura 13. Gráfico de dispersão mostrando os termos GO (FDR <0,05) mais enriquecidos entre as proteínas reguladas para funções moleculares (FM). O agrupamento reflete a similaridade semântica entre os termos. A cor representa o valor de FDR relacionado ao enriquecimento do termo e sua significância estatística. O tamanho corresponde à representatividade do termo em relação ao banco de dados, indicando processos biológicos mais específicos.

Figura 14. Enriquecimento de Componente Celular por Ontologia Gênica. Círculos maiores indicam maior número de proteínas associadas aos componentes celulares. A cor dos círculos corresponde ao valor de FDR (*False Discovery Rate*), utilizado como medida de significância estatística. Componentes celulares com coloração amarela possuem menor FDR.

Figura 15. Rede de interações *String* mostrando a sobreposição entre interações proteína-proteína e agrupamento por *kmeans clustering* para as 141 proteínas diferencialmente abundantes (DAP) identificadas na análise proteômica 1 pra *Leucoptera coffeella*.

Figura 16. Análise de Componentes Principais (PCA) mostrando o agrupamento das réplicas biológicas e a distinção entre as condições experimentais A cor cinza indica cada proteína diferencialmente abundante identificadas na análise e os pontos coloridos indicam a posição de cada amostra analisada. As cores representam as condições e pontos da mesma cor indicam réplicas. Azul = L2; roxo = L3; laranja = L4.

Figura 17. Análises de comportamento proteico observado entre as condições analisadas para a análise proteômica 2 de *Leucoptera coffeella*. **A-** Dendrograma mostrando a formação de grupos de proteínas de acordo com seus perfis de abundância. As cores dos grupos (*clusters*) correspondem às cores dos perfis de abundância relativa mostrados em B. **B-** Perfis de abundância relativa de proteínas agrupadas. A coluna azul corresponde a fase L2, roxa corresponde a L3 e laranja a L4.

Figura 18: Mapa de correlação (*Heatmap*) dos padrões de abundância normalizados e das condições de agrupamento para o conjunto completo de proteínas reguladas. Vermelho= L2; verde = L3; Azul = L4. Tons de vermelho indicam correlação positiva, tons de azul, correlação negativa.

Figura 19: Quantidade de proteínas diferencialmente abundantes (DAP) identificadas nas três comparações entre os ínstares de *Leucoptera coffeella* na análise proteômica 1. As barras em vermelho representam o número de proteínas com abundância aumentada, enquanto as barras em azul indicam proteínas com abundância diminuída em cada comparação.

Figura 20. Análise de interação proteína-proteína das 324 proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) obtidas na análise proteômica 2. **(A)** Principais *clusters* encontrados na interação da rede. **(B)** Proteínas (127 proteínas) associadas à tradução citoplasmática como o principal processo biológico considerando o valor de sinal mais alto. **(C)** Proteínas (40 proteínas) relacionadas à fosforilação oxidativa seguindo o mesmo parâmetro. **(D)** Proteínas (32 proteínas) ligadas ao processo biossintético de aminoácidos celulares. **(E)** Cluster de proteínas (9 proteínas) envolvidas no desenvolvimento de cutícula à base de quitina.

Figura 21. Enriquecimento de vias KEGG.

Figura 22. Perfil de expressão gênica diferencial entre os estágios larvais do BMC. Análise de RT-qPCR da expressão relativa ($\log_2FC$) de cinco genes em comparações par a par entre os estágios larvais L2, L3 e L4. As barras representam a média do $\log_2FC$ e as linhas de erro indicam o desvio padrão. Genes significativamente regulados negativamente são mostrados em azul. Genes regulados positivamente são mostrados em vermelho e genes não significativos em cinza. **(A)** Comparação entre o segundo e o terceiro ínstar; **(B)** Comparação entre o terceiro e o quarto ínstar; **(C)** Comparação entre o segundo e o quarto ínstar.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Informações gerais dos alvos selecionados para análise de expressão gênica de *Leucopetra coffeella*. Os primers para cada gene selecionado foram desenhados em sequências *forward* (F) e *reverse* (R), considerando a temperatura de *melting* (TM) entre 58 e 62 °C, tamanho do *amplicon* entre 130 e 150 pares de base (bp) e eficiência acima de 75%. Os genes referência utilizados foram as proteínas ribossômicas L10 e L18.

Tabela 2. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, nos estágios de desenvolvimento L2 e L3. As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L2 em relação a L3, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L2 quando comparadas a L3.

Tabela 3. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, quando comparado os estágios de desenvolvimento L3 e L4. As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L3 em relação a L4, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L3 quando comparadas a L4.

Tabela 4. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, quando comparado os estágios de desenvolvimento L2 e L4. As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L2 em relação a L4, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L2 quando comparadas a L4.

Tabela 5. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, quando comparado os estágios de desenvolvimento L2 e L3 (proteômica 2). As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L2 em relação a L3, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L2 quando comparadas a L3.

Tabela 6. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, quando comparado os estágios de desenvolvimento L3 e L4 (proteômica 2). As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L3 em relação a L4, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L3 quando comparadas a L4.

Tabela 7. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, quando comparado os estágios de desenvolvimento L2 e L4 (proteômica 2). As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L2 em relação a L4, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L2 quando comparadas a L4.

Tabela 8. Informações sobre os genes selecionados para análise de expressão gênica por RT-qPCR. Foram selecionados genes em ambas as análises proteômica (Proteômica 1 e Proteômica 2). Foram considerados magnitude acima de 2 (FC>2), contagem de peptídeos utilizados na identificação (acima de 2), e processos biológicos relevantes para o desenvolvimento e sobrevivência do organismo.

LISTA DE ABREVIACÕES

%- porcentagem

<- menor que

>- maior que

µg- micrograma

µl- microlitro

•OH –radical hidroxila

ANOVA– análise de variância

ASO - oligonucleotídeo antisenso

ATP– adenosina trifosfato

BJHSPs– *Bombyx mori* juvenile hormone-suppressible proteins

Blast– basic local alignment search tool

BMC - bicho mineiro do cafeeiro

BP– processos biológicos

C18– coluna de fase estacionária C18 (octadecilsilano)

Cas9- proteína associada ao CRISPR 9

CAT – catalase

cDNA– DNA complementar

Cepea – centro de estudos avançados em economia aplicada

CLM - coffee leaf miner

cm³- centímetros cúbicos

CONAB- companhia nacional de abastecimento

Cq– ciclo de quantificação, número de ciclos necessários para que a fluorescência do qPCR ultrapasse o limiar (*threshold*)

CRISPR- repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente interespçadas

Da – dalton

DAPs – proteínas diferencialmente abundantes

DDA– aquisição dependente de dados

dH₂O- água destilada

DNA– ácido desoxirribonucleico

DTT– dithiothreitol

EDTA– ácido etilenodiamino tetra-acético

ESI - ionização por eletrospray

EtOH- álcool etílico

EUA – estados unidos da américa

FC – fold change

FDR– taxa de descobertas falsas

Frizzled– receptores transmembrana da família GPCR-like

g- grama

GO– ontologia de genes

GPx – glutathione peroxidase

GSTs– glutathione S-transferases

h – hora

H₂O₂–peróxido de hidrogênio

HCD – dissociação por colisão de alta energia

HCl – ácido clorídrico

HSPs – heat shock proteins

ID – identificador

JH– hormônio juvenil

KCl– cloreto de potássio

KEGG – enciclopédia de genes e genomas de kyoto

kg/ha - quilogramas por hectare

L2, L3 e L4 - ínstares larvais de *Leucoptera coffeella*, larvas de segundo, terceiro e quarto ínstar, respectivamente.

LC - cromatografia líquida

LC-MS/MS – cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa em tandem

LFQ - quantificação sem rótulo

Lgl– lethal (2) giant larvae, proteína de polaridade basolateral

log₂FC– logaritmo na base 2 da mudança de expressão (fold change)

M – molar

m- metro

mm- milímetro

m/z – razão massa/carga

MALDI - dessorção/ionização a laser assistida por matriz

mg- miligrama

mg/L- miligrama por litro

mg/mL- miligrama por mililitro

min - minuto

minPep – quantidade mínima de peptídeos

mL- mililitro

mM – milimolar

MS - espectrometria de massas

MS/MS - espectrometria de massas em tandem

NaCl- cloreto de sódio

NCBI– Centro Nacional de Informação em Biotecnologia

NH₄HCO₃– bicarbonato de amônio

nº- número

O₂^{•-} – ânions superóxido

°C- graus Celsius

PCA– análise de componentes principais

pep – peptídeo

pepFDR– taxa de descobertas falsas de peptídeos

pH- potencial hidrogeniônico

protFDR – taxa de descobertas falsas de proteínas

PSM– peptide-spectrum match, indica a correspondência peptídeo-espectro

Q-TOF - espectrômetro de massas quadrupolo – tempo de voo

RNA- ácido ribonucleico

RNAi- interferência por RNA

ROS– espécies reativas de oxigênio

RPL10 – proteína ribossomal L10

RPL18 – proteína ribossomal L18

rpm- rotação por minuto

RT- qPCR - reação em cadeia da polimerase quantitativa com transcrição reversa

SAP47– storage protein A-47

SOD – superóxidos dismutase

sPLS-DA– sparse partial least squares discriminant analysis

STRING – search tool for the retrieval of interacting genes/proteins

SYBR– SYBR Green, corante fluorescente que se liga ao DNA de fita dupla

TAE– tampão Tris–Acetato–EDTA

TIMPS–técnicas inovadoras de melhoramento de precisão

TFA– ácido trifluoroacético

UPLC– cromatografia líquida de ultra performance

VF- volume final

vv- volume por volume

Wnt– família de proteínas secretadas (ligantes)

x g – unidade de força gravitacional

XIC– extracted ion chromatogram

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 A cultura do cafeeiro.....	23
2.1.1 Desafios fitossanitários e principais pragas	24
2.2 Bicho Mineiro do Cafeeiro (BMC)	24
2.2.1 Desenvolvimento larval	26
2.2.2 Danos relacionados ao comportamento alimentar e fatores de influência	28
2.3 Métodos de Controle do BMC e Limitações	30
2.3.1 Controle Químico e o uso de Inseticidas.....	30
2.3.2 Métodos de controle alternativos aos produtos químicos	31
2.4 Análise Proteômica para descoberta de genes-alvo de BMC.....	34
2.4.1 Proteômica <i>Shotgun</i>	34
2.5 Aplicações da Proteômica para o controle de Insetos-Praga.....	36
3. OBJETIVOS.....	38
3.1 Objetivo geral.....	38
3.2 Objetivos específicos	38
4. MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 Coleta do material biológico	39
4.2 Extração de proteínas totais	39
4.2.1 Análise de integridade e quantificação das proteínas totais.....	40
4.4 Preparo de amostras para LC-MS/MS.....	41
4.5 Análise LC MS/MS	41
4.6 Identificação e quantificação de proteínas.....	42
4.8 Isolamento de RNA total e Síntese de DNA Complementar (cDNA)	43
4.9 Análise RT-qPCR	43
5. RESULTADOS	46
5.1 Proteômica 1 – Análise proteômica por homologia utilizando o banco de dados de <i>P. xylostella</i>	46
5.1.1 Identificação do proteoma obtido e enriquecimento por Ontologia Gênica.	58
5.2 Proteômica 2 – Análise proteômica baseada no banco de dados de <i>L. coffeella</i>	63
5.2.1 Identificação do proteoma obtido e enriquecimento por Ontologia Gênica.	76
5.3 RT-qPCR	78
6. DISCUSSÃO.....	83

6.1 Proteínas envolvidas na formação, desenvolvimento e sobrevivência do BMC	86
7. CONCLUSÃO	94
8. REFERÊNCIAS	96
9. PRODUÇÃO CIENTÍFICA E PREMIAÇÕES	109

1. INTRODUÇÃO

O café (*Coffea* sp.) é uma das principais *commodities* agrícolas do mundo e sua produção desempenha um papel central na economia global. Há mais de um século e meio, o Brasil se mantém como o maior produtor do grão e, atualmente, consolida-se como o principal exportador mundial. Do ponto de vista econômico, a cafeicultura movimenta bilhões de dólares e gera milhões de empregos diretos e indiretos no país (Pancsira, 2022; Vegro e Almeida, 2020).

Apesar das pesquisas pioneiras desenvolvidas no Brasil, que impulsionaram o avanço da cultura cafeeira, o setor ainda enfrenta desafios importantes ao longo de sua cadeia produtiva. A sustentabilidade da cafeicultura brasileira tem sido constantemente ameaçada por fatores bióticos, especialmente pela incidência de pragas e patógenos capazes de causar perdas expressivas de produtividade (Krishnan, 2017). Nesse contexto, a adoção de estratégias eficazes de manejo de pragas torna-se um dos principais desafios para garantir a sustentabilidade e a competitividade da produção de café no país.

Considerado uma das pragas mais importantes da cultura do café, o Bicho Mineiro do Cafeeiro (BMC) (*Leucoptera coffeella*) (Guérin-Mèneville) (*Lepidoptera: Lyonetiidae*) é um dos insetos de maior relevância econômica da cafeicultura contemporânea (Dantas et al., 2021). Originário da região africana, o BMC chegou ao Brasil em meados do século XIX e atualmente está presente em todas as regiões do país onde o café é cultivado, com notável prevalência no bioma Cerrado (Pantoja-Gomez et al., 2019). O elevado nível de infestação deste inseto nas regiões neotropicais tem resultado em perdas econômicas substanciais, com taxas de queda de produtividade e desfolhação entre 87% e 75%, respectivamente (Altamiranda-Saavedra et al., 2024; Infante et al., 2023).

Durante os estágios larvais, o BMC estabelece seu sítio de alimentação no mesófilo foliar, alimentando-se exclusivamente do parênquima paliçádico das folhas, ocasionando lesões (minas) que reduzem a área fotossintética e levam à queda foliar acentuada, o que resulta em perdas significativas de produtividade e qualidade dos grãos (Dantas et al., 2021; Triant; Cinel; Kawahara, 2018). Essas perdas infligem um significativo impacto depreciativo não apenas nas safras presentes, mas também nas safras seguintes, o que ressalta a necessidade de estratégias eficazes do manejo adequado desta praga para manter a produtividade agrícola do setor.

O controle do BMC é predominantemente realizado por meio da utilização de inseticidas sintéticos. Contudo, o uso indiscriminado destes produtos promove uma série de problemas, incluindo contaminação ambiental, intoxicação humana, desequilíbrios biológicos, proliferação de pragas secundárias e desenvolvimento de resistência nas populações (Fragoso;

Guedes; Ladeira, 2003; Junqueira et al., 2024). A busca pela sustentabilidade ambiental nos últimos anos desencadeou a procura por abordagens alternativas, incluindo a investigação de métodos viáveis e seguros para uma gestão eficaz considerando os impactos ambientais.

Durante os últimos anos, o desenvolvimento das abordagens ômicas têm se destacado como ferramentas poderosas para investigar processos biológicos complexos, incluindo aqueles envolvidos nas interações planta-praga. Neste cenário, a análise proteômica configura como um importante campo de estudo, já que possibilita a caracterização em grande escala de um conjunto de proteínas presentes em células e/ou tecidos e tem sido utilizada para compreender processos indispensáveis à manutenção da vida, bem como adaptações ambientais, respostas ao estresse, mecanismos de resistência e até processos evolutivos (Anderson; Anderson, 1998; Cho, 2007; Kellner, 2000). Além disso, dentro deste campo de estudo, análises proteômicas comparativas de proteínas diferencialmente abundantes em distintos estágios de desenvolvimento têm demonstrado grande potencial para elucidar vias biológicas essenciais envolvidas no desenvolvimento de pragas.

Estratégias voltadas à exploração abrangente de um proteoma, sem hipóteses ou direcionamentos prévios, têm se mostrado importantes para a descoberta de proteínas diferencialmente expressas em organismos sobre diferentes condições biológicas. A chamada proteômica de descoberta tem possibilitado avanços em estudos iniciais envolvendo organismos cujo proteoma ainda não foi completamente mapeado (Cho, 2007; Wong, 2024). Atualmente, uma das metodologias mais empregadas em estudos proteômicos é a proteômica *shotgun*. Esta metodologia pode ser baseada em técnicas como a proteômica *bottom-up*, que utiliza a estratégia de digestão de proteínas em peptídeos, que são analisados em sistemas de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS/MS) para a separação, quantificação e identificação de proteínas em misturas complexas. Esta técnica permite a detecção de uma maior quantidade de proteínas, a identificação de proteínas menos abundantes, além da simplificação no manuseio das amostras (Emidio et al., 2015; Nesatyy; Suter, 2007). O estudo de descoberta dos perfis proteômicos como fonte para a identificação de genes relacionados a processos biológicos de organismos-alvo leva a um maior conhecimento das redes funcionais estabelecidas pelas proteínas, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias de controle sustentável de pragas (Espindola et al., 2010).

Alguns exemplos práticos de aplicações dos dados gerados através da proteômica são as chamadas *New Breeding Techniques* (NBTs) ou TIMPS (Técnicas inovadoras de melhoramento de precisão), que englobam técnicas como silenciamento gênico por RNA de interferência (RNAi), oligonucleotídeos antisense (ASO) e modificações gênicas por

CRISPR/Cas9. Além disso, sabe-se que análises de proteômica LC-MS/MS são relatadas em estudos de diferentes organismos, incluindo espécies de lepidópteras, como *Bombyx mori* (bicho-da-seda) e *Plutella xylostella* (mariposa), contribuindo para um entendimento mais profundo desses organismos (Ordonio et al., 2023; Steinbrecher, 2015).

Apesar da importância crítica do BMC como uma das pragas mais depreciativas da produção de café, a pesquisa acerca dos aspectos biológicos deste organismo, particularmente no que tange às pesquisas a nível molecular, permanece pouco explorada. Considerando que cada fase do desenvolvimento larval apresenta demandas fisiológicas específicas, como digestão, defesa contra compostos tóxicos presentes no tecido foliar e preparação para a pupação, a caracterização comparativa do proteoma larval pode fornecer insights valiosos sobre a biologia do inseto e apontar potenciais alvos moleculares para o manejo integrado (Caixeta et al., 2004; Souza, 2022). Assim, investigar como o perfil proteico varia ao longo dos estágios larvais representa uma oportunidade de avançar no entendimento dos mecanismos que sustentam a adaptação do bicho mineiro no processo de infestação e gerar dados inovadores que corroboram ricamente em aplicações práticas como nas NBTs. Diante desse cenário, o objetivo deste trabalho constituiu em realizar a análise proteômica dos diferentes estágios larvais de *L. coffeella*, com o intuito de identificar proteínas diferencialmente expressas, compreender suas funções biológicas e discutir suas implicações para o manejo da praga. Os resultados aqui apresentados não apenas avançam o conhecimento sobre a biologia molecular do BMC, mas também lançam a base para futuras pesquisas com potenciais implicações para o manejo biotecnológico eficaz desta praga.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do cafeeiro

Pertencente à família Rubiaceae, o café (*Coffea* spp.) é um arbusto perene, de cultura bienal, cultivado predominantemente em regiões tropicais, que dá origem a uma das bebidas historicamente mais relevantes consumidas pela humanidade (Vieira, 2024).

A planta de café é alotetraploide e autógama por cleistogamia, apresenta folhas opostas, inflorescências axilares, raiz pivotante e ramo dimórfico de crescimento contínuo. Seu ciclo fenológico inclui fases de crescimento vegetativo, floração, frutificação e maturação, fortemente influenciadas por fatores climáticos, como temperatura, regime hídrico e altitude. A inflorescência se dá nos nós de ramos laterais novos, em glomérulos de flores completas, hermafroditas e autocompatíveis. O fruto do cafeeiro é do tipo drupa e climatérico, com duas sementes chatas conhecidas como “cerejas”, que ao serem torrificadas dão origem ao pó que produz a bebida. As duas espécies de maior importância econômica são *Coffea arabica* e *C. canephora* (robusta/conilon), que diferem em características agrônômicas, composição química dos grãos e tolerância a estresses bióticos e abióticos (Farah; Ferreira dos Santos, 2015; Fernandes et al., 2021; Vieira, 2024).

O café, segunda matéria-prima mais comercializada e superada apenas por produtos derivados do petróleo em termos de trocas comerciais, é um dos produtos primários mais importante para a economia mundial (Pancsira, 2022; Slavova; Georgieva, 2019). Sendo a segunda bebida mais consumida no planeta, depois da água (Evangelista, 2019), sua produção abrange mais de 70 países em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, maior produtor e exportador de café do mundo, os estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Bahia concentram o cultivo deste grão, e a expectativa de produção para o ano de 2025 supera 55 milhões de sacas, um crescimento de 2,7% em comparação com a safra de 2024 (CONAB, 2025). Sustentado pela elevada produtividade, o setor cafeeiro brasileiro apresenta uma ampla área cultivada com forte predominância de *C. arabica*, que é uma espécie valorizada por sua qualidade sensorial e maior valor de mercado (CONAB, 2025). Apesar disso, o país também se destaca pela produção expressiva de *C. canephora* (*Robusta*), que complementa a oferta nacional e atende a diferentes segmentos da cadeia produtiva (Setotaw et al., 2013). Em 2024, o país registrou produção superior a 3,3 milhões de toneladas de café, distribuídas em aproximadamente 1,94 milhão de hectares, refletindo um rendimento médio de 1.743 kg/ha. O valor bruto da produção alcançou R\$79,59 bilhões, dos quais 72,4% foram atribuídos ao café arábica e 27,6% ao café robusta (Embrapa, 2026; IBGE, 2026). A cafeicultura no Brasil gera

milhões de empregos direta e indiretamente, fornece apoio a milhões de pequenos agricultores, além de contribuir significativamente para o crescimento do setor rural e o desenvolvimento regional. No entanto, manter a produtividade e a qualidade do setor cafeeiro também exige uma gestão intensa de estresses bióticos e abióticos, sendo os insetos-pragas um dos desafios mais persistentes para a produção sustentável (Dantas et al., 2021).

2.1.1 Desafios fitossanitários e principais pragas

A atividade produtiva da cafeicultura enfrenta inúmeros desafios fitossanitários. Dentre eles, doenças fúngicas como *Hemileia vastatrix*, nematóides e insetos-praga são exemplos de estresses que promovem a diminuição na qualidade produtiva do setor. A ação de insetos-praga e de fitopatógenos no cafeeiro comprometem o desenvolvimento vegetativo, levando a redução significativa do potencial produtivo e, em casos de elevada severidade, podem culminar na morte das plantas (Iost, 2013). Entre as pragas que atingem a cadeia de produção do café, o BMC (*L. coffeella*) se destaca como a praga mais economicamente significativa nas regiões cafeeiras neotropicais, devido às graves lesões causadas nas folhas pelo comportamento alimentar das larvas deste inseto (Dantas et al., 2021; Parra; Reis, 2013). Além do BMC, a broca do café (*Hypothenemus hampei*), também tem elevado destaque entre as pragas de alta importância econômica, sendo responsável por danos diretos aos frutos, e tem sido objeto de estudos transcriptômicos e moleculares que revelam padrões de expressão gênica específicos de estágio, relacionados à digestão e desintoxicação (Noriega et al., 2019). Adicionalmente, cigarras (*Quesada gigas*), cochonilhas (*Planococcus sp.*, *Coccus sp.*), ácaros fitófagos (*Oligonychus ilicis*, *Brevipalpus phoenicis*) entre outros, também reforçam o comprometimento do desempenho agrônomo do setor (Costa et al., 2020).

2.2 Bicho Mineiro do Cafeeiro (BMC)

O BMC, destaca-se como uma das principais limitações fitossanitárias da cafeicultura, especialmente em regiões de clima quente e seco, onde sua dinâmica populacional é favorecida (Dantas et al., 2021). Este inseto tem ciclo de vida holometabólico, caracterizado por sofrer metamorfose completa, que envolve transformações morfológicas profundas ao longo do desenvolvimento. Este processo compreende os estágios de ovo, larva (distribuídos em quatro ínstares), pupa e adulto, cada qual marcado por mudanças estruturais e funcionais que permitem que os diferentes estágios ocupem nichos ecológicos específicos e desempenhem funções biológicas distintas (Figura 1) (Bellés et al., 2013). A duração completa do ciclo de vida do

BMC varia de acordo com as condições ambientais, sendo altamente influenciado por fatores como temperatura e umidade, e variando de 20 a 40 dias em condições de campo. Os adultos são pequenas mariposas com envergadura de aproximadamente 5-6 mm, caracterizadas por asas dianteiras branco-prateadas com manchas escuras e que apresentam hábitos noturnos. As fêmeas fazem a oviposição na superfície superior das folhas, com taxas influenciadas pela idade, estado nutricional e composição química foliar, ovipositando em média de quatro ovos por noite. O ovo tem formato oval e côncavo, estrutura translúcida e permanece por cerca de 3 a 5 dias na epiderme da folha, da qual ao eclodir permite que as larvas acessem o mesófilo, onde o sítio ativo de alimentação do inseto é estabelecido. As larvas se alimentam exclusivamente do parênquima paliçádico das folhas, causando lesões que reduzem a área fotossintética e podem levar à queda acentuada das folhas. Durante a fase ativa de alimentação e desenvolvimento deste inseto, quatro instares larvais são percorridos. As larvas recém eclodidas possuem coloração esbranquiçada e translúcida que se modifica de acordo com o desenvolvimento larval para uma coloração amarelo esverdeado mais intensa. As larvas de último instar desenvolvem segmentos, cabeça plana, aparelho bucal mastigador, *prolegs* e suportes. Ao final do ciclo larval, larvas completamente desenvolvidas deixam as minas e tecem casulos de seda em forma de X, estabelecendo a fase de pupação, que dura cerca de 5 dias. A partir da pupa, os adultos desenvolvem-se e o ciclo se completa (Dantas et al., 2021; Motta et al., 2021; Sabino et al., 2018).

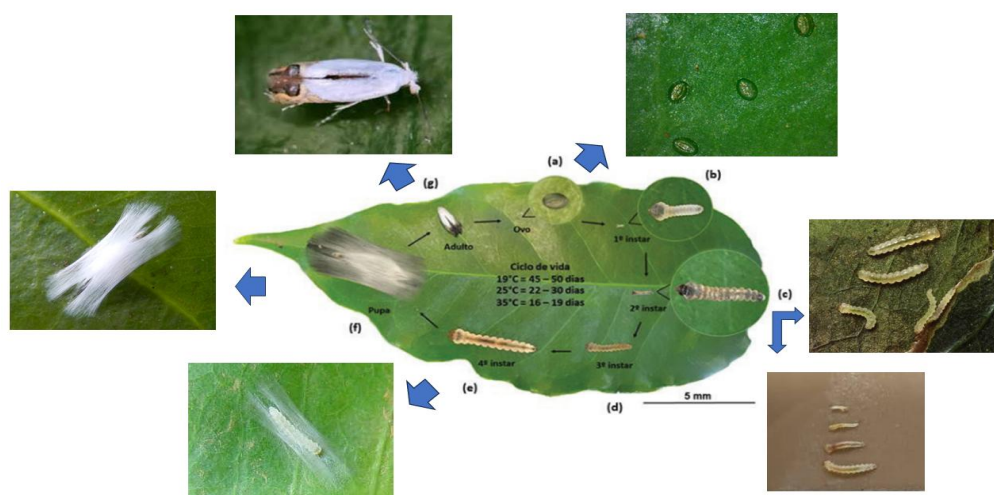


Figura 1. Estágios do ciclo de vida de *Leucoptera coffeella*, abrangendo ovo, quatro instares larvais, pupa e adulto. A imagem ilustra de forma sequencial as etapas de desenvolvimento do bicho mineiro do cafeeiro, destacando as transformações morfológicas ao longo do ciclo. A variação da duração do ciclo muda de acordo com a temperatura podendo variar de 16 a 50 dias de extensão. **Fonte:** Dantas et al., (2021) com modificações. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/insects12121130> Acessado em: Outubro de 2024.

2.2.1 Desenvolvimento larval

A fase larval do BMC representa o estágio do ciclo de vida do inseto que é mais prejudicial ao cafeeiro, com quatro ínstares distintos caracterizados por aumentos progressivos de tamanho e capacidade de alimentação. Cada ínstar percorre um período delimitado por mudanças graduais na sua morfologia, fisiologia e comportamento, que ocorre com uma variação de 2 a 4 dias (Dantas et al., 2021; Notley, 1948; Parra; Reis, 2013). As larvas do primeiro estágio (L1) penetram na epiderme da folha imediatamente após a eclosão e passam a se alimentar do tecido do mesófilo, criando minas necróticas características que progridem de verde claro a marrom (Figura 2) (Fanela et al., 2020; Motta et al., 2021; Orlando et al., 2024). À medida que as larvas avançam aos seus estágios subsequentes, o tamanho e a complexidade das minas aumentam. Como consequência, larvas de quarto estágio (L4), que apresentam maior cápsula cefálica, tendem a comprometer de forma mais expressiva a integridade do tecido foliar, correlacionado à maior necessidade de acúmulo de reservas para a pupação (Motta et al., 2021; Nation, 2015; Vieira Junior et al., 2011). O desenvolvimento larval completo geralmente dura de 8 a 15 dias, dependendo das condições climáticas (Dantas et al., 2021).

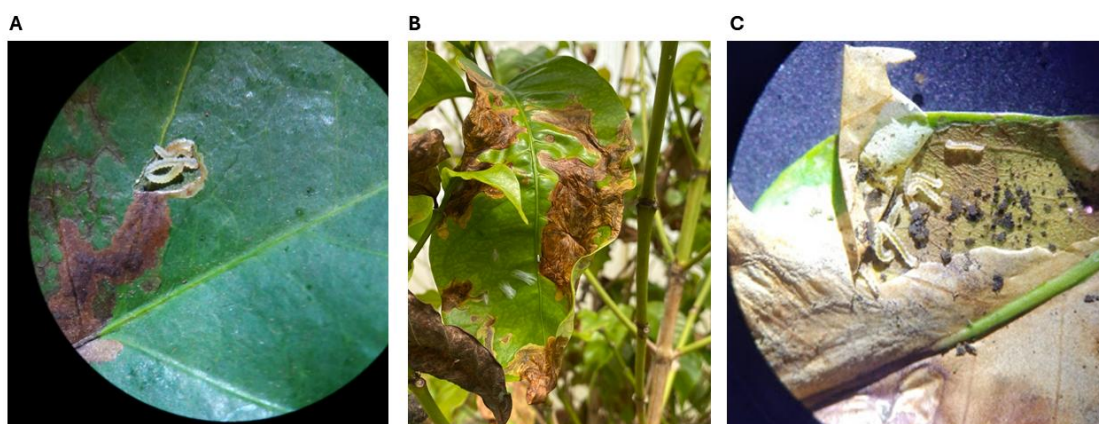


Figura 2. Folhas de café minadas com a presença de larvas de *Leucoptera coffeella*. **A e C-** Minas causadas pela alimentação das larvas do inseto em diferentes níveis de infestação. **B-** Folha minada pela predação do bicho mineiro do cafeeiro com comprometimento intenso do tecido foliar. **Fonte:** Acervo pessoal.

As fases de desenvolvimento larval do BMC possuem algumas diferenciações morfológicas, incluindo arranjo das setas primárias, morfologia das pseudopernas abdominais (estruturas de *prolegs*) e configuração dos *crochets* (estruturas de pequenos ganchos que permite que larvas se agarrem a folhas e galhos) (Figura 3). As características morfológica dos quatro ínstares larvais do BMC foi descrita no estudo conduzido por Motta et al., (2021), que

apresentou como características diagnósticas chave as medidas de cápsula cefálica, sendo elas: primeiro ínstar (L1) $0,14 \pm 0,03$ mm, segundo ínstar (L2) $0,25 \pm 0,04$ mm, terceiro ínstar (L3) $0,32 \pm 0,03$ mm e quarto ínstar (L4) $0,42 \pm 0,03$ mm. Motta et al., (2021) também descreve que larvas de primeiro ínstar (L1) apresentam apenas setas primárias e não possuem *prolegs*. No segundo ínstar (L2), as larvas continuam sem *prolegs*, enquanto no terceiro ínstar (L3), surgem *prolegs* ainda sem a presença de *crochets* definidos. Já no quarto ínstar (L4), observam-se *prolegs* com *crochets* bem desenvolvidos, além da presença de linha ecdísica (Figura 3) (Dantas et al., 2021; Motta et al., 2021).

O conhecimento das características específicas de cada estágio larval é crucial para estratégias de controle direcionadas pois, permite a identificação de fases que podem apresentar sensibilidade variável a inseticidas e agentes de controle biológico. Embora todos os ínstaes componham a fase larval, eles diferem em tamanho corporal, taxa de crescimento, demanda nutricional, sensibilidade a fatores ambientais e padrões de expressão gênica e proteica. Essas diferenças refletem a progressão natural do desenvolvimento e influenciam diretamente a forma como o organismo responde a estímulos internos e externos. Assim, identificar as proteínas comparativamente entre os ínstaes, permite captar nuances importantes do processo de desenvolvimento larval. Além disto, variações relevantes entre estas etapas de desenvolvimento (que poderiam ser mascaradas em um análise conjunta da fase larval como um todo), podem ser descobertas através da identificação proteômica individual de cada ínstar (Santos et al., 2024).

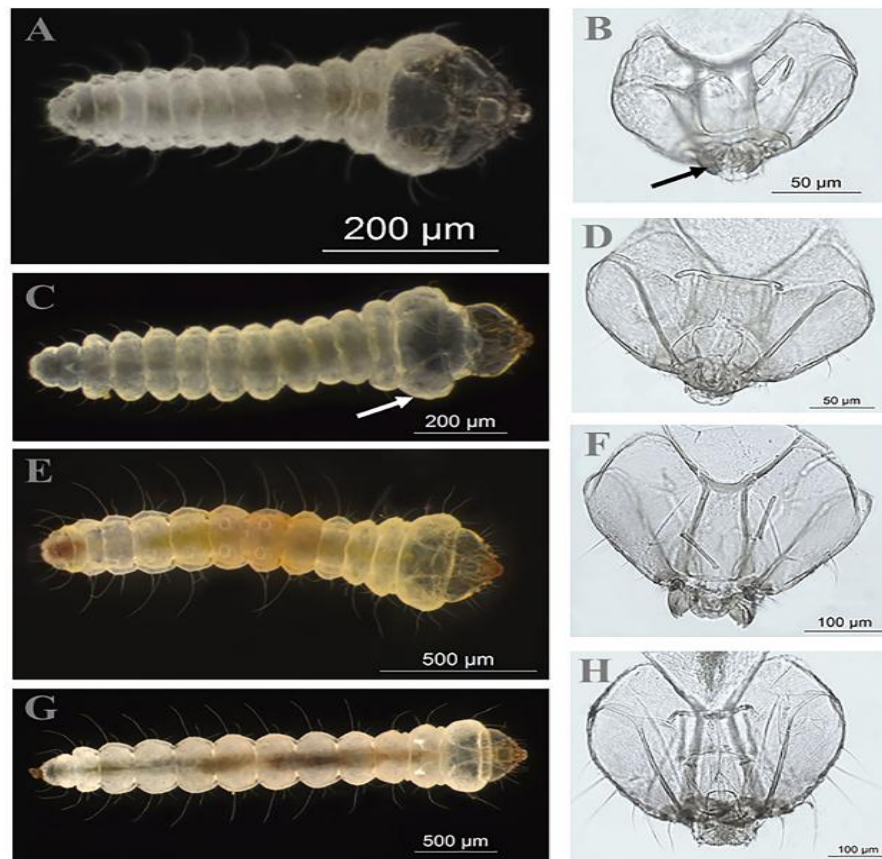


Figura 3. Características morfológicas de *Leucoptera coffeella*. (A) Larva do primeiro ínstar. (B) Cápsula cefálica do primeiro ínstar larval. A seta indica o aparelho bucal mastigador. (C) Larva do segundo ínstar. A seta indica o primeiro segmento corporal. (D) Cápsula cefálica do segundo ínstar larval. (E) Larva do terceiro ínstar. (F) Cápsula cefálica do terceiro ínstar larval. (G) Larva do quarto ínstar. (H) Cápsula cefálica do quarto ínstar larval.

Fonte: Motta et al, (2021). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-9665-RBENT-2020-0122>. Acesso em: jan. 2025.

2.2.2 Danos relacionados ao comportamento alimentar e fatores de influência

O dano causado pela mineração foliar do BMC tem múltiplas consequências fisiológicas para as plantas de café, um exemplo é o aumento da produção de etileno, um fitormônio envolvido na abscisão de folhas (Orlando et al., 2024). A formação intensiva de minas, que são resultado de lesões necróticas que levam a diminuição da área fotossintética das folhas, promove, consequentemente, a redução da capacidade de assimilação de carbono, enquanto a destruição do tecido mesofílico prejudica as relações hídricas e o transporte de nutrientes (Hikosaka; Tsujimoto, 2021; Jahan; Sharwood; Tissue, 2023; Lu et al., 2020). Em cenários de infestações severas, a ocorrência de desfolha intensa pode afetar a formação e o enchimento dos frutos, além de predispor a planta a estresses hídricos e térmicos (Silva et al., 2024). O desfolhamento interfere no balanço energético do cafeeiro, podendo comprometer também

safras subsequentes. Infestações graves podem reduzir a produtividade em 70 a 90%, com comprometimento de até 75% da safra seguinte, colaborando ativamente para a elevação dos custos de produção e para oscilações no preço do café (Altamiranda-Saavedra et al., 2024; Dantas et al., 2021; Fanela et al., 2020). Em 2025, o Cepea (Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada) registrou aumento recorde no valor do café, motivado pela baixa na produtividade cafeeira influenciada majoritariamente pelas condições climáticas adversas, como aumento da temperatura e escassez de chuvas, que também orienta a incidência desta praga e aumenta a pressão por ela exercida nas lavouras (CEPEA, 2025; Folha Agrícola, 2025; Nestel; Dickschen; Altieri, 1994). Anos de estiagem prolongada comumente favorecem explosões populacionais, dificultando o controle do inseto. Como consequência, os fatores e mudanças climáticas influenciam diretamente a dinâmica populacional da praga e intensificam a severidade das lesões e dos prejuízos na lavoura (Altamiranda-Saavedra et al., 2024; Iost, 2013).

A qualidade nutricional, idade e composição química das folhas também são fatores influentes sobre o comportamento alimentar das larvas de BMC. Folhas com maior disponibilidade de nutrientes e minerais geralmente influenciam a seleção para oviposição (Sabino et al., 2018). As taxas de postura de ovos pelas mariposas do inseto são altamente favorecidas nos períodos em que o estado fisiológico das plantas fornece material vegetal mais digerível para as larvas (Nestel; Dickschen; Altieri, 1994). Sabino et al., (2018) relatam que estratégias de fertilização têm influência no aumento da incidência de folhas minadas em plantas de café. Este estudo evidenciou que a fertilização nitrogenada afeta tanto a química foliar quanto a incidência de pragas e que fontes de nitrogênio podem aumentar o teor de clorofila e os níveis de proteína bruta, tornando as folhas mais atraentes para fêmeas ovipositoras e mais adequadas para o desenvolvimento larval.

Mecanismos de resistência da planta de café, que incluem a presença de compostos fenólicos e enzimas oxidativas, também podem influenciar o sucesso alimentar do BMC e seu desenvolvimento (Costa et al., 2025; Ramiro; Guerreiro-Filho; Mazzafera, 2006; Salgado, 2009). Processos de antibiose sustentada por compostos químicos e características morfológicas, interferem em parâmetros biológicos do inseto, como a sobrevivência das fases imaturas, duração do ciclo de vida, ganho de peso, fecundidade e fertilidade dos adultos emergidos. Em estágios larvais, a relação entre a presença de compostos tóxicos nas plantas e a manutenção da sobrevivência está fortemente relacionada à ingestão de fitoquímicos através das características alimentares (Costa et al., 2025). A redução do crescimento larval de lepidópteros relacionado à presença de compostos fenólicos é descrita em vários estudos

(Ramiro; Guerreiro-Filho; Mazzafera, 2006). Apesar da elevada suscetibilidade da maioria das espécies de interesse comercial de café aos ataques de bicho mineiro, Ramiro et al., (2006) examinou para *C. arabica* (suscetível) e *C. racemosa* (apresenta níveis de resistência) o papel dos compostos fenólicos, enzimas peroxidase (*POD*) e polifenoloxidase (*PPO*) na expressão da resistência a esta praga, evidenciando a baixa participação destes compostos nos mecanismos de defesa. Já o estudo recente conduzido por Costa et al., (2025), evidencia que a diminuição da sobrevivência larval e da intensidade das lesões no híbrido comercial “Siriema AS1” obtido pelo cruzamento das duas espécies ocorre por meio de antibiose, porém quais mecanismos específicos diretamente relacionados a resistência ainda não são claros. Guerreiro Filho; Mazzafera, (2000) demonstraram que não há efeito de compostos como a cafeína na oviposição e desenvolvimento do BMC nas folhas de café. Neste contexto, entender em nível molecular os mecanismos relacionados à resistência e adaptação na interação planta-praga são de fundamental importância para a obtenção de metodologias inovadoras de controle.

2.3 Métodos de Controle do BMC e Limitações

2.3.1 Controle Químico e o uso de Inseticidas

Historicamente os inseticidas químicos têm consolidado a base do manejo do BMC na produção comercial de café. Diversas classes de inseticidas estão registradas para o uso no controle do inseto, incluindo organofosforados (clorpirifós), neonicotinóides (tiametoxam), diamidas (clorantraniliprole) e derivados de nereistoxina (Cloridrato de cartap). Cada uma dessas classes de ativos atua em alvos fisiológicos específicos do sistema nervoso ou muscular dos insetos (Costa et al., 2020; Omoto; Bernardi; Guedes, 2021). As estratégias de aplicação variam de pulverizações baseadas em calendário ou em intervenções limiars, sendo a otimização do volume de pulverização e da cobertura fatores críticos para a eficácia do uso desta forma de manejo. Ainda assim, aplicações de químicos são parcialmente eficientes, o que induz a necessidade de múltiplas pulverizações, gerando aumento no custo de produção. O uso contínuo, intensivo e prolongado de inseticidas químicos, especialmente do mesmo ingrediente ativo, provoca o favorecimento da seleção de populações resistentes, e intensifica a exposição do meio ambiente e de trabalhadores aos efeitos nocivos adicionais associados aos agrotóxicos (Dantas et al., 2021; Junior et al., 2015; Zampiroli et al., 2020).

O desenvolvimento de resistência a inseticidas em populações do BMC representa uma ameaça significativa à produção sustentável de café. Estudos recentes avaliaram o status de resistência das populações do BMC às principais classes de inseticidas. Leite et al., (2021)

demonstrou que ocorre resistência moderada ao clorantraniliprole em populações de *L. coffeella* para lavouras de café arábica, assim como resistência total em populações testadas ao tiametoxam variando de níveis baixos a moderados. Também há resultados indicando variação geográfica nos perfis de resistência deste inseto, visto a detecção de resistência ao clorpirifós em populações do oeste da Bahia, mas não em populações encontradas em regiões de maior altitude (Leite et al., 2021). A evolução da resistência a organofosforados foi documentada por Fragoso et al., (2003) através de análise de variáveis canônicas, revelando padrões de resistência semelhantes entre populações da região da Zona da Mata Mineira. A frequência de indivíduos resistentes está correlacionada com o número de aplicações de organofosforados e provavelmente envolve a dispersão de genótipos resistentes entre áreas de cultivo de café (Fragoso; Guedes; Ladeira, 2003). Evidências sugerem que a resistência metabólica para o BMC por meio de detoxificação aumentada desempenha um papel significativo, embora a resistência ao sítio-alvo não possa ser descartada (Dantas et al., 2021; Fanela et al., 2020; Leite et al., 2021). Esses achados reforçam a necessidade de estratégias de manejo da resistência, incluindo rotação de inseticidas, misturas e integração com métodos de controle não químicos para diminuir a seleção de populações resistentes.

O manejo integrado de pragas é uma das opções para reduzir os impactos prejudiciais do uso desordenado dos químicos, combinando monitoramento, controle biológico, práticas culturais e uso racional de inseticidas (EPAMIG, 2025; Parra; Reis, 2013). No entanto, a eficácia dessas estratégias depende de conhecimento detalhado da biologia e fisiologia do inseto.

2.3.2 Métodos de controle alternativos aos produtos químicos

O controle biológico representa um componente importante do manejo integrado do BMC, com inimigos naturais incluindo vespas parasitoides, predadores e organismos entomopatogênicos se destacando como fatores de mortalidade natural desta praga (Dantas et al., 2021). Estudos de campo documentaram que a predação de larvas do BMC por vespas aumenta durante períodos de alta abundância da praga, uma vez que os parasitoides são atraídos para as plantações de café pela disponibilidade de larvas hospedeiras (Silva et al., 2022). O uso integrado da diversidade de inimigos naturais do BMC associado a outros controles pode ser importante para fornecer a regulação das populações da praga e aumentar a eficiência do controle natural (Fernandes et al., 2009).

Substâncias químicas naturais como os semioquímicos são outra abordagem que pode ser utilizada em estratégias visando a manipulação do comportamento natural dos insetos. No caso do BMC, feromônios como 5,9-dimetilpentadecano e 5,9-dimetilhexadecano já foram utilizados para atrair os insetos para a armadilha em experimentos de campo com o objetivo de reduzir os níveis populacionais e diminuir danos nas plantações (Lima et al., 2008).

Bioprodutos gerados a partir de fontes vegetais também configuram uma alternativa vantajosa em relação ao uso de pesticidas sintéticos convencionais. Extratos aquosos de plantas, óleos essenciais, moléculas com atividade potencial presentes em fungos e bactérias e materiais naturais com características pesticidas são fontes de obtenção de biomoléculas com potencial para o controle biológico (Dantas et al., 2021; Isman, 2020; Mendonça et al., 2006). Extratos vegetais como de *Toona ciliata*, *Trichilia casaretti*, *T. pallida*, *T. catigua*, *Chenopodium ambrosioides* e *Azadiracta indica* já foram avaliados quanto a mortalidade provocada em ovos, larvas e pupas de BMC, apresentando resultados promissores (Fanela et al., 2020). A viabilidade das larvas contra incidência direta de extratos de *Achillea millefolium*, *Citrus limon*, *Glechoma hederacea*, *Malva sylvestris*, *Mangifera indica*, *Mentha spicata*, *Mirabilis jalapa*, *Musa sapientum*, *Ocimum basilicum*, *Petiveria alliaceae*, *Porophyllum ruderale*, *Psidium guajava*, *Rosmarinus officinalis*, *Roupala montana*, *Sambucus nigra* e *Tropaeolum majus* também já foi reportada na literatura (Alves et al., 2013). Extratos vegetais promovem menor toxicidade, maior especificidade em organismos-alvo, baixo risco toxicológico e redução de custos de manejo (Lima et al., 2023; Madasamy et al., 2023).

Já os nanomateriais têm diversas aplicações na agricultura, permitindo a melhor permeabilidade de diversos compostos bioativos. A combinação de bioprodutos associados a nanotecnologia podem aumentar a eficácia de entrega e contornar as limitações dos métodos convencionais. A produção de nanobioprodutos a partir do encapsulamento contribui para a estabilidade, solubilidade, permeabilidade e especificidade da liberação do biopesticida de forma sustentável (Krishnamurthy; Veerasamy; Karruppaya, 2020; Santos et al., 2025).

O melhoramento genético constitui outro componente importante do manejo do BMC. Programas voltados para essa finalidade têm desempenhado papel decisivo no avanço da cafeicultura em diferentes biomas, principalmente a abordagem do melhoramento genético clássico (Dantas et al., 2021). Entretanto, uma das limitações para a obtenção de cultivares resistentes no setor está relacionada a baixa variabilidade genética do café arábica, o que torna a hibridização interespecífica uma estratégia necessária para a incorporação de genes de resistência provenientes de espécies mais tolerantes (Carvalho, 2008). A Siriema AS1 é

atualmente a cultivar propagada por sementes no Brasil com resistência ao BMC (Costa et al., 2025).

Técnicas de engenharia genética aplicadas ao cafeeiro também têm sido exploradas como estratégia para ampliar a resistência dos genótipos de café ao ataque do BMC. As Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão (TIMPS) têm se destacado como ferramentas estratégicas por permitirem modificações genéticas precisas e rápidas, reduzindo o tempo necessário para a obtenção de cultivares superiores (Ariyoshi et al., 2022; Ordonio et al., 2023; Steinbrecher, 2015). Estudos científicos demonstram que a edição gênica via CRISPR/Cas9 já foi aplicada com sucesso em culturas como arroz, milho e tomate, resultando em plantas com maior tolerância a estresses abióticos, resistência a patógenos e melhorias em produtividade (Santoso; Sisharmini; Syafaruddin, 2022). No contexto da cafeicultura, pesquisas têm avançado na caracterização genômica do café e na identificação de genes associados à resistência a pragas e ao estresse hídrico, abrindo caminho para a aplicação direta das TIMPS (Correia, 2021; Vieira et al., 2006). Resultados promissores acerca do desempenho de plantas transgênicas capazes de expressar o gene *cry1Ac* de *Bacillus thuringiensis* contra o ataque de BMC foram descritas por Perthuis et al., (2005), porém sem comprovação evidenciada da tolerância a praga a nível de campo. Estudos transcriptômicos mostram que genes ligados às vias de jasmonato, etileno e compostos fenólicos são diferencialmente expressos em genótipos de plantas de café tolerantes ao bicho-mineiro, indicando alvos potenciais para edição gênica (Cardoso et al., 2014; Correia, 2021; Mondego et al., 2005).

A busca por alternativas de manejo mais sustentáveis exige uma compreensão aprofundada da biologia do inseto, incluindo processos metabólicos, vias de detoxificação e mecanismos adaptativos que sustentam seu desenvolvimento e sobrevivência. A aplicação de abordagens proteômicas e transcriptômicas para identificar proteínas e genes associados à resistência pode fornecer biomarcadores valiosos para o uso no manejo biotecnológico de pragas (Junqueira et al., 2024). Compreender a base molecular da resistência, incluindo as enzimas de desintoxicação específicas e as vias metabólicas envolvidas, é crucial para desenvolver ferramentas diagnósticas e prever padrões de resistência cruzada abrindo caminho para uso de técnicas biotecnológica mais seguras voltadas ao manejo eficaz de pragas (Dastranj; Gharechahi; Salekdeh, 2016; Maghuly; Jankowicz-Cieslak; Bado, 2020).

2.4 Análise Proteômica para descoberta de genes-alvo de BMC

A proteômica abrange o estudo em larga escala de proteínas, incluindo seus níveis de expressão, modificações, interações e funções dentro de sistemas biológicos. O estudo do proteoma tem como objetivo identificar os componentes proteicos e analisar a abundância das proteínas em diferentes condições biológicas, revelando o perfil de proteínas presente em células, tecidos ou organismos sob condições específicas (Cho, 2007; Kellner, 2000; Tao et al., 2011). Esta tecnologia ômica é uma ferramenta poderosa para investigar a expressão diferencial de proteínas em diferentes condições biológicas e estágios de desenvolvimento, como por exemplo, ao longo do ciclo de vida de insetos-praga (Nesatyy; Suter, 2007; Park; Lee, 2007). A caracterização proteômica dos estágios larvais do BMC configura uma análise poderosa capaz de revelar proteínas-chave envolvidas em digestão, detoxificação, estresse oxidativo e metamorfose, fornecendo informações essenciais para o desenvolvimento de novas estratégias de controle, como alvos moleculares para inseticidas mais seletivos ou abordagens biotecnológicas (Dastranj; Gharechahi; Salekdeh, 2016; Yang et al., 2021).

2.4.1 Proteômica *Shotgun*

Sendo uma das abordagens de proteômica *bottom-up*, a proteômica *shotgun*, envolve a digestão enzimática de misturas complexas de proteínas em peptídeos, seguida pela análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa em tandem (LC-MS/MS) (Tao et al., 2011). Essa técnica de análise permite a identificação e quantificação abrangente de proteínas sem a necessidade de conhecimento prévio da composição do proteoma (Fournier et al., 2007). O fluxo de trabalho geralmente inclui extração de proteínas, redução e alquilação das ligações dissulfeto, digestão com tripsina, separação de peptídeos por cromatografia líquida (LC) em fase reversa e análise por espectrometria de massas em série (MS/MS) para sequenciamento de peptídeos e identificação de proteínas (Figura 4) (Thikekar et al., 2023; Yang et al., 2021).

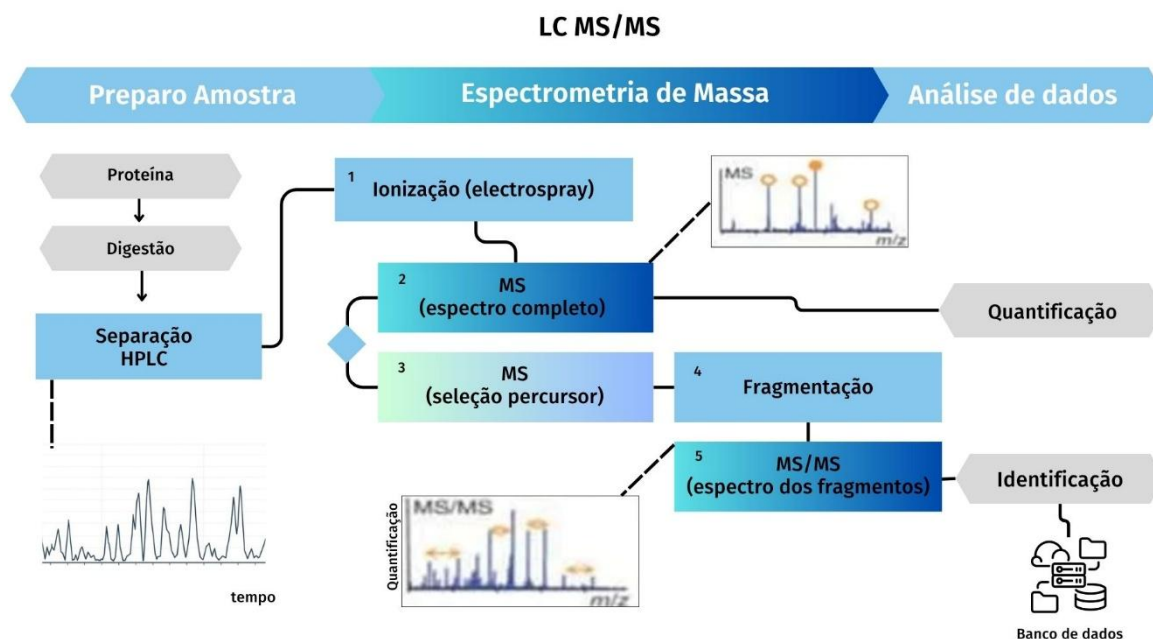


Figura 4. Esquema representativo do fluxo operacional da análise de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série (LC-MS/MS).

A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem representa a principal plataforma analítica para a proteômica moderna (Cho, 2007). A separação por cromatografia líquida (LC) reduz a complexidade da amostra antes da análise por espectrometria de massa (MS), enquanto a espectrometria de massas em tandem (MS/MS) fornece informações da sequência de peptídeos por meio de fragmentação. A espectrometria de massas é baseada na formação de íons na fase gasosa que podem ser detectados pela sua razão massa/ carga (m/z). Métodos comuns de ionização incluem ionização por eletropulverização (*electrospray* - ESI) e dessorção/ionização a laser assistida por matriz (MALDI). As técnicas de MS/MS envolvem dois estágios de MS com uso de analisadores de massas conectados em série (tandem), onde o isolamento do íon precursor e sua fragmentação são realizados no primeiro precursor e os íons produtos são separados por sua razão/massa carga no analisador subsequente (Emidio et al., 2015; Fournier et al., 2007). Os analisadores de massa variam em resolução, precisão de massa e velocidade de varredura, com instrumentos de alta resolução, como sistemas *Orbitrap* e Q-TOF, permitindo identificação confiável de proteínas e quantificação precisa (Emidio et al., 2015; Thikekar et al., 2023).

2.5 Aplicações da Proteômica para o controle de Insetos-Praga

Abordagens proteômicas têm sido cada vez mais aplicadas para compreender a biologia, e a fisiologia inerentes a insetos-praga. O avanço na investigação de organismos mais complexos, de tecidos à corpo inteiro, é resultado do desenvolvimento de tecnologias de sequenciamento de genomas de alto rendimento e da melhoria nas técnicas proteômicas. O estudo proteômico aplicado diretamente a insetos tem sido usado para explorar proteínas em hemolinfa, em componentes cuticulares, na interação inseto-planta, assim como monitoramento da toxicidade de pesticidas, ainda assim, a aplicação mais importante da proteômica de insetos-praga está na identificação de potenciais sítios alvos específicos como enzimas, proteínas receptoras e de sinalização, ou fatores importantes de transcrição (Cho, 2007; Dastranj; Gharechahi; Salekdeh, 2016; Tao et al., 2011).

Apesar da ordem lepidóptera compreender mais de 160,000 espécies, pesquisas genômicas ainda são limitadas principalmente no que tange o grupo de pequenas mariposas (Wright et al., 2026). Contudo, estudos proteômicos já foram conduzidos em algumas espécies do gênero que possuem anotação de genoma, evidenciando notáveis resultados. Em *Helicoverpa armigera*, eletroforese em gel 2D e sequenciamento peptídico MS/MS de novo foi utilizado para identificar as proteínas estáveis no lúmen do intestino médio das lagartas, encontrando proteínas ligadas a digestão de carboidratos, proteínas e lipídios, além de proteínas não digestivas, como lipocalina e arginina quinase (Pauchet et al., 2008). Em outro estudo do tecido intestinal de larvas de *H. armigera* alimentadas com clorpirifós a análise proteômica identificou 23 proteínas aumentadas envolvidas na digestão, imunidade, resposta ao estresse e desintoxicação (Dawkar et al., 2016). Em *P. xylostella*, a análise proteômica comparativa entre linhagens suscetíveis e resistentes ao *clorantpriliprole* identificou onze proteínas significativamente diferentes, com predominância de proteínas relacionadas ao metabolismo, validando o papel contributivo da *glutathione S-transferase PxGST2L* na resistência metabólica ao químico (Yin et al., 2021). Song et al., (2008) conduziu o estudo do proteoma plasmático de larvas de *P. xylostella* parasitadas por *Cotesia plutellae*, revelando proteínas responsivas ao parasitismo envolvidas na modulação de resposta imune, incluindo proteínas serpin 2, inibidor de protease, quinase de histidina e apolipoforina-III. Proteínas do intestino médio de larvas de *P. xylostella* suscetíveis e resistentes à toxina *CryIAc*, derivada de *Bacillus thuringiensis* (Bt), foram analisadas usando eletroforese bidimensional diferencial em gel (2D-DIGE) e *blotting* de ligantes, identificando proteínas envolvidos na resistência ao Bt como: transportador ABC subfamília G membro 4 (ABCG4), tripsina, proteína de choque térmico 70 (HSP70), H⁺-ATPase vacuolar, proteína de ancoragem *glicofosfatidilinositol* 1 (GAA1) (Xia et al., 2016).

Em *Manduca sexta*, o proteoma da hemolinfa de larvas do quinto ínstar foi analisado por LC-MS, identificando 58 proteínas não redundantes relacionadas a 10 categorias funcionais, incluindo processos de defesa, transporte e metabolismo, armazenamento e metamorfose (Furusawa et al., 2008).

Em relação ao BMC, apesar de sua importância econômica para o setor cafeeiro, estudos ômicos são escassos, e a disponibilidade de dados moleculares é extremamente limitada. O genoma circular mitocondrial completo para *L. coffeella* foi relatado por Santos et al. no ano de 2024 (Santos et al., 2024). Recentemente, o trabalho publicado por Goldberg et al., (2026) disponibilizou o genoma rascunho de *L. coffeella*, com anotação de 17467 genes codificadores de proteínas, possibilitando a caracterização proteômica dos estágios larvais do BMC. A análise proteômica para essa importante praga pode revelar proteínas-chave envolvidas em digestão, detoxificação, estresse oxidativo e metamorfose, além de fornecer informações essenciais para o desenvolvimento de novas estratégias de controle, como alvos moleculares para inseticidas mais seletivos ou abordagens de manejo que empreguem estratégias biotecnológicas.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este estudo teve como objetivo caracterizar e comparar o perfil proteico dos ínstaros L2, L3 e L4 da larva do Bicho Mineiro do Cafeeiro (BMC) (*L. coffeella*), com o intuito de identificar proteínas diferencialmente abundantes e compreender os processos biológicos associados ao desenvolvimento e adaptação do inseto.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar as proteínas produzidas nos ínstaros L2, L3 e L4 do BMC;
- Classificar as proteínas quanto às suas funções moleculares, processos biológicos associados e localização celular;
- Prospectar proteínas e os respectivos genes potencialmente envolvidos no desenvolvimento e na sobrevivência do inseto;
- Validar, por meio de RT-qPCR, os genes candidatos relacionados ao desenvolvimento e à sobrevivência do BMC;
- Identificar genes-alvo para o silenciamento gênico visando o controle do BMC.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta do material biológico

Para este estudo, larvas de *L. coffeella* em diferentes instares foram coletadas em folhas de café infestadas mantidas em casa de vegetação. As folhas minadas pela incidência de bicho mineiro foram inspecionadas sob lupa, e as larvas presentes foram removidas com auxílio de pinças. Em seguida, os indivíduos foram separados nos instares L2, L3 e L4 com base em características morfológicas, como tamanho corporal, dimensões da cápsula cefálica e presença de *prolegs* (Figura 5). Larvas do primeiro instar (L1) não foram incluídas na coleta devido à dificuldade de obtenção de amostra em quantidade suficiente para a extração proteica, causado por características como tamanho reduzido e fragilidade do instar. Além disto larvas de primeiro estágio não são responsáveis por danos significativos nas lavouras. Após a triagem, as amostras foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C . Para cada instar, foram obtidas três réplicas biológicas independentes, cada uma contendo em média 50 larvas.

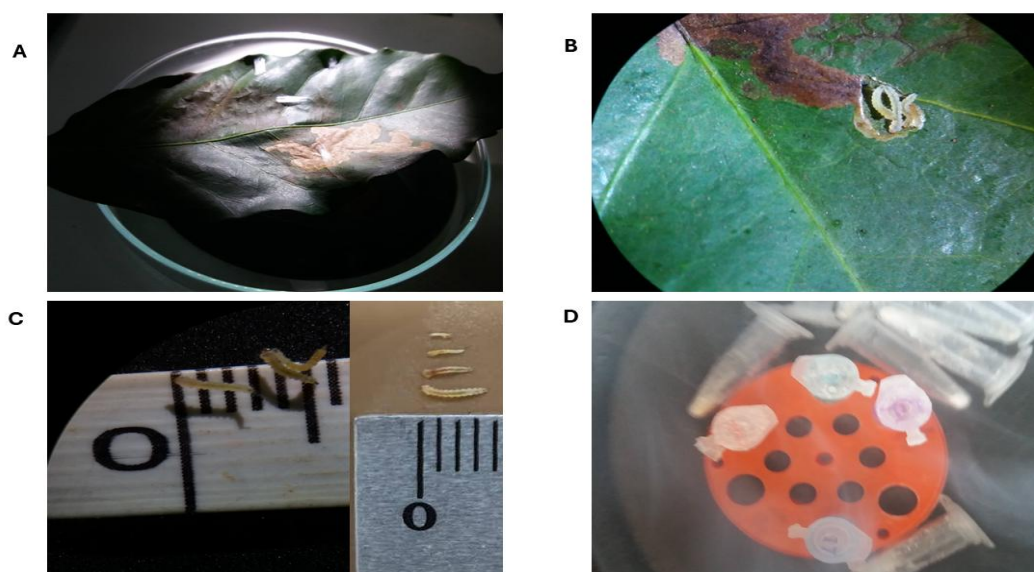


Figura 5. Coleta de larvas de *Leucoptera coffeella* em folhas de café infestadas. (A) Folhas minadas indicando a presença de bicho mineiro provenientes de casa de vegetação. (B) Minas observadas em lupa para a coleta das larvas. (C) Separação dos instares larvais. (D) Congelamento imediato das larvas coletadas em nitrogênio líquido, após a separação. **Fonte:** Acervo pessoal.

4.2 Extração de proteínas totais

A fim de identificar as proteínas envolvidas no desenvolvimento e na sobrevivência do BMC, as proteínas totais das amostras larvais de BMC foram extraídas de acordo com Mot e

Vanderleyden, (1989). As amostras larvais coletadas e separadas nos seus respectivos ínstares foram maceradas em nitrogênio líquido com auxílio de pistilos para microtubos. Para cada ínstar, foram empregadas larvas inteiras organizadas em três réplicas biológicas, sendo cada réplica constituída por um *pool* independente de larvas do mesmo estágio (aproximadamente 50 larvas em cada réplica). Aproximadamente 0,1 g do BMC macerado nos estágios L2, L3 e L4 foram então separadamente homogeneizadas em 750 µL de tampão de extração (0,7 M sacarose, 0,5 M Tris HCl, 30 mM HCl, 50 mM EDTA, 0,1 M KCl e 40 mM DTT). Um volume equivalente de fenol, ajustado para o pH de 8,0, foi incorporado à solução, a qual foi submetida a agitação por 15 min. Em seguida, a solução foi centrifugada a 10.000 x g por 3 min. Após a centrifugação, a fase superior foi transferida para um novo tubo e extraída mais duas vezes com tampão de extração. As proteínas obtidas foram então precipitadas com acetato de amônio 0,1 M em metanol e posteriormente lavadas com acetona a 80%. As proteínas precipitadas foram armazenadas a -20 °C até o uso posterior.

4.2.1 Análise de integridade e quantificação das proteínas totais

A integridade e o perfil das proteínas foram avaliados em um mini-gel de poliacrilamida 10%. A quantificação da concentração de proteínas totais foi realizada utilizando o reagente *Bradford* (BioRad). Para a eletroforese, as amostras foram ajustadas para aproximadamente 40 µg de proteínas e aplicadas no gel com tampão de corrida. A eletroforese foi realizada em tampão Tris-Glicina 1x (20 mM Tris-HCl; 0,192 mM de glicina; e 0,1% de Dodecil Sulfato de Sódio pH 8.3), durante 1h 30 min. Após esse período, o mini gel foi corado com 100 mL de solução de *Comassie* G-250 e após 24 h os perfis proteicos foram visualizados.

4.3 Solubilização e digestão enzimática

Após a extração, as proteínas totais obtidas foram solubilizadas com 60 µL de bicarbonato de amônio a 50 mM (NH₄HCO₃ pH 8,5). Posteriormente foram acrescentados 25 µL de RapiGestTM SF – Waters (0,2% v/v), em sequência as amostras foram aquecidas a 80 °C por 15 min sob agitação e foram acrescentados 2,5 µL de *dithiothreitol* (DTT) a 100 mM. Em seguida, as amostras foram aquecidas a 60 °C por 30 min e, após esse período, permaneceram à temperatura ambiente até o resfriamento. Posteriormente foram acrescentados 2,5 µL de iodoacetamida 300 mM e então, as amostras foram deixadas à temperatura ambiente por 30 min ao abrigo da luz.

Para a hidrólise das proteínas totais, foram acrescentados 40 µL de solução contendo 200 ng de tripsina (20 µg solubilizada em 400 µL de bicarbonato de amônio 50 mM), em seguida as amostras foram incubadas em estufa a 37 °C por 19 h. Após esse período, foram adicionados 10 µL de ácido trifluoracético 5% (TFA) e as amostras foram homogeneizadas e incubadas novamente a 37 °C por 1,5 h. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 400 g a 10 °C por 30 min, em seguida o sobrenadante foi transferido para um novo tubo e seco em centrifuga a vácuo por 1,5 h.

4.4 Preparo de amostras para LC-MS/MS

As amostras de peptídeos foram dessalinizadas conforme descrito por Rappsilber et al., (2007), com modificações. Foram preparadas colunas usando pontas P200 e discos C18. Cada ponta contendo um disco foi lavada com 20 µL de metanol e centrifugada a 2000 ×g por 30 s. A resina POROS® R2 foi diluída no solvente B (0,1% de ácido fórmico/98% de acetonitrila) e adicionada às pontas. Cada coluna foi lavada com o solvente A (0,1% de ácido fórmico/2% de acetonitrila), seguida de centrifugação a 2000 ×g por 30 s. Os peptídeos, solubilizados no solvente A, foram inseridos nas colunas e centrifugados novamente. Finalmente, as amostras dessalinizadas foram eluídas com 20 µL do solvente B e secas a vácuo. Posteriormente, as amostras foram solubilizadas com 0,1% de ácido fórmico. A quantificação dos peptídeos foi realizada usando um Fluorômetro *Qubit* (Invitrogen), em conformidade com as instruções do fabricante. Posteriormente, os peptídeos foram submetidos à análise ESI LC/MS. Foram analisadas três réplicas biológicas para cada ínstar larval.

4.5 Análise LC MS/MS

As proteínas extraídas das diferentes fases foram submetidas à análise por LC-MS/MS. Após preparo, os peptídeos obtidos foram injetados em sistema cromatográfico *Dionex Ultimate 3000 RSLCnano* (UPLC, Thermo, USA), com uma coluna de aprisionamento (*trap column*) de 3 cm x 100 µm contendo partículas de C18 5 µm, 120 Å (ReposilPur, Dr. Maich GmbH), conectada em série a uma coluna analítica de 24 cm x 75 µm com partículas de C18 3 µm, 120 Å (ReposilPur, Dr. Maich GmbH). As amostras foram injetadas de forma a se obter 2 µg na coluna e então foram submetidas a gradiente linear de eluição entre solventes A (ácido fórmico 0,1% em 2% acetonitrila/água) e B (ácido fórmico 0,1% em 80% acetonitrila/água) na proporção de 2% B a 35% B.

As frações obtidas do sistema cromatográfico foram diretamente eluídas para a fonte de ionização de um espectrômetro de massas *Orbitrap Elite* (Thermo, EUA) configurado para operar no modo DDA (aquisição dependente de dados). Os espectros MS1 foram obtidos no Analisador *Orbitrap* (resolução 120000 e faixa m/z entre 300 e 1650). Os 15 íons mais intensos acima do limite de intensidade de 3000 foram fragmentados no *Orbitrap* HCD (resolução 15000), resultando nos espectros MS2. A reanálise dos íons fragmentados foi inibida pela exclusão dinâmica, promovendo a identificação dos peptídeos menos abundantes.

4.6 Identificação e quantificação de proteínas

Os dados espectrais foram analisados utilizando o *software Peaks*, versão 7.0 (Bioinformatics Solutions Inc., EUA). O banco de dados utilizado para a análise baseada em homologia a organismos semelhantes foi obtido do repositório *Uniprot* em abril de 2024, filtrado para a espécie *P. xylostella*, tax. ID 51655. Esta análise foi chamada de Proteômica 1. Para a análise proteômica complementar, chamada de Proteômica 2, o banco de dados usado foi restrito aos transcritos alinhados com a sequência do genoma do Bicho Mineiro (Taxon ID 1178041). O genoma anotado pode ser encontrado em *L. coffeella* (ID 832598) - BioProject - NCBI. Os transcritos estão depositados no Repositório Embrapa Redape com acesso em <https://www.redape.dados.embrapa.br/dataset.xhtml?persistentId=doi:10.48432/HTKLJ4> (Martins et al., 2022). A análise foi realizada com base em parâmetros estabelecidos para o pareamento de espectro-peptídeo (PSM) e sequenciamento de novo. Foram seguidos os parâmetros estabelecidos como: tolerância para massa do precursor de 10 ppm, fragmentos de 0,05 Da, tolerância de até 2 clivagens perdidas, carbamidometilação de cisteínas como modificação fixa e oxidação de metionina como modificação variável. A busca foi realizada para encontrar modificações no banco Unimod baseadas em padrões de fragmentações, bem como mutações pontuais. O programa *Progenesis QI for Proteomics* (Waters, EUA) foi utilizado para a análise de quantificação, do alinhamento dos cromatogramas, da quantificação das áreas dos picos extraídos (XIC – *extracted ion chromatogram*), da normalização e da análise estatística (ANOVA) dos eventos MS1. As análises estatísticas foram realizadas considerando como reguladas as proteínas com valor ANOVA de *P-valor* <0,05. Estas proteínas foram submetidas à análise multivariada de PCA e agrupadas de acordo com seus perfis de abundância relativa.

Após a identificação e quantificação das proteínas, a análise de ontologia gênica (GO) foi conduzida utilizando o banco de dados *UniProt*, com o objetivo de determinar os processos

biológicos, funções moleculares e localizações celulares associados a cada proteína. Os termos GO obtidos foram organizados em categorias conforme suas anotações funcionais. Adicionalmente, as plataformas *NCBI Blast* (*Basic Local Alignment Search Tool*; <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), *REVIGO* (*Redundancy Visualization and GO*; <http://revigo.irb.hr>), *KEGG* (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*; <https://www.genome.jp/kegg>) e *STRING* (*Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins*; <https://string-db.org>) foram empregadas para complementar e validar o agrupamento das funções e dos processos moleculares atribuídos às proteínas analisadas. As análises foram realizadas utilizando as configurações padrão do software.

4.7 Análise Estatística

A aquisição de dados foi realizada com três réplicas independentes. A identificação de proteínas foi considerada significativa com uma taxa de descoberta falsa positivo menor que 1% ($FDR < 1\%$). A análise de componentes principais (PCA) foi conduzida usando o *software Progenesis®* para avaliar a homogeneidade entre condições e réplicas. Proteínas diferencialmente reguladas foram identificadas usando um teste ANOVA, com significância estatística definida como $P < 0,05$.

4.8 Isolamento de RNA total e Síntese de DNA Complementar (cDNA)

O RNA total foi purificado usando o método *Trizol®* (*Invitrogen™, EUA*), de acordo com o protocolo otimizado descrito por Nascimento et al., (2025). A quantificação foi realizada utilizando um espectrofotômetro *NanoDrop®* (*ND-1000 UV-Vis, ThermoFisher™, EUA*). As amostras foram analisadas em gel de agarose desnaturante (1% de agarose; tampão $1 \times TAE$), pré-corado com brometo de etídio ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$), para garantir a integridade do RNA isolado. O RNA extraído foi tratado com a enzima *Turbo® DNase* (*Ambion™, EUA*), para eliminar a possibilidade de contaminação por DNA genômico. Subsequentemente, $2 \mu\text{g}$ de RNA tratado foram utilizados na síntese de cDNA, que foi realizada utilizando o Sistema de Transcrição Reversa *GoScript®* (*Promega™, EUA*). O cDNA resultante foi armazenado a -20°C para uso futuro em reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qRT-PCR).

4.9 Análise RT-qPCR

A análise da expressão relativa por RT-qPCR baseada na detecção de *SYBR Green* foi projetada para as análises da expressão de dois genes selecionados a partir da Proteômica 1, e

cinco genes selecionados a partir do estudo proteômico realizado por meio do banco de dados predito de *L. coffeella* (Proteômica 2) (Tabela 1). A seleção dos genes foi realizada com base em quatro critérios principais. Foram considerados os processos biológicos associados às proteínas identificadas, priorizando aqueles relacionados a funções essenciais ao desenvolvimento, fisiologia e sobrevivência do inseto. Também avaliou-se a magnitude da variação da expressão gênica, selecionando genes com alteração significativa entre os ínstaes (FC > 2). Também foi considerado o potencial de aplicação biotecnológica, escolhendo-se genes com potencial para o desenvolvimento de uma tecnologia de controle molecular. Por fim, a escolha também foi baseada em genes com suporte proteômico robusto, que foi definido pelo número de peptídeos utilizados para identificação de cada proteína (Pep. Count > 2), garantindo maior confiabilidade na detecção.

A amplificação dos genes selecionados foi realizada utilizando sequências de cDNA, com *primers* específicos projetados usando o *software PrimerQuest™ (Integrated DNA Technologies, Inc.)*. A ausência de produtos não específicos foi avaliada utilizando o *software OligoAnalyzer 3.1*. Para os parâmetros de condições de reação, definiu-se 50 mM para *Monovalent Salt* (Na⁺), 200 nM para *Primer DNA Concentration*, 3 mM para *Divalent Salt* (Mg⁺⁺) e 0,8 para *dNTP Concentration*. Nos parâmetros relativos aos critérios de *primer*, admitiu-se temperatura de *melting* (T_m) entre 58 °C e 62 °C, tendo temperatura ótima em 60 °C; no conteúdo GC admitiu-se valores de 30% a 55%, com valores ótimos em 50%; para o tamanho do primer admitiu-se valores entre 18 e 22 pb, com valor ótimo em 20 pb. No tamanho de *amplicon* admitiu-se valores entre 130 e 150 pb.

As análises de RT-qPCR foram realizadas de acordo com Santos et al., (2018), em microplacas de 96 poços, em um Sistema *QuantStudio™ 1* de PCR em Tempo Real (*Applied Biosystems™, EUA*), usando um sistema de detecção *SYBR™ Green*, em conformidade com as instruções do fabricante. A quantificação da amplificação dos cDNAs foi alcançada adotando-se o método de expressão quantitativa relativa. Para determinar a eficiência da PCR e o valor de C_q, os dados brutos de fluorescência de cada ensaio foram importados para o *software Real-time PCR Miner*. A análise da expressão gênica foi conduzida utilizando o *software REST 2009 (Relative Expression Software Tool)* em conformidade com Pfaffl et al., (2002), que permitiu comparações entre grupos e avaliação estatística dos níveis relativos de expressão. A normalização da expressão relativa foi realizada utilizando os genes de referência: Proteína Ribossomal L10 (*RPL10*) e Proteína Ribossomal L18 (*RPL18*) (Goldberg et al., 2026).

Tabela 1. Informações gerais dos alvos selecionados para análise de expressão gênica de *Leucopetra coffeella*. Os primers para cada gene selecionado foram desenhados em sequências *forward* (F) e *reverse* (R), considerando a temperatura de *melting* (TM) entre 58 e 62 °C, tamanho do *amplicon* entre 130 e 150 pares de base (bp) e eficiência acima de 75%. Os genes referência utilizados foram as proteínas ribossomais L10 e L18.

Gene	Anotation/Protein name	Forward Primer (5' to 3')	TM (°C)	Reverse primer (5' to 3')	TM (°C)	Amplicon	Primer Efficiency (%)
A0A8S4DP06 (P06)	hypothetical protein (<i>Plutella xylostella</i>)	CGCTCTCTCACTGTTCAAG	59,8	CGTAGCGGTGCTTCATAAT	59,9	134	94,5
A0A8S4GEK1 (EK1)	hypothetical protein (<i>Plutella xylostella</i>)	CCAGTGAAATCTGCCTGAA	59,8	GCTGCTGATGTCGTTGAT	60	140	-
g32592.	protein lethal(2)essential for life-like (<i>Colias croceus</i>)	AGGCAGACAAGGACAAATAC	59,9	GAATCCGTGGTCTCTTTC	60,1	139	82,8
g9534.	lethal(2) giant larvae protein isoform X1 (<i>Manduca sexta</i>)	CCAAACCGAGAACCAGTATT	59,9	ACCTCACAGAGCCATCTT	60,2	131	83,7
g34147.	basic juvenile hormone-suppressible protein 1-like (<i>Plutella xylostella</i>)	GTGACCTACATCGACGAATAC	59,8	CTTGAAGGGCTGGTTGTT	59,9	132	80
g5460.	protein lethal(3)malignant blood neoplasm 1 (<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>)	CAAGTCCAAGGTCAAGACAA	60	CACTCCGTCAGCAGTTATG	59,9	147	78,1
g34086.	synapse-associated protein of 47 kDa isoform X3 (<i>Bicyclus anynana</i>)	ACAGAGAAGAGTTCCCAAGA	60,2	CTGCCACCACTTCGTATTC	61,8	138	84
RPL10*	Ribosomal protein L10	GGTTTGAACAAAGCCGGTAAAT	62,2	ACACAAGGAAGTTGATGGACAA	62,5	-	81,5
RPL18*	Ribosomal protein L18	TACTCGTGAAGGTTTGATTGCT	62,3	GGTCAAACGTCAAGATTCACC	61,9	-	79,9

*Genes referência

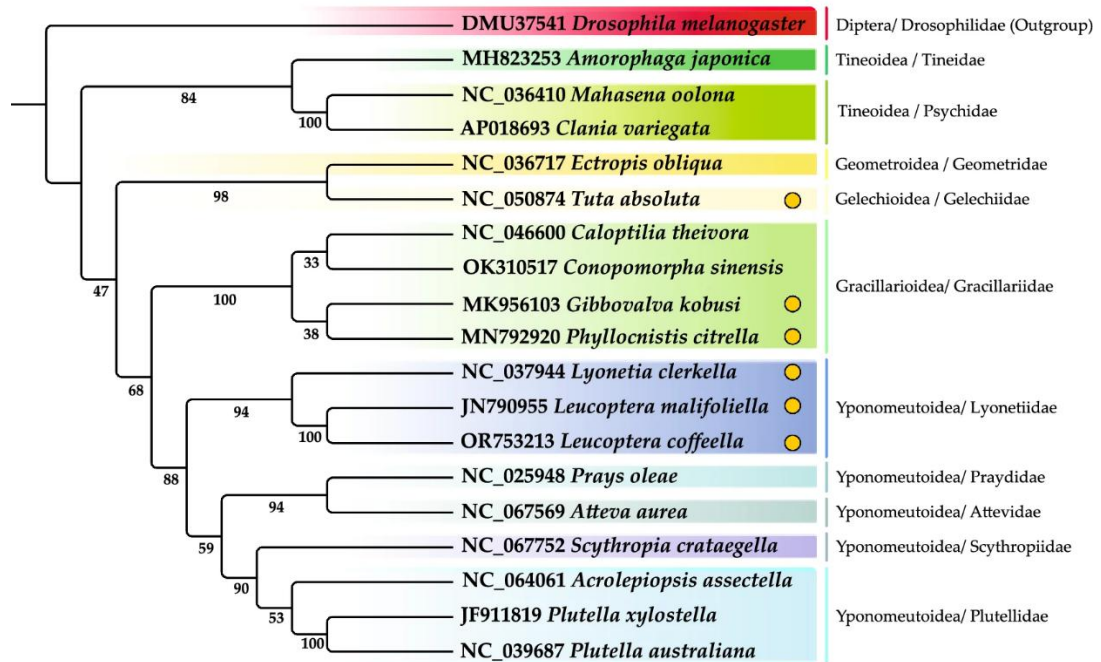
5. RESULTADOS

Neste estudo, investigou-se as proteínas envolvidas no crescimento e na sobrevivência do BMC, em diferentes fases de desenvolvimento larval. A identificação do proteoma para os estágios larvais L2, L3 e L4 foi realizada através duas análises. Na primeira análise (Proteômica 1), as proteínas foram identificadas por homologia com o banco de dados de *P. xylostella*, enquanto na segunda abordagem (Proteômica 2), as identificações foram feitas usando as proteínas anotadas preditas a partir dos bancos de dados de genoma (ID 832598) e transcriptoma disponíveis para *L. coffeella* (Martins et al., 2022).

5.1 Proteômica 1 – Análise proteômica por homologia utilizando o banco de dados de *P. xylostella*

O perfil proteico do BMC foi traçado com base em *matches* peptídicos a regiões conservadas de proteínas homólogas em *P. xylostella*. As evidências filogenéticas indicam que *L. coffeella* e *P. xylostella* compartilham um ancestral comum dentro da superfamília Yponomeutoidea. A árvore filogenética apresentada na Figura 6, construída por Santos et al. (2024), posiciona o BMC no clado Lyonetiidae. Embora *P. xylostella* pertença à família Plutellidae, ambas as espécies estão inseridas na mesma superfamília, o que as torna filogeneticamente mais próximas entre si do que à organismos modelo amplamente utilizados, como *Drosophila melanogaster*. Mesmo lepidópteros clássicos utilizados como modelos, como *Manduca sexta* e *Bombyx mori*, apresentam maior distância evolutiva, uma vez que pertencem a uma superfamília distinta (Bombycoidea).

(A)



(B)

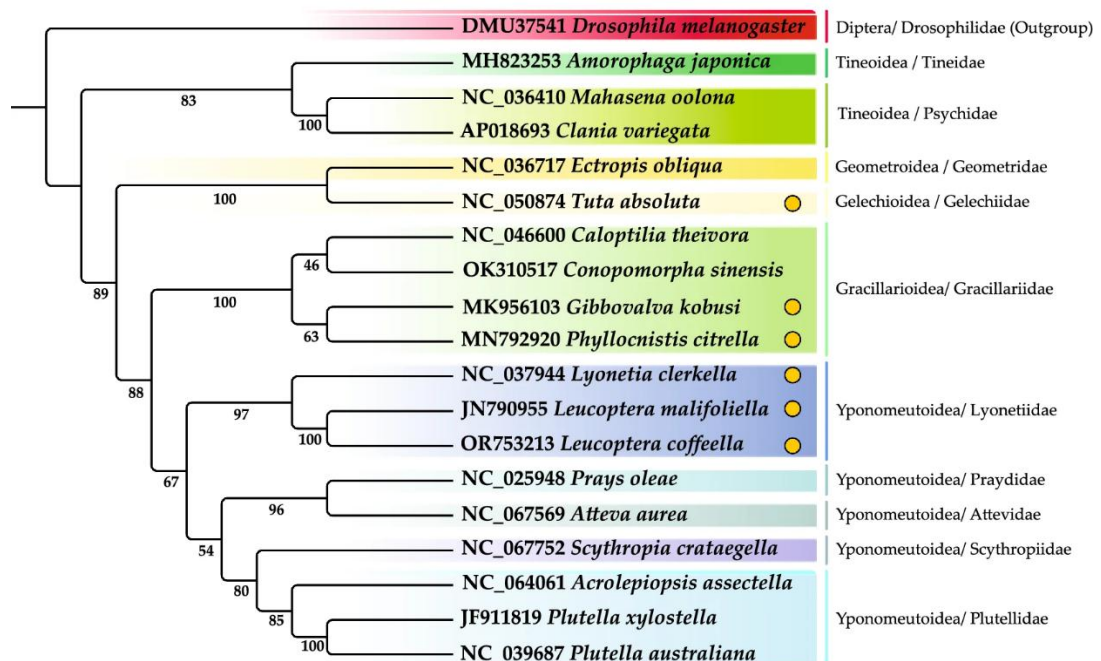


Figura 6. Árvores filogenéticas de *Leucoptera coffeella* obtidas pelo método de Máxima Verossimilhança usando 13 genes codificadores de proteínas do genoma mitocondrial concatenados com dados de (A) sequências de nucleotídeos e (B) sequências de aminoácidos. Os valores de *bootstrap* são indicados em cada ramo. O círculo amarelo indica os organismos lepidópteros minadores de folhas. **Fonte:** Santos et al., (2024).

Deste modo, esta análise foi realizada a partir da identificação de peptídeos gerados pela digestão enzimática das proteínas extraídas das larvas de BMC que foram comparados com sequências conservadas de proteínas anotadas no banco de *P. xylostella*. Esta análise resultou na detecção de 6.940 sequências peptídicas e, a partir delas, 1.027 proteínas inferidas com base nos peptídeos correspondentes.

Entre as três fases avaliadas (L2, L3 e L4), foram caracterizadas 141 proteínas diferencialmente abundantes (DAPs), considerando os critérios de $\text{protFDR} = 1\%$, $\text{minPep} = 2$ e $\text{pepFDR} = 0,1\%$. A robustez da análise e a variabilidade biológica das amostras foram analisadas pelo agrupamento das réplicas e pela distinção entre as condições experimentais por meio da Análise de Componentes Principais (PCA). Os resultados evidenciaram a separação nítida entre os grupos nas três condições avaliadas, tanto através do distanciamento entre os grupos observado na Figura 7, quanto pela clusterização consistente das réplicas.

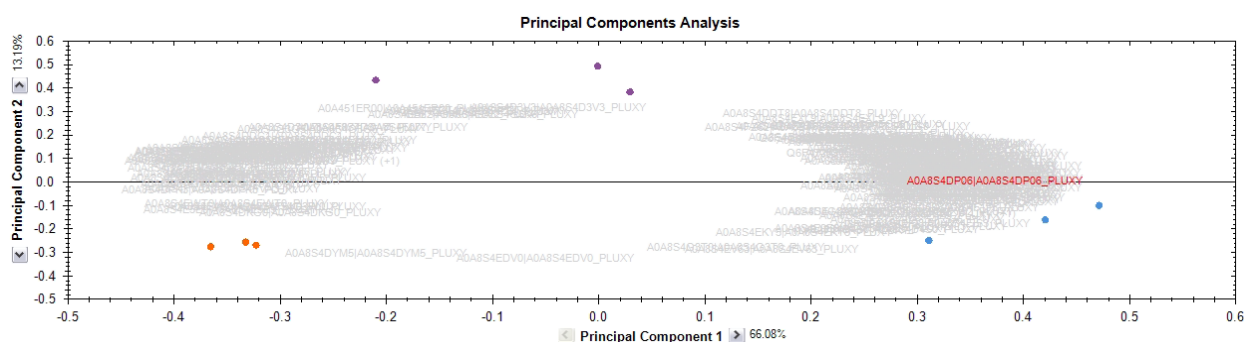


Figura 7: Análise de Componentes Principais (PCA) mostrando o agrupamento das réplicas biológicas e a distinção entre as condições experimentais. A cor cinza indica cada proteína diferencialmente abundante identificadas na análise e os pontos coloridos indicam a posição de cada amostra analisada. As cores representam as condições e pontos da mesma cor indicam réplicas. Azul = L2; roxo = L3; laranja = L4.

A análise do perfil de abundância das 141 DAPs evidenciou uma divisão em dois grandes grupos proteicos, cada um composto por proteínas que apresentam padrões de comportamento semelhantes ao longo das fases avaliadas. Esses padrões podem ser observados na Figura 8, na qual os grupos são dispostos em *clusters*. Esta representação evidencia a consistência do comportamento proteico dentro de cada grupo, destacando a similaridade das respostas nos grupos proteicos ao longo das diferentes fases larvais.

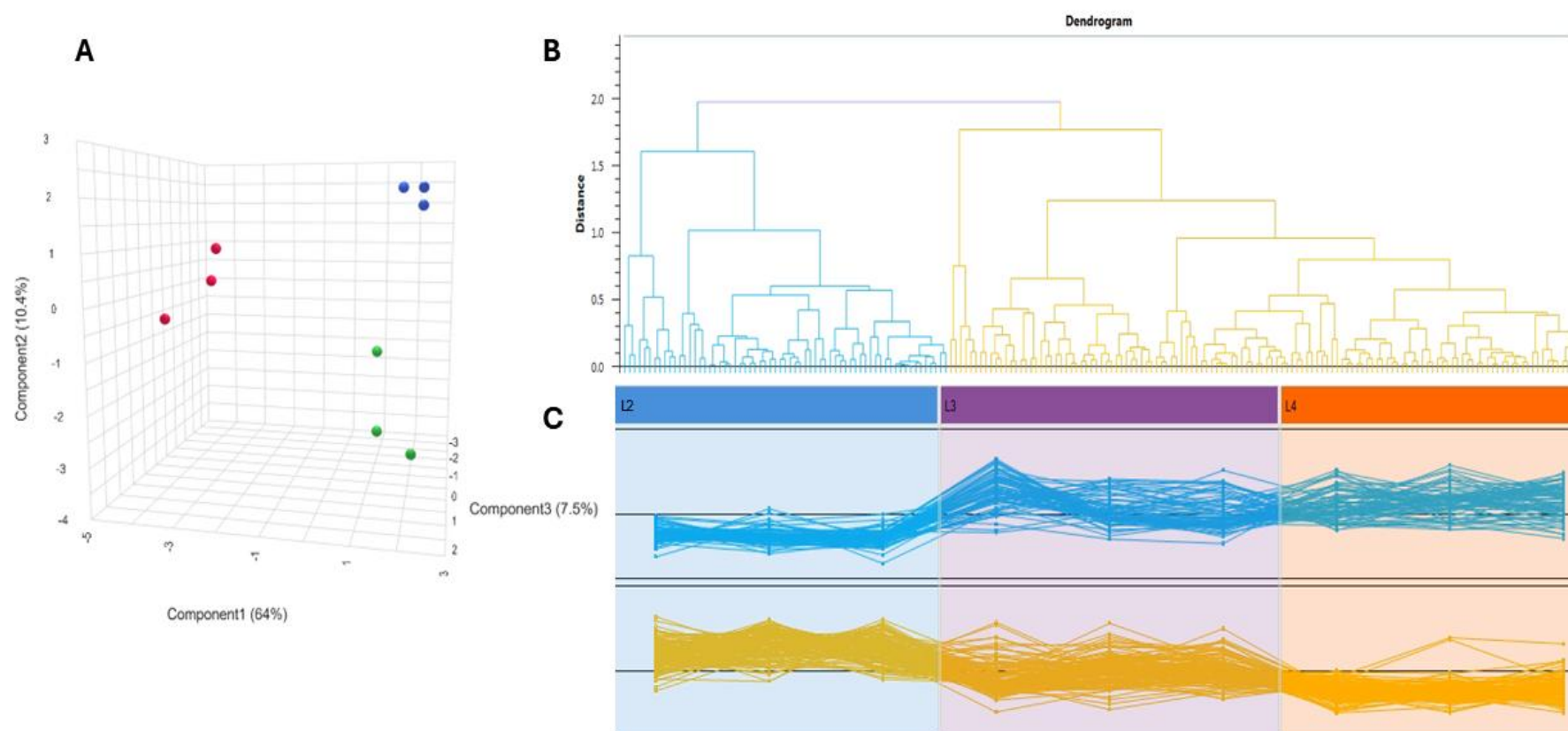


Figura 8: Análises de comportamento proteico entre as fases analisadas. **A-** 3D sPLS-DA mostrando a formação de grupos entre as réplicas e diferenciação entre condições relacionados em três eixos de componentes principais. O eixo x corresponde ao Componente 1 (64% de representatividade dentro do conjunto), no eixo y o Componente 2 (10,4%) e no eixo z o Componente 3 (7,5%). Os pontos vermelhos indicam as réplicas amostrais de L2, verde representam as réplicas de L3 e azul representam as réplicas do instar L4. **B-** Dendrograma mostrando a formação de grupos de proteínas de acordo com seus perfis de abundância. As cores dos grupos (*clusters*) correspondem às cores dos perfis de abundância relativa mostrados em C. **C-** Perfis de abundância relativa de proteínas agrupadas. A coluna azul corresponde a fase L2, roxa corresponde a L3 e laranja corresponde a L4.

O padrão de regulação das DAPs nas fases de desenvolvimento larval foi observado pelo agrupamento das condições e dos padrões de abundância normalizada relacionados diretamente no Mapa de correlações (*Heatmap*), considerando cada proteína presente em cada réplica biológica (Figura 9). Essa análise demonstra a reprodutibilidade experimental. A análise das comparações entre pares de condições foi realizada utilizando o teste *post-hoc* de *Tukey*. Observou-se que a comparação entre as fases L2 e L4 apresentou o maior número de proteínas identificadas, além de evidenciar a maior divergência nos padrões de regulação proteica. Esse resultado indica que essas fases representam os estágios mais contrastantes do desenvolvimento larval no que se refere à dinâmica proteômica. Este comportamento é compatível com o fato de as fases apresentarem estágios morfológicos mais distintos ao longo do desenvolvimento larval, o que pode contribuir para a amplitude das diferenças proteômicas detectadas.

A análise comparativa entre as fases L2 e L4 revelou 102 DAPs, das quais 77 apresentaram abundância relativa aumentada e 25 mostraram abundância relativa diminuída (Tabela 2). Quando a fase L2 foi comparada com a fase L3, os resultados mostraram 24 DAPs, incluindo 8 proteínas aumentadas e 18 diminuídas (Tabela 3). Por fim, em relação a fase L3 comparada com a fase L4, os resultados mostraram 13 DAPs, incluindo 12 proteínas aumentadas e 1 diminuída (Tabela 4). A quantidade de proteínas identificadas em cada comparação pode ser visualizada na Figura 10, que apresenta esses dados em um gráfico de barras comparativo.

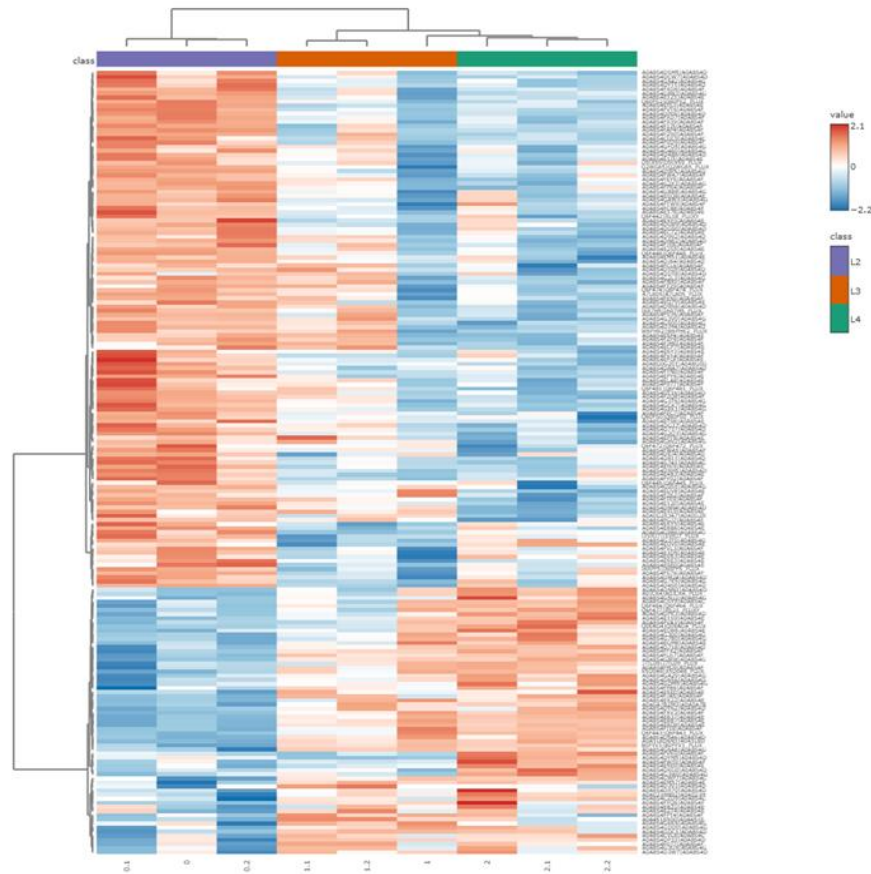


Figura 9: Mapa de correlação (*Heatmap*) dos padrões de abundância normalizados e das condições de agrupamento para o conjunto completo de proteínas reguladas. Roxo= L2; vermelho= L3; verde = L4. Tons de vermelho indicam correlação positiva, tons de azul, correlação negativa.

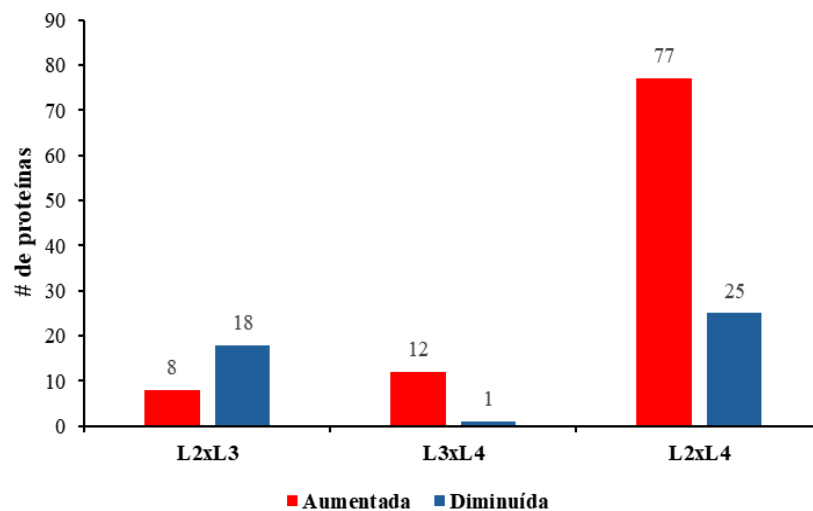


Figura 10. Quantidade de proteínas diferencialmente abundantes (DAP) identificadas nas três comparações entre os ínstares de *Leucoptera coffeella* na análise proteômica 1. As barras em vermelho representam o número de proteínas com abundância aumentada, enquanto as barras em azul indicam proteínas com abundância diminuída em cada comparação.

Tabela 2. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, nos estágios de desenvolvimento L2 e L3. As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L2 em relação a L3, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L2 quando comparadas a L3.

ID proteínas aumentadas (UniProt)	Pep. count	Score	Anova	FC	Descrição	GO ID	Processos Biológicos	Função Molecular	Componente Celular
A0A8S4FY02	11	561.41	7,25E+14	1,65	Hypothetical protein	-	Creatinase/aminopeptidase PA2G4-like	DNA-binding domain	Ribosome assembly
A0A8S4FVL3	3	107.05	1,04E+14	1,59	Peptidylprolyl isomerase	-	Potein folding	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity	Sarcoplasmic reticulum membrane
A0A8S4DRH5	2	105.86	1,68E+14	2,76	Hypothetical protein	-	Muscle contraction and regulation of enzyme activity	Calcium ion binding	Myosin II complex
A0A8S4FS76	52	3746.6	1,75E+14	1,44	Tubulin beta chain	GO:0000278	Mitotic cell cycle	GTP binding	Cytoplasm
I6RPF5	6	458.51	1,88E+14	1,38	Hypothetical protein	-	Patogen recognition/Immune response regulation	Carbohydrate binding	-
A0A8S4G3T0	2	79.67	3,90E+14	1,64	Fatty acyl-CoA reductase	GO:0035336	Long-chain fatty-acyl-CoA metabolic process	Reductase activity	Membrane
A0A8S4EV63	7	293.49	4,48E+14	1,26	Hypothetical protein	GO:0006412	Translation	RNA binding	Cytosolic large ribosomal
A0A8S4G886	5	182.58	4,48E+14	1,39	Glucosidase II subunit alpha	GO:0005975	Carbohydrate metabolic process	Carbohydrate binding	-
ID proteínas diminuídas (UniProt)	Pep. count	Score	Anova	FC	Descrição	GO ID	Processos Biológico	Função Molecular	Componente Celular
A0A8S4E8D8	23	983.27	4,05E+14	16,57	Hypothetical protein	-	Immune response regulation/metabolic process	Nutrient reservoir activity	-
B0FYV1	2	112.74	6,80E+13	21,02	Storage protein 1 (Fragment)	-	Metamorphosis/ Immuno response	Nutrient reservoir activity	-
A0A0A7BZM3	11	805.01	1,88E+14	2,68	Hypothetical protein	GO:0009408	Response to heat	Unfolded protein binding	Cytoplasm
A0A8S4G6A8	3	105.98	2,87E+14	7,33	ATP synthase subunit gamma, mitochondrial	GO:0071897	DNA biosynthetic process	Proton-transporting ATP synthase activity, rotational mechanism	Proton-transporting ATP synthase complex
A0A8S4D546	3	110.91	3,23E+14	57,13	Hypothetical protein	GO:0006032	Chitin catabolic process	Chitin binding	Extracellular region
X5D048	2	157.01	3,63E+13	7,44	Hypothetical protein	GO:0006749	Glutathione metabolic process	Glutathione transferase activity	-
A0A8S4G3G5	11	734.22	4,29E+14	1,65	Electron transfer flavoprotein subunit alpha	GO:0033539	Fatty acid beta-oxidation using acyl-CoA dehydrogenase	Flavin adenine dinucleotide binding	Mitochondrial matrix
Q6F443	5	337.57	1,18E+14	17,79	Hypothetical protein	GO:0006749	Glutathione metabolic process	Glutathione transferase activity	-
A0A8S4FI18	27	1208.49	1,86E+14	3,82	Hypothetical protein	GO:0006633	Fatty acid biosynthetic process	Fatty acid synthase activity	-
A0A8S4F077	8	417.39	2,13E+14	1,77	Prohibitin	GO:0007005	Mitochondrion organization	-	Mitochondrial inner membrane
A0A8S4GA29	4	338.46	2,38E+14	1,56	Hypothetical protein	GO:0007165	Signal transduction	DNA binding	-
A0A8S4D3W7	5	230.06	2,45E+14	1,66	Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2	-	Fatty acid metabolic process	Oxidoreductase activity	Mitochondrion
A0A8S4EZT4	3	196.33	2,59E+14	1,39	Small monomeric GTPase	-	Small GTPase-mediated signal transduction	GTP binding	Plasma membrane
A0A8S4CVL8	7	421.54	3,98E+14	1,77	10 kDa heat shock protein, mitochondrial	GO:0051085	Chaperone cofactor-dependent protein refolding	Protein folding chaperone	-
A0A8S4GDD0	2	125.95	4,11E+14	3,10	Hypothetical protein	-	UTP biosynthetic process	Aldose reductase activity	Cytosol
A0A8S4EB22	12	431.89	4,25E+14	1,26	Annexin	-	Immune Response Regulation	Calcium ion binding	Cytoplasm
A0A8S4E5E0	8	588.89	4,67E+14	1,86	Nucleoside diphosphate kinase	GO:0006228	UTP biosynthetic process	ATP binding	-
A0A8S4G6K6	3	147.95	4,79E+14	2,64	Hypothetical protein	-	Carbohydrate metabolic process	ATP binding	-

Tabela 3. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, quando comparado os estágios de desenvolvimento L3 e L4. As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L3 em relação a L4, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L3 quando comparadas a L4.

ID proteínas aumentadas (UniProt)	Pep. count	Score	Anova	FC	Descrição	GO ID	Processos Biológicos	Função Molecular	Componente Celular
A0A8S4EXL9	3	134.28	4,84E+14	2,227	UDP-N-acetylglucosamine diphosphorylase	GO:0006048	UDP-N-acetylglucosamine biosynthetic process	UDP-N-acetylglucosamine diphosphorylase activity	-
A0A8S4FCL6	2	76.11	1,03E+14	1,541	Hypothetical protein	-	Oxidative Stress Response	Aldose reductase (NADPH) activity	Cytosol
A0A8S4G8V2	3	140.09	1,34E+14	1,681	Hypothetical protein	-	Lipid metabolism	Serine hydrolase activity	-
A0A8S4DDT8	7	573.98	1,59E+14	1,366	Hypothetical protein	-	Cell division	ATP binding	-
A0A8S4FZ62	3	172.02	1,88E+14	1,837	Hypothetical protein	GO:0006334	Nucleosome assembly	Chromatin binding	Chromatin
A0A8S4EUV8	4	288.67	2,07E+14	2,442	Nucleolar protein 56	GO:0042254	Ribosome biogenesis	SnoRNA binding	Nucleolus
A0A8S4FTZ9	6	422.56	2,15E+14	1,341	Complex I-49kD	GO:0006120	Mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone	NAD binding	Mitochondrial respiratory chain complex I
A0A8S4EPT8	2	108.31	2,35E+14	2,251	Hypothetical protein	GO:0051726	Regulation of cell cycle	ATP binding	Nucleus
D9IX59	16	1044.4	2,70E+13	1,198	14-3-3 protein epsilon	GO:0007346	Regulation of mitotic cell cycle	Phosphoserine residue binding	Cytoplasm
Q6F445	13	678.69	2,84E+14	1,306	60S ribosomal protein L18a	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Ribosome
A0A8S4E5F4	3	95.72	3,02E+14	1,508	Hypothetical protein	GO:1901053	Sarcosine catabolic process	Sarcosine dehydrogenase activity	Mitochondrial matrix
A0A8S4FJM0	2	73.72	3,61E+14	1,656	Threonine--tRNA ligase	GO:0006435	Threonyl-tRNA aminoacylation	ATP binding	Cytoplasm
ID proteínas diminuídas (UniProt)	Pep. count	Score	Anova	FC	Descrição	GO ID	Processos Biológicos	Função Molecular	Componente Celular
A0A8S4EDV0	2	96	3,20E+14	1,724	Hypothetical protein	GO:0006397	Regulate gene expression	mRNA binding	Cytoplasm

Tabela 4. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, quando comparado os estágios de desenvolvimento L2 e L4. As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L2 em relação a L4, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L2 quando comparadas a L4.

ID proteínas aumentadas (UniProt)	Pep. count	Score	Anova	FC	Descrição	GO ID	Processos Biológicos	Função Molecular	Componente Celular
A0A8S4DP06	3	136.1	2,13E+8	2,26	Hypothetical protein	GO:0048666	Neuron development/ actin cytoskeleton organization	Actin filament binding	Cell projection
A0A8S4FVT6	4	157.8	3,66E+9	1,93	Hypothetical protein	GO:0043065	Apoptotic process	ATP binding/threonine kinase activity	Nucleus
A0A8S4E120	2	82.44	7,80E+9	2,79	Hypothetical protein	GO:0006208	Pyrimidine nucleobase catabolic process	Dihydropyrimidinase activity	Cytoplasm
A0A8S4FX39	29	1310	5,63E+14	1,62	Hypothetical protein	GO:0042060	Wound healing/ cytoskeleton organization	Calcium ion binding	Cell projection
A0A8S4EH19	4	272.5	6,40E+14	3,01	Hypothetical protein	GO:0006417	Regulation of translation	RNA binding	Nucleus
A0A8S4GEK1	9	434.7	9,18E+13	3,02	Hypothetical protein	GO:0007399	Nervous system development	mRNA 3'-UTR binding	Nucleus
A0A8S4FZQ8	3	145.9	9,75E+14	2,95	Hypothetical protein	GO:0010468	Regulation of gene expression	RNA binding	Nucleoplasm
A0A8S4FIR9	2	56.92	1,08E+14	9,33	RNA helicase	GO:0010468	Regulation of gene expression	mRNA binding	Nucleolus
Q6F448	15	848.9	1,19E+13	2,00	Large ribosomal subunit protein uL24	GO:0042273	Ribosomal large subunit biogenesis	RNA binding	Cytosolic large ribosomal subunit
A0A8S4GCK7	39	2595	1,82E+14	1,40	Hypothetical protein	GO:0048646	Anatomical structure formation involved in morphogenesis/actin cytoskeleton organization	Actin filament binding	Cytoplasm
I6R7H5	10	607.9	2,07E+14	1,67	ADP/ATP translocase	GO:1901029	Negative regulation of mitochondrial outer membrane	ATP:ADP antiporter activity	/myosin filament
A0A8S4FAP4	2	125.4	2,20E+14	10,3	Hypothetical protein	GO:0040003	Chitin-based cuticle development	Structural molecule activity	Mitochondrial inner membrane
A0A8S4G3T6	7	418.6	2,37E+13	1,88	Hypothetical protein	GO:0007186	G protein-coupled receptor signaling pathway	Signaling receptor complex adaptor activity	Chitin-based extracellular matrix
A0A8S4DN94	3	228.5	2,84E+14	2,36	Hypoxia up-regulated protein 1	GO:0030968	Endoplasmic reticulum unfolded protein response	ATP binding	Cytoplasm
A0A8S4E2S5	5	308.1	3,79E+13	1,82	Large ribosomal subunit protein eL33	GO:0042273	Ribosomal large subunit biogenesis	Structural constituent of ribosome	Endoplasmic reticulum chaperone complex
A0A8S4D9P5	11	671.6	4,14E+14	1,53	Hypothetical protein	GO:0007015	Cytoskeleton organization	Actin filament binding	Cytosolic large ribosomal subunit
Q60FS2	34	2525	4,19E+14	1,47	Small ribosomal subunit protein RACK1	GO:0001934	Positive regulation of protein phosphorylation	Ribosome binding	Myosin filament
A0A8S4E176	22	1087	4,33E+13	1,67	Hypothetical protein	-	Stress response, and regulation of cell proliferation	Unfolded protein binding	Ribosome
A0A8S4E1Z1	6	342.5	4,74E+14	1,58	RNA helicase	GO:0030154	Cell differentiation/gamete generation	RNA binding	Mitochondrion
A0A8G0G201	39	1547	4,99E+14	1,85	Histone H3 (Fragment)	-	Regulation of gene expression	DNA binding	Nucleus
A0A8S4G3V0	3	173.0	5,39E+14	8,21	Hypothetical protein	-	-	-	Nucleus
A7L805	33	1702	5,58E+14	1,79	Histone H4	GO:0006334	Nucleosome assembly	DNA binding	-
A0A8S4G2Q3	3	131.4	5,77E+14	2,33	Hypothetical protein	-	-	-	Nucleus
A0A8S4G741	3	142.2	5,80E+14	1,87	Hypothetical protein	-	-	RNA binding	Extracellular space
A0A8S4E3D5	47	29971	5,97E+14	1,26	Hypothetical protein	GO:0030154	Cell differentiation/anatomical structure morphogenesis	-	-
A0A8S4GAW3	16	1176	6,52E+14	1,46	Hypothetical protein (Fragment)	-	Actin cytoskeleton organization	-	Myosin complex

A0A8S4DM24	60	4593	6,80E+14	1,23	Hypothetical protein	GO:0055001	Muscle cell development/actin cytoskeleton organization	Actin filament binding	Cell projection
A0A8S4EC72	8	549.6	7,22E+14	1,53	rRNA 2'-O-methyltransferase fibrillar	GO:0000494	Box C/D sno(s)RNA 3'-end processing	RNA binding	Nucleolus
A0A8S4DJ64	2	106.2	8,87E+14	2,39	Hypothetical protein	GO:0019254	Carnitine metabolic process, CoA-linked	Carnitine O-acetyltransferase activity	Peroxisome
A0A8S4DYT1	18	1028	9,12E+14	1,46	60S ribosomal protein L7a	GO:0000470	Maturation of LSU-rRNA	RNA binding	Ribosomal subunit
A0A8S4FNX0	2	111.3	9,56E+14	1,90	Proteasome subunit beta type-3	GO:0043161	Proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process	Beta-ureidopropionase activity	Nucleus
A0A8S4D9R6	5	231.4	1,11E+13	1,80	Hypothetical protein	GO:0032878	Regulation of establishment or maintenance of cell polarity/exocytosis/cortical actin cytoskeleton organization	Syntaxin binding	Cortical actin cytoskeleton
A0A8S4F1J5	4	242.5	1,15E+14	8,37	Hypothetical protein	-	Cuticle Development/actin cytoskeleton organization	-	-
A0A8S4DCW7	4	192.0	1,18E+14	2,30	Kinesin-like protein	GO:0000278	Mitotic cell cycle	ATP binding	Cytoplasm
A0A8S4D811	2	76.08	1,23E+14	2,02	Hypothetical protein	GO:0006405	RNA export from nucleus/transport	Nuclear localization sequence binding	Nuclear pore
A0A8S4G2X3	2	125.9	1,31E+14	3,50	Hypothetical protein	GO:0048172	Regulation of short-term neuronal synaptic plasticity	-	Golgi apparatus
A0A8S4G8N3	2	68.48	1,33E+14	1,77	Hypothetical protein (Fragment)	GO:0007420	Brain development	Cell-cell adhesion mediator activity	Axon
A0A8S4G542	11	432.1	1,43E+14	1,47	Hypothetical protein	-	Response to stress/ homeostasis	ATP binding	Nucleus
Q6F481	6	308.7	1,51E+14	1,88	Large ribosomal subunit protein eL42	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Ribonucleoprotein complex
A0A8S4G2S5	4	285.3	1,63E+14	1,66	Large ribosomal subunit protein eL34	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Ribosomal subunit
A0A8S4FJS6	2	109.8	1,65E+14	3,39	Alpha-galactosidase	GO:0009311	Oligosaccharide metabolic process	Alpha-galactosidase activity	Lysosome
A0A8S4ESQ8	15	1143	1,75E+14	1,42	Polyadenylate-binding protein	-	Translation	Poly(U) RNA binding	Nucleus
A0A8S4FVD9	3	127.9	1,75E+13	11,32	Hypothetical protein	-	-	-	-
Q2WG65	54	4156	1,83E+14	1,38	Heat shock cognate 70	-	-	ATP binding	-
A0A8S4E1I5	3	158.2	1,86E+14	1,84	Hypothetical protein	GO:0010468	Regulation of gene expression	RNA binding	Nucleoplasm
A0A8S4ET98	3	135.0	1,92E+13	1,71	Prolyl endopeptidase	GO:0006508	Proteolysis	Serine-type endopeptidase activity	Cytosol
A0A8S4FC88	6	264.6	1,92E+13	1,62	Proteasome subunit beta	GO:0051603	Proteolysis involved in protein catabolic process	Threonine-type endopeptidase activity	Nucleus
A0A8S4DG37	3	183.3	2,15E+14	1,50	Proteasome subunit alpha type	GO:0006511	Ubiquitin-dependent protein catabolic process	-	Nucleus
A0A8S4FZP8	7	286.5	2,37E+14	8,97	Hypothetical protein	-	-	-	-
A0A8S4DSM5	6	312.3	2,44E+14	2,28	Hypothetical protein	GO:0032259	Methylation	Protein-arginine N-methyltransferase activity	Nucleus
A0A8S4DNA7	5	276.7	2,52E+13	1,43	Hypothetical protein	-	-	ATP binding	-
A0A8S4EFL8	9	632.8	2,56E+12	1,53	Hypothetical protein	GO:0006412	Translation	rRNA binding	Ribosomal subunit
A0A8S4FE50	27	1622	2,57E+14	1,37	40S ribosomal protein	GO:0006412	Translation	rRNA binding	Ribosomal subunit

A0A8S4G460	49	48181	2,64E+14	1,32	ATP synthase subunit beta	GO:0042776	Proton motive force-driven mitochondrial ATP synthesis	ATP binding	Mitochondrial proton-transporting ATP synthase complex
A0A8S4FEC7	2	75.36	2,85E+13	2,07	Hypothetical protein	GO:0010468	Regulation of gene expression	RNA binding	-
A0A8S4DG90	10	586.9	2,92E+14	1,70	Enoyl-CoA hydratase	GO:0006635	Fatty acid beta-oxidation	NAD+ binding	-
A0A8S4CUC9	2	102.2	3,00E+14	1,90	Prefoldin subunit 4	GO:0006457	Protein folding	Unfolded protein binding	Cytoplasm
A0A8S4E8B6	7	717.9	3,31E+14	1,33	Succinate dehydrogenase	-	-	Oxidoreductase activity	Membrane
Q6F442	5	625.0	3,49E+14	1,86	Large ribosomal subunit protein E118	GO:0006412	Translation	RNA binding	Ribosomal subunit
A0A8S4DUB9	29	1721	3,50E+14	1,30	Clathrin heavy chain	GO:0016192	Vesicle-mediated transport	Clathrin light chain binding	Clathrin coat of trans-Golgi network vesicle
A0A8S4FV14	8	335.2	3,50E+14	1,47	Very long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	-	-	Fatty-acyl-CoA binding	Mitochondrial inner membrane
A0A8S4F977	4	232.0	3,54E+14	1,94	Hypothetical protein	GO:0007188	Adenylate cyclase-modulating G protein-coupled receptor signaling pathway	G protein-coupled receptor binding	Heterotrimeric G-protein complex
A0A8S4GFD5	4	237.5	3,63E+14	1,46	Vesicle-fusing ATPase	GO:0043001	Golgi to plasma membrane protein transport	ATP binding	Golgi stack
A0A8S4DAB6	5	200.3	3,64E+14	1,84	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase 48 kDa subunit	GO:0018279	Protein N-linked glycosylation via asparagine	Oligosaccharyltransferase complex	-
A0A8S4FPR4	3	102.4	3,72E+14	1,61	Fumarylacetoacetase	GO:0006572	Tyrosine catabolic process	Metal ion binding	-
Q6F474	9	426.7	4,16E+14	1,66	Large ribosomal subunit protein eL28	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Ribosomal subunit
A0A8S4FV36	8	744.0	4,20E+14	9,04	Hypothetical protein	-	-	-	-
A0A8S4FEY5	2	84.84	4,22E+13	3,51	Hypothetical protein	-	-	Structural constituent of chitin-based larval cuticle	Chitin-based extracellular matrix
W6FHK2	24	1293	4,41E+14	1,55	Hypothetical protein	GO:0007165	Signal transduction	-	Cytoplasm
A0A8S4EXP3	11	831.5	4,43E+14	1,39	T-complex protein 1 subunit delta	-	-	ATP binding	T-complex
A0A8S4FTW9	21	1070	4,56E+14	1,13	Small ribosomal subunit protein eS1	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Ribosomal subunit
A0A8S4ECP7	2	87.96	4,61E+14	11,71	Hypothetical protein	GO:0006032	Chitin catabolic process	ATP binding	Extracellular region
A0A8S4E5E3	2	99.92	4,77E+14	1,70	Dynamamin GTPase	GO:0006897	Endocytosis	GTP binding	Microtubule
A0A8S4G7K5	78	4173	4,79E+14	1,23	Hypothetical protein	-	-	GTP binding	Cytosol
A0A8S4FWA7	9	580.8	4,84E+14	1,47	Small ribosomal subunit protein uS15	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Nucleolus
Q6F472	5	283.1	4,96E+14	2,09	60S ribosomal protein L35	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Ribosomal subunit
A0A8S4FWA5	2	74.65	3,43E+14	1,86	Thioredoxin-dependent peroxiredoxin	-	-	-	-

ID proteínas diminuídas (UniProt)	Pep. count	Score	Anova	FC	Descrição	GO ID	Processos Biológicos	Função Molecular	Componente Celular
A0A8S4G808	5	311.8	2,77E+14	17,20	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3, mitochondrial	-	-	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	Mitochondrial respiratory chain complex I
A0A8S4E837	63	3779	9,83E+14	10,94	Hypothetical protein	-	-	Nutrient reservoir activity	-
A0A8S4FXV3	16	775.1	2,41E+14	25,77	Hypothetical protein	-	-	Nutrient reservoir activity	-
A0A8S4D718	2	104.5	4,74E+14	5,38	Hypothetical protein	GO:0042776	Proton motive force-driven mitochondrial ATP synthesis	Proton-transporting ATP synthase activity	Mitochondrial proton-transporting ATP synthase complex
A0A8S4E5E9	3	107.3	5,23E+14	3,14	Hypothetical protein	-	-	Chitin binding	Extracellular region
A0A8S4G3W0	3	139.6	6,80E+14	3,21	Hypothetical protein	GO:0006508	Proteolysis	Manganese ion binding	Cytoplasm
A0A8S4E1S9	4	331.5	6,92E+14	3,38	Hypothetical protein	GO:0009408	Response to heat	Unfolded protein binding	Nucleus
A0A8S4D6S6	3	136.2	7,87E+14	5,19	Large ribosomal subunit protein eL38	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Ribosomal subunit
A0A8S4FVK0	12	500.3	1,11E+14	1,33	Hypothetical protein	GO:0008202	Steroid metabolic process	Oxidoreductase activity	Membrane
A0A023HN92	9	513.8	1,11E+14	1,84	Hypothetical protein	GO:0006123	Mitochondrial electron transport, cytochrome c to oxygen	Metal ion binding	Mitochondrial intermembrane space
A0A8S4FWT0	2	111.8	1,33E+14	1,86	2-Oxoisovalerate dehydrogenase subunit alpha	GO:0009083	Branched-chain amino acid catabolic process	Oxidoreductase activity	-
A0JCK4	15	658.9	1,38E+14	2,25	Hypothetical protein	GO:0006032	Chitin catabolic process	Chitin binding	Extracellular region
Q6F464	8	750.3	1,90E+14	3,33	40S ribosomal protein S12	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Ribosomal subunit
A0A8S4DR70	3	188.7	1,94E+14	1,50	Hypothetical protein	-	-	-	-
Q0EAG4	14	563.1	2,29E+14	2,87	Arylphorin-like hexamerin-2	-	-	Nutrient reservoir activity	-
A0A8S4G5U2	11	629.9	2,47E+14	1,39	Bifunctional purine biosynthesis protein ATIC	GO:0006189	'de novo' IMP biosynthetic process	IMP cyclohydrolase activity	Cytosol
A0A8S4G7B0	7	428.2	2,64E+14	2,46	Transketolase	-	-	Thiamine pyrophosphate binding	Cytoplasm
J7IL09	2	691.1	2,72E+14	15,80	Hsp69	GO:0006950	Response to stress	ATP binding	Nucleus
A0A8S4DNN1	2	174.4	3,37E+14	2,34	Translocon-associated protein subunit gamma	GO:0006614	SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane	-	Endoplasmic reticulum membrane
A0A8S4G300	7	359.8	3,45E+14	2,38	Hypothetical protein	-	-	Nutrient reservoir activity	-
A0A8S4FVA3	3	134.1	3,79E+14	3,20	Hypothetical protein	GO:0007015	Actin filament organization	Actin filament binding	Actin cytoskeleton
A0A8S4ELW6	5	279.6	3,95E+14	2,65	Fructose-bisphosphatase	GO:0006000	Fructose metabolic process	Metal ion binding	Cytosol
A0A8S4CZD9	2	115.2	4,04E+14	1,59	Small ribosomal subunit protein eS28	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Ribosomal subunit
Q6F477	4	243.1	4,43E+14	3,14	Small ribosomal subunit protein eS21	GO:0006412	Translation	Structural constituent of ribosome	Rough endoplasmic reticulum
A0A8S4FMJ9	2	69.01	2,00E+13	1,40	Mitochondrial 2-oxoglutarate/malate carrier protein	-	-	-	-

5.1.1 Identificação do proteoma obtido e enriquecimento por Ontologia Gênica.

A compreensão conceitual sobre a contribuição das 141 proteínas ao longo de todos os estágios de desenvolvimento larval de *L. coffeella* pode ser observada através da análise de enriquecimento por Ontologia Gênica (GO).

Na categoria de processo biológico (BP), as DAPs foram mais amplamente agrupadas com significância estatística (baixo FDR) nos termos GO de processo celular (GO: 0009987; FDR: $5,95 \times 10^{-7}$) e processo metabólico (GO: 0008152; FDR: $1,7 \times 10^{-4}$) (Figura 11A). De maneira geral os termos destacaram proteínas associadas em maior quantidade ao metabolismo celular de compostos orgânicos, biogênese, organização de componentes celulares, expressão gênica e desenvolvimento celular. Estes processos frequentemente encontram-se envolvidos em atividades fundamentais para a manutenção, crescimento e especialização celular.

Os processos biológicos evidenciados pela análise gráfica através da plataforma *ReviGO* (Figura 12), demonstram termos GO com maior especificidade funcional, caracterizados pela baixa redundância semântica e representação de processos biológicos detalhados dentro da análise de ontologia gênica realizada. Entre eles estão os termos: *Axon guidance* (GO:0007411), *Motor neuron axon guidance* (GO:0008045) e *Gene expression* (GO:0010467). Estes termos estão relacionados ao desenvolvimento do sistema nervoso, orientação axonal e expressão gênica, o que sugere que os genes/proteínas presentes no agrupamento proteico possam estar ativos em processos de diferenciação neural, formação de conexões sinápticas e regulação funcional de neurônios motores.

As funções moleculares com maior contagem de genes e FDR significativo (1.0×10^{-14}) destacam os termos GO "*heterocyclic compound binding*", "*organic cyclic compound binding*" e "*protein binding*" (Figura 11B). Este resultado demonstra que grande parte das proteínas identificadas está presente em interações com compostos orgânicos complexos, como nucleotídeos, cofatores e ligantes estruturais.

Proteínas com funções estruturais e de ligação também se mostram presentes nos dados de enriquecimento, evidenciadas principalmente nos termos GO "*structural molecule activity*" e "*structural constituent of ribosome*" (Figura 11B). Este resultado aponta para proteínas com papel fortemente relacionados a manutenção da arquitetura celular e síntese proteica, que indicam atividades importantes em contextos como crescimento celular.

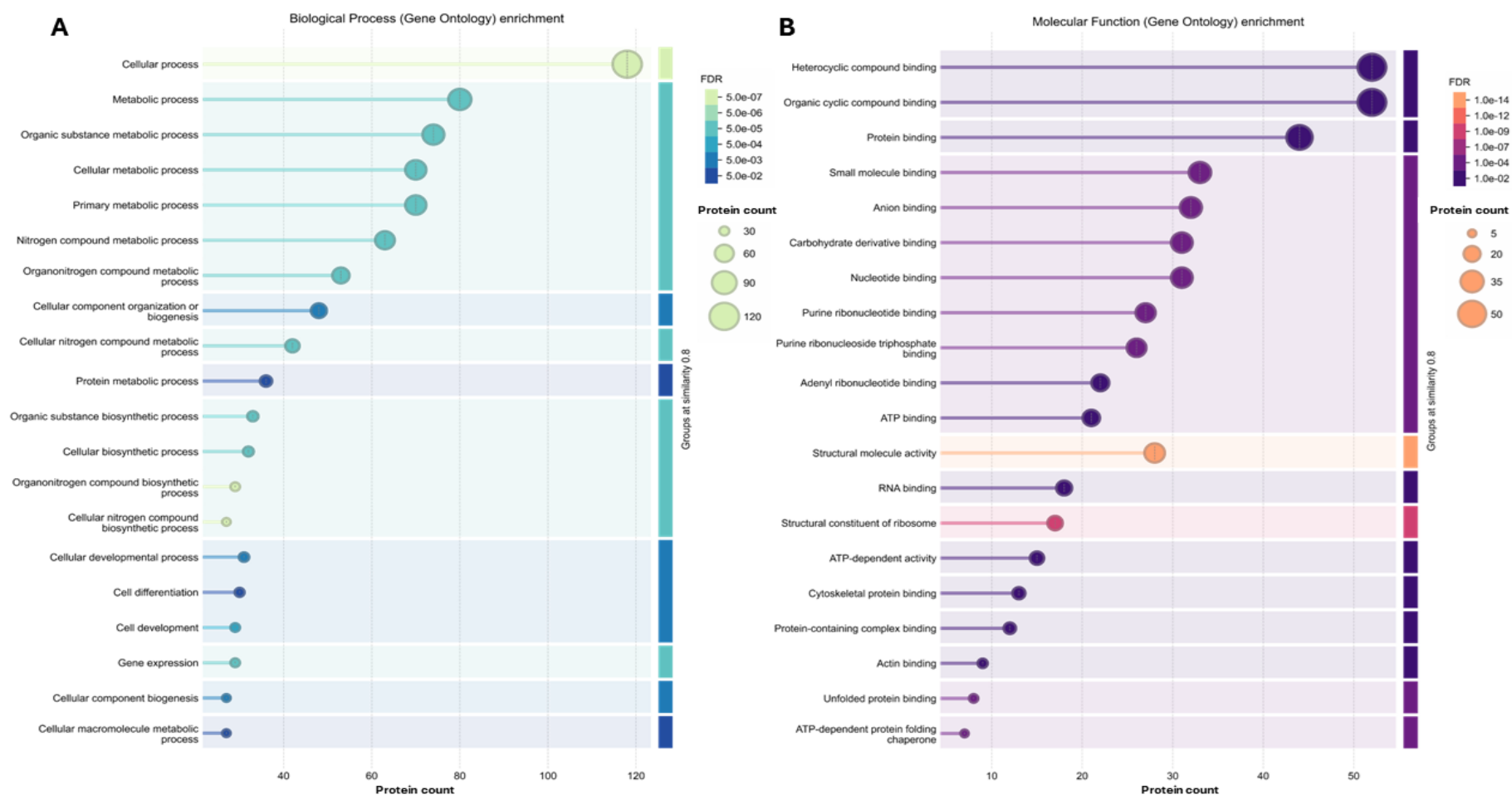


Figura 11. Enriquecimento por Ontologia Gênica. **(A)** Enriquecimento de Processo Biológico. **(B)** Enriquecimento de Função Molecular. Em ambas as visualizações, círculos maiores indicam maior número de proteínas associadas ao respectivo processo biológico ou função molecular. A cor dos círculos corresponde ao valor de FDR (*False Discovery Rate*), utilizado como medida de significância estatística. No painel **(A)**, os processos biológicos representados em tons de verde apresentam os menores valores de FDR, indicando maior relevância estatística. No painel **(B)**, as funções moleculares com menor FDR são destacadas em tons de laranja. A similaridade semântica (*cutoff* = 0,8) entre os grupos foi organizada por cores, permitindo visualizar o agrupamento funcional dos termos enriquecidos.

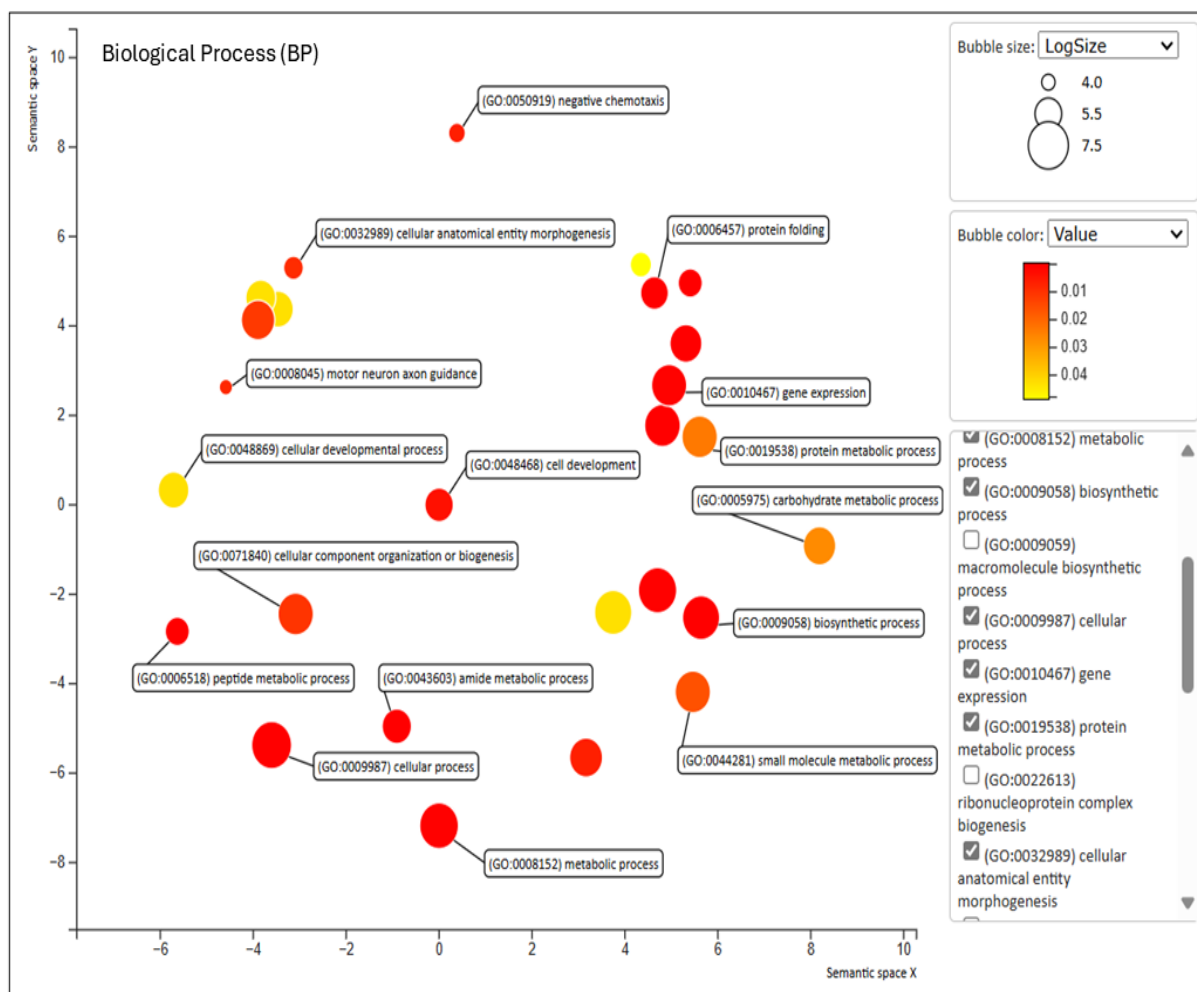


Figura 12. Gráfico de dispersão mostrando os termos GO (FDR <0,05) mais enriquecidos entre as proteínas reguladas na categoria processos biológicos (BP). O agrupamento reflete a similaridade semântica entre os termos. A cor representa o valor de FDR relacionado ao enriquecimento do termo e sua significância estatística. O tamanho corresponde à representatividade do termo em relação ao banco de dados.

Dados gerados através da plataforma *ReviGO* indicaram três grandes agrupamentos funcionais para a categoria Função Molecular (FM): Ligação de ATP e GTP, Atividade de chaperonas de dobramento proteico dependente de ATP, assim como, Componentes estruturais do ribossomo (Figura 13). A presença simultânea de termos relacionados à atividade enzimática dependente de ATP, estrutura ribossomal e funções de chaperonas sugere que as proteínas diferencialmente abundantes estão envolvidas em processos de alta atividade metabólica e proteica, como ocorre em células sob estímulo proliferativo ou reorganização celular. Além disso, a organização espacial dos termos no gráfico (Figura 13) reforça, pela similaridade funcional entre os grupos, a hipótese de que esses processos estão interconectados no contexto biológico analisado.

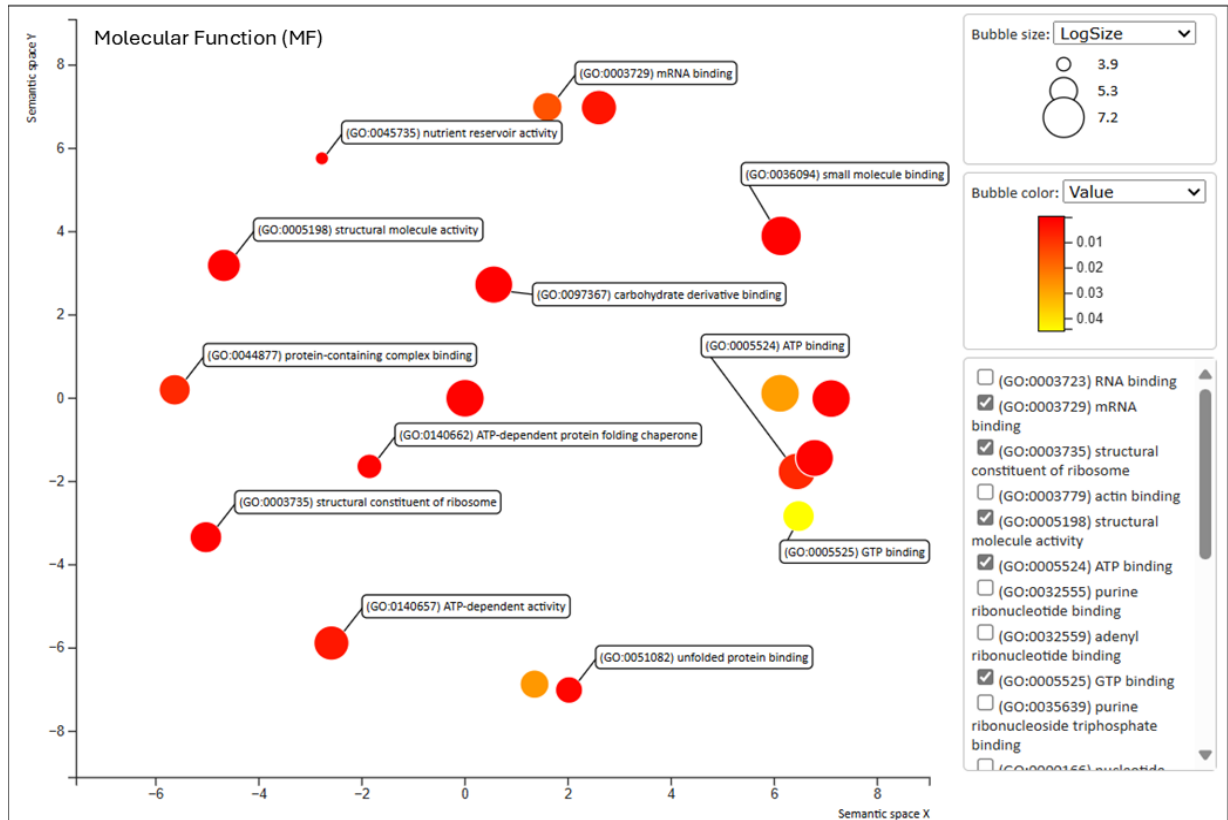


Figura 13: Gráfico de dispersão mostrando os termos GO (FDR <0,05) mais enriquecidos entre as proteínas reguladas para funções moleculares (FM). O agrupamento reflete a similaridade semântica entre os termos. A cor representa o valor de FDR relacionado ao enriquecimento do termo e sua significância estatística. O tamanho corresponde à representatividade do termo em relação ao banco de dados, indicando processos biológicos mais específicos.

Os componentes celulares com termos GO mais enriquecidos são o termo “*Cellular anatomical entity*”, que demonstra uma referência mais ampla para as estruturas celulares mais abrangentes como membrana, núcleo e citoplasma, e o termo “*intracellular anatomical structure*” que denota a um subconjunto mais específico de organelas internas da célula como núcleo e mitocôndria. Além dessas, sublocalidades ribossomais também são fortemente enriquecidas entre os termos (Figura 14).

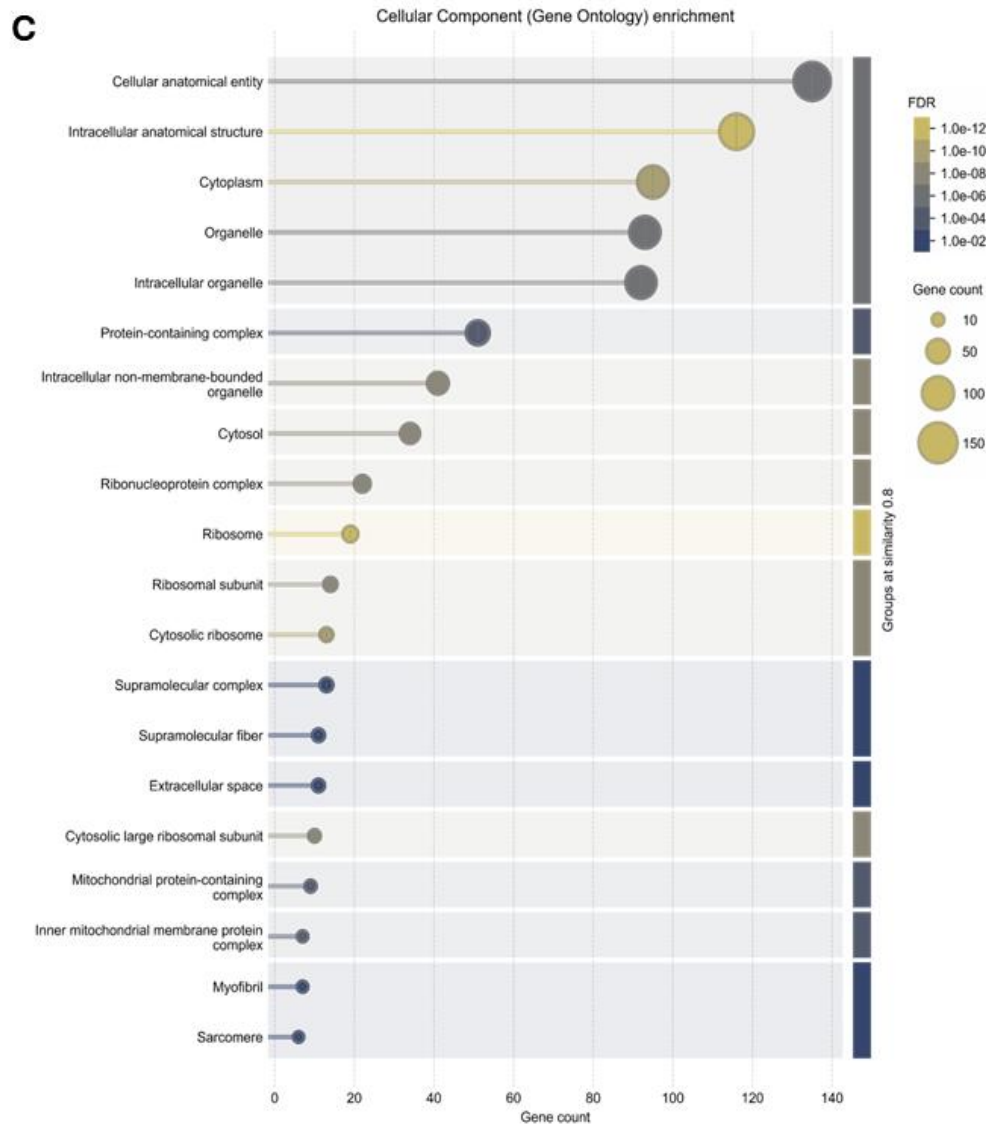


Figura 14. Enriquecimento de Componente Celular por Ontologia Gênica. Círculos maiores indicam maior número de proteínas associadas aos componentes celulares. A cor dos círculos corresponde ao valor de FDR (*False Discovery Rate*), utilizado como medida de significância estatística. Componentes celulares com coloração amarela possuem menor FDR.

A análise de rede das interações de proteínas obtida através da *Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins (String)* (Figura 15), indica que as proteínas identificadas para *L. coffeella* estão abundantemente presentes em mecanismos regulatórios do desenvolvimento larval de insetos. Os resultados mostram que os principais clusters de interação proteica são relacionados a processo de iniciação da tradução eucariótica, atividade de quitinase e complexo proteico de membrana mitocondrial.

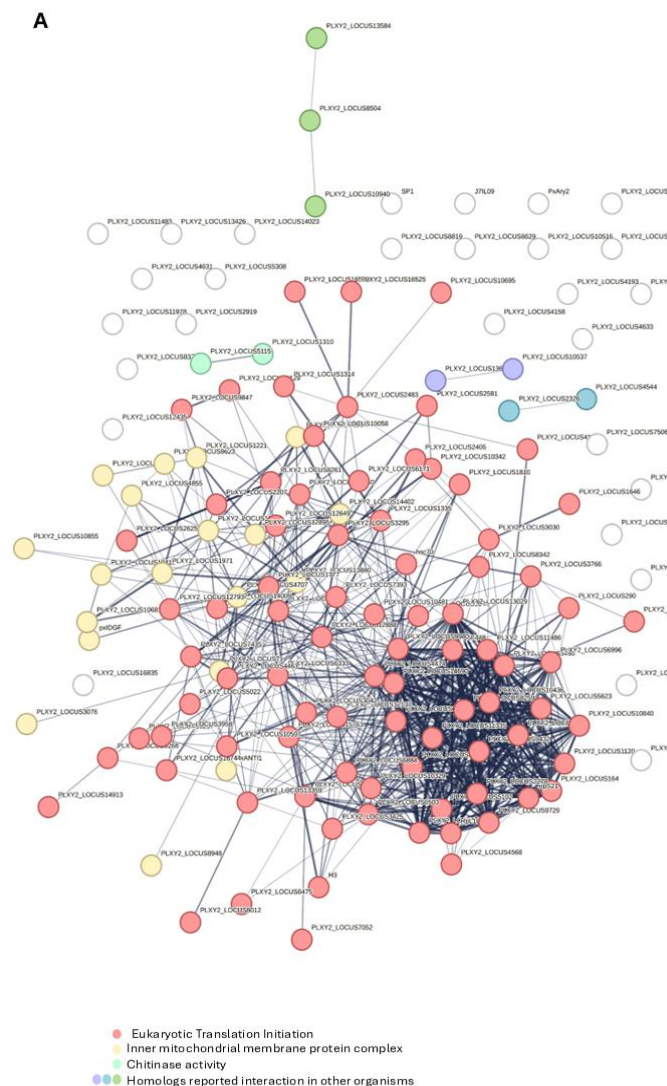


Figura 15. Rede de interações *String* mostrando a sobreposição entre interações proteína-proteína e agrupamento por *kmeans clustering* para as 141 proteínas diferencialmente abundantes (DAP) identificadas na análise proteômica 1 pra *Leucoptera coffeella*.

5.2 Proteômica 2 – Análise proteômica baseada no banco de dados de *L. coffeella*

A análise proteômica 2 foi obtida através de correspondências estabelecidas entre os espectros de peptídeos com as sequências presentes no banco de dados predito a partir do genoma e transcriptoma do BMC. A análise gerou 1541 grupos de proteínas identificados de maneira confiável ($FDR < 1\%$, $\min Pep \leq 2$), sendo, dentre elas, identificadas 324 DPAs entre todas as condições analisadas.

A PCA foi realizada para agrupar as réplicas e distinguir as condições presentes na análise. De acordo com os resultados, as três condições, representadas em azul (L2), roxo (L3)

e laranja (L4), confirmam a separação entre os eventos obtidos na espectrometria para as três condições analisadas, sendo este observado através do distanciamento dos grupos presentes na Figura 16. Também é possível observar uma maior variação na homogeneidade das amostras para as réplicas dos ínstares L2 e L3 (azul e roxo), enquanto as réplicas do ínstar L4 (laranja) apresentaram o agrupamento com a maior homogeneidade.

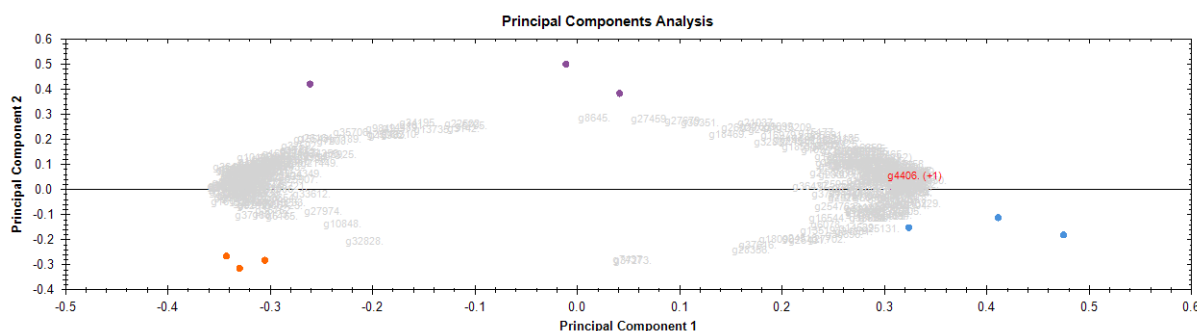


Figura 16. Análise de Componentes Principais (PCA) mostrando o agrupamento das réplicas biológicas e a distinção entre as condições experimentais. A cor cinza indica cada proteína diferencialmente abundante identificadas na análise e os pontos coloridos indicam a posição de cada amostra analisada. As cores representam as condições e pontos da mesma cor indicam réplicas. Azul = L2; roxo = L3; laranja = L4.

A Figura 17 ilustra os perfis de abundância relativa das proteínas agrupados em *clusters* onde foi possível observar a similaridade dos padrões de comportamento entre as proteínas de cada grupo. Foram evidenciados três *clusters* principais para esta análise. Neste agrupamento é possível observar uma mudança comportamental do padrão de abundância das proteínas na fase L3, principalmente no terceiro *cluster* (verde), que também pode ser observada na Figura 18.

O mapa de correlação entre as condições analisadas representa os perfis de abundância das 324 proteínas diferencialmente abundantes (Figura 18). Também foi realizado o teste estatístico post-hoc de *Tukey* para as análises das comparações entre pares de condições. Observou-se que o perfil mais contrastante ocorre entre as condições L2 e L4, enquanto a condição L3 demonstra maior similaridade à condição L4, assim como observado na Proteômica 1.

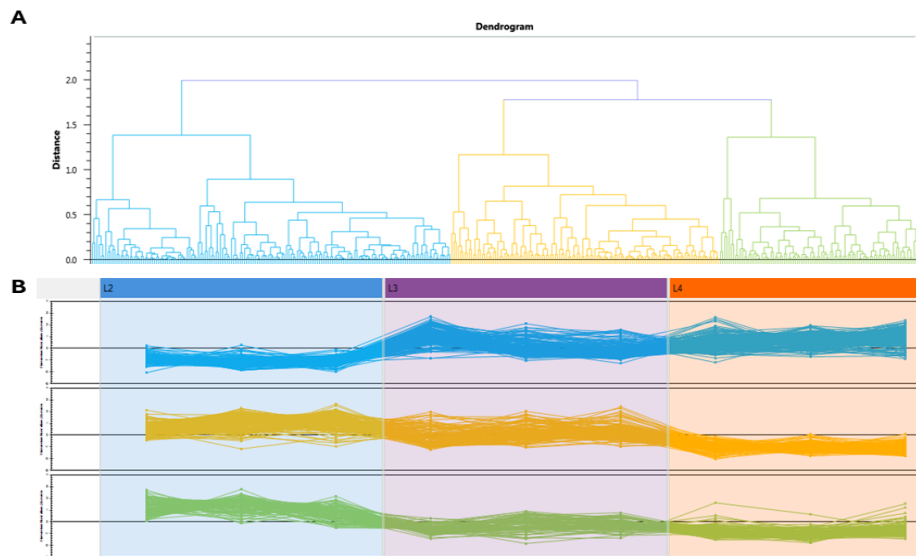


Figura 17. Análises de comportamento proteico observado entre as condições analisadas para a análise proteômica 2 de *Leucoptera coffeella*. **A-** Dendrograma mostrando a formação de grupos de proteínas de acordo com seus perfis de abundância. As cores dos grupos (*clusters*) correspondem às cores dos perfis de abundância relativa mostrados em B. **B-** Perfis de abundância relativa de proteínas agrupadas. A coluna azul corresponde a fase L2, roxa corresponde a L3 e laranja a L4.

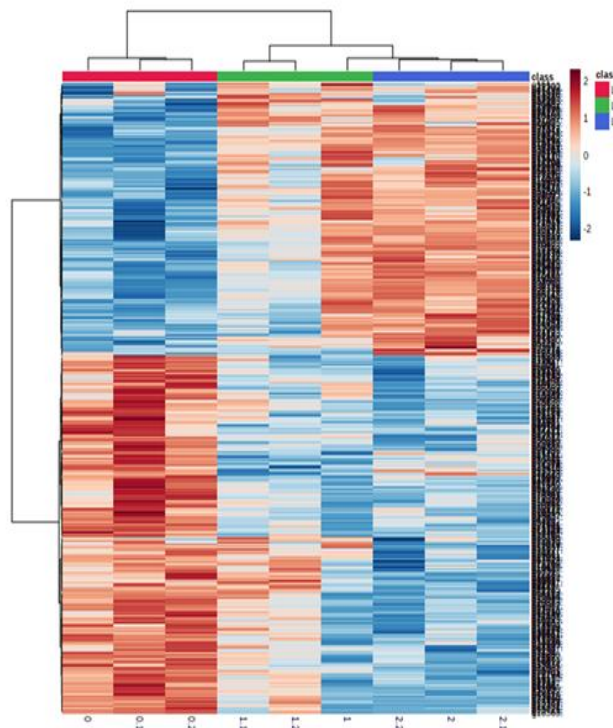


Figura 18. Mapa de correlação (*Heatmap*) dos padrões de abundância normalizados e das condições de agrupamento para o conjunto completo de proteínas reguladas. Vermelho= L2; verde = L3; Azul = L4. Tons de vermelho indicam correlação positiva, tons de azul, correlação negativa.

Dentre as 324 DAPs, a maior quantidade de proteínas diferenciais foi identificada para a comparação L2/L4, na qual 155 proteínas foram aumentadas e 97 diminuídas, conforme a Figura 19 (Tabela 5). A comparação entre L3/L4 gerou a menor quantidade de proteínas diferencialmente abundantes, apresentando apenas 1 proteína diminuída e 17 aumentadas (Figura 19; Tabela 6). Já para a comparação L2/L3, foram identificadas 14 proteínas aumentadas, enquanto 40 proteínas apresentaram-se diminuídas (Figura 19; Tabela 7).

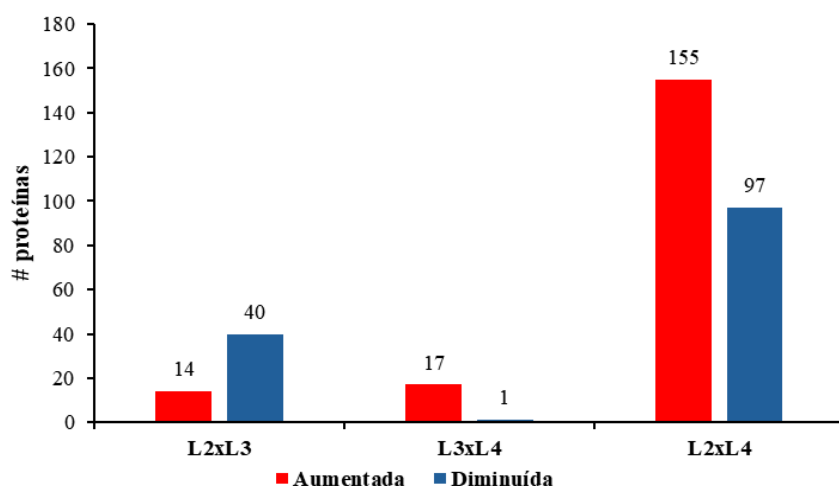


Figura 19: Quantidade de proteínas diferencialmente abundantes (DAP) identificadas nas três comparações entre os ínstares de *Leucoptera coffeella* na análise proteômica 1. As barras em vermelho representam o número de proteínas com abundância aumentada, enquanto as barras em azul indicam proteínas com abundância diminuída em cada comparação.

Tabela 5. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, quando comparado os estágios de desenvolvimento L2 e L3 (proteômica 2). As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L2 em relação a L3, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L2 quando comparadas a L3.

Proteínas aumentadas (UniProt)	Peptide count	Score	Anova (p)	FC	Descrição
g12963.	53	3216,16	0,016688748	1,422	Tubulin beta-1 chain [<i>Maniola jurtina</i>]
g14529.	8	580,25	0,016232616	1,466	Uncharacterized protein LOC121729075 [<i>Aricia agestis</i>]
g16544.	2	69,54	0,033559213	2,791	L-lactate dehydrogenase isoform X1 [<i>Colias croceus</i>]
g16644.	2	73,32	0,02802415	4,602	UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g18090.	4	244,68	0,034590629	1,344	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein 27C [<i>Eumeta japonica</i>]
g25431.	2	115,45	0,034244453	2,170	Keratin, type II cytoskeletal 1-like [<i>Danaus plexippus plexippus</i>]
g27702.	7	430,61	0,014366641	1,925	RNA-binding protein Rsf1 [<i>Colias croceus</i>]
g28356.	26	1954,51	0,028428408	2,404	DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB1-like isoform X1 [<i>Colias croceus</i>]
g30696.	80	5192,68	0,002735958	1,242	Unnamed protein product [<i>Danaus chrysippus</i>]
g34881.	4	158,9	0,001321542	1,756	5-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase [<i>Eumeta japonica</i>]
g37273.	9	679,13	0,035300726	1,225	Uncharacterized protein LOC123874566 isoform X25 [<i>Maniola jurtina</i>]
g435.	13	543,91	0,00273534	1,935	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g4399.	13	670,37	0,014882661	1,732	Flocculation protein FLO11 isoform X3 [<i>Spodoptera litura</i>]
g5512.	2	119,37	0,016373556	2,758	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
Proteínas Diminuídas (UniProt)	Peptide count	Score	Anova (p)	FC	Descrição
g10802.	6	406,27	0,042135028	2,989	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g13310.	10	644,64	0,021279989	1,144	Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske, mitochondrial [<i>Plutella xylostella</i>]
g13604.	23	1535,27	0,049288293	1,524	Enoyl-CoA hydratase, mitochondrial [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g13735.	9	524,46	0,021185581	1,417	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g14174.	9	673,02	0,0103809	3,212	Gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase-like [<i>Amyelois transitella</i>]
g15548.	3	260,25	0,007712759	1,873	Pupal cuticle protein 20-like isoform X1 [<i>Spodoptera frugiperda</i>]
g161.	6	474,71	0,02170814	1,695	Proteasome subunit beta type-1 [<i>Danaus plexippus plexippus</i>]
g16156.	10	597,15	0,000657251	3,214	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g16757.	6	514,7	0,017824784	2,360	Adenylate kinase isoenzyme 1 isoform X3 [<i>Pararge aegeria</i>]
g16923.	8	471,69	0,009860146	4,030	Circadian clock-controlled protein-like [<i>Helicoverpa armigera</i>]
g16962.	5	257,57	0,035067323	1,579	Translocon-associated protein subunit delta [<i>Papilio polytes</i>]
g1721.	3	136,76	0,026712292	2,057	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP]-like isoform X1 [<i>Papilio machaon</i>]
g173.	7	509,7	0,022873346	1,625	Unnamed protein product [<i>Arctia plantaginis</i>]
g17671.	7	408,85	0,016015811	2,601	Poly(U)-specific endoribonuclease homolog [<i>Zerene cesonia</i>]
g17911.	4	209,44	0,040506814	2,215	UPF0389 protein CG9231 [<i>Plutella xylostella</i>]
g21449.	9	592,22	0,049829589	1,601	Uncharacterized protein LOC113233714 [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
g22502.	13	735,07	0,03943961	1,497	Hydroxyllysine kinase [<i>Galleria mellonella</i>]
g24182.	3	147,74	0,008321924	2,222	Unnamed protein product, partial [<i>Brenthis ino</i>]

g25085.	9	751,02	0,04050353	1,715	Profilin [<i>Eumeta japonica</i>]
g2547.	7	444,48	0,029323975	1,691	Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2 [<i>Plutella xylostella</i>]
g26164.	3	151,51	0,00210878	1,727	Protein seele-like [<i>Danaus plexippus plexippus</i>]
g27057.	9	545,54	0,014282084	1,731	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g28085.	8	360,01	0,045655247	8,568	basic juvenile hormone-suppressible protein 1-like [<i>Plutella xylostella</i>]
g3142.	3	185,23	0,025920818	1,389	Ras-related protein Rab-5B [<i>Manduca sexta</i>]
g32592.	4	314,03	0,001549797	3,018	Protein lethal (2) essencial for life-like [<i>Colias croceus</i>]
g33844.	3	161,51	0,003813032	3,046	Galactose-1-Phosphate uridylyltransferase [<i>Zerene cesonia</i>]
g34195.	4	149,96	0,007782569	1,502	Serine protease inhibitor 88Ea-like [<i>Spodoptera frugiperda</i>]
g34356.	16	1087,93	0,025775051	1,626	Electron transfer flavoprotein subunit alpha, mitochondrial [<i>Hypomocoma kahamanoa</i>]
g34794.	3	313,26	0,034735822	2,998	Hypothetical protein EVAR_38570_1 [<i>Eumeta japonica</i>]
g34866.	13	734,82	0,018301114	1,812	Transaldolase [<i>Amyeloidis transitella</i>]
g35706.	29	2055,02	0,02452383	1,372	Unnamed protein product, partial [<i>Brenthis ino</i>]
g36095.	2	36,1	0,005678113	4,059	Patronin-like isoform X7 [<i>Hypomocoma kahamanoa</i>]
g36405.	2	127,98	0,044609647	2,844	Endocuticle structural glycoprotein ABD-4-like [<i>Hypomocoma kahamanoa</i>]
g4258.	11	638,71	0,01761689	2,084	ATP synthase subunit O, mitochondrial [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g5705.	3	143,25	0,047871549	2,642	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g5925.	12	821,38	0,036440537	1,989	Protein lethal (2) essential for life-like [<i>Papilio machaon</i>]
g7189.	7	471,64	0,004281229	1,646	Myosin-2 essential light chain isoform X1 [<i>Helicoverpa armigera</i>]
g8939.	11	659,7	0,000816096	2,626	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g9849.	10	514,1	0,008670688	1,821	Protein I (2)37Cc [<i>Spodoptera litura</i>]
g9917.	22	1429,36	0,024667882	1,687	Unnamed protein product [<i>Arctia plantaginis</i>]

Tabela 6. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, quando comparado os estágios de desenvolvimento L3 e L4 (proteômica 2). As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L3 em relação a L4, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L3 quando comparadas a L4.

Proteínas aumentadas (UniProt)	Peptide count	Score	Anova (p)	FC	Descrição
g15209.	23	1401,33	0,008067212	1,397	T-complex protein 1 subunit zeta [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
g16979.	6	321,09	0,026158407	1,378	Proteasome subunit alpha type-3 [<i>Galleria mellonella</i>]
g17651.	3	164,88	0,001788501	2,312	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g18469.	9	569,76	0,036930009	1,205	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g1950.	4	196,67	0,039402095	9,682	Activating signal cointegrator 1 complex subunit 2 homolog isoform X2 [<i>Manduca sexta</i>]
g21037.	5	280,08	0,006213722	1,578	Hypothetical protein evm_002247 [<i>Chilo suppressalis</i>]
g2447.	6	461,02	0,019308675	1,653	Glutamine--fructose-6-phosphate aminotransferase [isomerizing] 1-like [<i>Helicoverpa armigera</i>]
g26029.	14	875,48	0,01043983	1,570	Lysosomal aspartic protease [<i>Eumeta japonica</i>]
g27163.	12	619,98	0,008256888	1,773	Aldo-keto reductase AKR2E4-like [<i>Vanessa tameamea</i>]
g27679.	6	249,13	0,014436247	1,380	ATP-dependent RNA helicase me31b [<i>Galleria mellonella</i>]
g2897.	2	113,03	0,019021111	1,528	Translocon-associated protein subunit beta [<i>Manduca sexta</i>]
g30351.	8	519,84	0,030436199	1,701	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase FabG [<i>Bombyx mori</i>]
g32837.	5	257,04	0,009584223	1,789	Nucleosome assembly protein isoform X1 [<i>Bombyx mori</i>]
g6454.	9	452,31	0,030007758	1,650	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g8645.	9	351,43	0,044077384	1,561	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g9099.	2	76,74	0,010896121	4,018	Signal recognition particle 19 kDa protein [<i>Manduca sexta</i>]
g9239.	2	74,59	0,038909641	1,629	UDP-glucuronosyltransferase 2B4-like [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
Proteínas Diminuídas (UniProt)	Peptide count	Score	Anova (p)	FC	Descrição
g32828.	11	682,77	0,024302532	2,109	protein obstructor-E-like [<i>Bombyx mandarina</i>]

Tabela 7. Proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) em *Leucoptera coffeella*, quando comparado os estágios de desenvolvimento L2 e L4 (proteômica 2). As proteínas classificadas como aumentadas apresentam maior abundância em L2 em relação a L4, enquanto as diminuídas apresentam menor abundância em L2 quando comparadas a L4.

Proteínas aumentadas (UniProt)	Peptide count	Score	Anova (p)	FC	Descrição
g101.	9	522,32	0,001545578	1,953	Cathepsin B-like [<i>Spodoptera litura</i>]
g10435.	2	93,96	0,040409446	11,73	-
g10811.	10	772,06	0,02492196	1,792	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g109.	17	1156,8	0,009234065	1,440	60S ribosomal protein L23a [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
g11170.	3	149,26	0,016565231	7,292	U-scoloptoxin (01) -Cw1a-like [<i>Maniola jurtina</i>]
g13153.	7	536,01	0,003561994	1,682	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g13297.	6	284,76	0,013990643	2,221	Dihydropyrimidinase [<i>Amyeloidis transitella</i>]
g13304.	8	374,89	0,001701812	2,230	Larval/pupal rigid cuticle protein 66-like [<i>Vanessa tameamea</i>]
g13364.	7	591,72	0,030803272	5,497	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g13366.	9	397,53	0,018348387	16,34	Unnamed protein product [<i>Danaus chrysippus</i>]
g13395.	68	4590,16	0,023335597	1,258	Synthase subunit beta, mitochondrial-like [<i>Spodoptera frugiperda</i>]
g13569.	10	624,33	0,029093021	1,817	Fumarylacetoacetase [<i>Pieris brassicae</i>]
g13594.	4	217,22	0,03153275	2,190	Histone H3.3A [<i>Manduca sexta</i>]
g13727.	9	573	0,010692129	9,780	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g13728.	14	824,95	0,002601133	3,875	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g13729.	23	1477,86	0,001609483	3,696	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g13896.	2	61,85	0,044304023	2,422	Hemocyte protein-glutamine gamma-glutamyltransferase-like [<i>Spodoptera litura</i>]
g13950.	6	402,61	0,000977049	1,991	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit D [<i>Zerene cesonia</i>]
g14120.	9	484,02	0,042083861	2,162	H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 4 [<i>Spodoptera litura</i>]
g14542.	10	530,29	0,003611809	1,518	Uncharacterized protein LOC106127448 [<i>Papilio xuthus</i>]
g15104.	31	1701,25	0,022840549	1,849	V-type proton ATPase subunit C [<i>Bicyclus anynana</i>]
g15514.	38	2443,45	0,03855885	1,555	Nidogen-2-like [<i>Vanessa tameamea</i>]
g15677.	6	307,6	0,032806928	1,377	Putative serine protease K12H4.7 [<i>Aricia agestis</i>]
g15765.	3	135,05	0,000924265	4,115	Cytochrome P450 4g15 [<i>Manduca sexta</i>]
g15974.	4	188,68	0,031745214	3,972	Uncharacterized protein LOC123660920 [<i>Melitaea cinxia</i>]
g15975.	4	167,87	0,006941567	317,3	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g16019.	2	63,02	0,026344571	4,189	Tissue alpha-L-fucosidase [<i>Vanessa tameamea</i>]
g16067.	3	122,17	0,035062304	1,506	Hypothetical protein evm_009324 [<i>Chilo suppressalis</i>]
g16092.	75	4198,9	0,016856931	1,274	Hypothetical protein evm_001011 [<i>Chilo suppressalis</i>]
g1613.	4	203,33	0,013868246	2,220	Glycine-rich protein GRP33-like [<i>Aricia agestis</i>]
g1626.	3	129,05	0,017399127	3,569	Uncharacterized protein LOC113231540 [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
g16273.	12	802,9	0,021404482	1,723	Hypothetical protein EVAR_38493_1 [<i>Eumeta japonica</i>]
g16274.	3	380,78	0,03224335	16,242	Hypothetical protein EVAR_38493_1 [<i>Eumeta japonica</i>]
g16310.	6	287,22	0,014067946	1,358	Unnamed protein product [<i>Arctia plantaginis</i>]
g1645.	3	183,19	0,010310736	1,737	Proteasome subunit beta type-3 [<i>Pararge aegeria</i>]
g16780.	28	1699,88	0,044791317	1,443	Voltage-dependent anion-selective channel isoform X2 [<i>Manduca sexta</i>]

g1698.	10	478,5	0,047431606	2,296	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit C [<i>Aricia agestis</i>]
g17130.	24	1619,66	0,047106228	1,284	Moesin/ezrin/radixin homolog 1 isoform X1 [<i>Amyelois transitella</i>]
g17302.	34	1672,39	0,002777694	3,107	Fatty acid synthase-like [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g17344.	13	733,26	0,005731763	1,343	Talin-1 isoform X9 [<i>Maniola jurtina</i>]
g1737.	2	74,16	0,017277022	1,940	Dynein heavy chain, cytoplasmic isoform X8 [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g17376.	8	383,23	0,011838884	1,388	Adenylosuccinate synthetase isoform X2 [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g17704.	6	298,54	0,011100198	8,745	Unnamed protein product [<i>Danaus chrysippus</i>]
g18307.	5	304,13	0,025956059	1,392	Threonine--tRNA ligase 1, cytoplasmic isoform X1 [<i>Plutella xylostella</i>]
g18430.	69	4721,58	0,02096264	1,334	Heat shock 70 kDa protein cognate 4 [<i>Spodoptera frugiperda</i>]
g18513.	2	59,55	0,047144912	2,200	Minor histocompatibility antigen H13 [<i>Vanessa tameamea</i>]
g18563.	5	237,31	0,019315193	2,793	Unnamed protein product, partial [<i>Brenthis ino</i>]
g18969.	7	347,42	0,033073007	1,475	Paramyosin, long form isoform X1 [<i>Colias croceus</i>]
g18989.	81	5691,12	0,010641138	1,229	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g18994.	28	2155,57	0,008234492	1,481	Hypothetical protein evm_007921 [<i>Chilo suppressalis</i>]
g20883.	10	520,24	0,001536834	2,309	Uncharacterized protein LOC113239782 isoform X4 [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
g21177.	56	3396,01	0,010504487	3,396	Larval cuticle protein LCP-30 [<i>Manduca sexta</i>]
g21185.	13	1090,41	0,001269503	2,884	Endocuticle structural glycoprotein SgAbd-8-like [<i>Spodoptera frugiperda</i>]
g21201.	5	266,33	0,031894839	1,780	Methionine aminopeptidase 2 [<i>Pieris rapae</i>]
g21501.	5	286,15	0,009430192	2,507	RNA-binding protein lark [<i>Eumeta japonica</i>]
g21869.	10	797,62	0,032168471	1,329	40S ribosomal protein S13 [<i>Maniola jurtina</i>]
g21986.	5	199,48	0,036949634	1,406	Unnamed protein product [<i>Arctia plantaginis</i>]
g21991.	11	715,36	0,003546431	1,563	Unnamed protein product, partial [<i>Brenthis ino</i>]
g22228.	6	338,62	0,023784445	8,974	Hypothetical protein evm_012075 [<i>Chilo suppressalis</i>]
g22732.	2	116,96	0,009449084	5,573	Venom serine carboxypeptidase-like [<i>Trichoplusia ni</i>]
g2425.	2	97,22	0,022594216	1,943	Hypothetical protein evm_005941 [<i>Chilo suppressalis</i>]
g24261.	6	333,42	0,002370008	2,376	Nucleolar protein 58 [<i>Galleria mellonella</i>]
g24388.	4	176	0,011759733	2,295	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g24389.	2	113,39	0,049999783	1,737	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g24441.	5	294,74	0,02355143	1,776	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g2446.	4	200,47	0,01908953	1,865	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g24517.	5	271,77	0,008236504	1,573	Uncharacterized protein LOC119691307 isoform X1 [<i>Plutella xylostella</i>]
g24699.	18	928,37	0,011502689	1,985	Unnamed protein product, partial [<i>Brenthis ino</i>]
g24721.	6	336,82	0,034554543	1,711	60S ribosomal protein L35 [<i>Aricia agestis</i>]
g2479.	4	158,89	0,008579815	1,522	Unnamed protein product [<i>Pieris macdunnoughi</i>]
g24802.	9		0,0158685	1,708	Y-box factor homolog [<i>Manduca sexta</i>]
g25291.	9	366,91	0,021639206	2,592	Microtubule-associated protein futsch isoform X3 [<i>Plutella xylostella</i>]
g25476.	8	426,79	0,010701423	1,492	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g25541.	5	321,24	0,001420191	1,850	Uncharacterized protein LOC105397332 [<i>Plutella xylostella</i>]
g25558.	2	107,33	0,009753045	1,681	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2-like [<i>Pieris brassicae</i>]
g25801.	18	898,67	0,000541181	1,484	60S ribosomal protein L28 [<i>Melitaea cinxia</i>]
g25958.	4	194,87	0,036287759	1,513	Uncharacterized protein LOC105393847 isoform X2 [<i>Plutella xylostella</i>]
g26136.	7	415,75	0,01115353	1,451	Putative ATP-dependent RNA helicase PI10 isoform X1 [<i>Zerene cesonia</i>]
g26438.	3	143,13	0,004125034	1,923	Rab proteins geranylgeranyltransferase component A 1 [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
g26636.	7	314,52	0,012400747	1,921	60S ribosomal protein L44 [<i>Vanessa tameamea</i>]

g26704.	3	136,59	0,012606894	3,651
g26893.	3	194,46	0,015541003	3,133
g27148.	15	735,69	0,016445459	2,214
g27594.	3	83,93	0,017102155	3,928
g27818.	18	1164,85	0,003265469	1,513
g2783.	32	1566,04	0,031002798	1,633
g27905.	2	82,17	0,020720365	3,320
g28151.	3	185,92	0,019974565	1,876
g28309.	12	585,07	0,026665823	1,488
g2882.	2	101,87	0,006298766	3,630
g2900.	11	636,96	0,014886693	1,549
g2983.	7	297,53	0,002001895	2,127
g3069.	2	229,26	0,031145135	15,17
g30729.	4	278,71	0,005496068	1,894
g30736.	6	304,48	0,00545149	1,443
g30765.	2	54,31	0,001080945	9,333
g30979.	3	172,29	0,027224345	2,950
g3134.	2	100,22	0,049358793	2,458
g31652.	24	1370,87	0,034935602	1,309
g31905.	22	1284,43	0,033735974	1,481
g3225.	31	2206,98	0,00540856	1,460
g32327.	6	345,95	0,047302424	2,196
g32994.	31	1287,3	0,007197989	1,789
g33310.	4	178,15	0,006695642	2,674
g33661.	3	132,53	0,010826525	2,527
g33917.	15	931,04	0,000207644	1,769
g34086.	3	147,96	0,013779673	3,351
g34454.	9	388,69	0,01639854	1,996
g34483.	13	987,26	0,013967417	1,747
g34815.	7	365,8	0,033258438	1,781
g35691.	8	438,88	0,000536915	1,602
g36140.	12	616,86	0,020634563	1,677
g36437.	23	1081,92	0,047027188	1,406
g36567.	18	1406,01	0,034519072	1,299
g36690.	20	795,71	0,008782207	3,151
g36814.	12	875,98	0,041799151	1,745
g3683.	9	626,39	0,002892415	1,959
g37190.	4	288,4	0,006313226	3,243
g37227.	5	227,76	0,013776547	2,207
g37271.	8	597,7	0,04218564	1,576
g3802.	18	1173,36	0,007866354	1,460
g4397.	39	2666,07	0,005918312	1,444
g4406.	236	15957,37	2,08E-06	1,271
g4575.	6	384,67	0,015427238	1,265

Trichohyalin-like [<i>Spodoptera litura</i>]
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-2 [<i>Colias croceus</i>]
Vinculin-like [<i>Spodoptera litura</i>]
Hypothetical protein evm_005171, partial [<i>Chilo suppressalis</i>]
Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha, mitochondrial isoform X1 [<i>Bombyx mori</i>]
Protein 4.1 homolog isoform X2 [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
SUMO-activating enzyme subunit 2 [<i>Amyelois transitella</i>]
Unnamed protein product, partial [<i>Brenthis ino</i>]
Membrane alanyl aminopeptidase-like precursor [<i>Bombyx mori</i>]
Alpha-N-acetylgalactosaminidase-like isoform X2 [<i>Spodoptera frugiperda</i>]
Neuroglian-like [<i>Plutella xylostella</i>]
Calnexin [<i>Trichoplusia ni</i>]
Hypothetical protein evm_002833 [<i>Chilo suppressalis</i>]
Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
26S proteasome regulatory subunit 6B [<i>Manduca sexta</i>]
Eukaryotic initiation factor 4A-III [<i>Papilio polytes</i>]
Venom carboxylesterase-6-like [<i>Danaus plexippus plexippus</i>]
Stathmin-4 isoform X4 [<i>Vanessa tameamea</i>]
Unnamed protein product [<i>Pieris macdunnoughi</i>]
Hypothetical protein B5V51_2845 [<i>Heliothis virescens</i>]
Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
Histone H1B-like [<i>Plutella xylostella</i>]
Uncharacterized protein LOC115441013 [<i>Manduca sexta</i>]
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, A2/B1 homolog [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
Synapse-associated protein of 47 kDa isoform X3 [<i>Bicyclus anynana</i>]
ATP-dependent RNA helicase p62-like [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
60S ribosomal protein L18 [<i>Plutella xylostella</i>]
Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
Lysosomal alpha-mannosidase-like isoform X1 [<i>Maniola jurtina</i>]
Coatome subunit alpha isoform X5 [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
60S ribosomal protein L13a [<i>Galleria mellonella</i>]
Cytochrome b-c1 complex subunit 2, mitochondrial [<i>Manduca sexta</i>]
Aminopeptidase N-like isoform X1 [<i>Maniola jurtina</i>]
Protein singed [<i>Pieris rapae</i>]
Circadian clock-controlled protein daywake-like [<i>Colias croceus</i>]
Neprilysin-11 isoform X3 [<i>Helicoverpa armigera</i>]
Prostaglandin reductase 1-like isoform X1 [<i>Amyelois transitella</i>]
Tropomyosin-2 isoform X29 [<i>Plutella xylostella</i>]
Unnamed protein product [<i>Arctia plantaginis</i>]
Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
Hypothetical protein evm_001854 [<i>Chilo suppressalis</i>]
La protein homolog [<i>Aricia agestis</i>]

g486.	7	616,39	2,37332E-05	2,079	Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1 isoform X2 [<i>Amyeloidis transitella</i>]
g491.	8	387,32	0,002351188	2,294	Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1 isoform X1 [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g5139.	4	220,4	0,035408703	1,937	Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha-like [<i>Spodoptera frugiperda</i>]
g5173.	27	1685,85	0,00548687	1,650	Hypothetical protein B5V51_10680 [<i>Heliothis virescens</i>]
g5183.	4	189	0,032942576	2,022	Integrin alpha-PS2 isoform X2 [<i>Plutella xylostella</i>]
g5250.	7	407	0,048896031	1,538	Serine-tRNA ligase, cytoplasmic [<i>Trichoplusia ni</i>]
g5365.	57	3182,75	0,027243394	1,363	ADP, ATP carrier protein [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g5465.	16	1220,42	0,000816089	1,451	Unnamed protein product, partial [<i>Brenthis ino</i>]
g5490.	7	465,09	0,002363662	1,881	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g5496.	68	4599,46	0,036244586	1,421	Heat shock protein 83 [<i>Zerene cesonia</i>]
g5573.	2	72,26	0,031717131	2,929	Protein ROP isoform X1 [<i>Bombyx mandarina</i>]
g5608.	14	740,75	0,008379053	1,626	Neurochondrin homolog isoform X1 [<i>Bombyx mori</i>]
g5706.	3	165,51	0,037842154	2,339	Nucleolin-like [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g5846.	7	335,28	0,02124072	8,060	Glutamate synthase [NADH], amyloplastic isoform X2 [<i>Plutella xylostella</i>]
g5889.	2	98,26	0,0476677	1,698	Dynamin isoform X11 [<i>Colias croceus</i>]
g5976.	6	327,41	0,003559986	2,556	Uncharacterized protein LOC113522518 [<i>Galleria mellonella</i>]
g5990.	23	1377,1	0,013597629	1,423	60S ribosomal protein L7a [<i>Manduca sexta</i>]
g6652.	2	138,9	0,005332315	7,501	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g6677.	4	239,48	0,03483295	1,389	Unnamed protein product [<i>Pieris macdunnoughi</i>]
g7298.	36	2036,44	0,047856755	1,289	60S ribosomal protein L4 [<i>Pararge aegeria</i>]
g7805.	7	475,02	0,002419119	1,876	Prostaglandin reductase 1-like [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g8044.	75	4471,47	0,021368888	1,295	Spectrin alpha chain isoform X4 [<i>Maniola jurtina</i>]
g8199.	15	1221,03	0,016996011	1,437	T-complex protein 1 subunit delta [<i>Melitaea cinxia</i>]
g8232.	3	204,46	0,023562767	2,177	Mitochondrial import receptor subunit TOM40 homolog 1 [<i>Maniola hyperantus</i>]
g8573.	15	765,13	0,02010121	2,237	Histone H1B-like [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g8581.	35	1555,98	0,005075867	1,768	Unnamed protein product [<i>Danaus chrysippus</i>]
g8583.	21	1275,65	0,044860495	1,939	Histone H2B [<i>Maniola jurtina</i>]
g8593.	15	721,81	0,009361847	1,744	Histone H2A [<i>Vanessa tameamea</i>]
g9312.	2	129,68	0,031540381	2,524	Hypothetical protein B5V51_8050 [<i>Heliothis virescens</i>]
g9534.	11	625,24	0,007460619	2,502	Lethal (2) giant larvae protein isoform X1 [<i>Manduca sexta</i>]
g9910.	5	312,89	0,020511214	1,694	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit H [<i>Galleria mellonella</i>]
Proteínas Diminuídas (Uniprot)	Peptide count	Score	Anova	FC	Descrição
g10382.	20	1458,68	0,001753708	10,53	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g10406.	4	192,65	0,005809285	1,683	Glutathione S-transferase 2-like [<i>Plutella xylostella</i>]
g10556.	2	86,58	0,012472719	2,490	Putative Mitochondrial NADH:ubiquinone oxidoreductase ESSS subunit [<i>Operophtera brumata</i>]
g10848.	12	864,44	0,025683206	1,775	Putative aminopeptidase W07G4.4 [<i>Eumeta japonica</i>]
g11035.	28	2248,51	0,043608268	2,065	Glutathione S-transferase 2-like [<i>Melitaea cinxia</i>]
g11357.	4	216,24	0,03118433	1,934	UDP-glucose 4-epimerase isoform X1 [<i>Papilio machaon</i>]
g12989.	3	212,7	0,00529357	5,166	Uncharacterized protein LOC113493994 [<i>Trichoplusia ni</i>]
g13016.	2	96,23	0,003653034	2,358	Hypothetical protein evm_008484 [<i>Chilo suppressalis</i>]
g13123.	29	2377,7	0,032126961	1,474	Chitinase-like protein EN03 [<i>Manduca sexta</i>]

g14818.	3	174,63	0,004690992	3,314	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g14883.	13	1027,67	0,047085771	1,684	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g15142.	4	231	0,033758619	3,294	Ferritin subunit [<i>Manduca sexta</i>]
g15233.	5	326,39	0,032120696	1,508	Ribose-phosphate pyrophosphokinase 2 [<i>Manduca sexta</i>]
g15830.	12	716,73	0,002198113	1,840	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4-like isoform X10 [<i>Aricia agestis</i>]
g15884.	4	330,39	0,019701268	5,712	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g16153.	6	370,88	0,000633798	3,364	Unnamed protein product, partial [<i>Brenthis ino</i>]
g16175.	13	857,1	0,008247822	2,925	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g16538.	2	87,96	0,007135372	4,330	Uncharacterized protein LOC114364501 isoform X2 [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g1685.	11	721,4	0,007725885	6,063	Histone-lysine N-methyltransferase SETMAR-like [<i>Papilio machaon</i>]
g16882.	2	68,79	0,014810917	5,715	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 6-like [<i>Melitaea cinxia</i>]
g16928.	5	310	0,000195759	16,59	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g17208.	6	370,12	0,001719178	19,24	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g17404.	2	75,67	0,004897391	3,547	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g17644.	5	389,18	0,028556966	8,128	Acyl-CoA-binding protein isoform X2 [<i>Aricia agestis</i>]
g17693.	2	107,65	0,014423017	8,612	Hypothetical protein B5V51_9087 [<i>Heliothis virescens</i>]
g18263.	3	253,31	0,004437314	4,048	Cytochrome b5 [<i>Pieris rapae</i>]
g18312.	30	1882,49	0,000890649	6,830	Hemocyte protein-glutamine gamma-glutamyltransferase-like [<i>Colias croceus</i>]
g21018.	13	840,64	0,003093624	2,955	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q-like isoform X2 [<i>Plutella xylostella</i>]
g21170.	37	2442,62	0,007415367	15,69	Larval cuticle protein 16/17-like [<i>Manduca sexta</i>]
g21442.	5	305,45	0,035157608	1,516	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 12A isoform X16 [<i>Bombyx mori</i>]
g21766.	3	100,3	0,019050055	6,861	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g22108.	5	342,87	0,024855036	4,997	Cytochrome c oxidase subunit 6B1 [<i>Eumeta japonica</i>]
g22118.	6	219,1	0,001546881	1,803	Unnamed protein product [<i>Arctia plantaginis</i>]
g22763.	4	176,19	0,017462302	3,289	Spermine oxidase-like [<i>Maniola jurtina</i>]
g24178.	3	91,49	0,012503546	6,424	Cytochrome c oxidase subunit 6C [<i>Melitaea cinxia</i>]
g2432.	3	296,09	0,003446794	2,307	GTP:AMP phosphotransferase AK3, mitochondrial [<i>Aricia agestis</i>]
g24733.	16	932,47	0,049322148	1,336	Alanine--tRNA ligase, cytoplasmic [<i>Papilio xuthus</i>]
g25185.	9	455,5	0,001567648	1,631	C-1-tetrahydrofolate synthase, cytoplasmic isoform X1 [<i>Amyeloides transitella</i>]
g25369.	7	439,93	0,033656986	2,214	Myophilin-like [<i>Bombyx mandarina</i>]
g25410.	17	1375,34	0,002140615	11,78	Allergen Tha p 1-like isoform X2 [<i>Spodoptera frugiperda</i>]
g25425.	14	1053,85	0,013728605	3,766	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g25485.	8	817,2	0,018965217	3,327	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g25907.	11	1001,76	0,048754165	2,403	Unnamed protein product [<i>Parnassius apollo</i>]
g26100.	2	56,51	0,004371968	2,808	Argininosuccinate synthase [<i>Helicoverpa armigera</i>]
g26271.	6	441,6	0,005380964	5,164	Putative ATP synthase subunit f, mitochondrial [<i>Amyeloides transitella</i>]
g2678.	5	260,79	0,015335609	3,490	N-acetylneuraminate lyase-like [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
g27328.	2	95,6	0,030474991	2,919	Uncharacterized protein LOC106124407 [<i>Papilio xuthus</i>]
g27490.	13	853,54	0,048926429	2,524	Glutathione S-transferase 1 [<i>Manduca sexta</i>]
g27493.	6	384,47	0,021156758	2,321	D-arabinitol dehydrogenase 1-like [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g27974.	4	245,42	0,046737468	1,641	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g2906.	7	499,52	0,003136403	4,261	Unnamed protein product [<i>Arctia plantaginis</i>]
g30342.	18	1105,19	0,003881537	6,527	Uncharacterized protein LOC114247201 [<i>Bombyx mandarina</i>]
g30345.	10	785,9	0,003318143	10,99	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]

g3062.	6	362,22	0,00812663	4,340	Uncharacterized protein LOC118281347 [<i>Spodoptera frugiperda</i>]
g32953.	19	1256,43	0,037898493	2,041	Fumarate hydratase, mitochondrial-like isoform X1 [<i>Colias croceus</i>]
g33076.	8	429,94	0,018481676	4,069	Hypoxia up-regulated protein 1 [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g33434.	8	607,84	0,044143364	2,551	V-type proton ATPase subunit G [<i>Aricia agestis</i>]
g33612.	3	224,47	0,039796665	3,011	Fatty acid synthase [<i>Plutella xylostella</i>]
g33867.	3	181,78	0,034640176	4,678	Receptor expression-enhancing protein 5 isoform X1 [<i>Trichoplusia ni</i>]
g34147.	267	14455,56	0,000937624	10,79	Basic juvenile hormone-suppressible protein 1-like [<i>Plutella xylostella</i>]
g34351.	4	209,37	0,002713721	6,350	Cytochrome b-c1 complex subunit 7-like [<i>Papilio polytes</i>]
g35086.	35	2297,25	0,005624018	5,168	Annexin B9 isoform X4 [<i>Papilio machaon</i>]
g35517.	9	567,27	0,008576077	2,469	Hypothetical protein EVAR_38570_1 [<i>Eumeta japonica</i>]
g35953.	26	1987,3	0,009863962	2,772	Insecticyanin-B-like [<i>Manduca sexta</i>]
g36452.	51	2991,01	0,001240079	3,251	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g36457.	33	1996,76	0,00804179	4,215	Arylphorin-like isoform X2 [<i>Plutella xylostella</i>]
g36460.	285	16269,56	0,002045783	7,843	Basic juvenile hormone-suppressible protein 2-like [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
g36461.	121	7097,65	0,002205513	9,261	Basic juvenile hormone-suppressible protein 2-like [<i>Helicoverpa armigera</i>]
g36709.	16	866,66	0,002217449	32,65	Unnamed protein product [<i>Danaus chrysippus</i>]
g36710.	20	1389,84	0,002340361	20,13	Larval cuticle protein LCP-17-like [<i>Zerene cesonia</i>]
g36711.	15	672,23	0,010725912	15,23	Larval cuticle protein LCP-17-like [<i>Amyelois transitella</i>]
g36712.	20	1134,52	0,001386605	18,67	Unnamed protein product [<i>Danaus chrysippus</i>]
g36723.	27	1551,46	0,016459207	1,391	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g36752.	7	313,19	0,044410225	2,353	Uncharacterized protein LOC114359035 isoform X2 [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g36778.	3	133,47	0,007866676	5,193	60S ribosomal protein L38 [<i>Bicyclus anynana</i>]
g36829.	3	199,82	0,008443508	4,048	V-type proton ATPase subunit F [<i>Papilio xuthus</i>]
g37086.	7	411,83	0,017522557	2,376	Larval cuticle protein LCP-30-like [<i>Plutella xylostella</i>]
g37166.	6	332,66	0,006541858	1,648	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial [<i>Manduca sexta</i>]
g37215.	5	327,48	0,01334328	5,536	Cytochrome c oxidase subunit 6A1, mitochondrial [<i>Papilio machaon</i>]
g3726.	4	189,73	0,016928254	3,828	Unnamed protein product [<i>Plutella xylostella</i>]
g3727.	3	141,71	0,004086212	4,780	L-xylulose reductase-like [<i>Helicoverpa armigera</i>]
g3728.	6	311,13	0,034627644	1,987	L-xylulose reductase-like [<i>Trichoplusia ni</i>]
g37625.	9	728,08	0,04389764	2,302	Spermine oxidase-like [<i>Maniola jurtina</i>]
g3976.	2	96,13	0,002572301	4,506	Fibrohexamerin [<i>Galleria mellonella</i>]
g5311.	17	1095,38	0,01145505	2,698	FK506-binding protein 2 isoform X2 [<i>Colias croceus</i>]
g5460.	22	1509,95	0,004261519	2,580	Protein lethal (3) malignant blood neoplasm 1 [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
g5685.	4	168,51	0,006523985	3,553	Unnamed protein product [<i>Danaus chrysippus</i>]
g5872.	25	1764,84	0,015258649	1,957	Nucleoside diphosphate kinase [<i>Eumeta japonica</i>]
g6165.	2	87,62	0,042919145	2,284	Putative mediator of RNA polymerase II transcription subunit 12 isoform X2 [<i>Hyposmocoma kahamanoa</i>]
g6293.	12	1147,36	0,028387764	2,334	6-Phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating [<i>Pieris brassicae</i>]
g6654.	5	312,99	0,038820896	2,928	Small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein beta-like [<i>Ostrinia furnacalis</i>]
g7218.	6	432,45	0,021166027	2,294	Myophilin [<i>Plutella xylostella</i>]
g8100.	6	289,32	0,004672767	10,34	Fibroin light chain-like [<i>Papilio xuthus</i>]
g8140.	2	87,89	0,001068779	15,22	Microtubule-associated protein futsch [<i>Amyelois transitella</i>]
g8899.	4	238,53	4,29968E-05	3,671	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 2 [<i>Spodoptera litura</i>]
g9255.	14	796,96	0,013720907	1,899	Unnamed protein product, partial [<i>Brenthis ino</i>]
g9749.	18	1035,47	0,015938328	3,076	Apolipoprotein-3 [<i>Manduca sexta</i>]

5.2.1 Identificação do proteoma obtido e enriquecimento por Ontologia Gênica.

A identificação das proteínas geradas nesta análise foi realizada inicialmente por PSM e de novo no programa Peaks com dados de um banco predito de proteína de *L. coffeella* sem anotação funcional. A anotação das proteínas identificadas foi então realizada nesta análise por meio de comparações das sequências obtidas utilizando o *Protein BLAST* do NCBI, permitindo o pareamento dos dados obtidos na análise proteômica com proteínas previamente descritas em bancos de dados públicos geral de lepidópteros. A utilização de um banco de dados abrangente desta classe possibilitou a identificação funcional das proteínas detectadas, uma vez que diferentes espécies dessa ordem possuem sequências e anotações bem representadas. A análise baseou-se no princípio de homologia, em organismos relacionados apresentam sequências semelhantes e estruturas tridimensionais conservadas, o que permitiu inferir funções biológicas para as proteínas de *L. coffeella* a partir da similaridades com proteínas já caracterizadas em outras espécies.

Dessa forma, proteínas de diversos organismos foram atribuídas ao conjunto proteico obtido para *L. coffeella* (Tabela 4, Tabela 5 e Tabela 6). Essa abordagem permitiu a identificação, caracterização e enriquecimento gênico dos dados gerados a partir do conjunto de proteínas predito.

O enriquecimento de GO foi realizado através da plataforma *String*. Como resultado, o gráfico da rede de interações (Figura 20A) evidenciou quatro principais *clusters* de proteínas: A- *Cluster* 1 (vermelho) encontrado significativamente associado a processos celulares (GO: 0009987), incluindo tradução, processos metabólicos e processos biossintéticos (Figura 20B). B- *Cluster* 2 (amarelo) fortemente associado à respiração mitocondrial aeróbica, destacando particularmente a fosforilação oxidativa (GO:0006119) como o eixo central da produção de energia celular (Figura 20C). C- *Cluster* 3 (verde) predominantemente implicado em processos metabólicos, e processos metabólicos de substâncias orgânicas (GO:0071704) (Figura 20D). D- *Cluster* 4 (azul) correlacionado aos constituintes estruturais da cutícula, sendo o termo mais enriquecido o desenvolvimento de cutícula à base de quitina (GO:0040003) (Figura 20E).

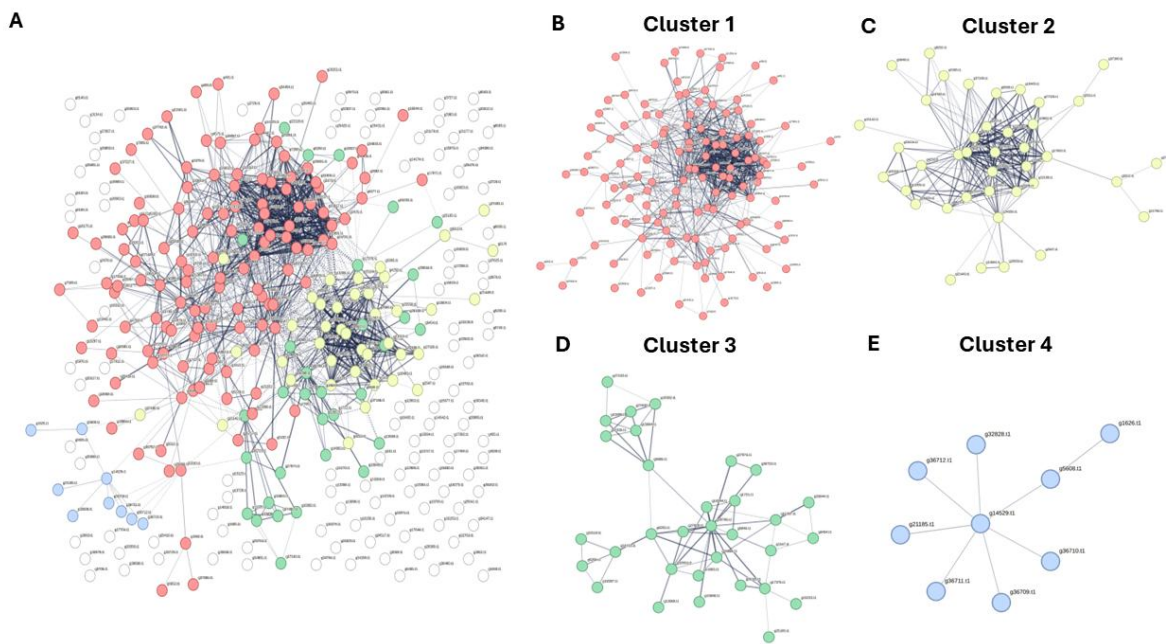


Figura 20: Análise de interação proteína-proteína das 324 proteínas diferencialmente abundantes (DPAs) obtidas na análise proteômica 2. **(A)** Principais *clusters* encontrados na interação da rede. **(B)** Proteínas (127 proteínas) associadas à tradução citoplasmática como o principal processo biológico considerando o valor de sinal mais alto. **(C)** Proteínas (40 proteínas) relacionadas à fosforilação oxidativa seguindo o mesmo parâmetro. **(D)** Proteínas (32 proteínas) ligadas ao processo biossintético de aminoácidos celulares. **(E)** Cluster de proteínas (9 proteínas) envolvidas no desenvolvimento de cutícula à base de quitina.

As principais vias metabólicas associadas ao conjunto geral de proteínas obtidas por meio da análise *KEGG* apresentaram envolvimento em metabolismo, transcrição e vias de respiração celular, o que reforça o enriquecimento gênico obtido para a análise, assim como a predominância de proteínas relacionadas aos processos de desenvolvimento larval (Figura 21).

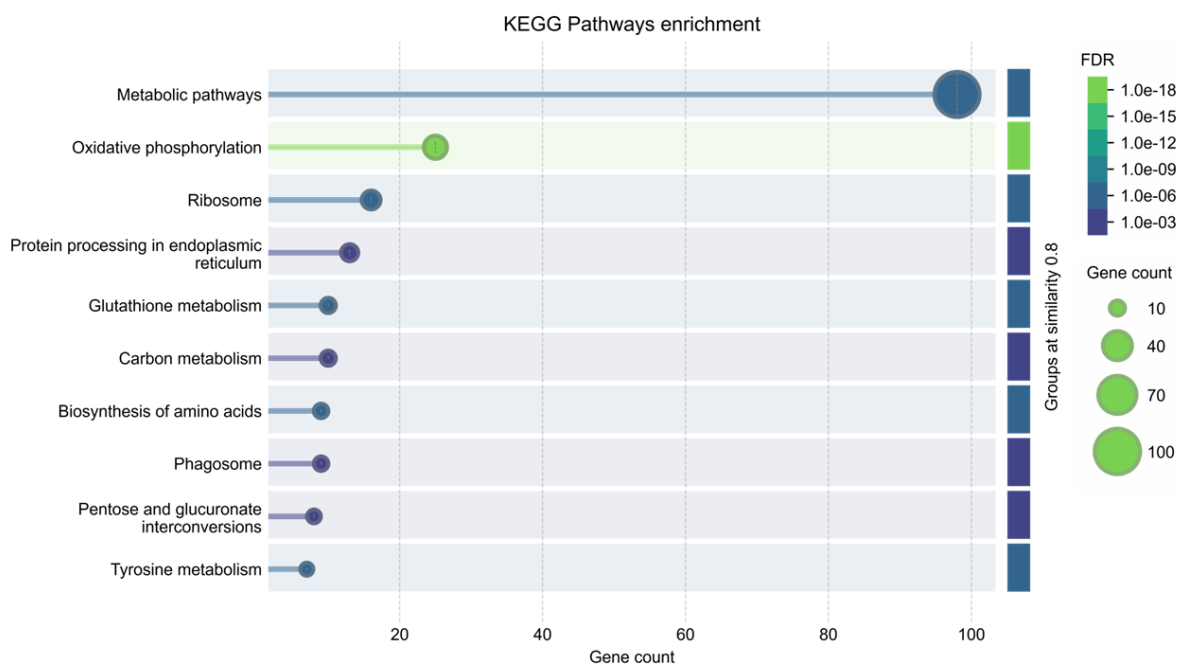


Figura 21. Enriquecimento de vias KEGG.

De forma geral, os resultados obtidos em ambas as análises proteômicas realizadas nesse estudo, revelam que as proteínas identificadas estão amplamente associadas a processos essenciais para o funcionamento celular. Os dados obtidos reforçam que grande parte das DPAs desempenham papéis fundamentais em atividades relacionadas ao crescimento, manutenção e especialização celular, evidenciando a dinâmica molecular que sustenta o desenvolvimento do BMC. O conjunto de dados aqui apresentados fornece uma base para a compreensão dos mecanismos biológicos subjacentes às mudanças proteômicas observadas na transição dos estágios larvais, servindo como ponto de partida para futuras análises que utilizem dados moleculares como estes.

5.3 RT-qPCR

Como forma de complementar os resultados proteômicos obtidos em ambas as análises proteômicas, foram selecionados 7 potenciais genes relacionados ao desenvolvimento e sobrevivência do BMC para validação adicional da expressão gênica por RT-qPCR. Esses genes foram escolhidos a partir dos dois conjuntos de dados gerados neste estudo. A partir da Proteômica 1, foram selecionados os genes EK1 e PO6 (A0A8S4GEK1 e A0A8S4DP06), descritos como Proteínas Hipotéticas em *P. xylostella* porém com processos biológicos atrelados a importantes funções de desenvolvimento cerebral. A partir da Proteômica 2, foram selecionados três genes que codificam proteínas descritas como letais (g9534, g5460, g32592),

um gene que codifica uma proteína associada às sinapses (g34086) e um gene que resulta na produção de uma proteína relacionada à regulação básica do hormônio juvenil (g34147). A identificação dos genes utilizados na análise encontra-se relacionados na Tabela 8.

Tabela 8. Informações sobre os genes selecionados para análise de expressão gênica por RT-qPCR. Foram selecionados genes em ambas as análises proteômica (Proteômica 1 e Proteômica 2). Foram considerados magnitude acima de 2 ($FC > 2$), contagem de peptídeos utilizados na identificação (acima de 2), e processos biológicos relevantes para o desenvolvimento e sobrevivência do organismo.

Gene ID	Anotação	Análise Proteômica	Comparação	Abundância	FC	Pep. Count	Processo biológico
A0A8S4GEK1	Hypothetical protein	Proteômica 1	L2/L4	Aumentada em L2	3,02	9	Desenvolvimento do sistema nervoso
A0A8S4DP06	Hypothetical protein	Proteômica 1	L2/L4	Aumentada em L2	2,26	3	Desenvolvimento Neuronal
g9534	Lethal(2) giant larvae protein isoform X1	Proteômica 2	L2/L4	Aumentada em L2	2,5	11	Supressão tumoral
g5460	Lethal(3) malignant blood neoplasm 1	Proteômica 2	L2/L4	Diminuída em L2	2,58	22	Constituinte estrutural da cutícula
g32592	Lethal(2) essencial for life-like	Proteômica 2	L2/L3	Diminuída em L2	3,02	4	Resposta a estresse
g34086	Synapse-associated protein of 47kDa isoform X3	Proteômica 2	L2/L4	Aumentada em L2	3,51	3	Plasticidade Sináptica
g34147	Basic Juvenil hormone-suppressible protein 1 like	Proteômica 2	L2/L4	Diminuída em L2	10,79	267	Regulação hormonal

Os resultados revelaram que EK1 e P06 não apresentaram amplificação detectável nas condições experimentais testadas. Esse resultado pode indicar que tais genes não estejam sendo expressos em níveis detectáveis dentro dos estágios de desenvolvimento larval analisados. No entanto, a ausência de amplificação também pode estar relacionada a limitações no desempenho dos *primers* utilizados. É possível que estes tenham anelado em regiões sujeitas a *splicing* alternativo ou em segmentos que apresentem modificações, mutações ou polimorfismos, especialmente considerando as variações que podem ocorrer entre genes ortólogos de diferentes espécies. Ainda assim, em contraste com o resultado acima citado, os cinco genes derivados do conjunto de dados escolhidos a partir da Proteômica 2 exibiram amplificação, conforme apresentado na Figura 22. Isto pode indicar uma maior representatividade dados proteômicos gerado na proteômica 2 para o conjunto larval de *L. coffeella*. Os resultados de amplificação para cada gene que apresentou amplificação na análise estão relacionados a seguir.

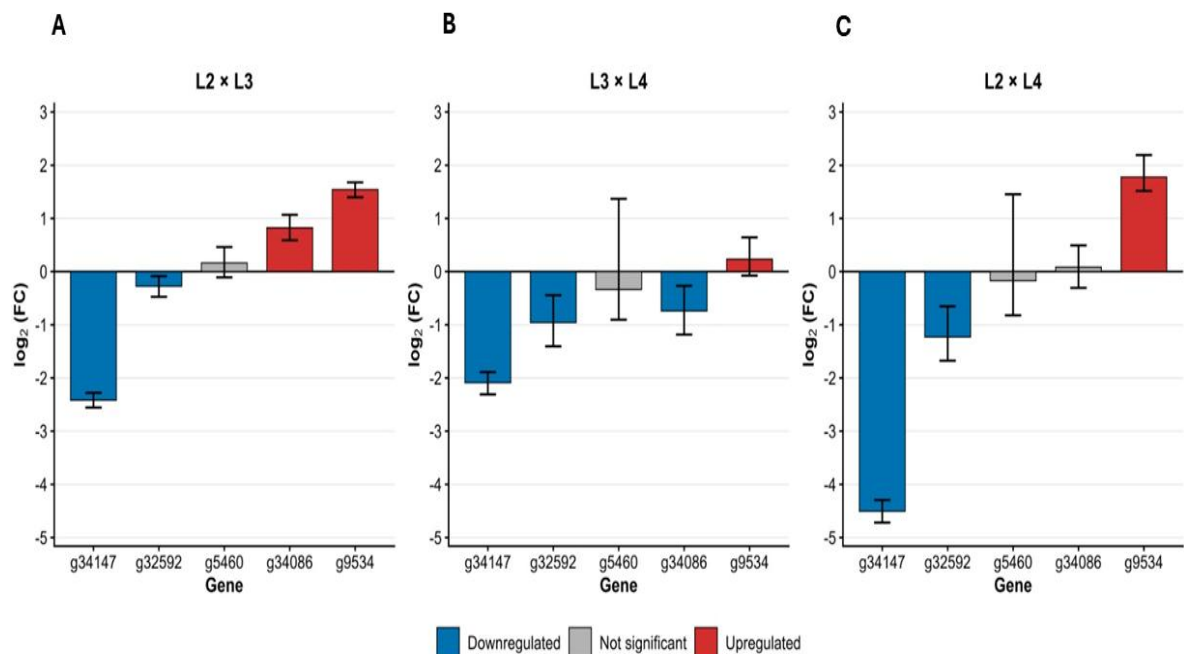


Figura 22. Perfil de expressão gênica diferencial entre os estágios larvais do BMC. Análise de RT-qPCR da expressão relativa (log₂FC) de cinco genes em comparações par a par entre os estágios larvais L2, L3 e L4. As barras representam a média do log₂(FC) e as linhas de erro indicam o desvio padrão. Genes significativamente regulados negativamente são mostrados em azul. Genes regulados positivamente são mostrados em vermelho e genes não significativos em cinza. (A) Comparação entre o segundo e o terceiro ínstar; (B) Comparação entre o terceiro e o quarto ínstar; (C) Comparação entre o segundo e o quarto ínstar.

O gene g34147 exibiu uma regulação negativa em todas as comparações (Figura 22). Foi observado uma redução de 5,348 vezes na expressão gênica para a transição de L2 para L3 ($\log_2FC = -2,419$) e de aproximadamente 4,26 vezes de L3 para L4 ($\log_2FC = -2,089$). Em comparação direta entre os estágios inicial (L2) e final (L4), a expressão foi reduzida em 22,73 vezes ($\log_2FC = -4,507$), o que evidenciou um declínio acentuado no nível de transcrição do gene durante o desenvolvimento larval.

O gene g32592 também apresentou uma redução contínua da expressão ao passar pelos estágios de desenvolvimento. Na comparação L2/L3, a expressão diminuiu 1,21 vezes ($\log_2FC = -0,275$), indicando que a redução na expressão do gene ocorre já na transição inicial entre os ínstares. Na comparação L3/L4, observou-se uma nova queda, na ordem de 1,94 vezes ($\log_2FC$ entre -0,956), mostrando que a repressão continua de forma progressiva no decorrer do desenvolvimento. A comparação L2/L4 evidenciou um efeito acumulado dessas duas transições, resultando em uma redução de cerca de 2,35 vezes ($\log_2FC = -1,232$) do início ao fim do período de estudo. Esse padrão sugere que g32592 é mais ativo em L2, pouco expresso em L3 e ainda menos em L4 (Figura 22).

O gene g5460 não apresentou variação significativa de expressão ao longo dos três ínstares larvais analisados (Figura 22), indicando que os níveis de transcrição deste gene permanecem relativamente estáveis durante o desenvolvimento larval, sem um padrão claro de regulação positiva ou negativa ao longo das transições.

O gene g34086 apresentou regulação positiva, com aumento de aproximadamente 1,77 vezes ($\log_2FC = 0,825$) na expressão para a comparação entre as fases L2/L3, seguida por uma regulação negativa na transição da fase L3 para L4, com redução de 1,67 vezes ($\log_2FC = -0,741$). Na comparação entre o estágio inicial (L2) e o estágio final (L4), não houve diferença significativa no perfil de expressão (Figura 22).

O gene g9534 exibiu um padrão de regulação positiva ao longo do desenvolvimento larval (Figura 22). Na transição inicial de L2 para L3, foi observado um aumento pronunciado na expressão gênica, com aumento de 2,91 vezes ($\log_2FC = 1,543$). Uma leve elevação na comparação L3/L4 foi observada, na qual o gene foi 1,18 vezes mais expresso ($\log_2FC = 0,234$). A comparação direta entre o estágio inicial (L2) e final (L4) revelou o efeito acumulado de regulação positiva, com o gene apresentando 3,43 vezes mais expressão em L4 que em L2 ($\log_2FC = 1,778$). Esse padrão sugere a ativação sustentada do gene durante o desenvolvimento larval, com o maior salto ocorrendo na transição inicial (L2/L3), elevando os níveis até o estágio L4.

6. DISCUSSÃO

As proteínas são estruturas químicas altamente complexas e sofisticadas (Alberts et al., 2017). Conhecer essas estruturas, como se comportam e como se coordenam em determinadas condições nos permite descobrir e explorar novos horizontes sobre o funcionamento celular de organismos complexos, além de possibilitar o entendimento mais claro e amplo das suas principais funções e comportamentos em processos celulares tangentes a biologia de sistemas vivos como os insetos (Cho, 2007; Yang et al., 2021).

Ao longo dos anos, o avanço nas ciências ômicas tornou possível o desenvolvimento de tecnologias que, no presente, são ferramentas indispensáveis para geração de transcriptomas, proteomas e metabolomas usados como base em programas de desenvolvimento, inovação e gestão no âmbito do melhoramento de culturas (Yang et al., 2021). Estas tecnologias tornaram-se propulsoras para o aprimoramento da agricultura moderna. O desenvolvimento de proteomas aplicados ao controle de pragas agrícolas abre caminho para a identificação com alto grau de especificidade de novas moléculas-alvo, que por sua vez permitem o desencadear de um cenário de controle mais eficaz, seletivo e de baixo impacto ecológico/ambiental (Dastranj; Gharechahi; Salekdeh, 2016).

O BMC ganhou notoriedade dentro da cultura do café ao longo dos anos, destacando-se como o inseto mais prejudicial aos cafeeiros (Infante et al., 2023; Parra; Reis, 2013). Entretanto, apesar de ser praga chave e exercer alto impacto depreciativo nas lavouras de café, há pouca informação a nível molecular disponível para este inseto (Niu et al., 2024). Embora estratégias/programas de controle que visam melhorar a resistência do café aos ataques desta praga por meio de ferramentas biotecnológicas e ômicas, como melhoramento clássico e modificações genéticas tenham sido reportados na literatura, a sua ampla maioria baseia-se no estudo do conjunto proteico da planta de café, deixando uma lacuna de conhecimento nesta área acerca dos genes e proteínas diretamente relacionadas à praga (Ariyoshi et al., 2022; Maghuly; Jankowicz-Cieslak; Bado, 2020; Vieira et al., 2006; Villalta-Villalobos; Gatica-Arias, 2019). A limitação de informações ômicas disponíveis para o BMC torna o processo de identificação de proteínas e genes para esse inseto particularmente desafiador.

As análises proteômicas aqui empregadas foram realizadas por métodos qualitativos e quantitativos, em que a identificação do proteoma foi realizada para os estágios larvais L2, L3 e L4 por meio de dois conjuntos de dados em duas estratégias de identificação. Convencionalmente, a abordagem mais utilizada para identificação de proteínas é baseada na caracterização de picos não interpretados provenientes dos espectros de MS/MS em bancos de proteínas cuja sequências proteicas estão precisamente anotadas (Junqueira et al., 2008).

Entretanto, a eficácia dessa abordagem é reduzida quando não há disponibilidade de dados experimentais diretos, impondo uma limitação significativa à análise. A proteômica por similaridade permite inferir a função de proteínas baseada em domínios conservados assim como na identificação de genes codificadores de proteínas em genomas recém-sequenciados, em que a precisão da análise é dependente da semelhança entre a proteína-alvo e a proteína do modelo.

Dentre a classe dos lepidópteros, o BMC exhibe características que o aproxima à insetos como *M. sexta* e *P. xylostella*, organismos já caracterizados por estudos proteômicos que possuem dados moleculares anotados em bancos consolidados, os configurando como promissores organismos modelo dentro da mesma classe (Dittmer et al., 2015; Hassan et al., 2018). A exemplo de trabalhos reportados na literatura, o estudo realizado por Song et al., (2008) dispõe a análise proteômica de larvas de *P. xylostella* parasitadas por *C. plutellae*, com anotação de dados de sequências proteicas para fase de desenvolvimento larval do organismo, ampliando a probabilidade de sucesso na busca por proteínas dos estágios larvais do BMC. Levando em consideração que proteínas derivadas de um ancestral comum (homólogas) tendem a manter sequências de aminoácidos semelhantes e conservar estruturas tridimensionais, que estão correlacionadas a manutenção da função proteica (Santos Filho; Alencastro, 2003), explorar a conservação entre sequências proteicas permite gerar anotações funcionais mais confiáveis para insetos com genomas pouco caracterizados, especialmente quando comparados a organismos filogeneticamente próximos e com dados moleculares anotados (Dastranj; Gharechahi; Salekdeh, 2016).

Neste contexto, a primeira estratégia de identificação proteica foi realizada por homologia ao banco de dados de *P. xylostella* gerando a Proteômica 1, que resultou em um conjunto de 141 DAPs, que compreendem proteínas relacionadas a processos metabólicos e celulares essenciais no desenvolvimento larval. Na sua grande maioria, foram identificadas proteínas atreladas a atividades como crescimento, especialização e manutenção celular, que é coerente com o desenvolvimento fisiológico de larvas de insetos lepidópteros. Entre as proteínas identificadas, foram encontradas *peptidylprolyl isomerases* (PPIs), *Hsp10*, *prohibitin* e *Proteasome subunit beta type-3*, que são exemplos de proteínas que exercem papéis na manutenção da homeostase proteica, essencial diante da elevada taxa de síntese e remodelação celular e são importantes para o desempenho metabólico (Blijlevens et al., 2020; Böttinger et al., 2015; Mishra; Ande; Nyomba, 2010; Shaw, 2002). Proteínas estruturais e regulatórias, como *tubulin β* , *GTPases*, e *Annexin* também foram identificadas e reforçam o papel de processos de divisão, sinalização e organização celular e refletem a dinâmica celular para

crescimento tecidual e reorganização morfológica (Bharadwaj et al., 2013). Enzimas como *glucosidase II* e *UDP-N-acetylglucosamine diphosphorylase*, encontradas entre as fases larvais estudadas, são associadas ao metabolismo de carboidratos e glicoproteínas, e fazem parte do mecanismo de digestão (Hegedus; Toprak; Erlandson, 2016). Proteínas ligadas ao metabolismo lipídico e armazenamento, como *fatty acyl-CoA reductase* e *storage protein 1*, refletem os processos associados ao acúmulo de reservas e mecanismos relacionados a metamorfose (Hofvander; Doan; Hamberg, 2011). Esse conjunto de dados reflete um breve panorama funcional de funções metabólicas, estruturais e regulatórias essenciais ao desenvolvimento larval.

Embora a análise proteômica 1 tenha evidenciado importantes proteínas para as larvas de BMC, a utilização de dados do próprio organismo permite uma caracterização mais acurada e biologicamente representativa, visto as mudanças pontuais que podem ocorrer nas proteínas produzidas por diferentes organismos (Santos Filho; Alencastro, 2003). Como o surgimento da disponibilidade de dados genômicos e transcriptômicos possibilitou inferir sequências de possíveis proteínas produzidas para o BMC, anotadas em banco predito, uma nova análise (Proteômica 2) foi realizada buscando um conjunto proteico mais representativo da biologia da espécie. A limitação para o uso de um banco de dados como este, está na correspondência de anotação, visto a ausência de anotação funcional específica, que neste caso foi obtida por análise *Blast* em diferentes bases de dados abrangente para Lepidópteros, que contém sequências proteicas previamente anotadas e permite uma inferência funcional mais robusta, possibilitando uma melhor correspondência e interpretação funcional (Matos et al., 2023). Esta análise reforçou a presença de proteínas identificadas na proteômica 1 como, *Hsps*, *Fatty acid synthase* e *reductases*, *anexins*, fatores de transcrição etc., importantes no desenvolvimento larval. Também foram evidenciadas outras proteínas como *Basic juvenile hormone-suppressible protein 1-like (BJSP-1)*, proteínas letais como *Lethal (2) giant larvae protein*, *Synapse-associated protein of 47 kDa* entre outras. Esses dois conjuntos de dados obtidos através da proteômica 1 e proteômica 2 permitiu um exame detalhado e mais abrangente de potenciais proteínas envolvidas na sobrevivência e desenvolvimento do BMC.

O número de DAPs obtidas foi maior quando a busca foi realizada em um banco de dados mais amplo (Proteômica 2). Esta busca por correspondências peptídicas em um banco de dados maiores permitiu a identificação de proteínas conservadas entre grupos/organismos diversos, aumentando as chances de encontrar motivos funcionais bem conservados entre elas. Em contraste, as buscas restritas a um banco de dados de um único organismo bem-curado tendem a fornecer maior especificidade e anotação proteica mais precisa (Espindola et al.,

2010). Desta forma ambas as análises proteômicas fornecem importantes dados sobre o conjunto proteico das larvas de BMC.

Apesar dessas diferenças metodológicas e de análises de similaridade entre as duas proteômicas serem necessárias para estabelecer o grau de semelhança exato entre elas, ambas as proteômicas mostraram proteínas envolvidas em processos biológicos semelhantes. Além disto, os dados obtidos em ambas as análises também foram capazes de revelar diferentes proteínas com funções e características únicas que podem ser relevantes para estratégias de manejo de pragas, algumas das quais serão discutidas a seguir.

6.1 Proteínas envolvidas na formação, desenvolvimento e sobrevivência do BMC

As proteínas de orientação do axônio dos neurônios motores podem ser exploradas como alvos ou marcadores em estratégias de controle com alta especificidade, para interferir no desenvolvimento neuromuscular larval. Durante o desenvolvimento embrionário ou larval, a orientação dos axônios dos neurônios motores facilita a conexão correta aos músculos (Araújo; Tear, 2003; Menon; Carrillo; Zinn, 2013). Em insetos como a Mosca das frutas (*Drosophila melanogaster*) e mosquitos, o sistema neuromuscular desempenha um papel crítico na locomoção, alimentação e nos comportamentos anti-predatórios (Büschges; Ache, 2025; Gowda; Salim; Mohammad, 2021). Neste estudo foram identificadas diversas proteínas aumentadas entre os instares larvais analisados que foram associadas a processos biológicos relacionados a funções neuronais, incluindo: *synapse-associated protein of 47 kDa* (g34086; FC:3,35), e *hypothetical proteins* (A0A8S4DP06; FC: 2,2; A0A8S4GEK1; FC: 3,2; A0A8S4G2X3; FC: 3,50 e A0A8S4G8N3; FC: 1,77). As proteínas *hypothetical proteins* A0A8S4DP06 e A0A8S4GEK1, envolvidas em processos biológicos relacionados ao desenvolvimento neuronal e de sistema nervoso, identificados na proteômica 1 com padrão de abundância aumentada entre os instares L2 e L4, não apresentaram amplificação gênica para a análise de RT-qPCR. Ainda assim, os resultados da análise de expressão gênica por RT-qPCR mostraram que o gene g34086, selecionado a partir da proteômica 2, que codifica a proteína *synapse-associated protein of 47 kDa* (SAP47) foi regulado positivamente no instar L2 quando comparado aos instares L3 e L4, porém este padrão na regulação não foi significativo em L4. Este resultado relaciona-se com os resultados encontrados na proteômica 2, que mostram que a proteína identificada possui abundância relativa aumentada para esses mesmos estágios. Entretanto, quando observado os resultados da expressão gênica na comparação dos estágios finais L3/L4 a regulação do gene foi negativa, evidenciando a sua maior expressão dentro da

fase inicial do desenvolvimento. O gene *SAP47* guarda alta similaridade ao gene com mesma anotação (*synapse-associated protein of 47 kDa - SAP47*) em *Drosophila melanogaster*, que codifica uma proteína pré-sináptica altamente conservada em diferentes táxons. Essa proteína se encontra próxima às vesículas sinápticas e é essencial para a plasticidade sináptica de curto prazo. Embora aparentemente não seja necessária para a neurotransmissão basal nem para funções sensoriais e motoras, sua presença é crucial para que as sinapses consigam adaptar sua resposta, interferindo em processos essenciais, como aprendizagem e memória associativa. Quando o gene não é expresso, os animais apresentam sinapses com plasticidade comprometida e exibem uma redução acentuada na capacidade de aprendizagem associativa, revelando que o *SAP47* é indispensável para o ajuste fino da comunicação neuronal e para o desempenho adequado de comportamentos aprendidos (Reichmuth et al., 1995; Saumweber et al., 2011).

A interferência no sistema neural pode comprometer a sobrevivência larval. Um trabalho recente em *D. melanogaster* demonstrou que a manipulação da via de sinalização *Wnt/Frizzled*, que está diretamente associada à orientação de axônios de neurônios motores, altera os padrões de locomoção larval, redireciona os comandos motores e prejudica a resposta tátil. Essa forma de plasticidade pode ser utilizada para manipular comportamentos larvais, aumentando sua vulnerabilidade a predadores naturais ou reduzindo sua eficiência em colonizar o ambiente e alimentar-se (Takagi et al., 2024; Zuñiga et al., 2023). A presença de proteínas associadas a esses processos no grupo de proteínas identificadas para *L. coffeella*, principalmente nos instares iniciais, pode indicar estágios críticos da formação neuromuscular relacionados ao seu desenvolvimento larval. Essas proteínas podem servir como alvos potenciais para interferência comportamental e no desenvolvimento de estratégias de controle biológico baseadas em disfunção locomotora. Tais estratégias podem se basear em tecnologias inovadoras de silenciamento gênico, incluindo interferência por RNA (RNAi) ou edição genética (CRISPR).

O desenvolvimento e a metamorfose completa em insetos envolvem mudanças morfológicas, fisiológicas e moleculares significativas, orquestradas por diversos sinais hormonais (Si et al., 2020). Este processo envolve a expressão coordenada de proteínas estruturais (proteínas cuticulares), enzimas para a síntese e degradação da quitina, assim como proteínas envolvidas na esclerotização da cutícula (Yang et al., 2019, 2020; Zhuo et al., 2014). A análise proteômica quantitativa de mudas larvais e metamórficas de insetos estudada por Si et al., (2020) revelou DAPs altamente associadas a essas transições, além do importante papel do hormônio juvenil (JH) na regulação desses processos. De acordo com o estudo, a presença ou falta de JH determina quando as larvas progridem seus instares ou entram na fase de pupação.

Interessantemente, entre as proteínas identificadas na análise proteômica 2, proteínas *basic juvenile hormone-suppressible protein (BJHS)* foram observadas distribuídas entre o conjunto de proteínas aumentadas e diminuídas para os estágios larvais do BMC, incluindo a presença com abundância diminuída na transição L2/L4 (Proteômica 2) para a *basic juvenile hormone-suppressible protein 1-like* (FC:10,79), produzida através do gene g34147. O resultado da análise de expressão gênica por RT-qPCR para este gene apresentou regulação negativa em todas as comparações. Esta proteína é uma proteína de reserva típica em lepidópteros importantes na dinâmica de transição de muda, que a tem a sua expressão suprimida pelos níveis de JH entre as fases. Em níveis baixos de JH a expressão desse gene é aumentada, enquanto nas fases que expressam mais JH esse gene tem sua expressão diminuída (Lu et al., 2022).

A proteína *basic juvenile hormone-suppressible protein 1-like*, teve sua anotação corroborada pela análise de similaridade (*BLAST*) no banco de dados *UniProt* e as buscas identificaram três proteínas homólogas em lepidópteros: A0A9R0DFM1 de *Spodoptera frugiperda* (59,3% de identidade), A0A7E5W7C3 de *Trichoplusia ni* (58,6% de identidade) e A0A9P0BPT7 de *Chrysodeixis includens* (58,9% de identidade). Estas proteínas estão inseridas na família das hemocianinas. As proteínas da família das hemocianinas compreendem diversos grupos funcionais em insetos, incluindo as proteínas básicas supressíveis por hormônio juvenil (BJHSPs), que constituem um grupo distinto dentro desta superfamília. Funcionalmente, as BJHSPs desempenham múltiplos papéis no desenvolvimento larval, atuando primariamente como proteínas de armazenamento que acumulam aminoácidos durante o último ínstar para posterior mobilização durante a metamorfose. Análises *in vitro* estabeleceram que BJSP-1 de *P. xylostella* possui capacidade de ligação ao hormônio juvenil (JH) livre, com saturação observada em 12 pg/ml, sugerindo participação no transporte e proteção deste hormônio contra degradação prematura. A expressão de BJSP-1 pode ser modulada por fatores externos, como demonstrado pela toxina Cry7Ab4 de *Bacillus thuringiensis*, que induz aumento significativo nos níveis de mRNA de BJSP-1 em corpo gorduroso (1.94 vezes) e hemócitos (3.04 vezes), resultando em redução de aproximadamente 16% no JH livre após 72 horas e consequente atraso de 24 horas na pupação. Estes achados indicam que estas proteínas participam ativamente na modulação do *timing* metamórfico através da regulação dos níveis de JH disponível (Gu et al., 2015; Jones; Manczak; Horn, 1993; Lu et al., 2022). Análises funcionais futuras, incluindo *knockdown* por RNAi ou ASO nos estágios iniciais, seriam valiosas para elucidar o papel específico deste gene no desenvolvimento larval precoce.

Diferentes estágios de desenvolvimento apresentam exigências e perfis metabólicos distintos. Os estágios larvais priorizam o crescimento e o acúmulo de nutrientes, enquanto os estágios pupais enfrentam uma extensa remodelação tecidual. A análise transcriptômica de *Ips typographus* ao longo dos estágios de vida revelou 61 vias metabólicas enriquecidas, com padrões de expressão específicos de cada estágio para genes envolvidos no metabolismo energético, biossíntese e resposta ao estresse (Naseer et al., 2023). A maquinaria molecular por trás da muda, formação da cutícula e metamorfose, são processos essenciais para o desenvolvimento dos insetos e as proteínas atreladas a estes processos representam potenciais alvos para intervenções de controle de pragas.

Proteínas relacionadas com desenvolvimento larval foram identificadas com abundância relativa aumentada ($FC > 2$) entre todas as comparações das fases larvais do BMC em ambas as análises proteômicas realizadas neste estudo, incluindo proteínas de componentes estruturais e de cutícula, que atuam na formação e organização do citoesqueleto, como a proteína *Tubulin beta chain* (A0A8S4FXD7, FC:12,5) e as *hypothetical proteins* (A0A8S4FAP4, FC:10,32; A0A8S4FIJ5, FC:8,37; A0A8S4ECP7, FC:11,71) identificadas através da proteômica 1. São exemplos entre as proteínas identificadas na proteômica 2, as *larval cuticle protein LCP-30* [*Manduca sexta*] (g21177. FC:3,39), *endocuticle structural glycoprotein SgAbd-8-like* [*Spodoptera frugiperda*] (g21185. FC:2,88), *keratin, type II cytoskeletal 1-like* [*Danaus plexippus plexippus*] (g25431. FC:2,17) e *larval/pupal rigid cuticle protein 66-like* [*Vanessa tameamea*] (g13304. FC:2,23). Outras proteínas envolvidas no metabolismo proteico, em reserva de nutrientes e expressão gênica também foram encontradas nos dados proteômicos obtidos (Tabelas 2-7). Uma das proteínas presentes com participação importante nesses aspectos são as *insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein (IGF2BPs)* (g486, g491) que pertencem a uma família altamente conservada de ligantes de RNA e atuam como ajustador fino pós-transcricional em transcritos alvo. Elas regulam o processamento e metabolismo do RNA e estão envolvidas várias funções celulares e fisiopatológicas, tendo relevância funcional em desenvolvimento embrionário (Du; Zhu; Pei, 2021).

Dentre os dados proteômicos obtidos para as larvas de BMC, o gene g9534, codificador da proteína *lethal giant larvae (Lgl)* (FC:2,50), envolvido no sistema de desenvolvimento larval é essencial para a polaridade celular e desenvolvimento em eucariotos, codificando uma proteína que regula o citoesqueleto, a proliferação celular e a diferenciação tecidual (Xiao et al., 2014). Esta proteína foi encontrada com abundância aumentada quando o ínstar L2 foi comparado com o ínstar L4 na análise proteômica 2. Os resultados da análise de expressão gênica por RT-qPCR mostraram que este gene foi regulado positivamente em todos os ínstar

analisados. Isso reforça a importância da regulação e abundância positiva do mesmo para que as larvas se desenvolvam e transicionem durante a passagem dos estágios larvais.

Lgl é bem conservado entre várias espécies de insetos. Na avaliação de similaridade (*BLAST*) do NCBI verificou-se que diversas proteínas com alta similaridade receberam a mesma denominação. Entre elas destacam-se a A0A921Z4N7 de *Manduca sexta* (81,1%) e a A0A9P0IF54 de *Spodoptera littoralis* (81%). Sua conservação evolutiva é demonstrada pela presença de quatro sítios de fosforilação idênticos em todas as espécies de insetos estudadas. Funcionalmente, o gene é essencial para a metamorfose, uma vez que codifica uma proteína *scaffold* de membrana que, em conjunto com os complexos *Scrib* e *Par6/aPKC*, estabelece a polaridade apical-basal das células, regula a organização do citoesqueleto de actina e controla processos essenciais como proliferação celular, diferenciação e tráfego vesicular. Experimentos com RNAi em *T. castaneum* mostraram que seu silenciamento causa 100% de mortalidade em larvas jovens, reduz em até 82% a pupação em larvas maduras, e diminui em 89% a eclosão normal de adultos (Xiao et al., 2014). Esses resultados reforçam o papel funcional desse gene, evidenciando sua relevância nos processos associados ao desenvolvimento larval do BMC, o que o destaca como um candidato particularmente promissor para o desenvolvimento de estratégias de controle direcionadas ao inseto.

A biossíntese de Aminoácidos, é considerada em insetos holometábolos como processo de grande importância para o crescimento e a diferenciação pré- e pós-embrionária. Nas fases de desenvolvimento do inseto, o crescimento e endurecimento da cutícula, a indução do metabolismo de carboidratos e gorduras, vinculando o ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo de TCA), são as consequências mais cruciais do metabolismo de proteínas (Chatterjee et al., 2024). A transição de larva para pupa e a preparação para fase adulta, envolvem uma extensa reorganização dos tecidos, sendo que alguns tecidos larvais passam por histólise para estruturas adultas se desenvolverem. Esse processo requer um controle preciso temporal e espacial da expressão gênica e da síntese de proteínas (Si et al., 2020). Os conjuntos proteicos identificados nestas análises para proteoma larval do BMC reforçam a presença expressiva de proteínas relacionadas a esses papéis.

Adaptado a diferentes estratégias de alimentação, o processo de digestão em insetos está relacionado a processos enzimáticos complexos. Para insetos fitófagos como *L. coffeella*, as enzimas digestivas processam de forma eficiente proteínas, carboidratos e lipídios presentes nas plantas das quais se alimentam, enquanto também lidam com compostos defensivos vegetais (Dawkar et al., 2016). Proteases (serino-proteases, cisteíno-proteases, aspartato-proteases, metaloproteases), carboidrases (amilases, glucosidases) e lipases estão entre as

principais classes de enzimas digestivas. A expressão e a atividade dessas enzimas variam de acordo com o estágio de desenvolvimento, dieta e estado fisiológico do inseto (Júnior; Lazzari; Júnior, 2006). A proteômica intestinal comparativa de *Ips typographus* identificou várias enzimas digestivas com abundância diferencial entre os estágios de desenvolvimento. O estudo revelou perfis metabólicos específicos de cada estágio, mostrando regulação positiva de proteínas vinculadas ao metabolismo de ácidos graxos e ao ciclo do TCA (Ashraf et al., 2023).

Entre o conjunto proteico identificado para as fases larvais do BMC, *aminopeptidase N-like isoform XI [Maniola jurtina]* (g36690. FC:3,15), *Alpha-galactosidase* (A0A8S4FJS6, FC: 3,38); *UDP-N-acetylglucosamine diphosphorylase* (A0A8S4EXL9 FC: 2,23); *carbonyl reductase (NADPH)* (A0A8S4DRH5 FC:2,20), *Carboxylic ester hydrolase* (I1VRJ7 FC: 2,23) e *UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase [Ostrinia furnacalis]* (g16644. FC:4,6) são algumas das enzimas com abundância positiva e *fold change* significativo (FC>2) encontradas entre as comparações. Ainda assim, enzimas com FC menores que 2 como *Glucosidase II subunit alpha* (A0A8S4G886 FC:1,39), *succinate dehydrogenase* (A0A8S4E8B6 FC:1,39) que atua no ciclo do ácido cítrico (TCA) (FlyBase Consortium, 2024). também estão presentes entre o conjunto proteico obtido para as larvas de BMC.

A desintoxicação também é simultaneamente presente na digestão em insetos com características alimentares como a do BMC, particularmente ao se alimentar de plantas que contêm compostos defensivos ou quando exposto a ação inseticidas. O núcleo da desintoxicação em insetos comumente apresenta enzimas como as *monooxigenases do citocromo P450* (P450s), as *glutathione S-transferases* (GSTs) e as *carboxil/colinesterases* (esterases) (Hilliou et al., 2021; Robertson; Carter; Mitchell, 2025). A análise proteômica do tecido intestinal de larvas de *H. armigera* alimentadas com clorpirifós identificou 23 proteínas moduladas positivamente envolvidas na digestão, imunidade, resposta ao estresse e desintoxicação. Análises bioquímicas e de qPCR indicaram que os insetos tinham dificuldade de adquirir nutrientes enquanto metabolizam o inseticida, revelando o custo metabólico da desintoxicação (Dawkar et al., 2016). Os sistemas de desintoxicação de insetos representam uma defesa crítica contra xenobióticos, incluindo metabólitos secundários de plantas, toxinas ambientais e inseticidas sintéticos. Os efeitos prejudiciais de níveis elevados de cafeína em plantas de café sobre diferentes organismos são amplamente documentados na literatura (Park; Lee, 2007; Robertson; Carter; Mitchell, 2025). Guerreiro Filho e Mazzafera, (2000) estudaram o teor de cafeína e sua correlação com os danos causados ao BMC. A conclusão demonstrou que a cafeína não apresenta um potencial tóxico para *L. coffeella*, reforçando a ideia de defesa desenvolvida pelo inseto contra compostos como este. A presença de proteínas associadas à

defesa e à adaptação durante os estágios iniciais do desenvolvimento larval pode implicar um papel potencial na defesa ou adaptação a compostos moleculares como este, que estão abundantemente presentes em plantas como o café (Júnior; Lazzari; Júnior, 2006).

Os dados proteômicos obtidos na análise da transição larval entre os estágios iniciais (L2/ L3) revelaram proteínas altamente associadas ao armazenamento de nutrientes e à síntese de ácidos graxos com abundância relativa diminuída (Tabelas 1-6). Embora esse padrão possa refletir o desenvolvimento natural das larvas, em que larvas de primeiro ínstar (L1) não analisadas possam apresentar abundância aumentada se comparadas a fase posterior (L2) para estas proteínas diminuídas, essa resposta proteômica também pode estar relacionada à possível ação de proteínas vegetais, como a Miraculina, um inibidor de protease induzido na planta de café após a oviposição. Evidências mostram que essa proteína pode comprometer diretamente a digestão e a absorção de nutrientes, sendo capaz de retardar o desenvolvimento larval (Mondego et al., 2011). No entanto, estudos sugerem que as larvas de *L. coffeella* podem usar mecanismos compensatórios capazes de neutralizar metabólitos secundários e inibidores de protease presentes na planta. Essa capacidade adaptativa pode ser crucial para superar a barreira inicial imposta pela resposta defensiva da planta (Bede et al., 2006; Lawrence; Novak; Blackburn, 2007; Mondego et al., 2011) Estes pontos são importantes quando relacionados à regulação de resposta imune na adaptação inicial do inseto.

O gene g5460 analisado via RT-qPCR, sem variação de expressão gênica significativa, codifica uma *protein lethal(3)malignant blood neoplasm 1*, identificada entre as proteínas com abundância diminuída na comparação L2/L4 da proteômica 2. Em uma análise de similaridade (BLAST) no UniProt foram encontradas proteínas homólogas similares em diferentes organismos, como a A0A6J1WD98 (*Galleria mellonella*; 52,1%) e a A0A9P0C3H4 (*Chrysodeixis includens*; 45,6%). Em *Drosophila melanogaster* o gene *lethal(3)malignant blood neoplasm-1 [l(3)mbn¹]* é exigido para a diferenciação de plasmatócitos. Este gene é crucial para a manutenção do estado de diferenciação celular normal, e sua expressão é detectada em todos os lóbulos hematopoéticos e nos plasmatócitos da hemolinfa. Os plasmatócitos desempenham um papel importante na imunidade larval. A desativação do *l(3)mbn-1* leva à transformação maligna destas células sanguíneas. A falta da função *l(3)mbn-1* é responsável pelo crescimento tumoral que resulta em órgãos hematopoéticos aumentados e liberação contínua de plasmatócitos imaturos para a hemolinfa. Células imaturas como estas continuam proliferando, elevando drasticamente a contagem de células sanguíneas. Além disso, a desativação deste gene modula a resposta de defesa fazendo com que essas células falhem ao se auto reconhecerem. A falta desse reconhecimento faz com que estas células

ataquem células importantes para o desenvolvimento do inseto, podendo ocasionar a morte do mesmo durante a mudança de fase (Balog et al., 2021; Konrad et al., 1994). O resultado obtido pode inferir que mesmo os estágios larvais finais de desenvolvimento possam estar sob constantes estresse, balanceando a capacidade de respostas de defesa à manutenção da sobrevivência.

Estresses oxidativos enfrentados em organismos são resultado do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), e as defesas antioxidantes. Os insetos enfrentam estresse oxidativo de várias fontes, incluindo o metabolismo aeróbico normal, metabolismo de pesticidas, respostas imunes e fatores ambientais. O gerenciamento eficaz do estresse oxidativo é essencial para a homeostase celular e a sobrevivência (Cao et al., 2023).

Os insetos possuem múltiplas enzimas antioxidantes para neutralizar as ações das ROS que envolvem a presença excessiva dos ânions superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e do radical hidroxila ($\bullet OH$). A exemplo dessas enzimas estão a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), as peroxidases e a glutathione peroxidase (GPx). Essas enzimas trabalham em conjunto para converter o ROS em formas menos reativas. Estudos proteômicos identificaram enzimas antioxidantes entre proteínas diferencialmente expressas em insetos expostos a inseticidas ou outros estressores (Huang et al., 2019). Além de enzimas antioxidantes específicas, os insetos expressam outras várias proteínas de resposta ao estresse, incluindo proteínas de choque térmico (HSPs), que funcionam como chaperonas moleculares para prevenir a agregação de proteínas e auxiliar no re-dobramento de proteínas. Estudos proteômicos identificaram proteínas de resposta ao estresse entre proteínas diferencialmente expressas em insetos expostos a inseticidas ou estressores ambientais (Böttinger et al., 2015; Dawkar et al., 2016; Huang et al., 2019).

Interessantemente, a proteína “*lethal(2) essential for life-like*” codificada pelo gene g32592, com padrão de abundância relativa diminuída e expressão gênica reduzida (RT-qPCR) durante as três fases de desenvolvimento larval, foi identificada entre as proteínas da comparação L2/L3 na proteômica 2, e apresenta homólogos descritos em outros insetos e são relacionadas a processos biológicos de resposta ao estresse. As análises de similaridade feita pela plataforma *UniProt* mostraram que várias proteínas exibem alta similaridade com a proteína analisada, como a A0A835GGU1 (*Spodoptera exigua*; 80.2%) e a A0A6J2J8F9 (*Bombyx mandarina*; 79%), sendo estas consistentemente anotadas como pertencentes à família das *small heat shock proteins* (HSP20). As proteínas dessa família podem ser classificadas por seus pesos moleculares e são um conjunto de polipeptídeos conservados que existem em praticamente todos os organismos vivos. Elas funcionam como uma classe de proteínas

envolvidas no dobramento e desdobramento de outras proteínas, agindo como chaperonas e sendo essenciais para proteger células e organismos contra danos. Em insetos, as Hsps são moduladores importantes para a sobrevivência, e a expressão de seus genes é induzida e modulada em resposta a diversos fatores ambientais, incluindo estresses abióticos e bióticos (Runtuwene et al., 2020; Zhao; Jones, 2012). Estes genes podem apresentar perfis de expressão bastante distintos. Com alguns deles sendo regulados positivamente e outros regulados negativamente em uma mesma condição (Banfi et al., 2025). Este fato demonstra o quão complexo e coordenado são as interações entre estas as proteínas em resposta aos estresses exógenos e aos ajustes da imunidade e processos celulares importantes para o seu desenvolvimento, incluindo a mudança de ínstares. Tecnologias que sejam capazes de modificar o funcionamento dessa rede de proteínas podem ser úteis no controle de pragas agrícolas importantes.

7. CONCLUSÃO

Dentro das configurações atuais no cenário agrário e da busca por estratégias de controle que utilizam com elevada relevância as ferramentas ômicas, compreender as características moleculares em um organismo, principalmente quando se trata um inseto com baixa representatividade de dados ômicos como *L. coffeella*, é de fundamental importância e altamente necessário para que a inovação continue seu curso crescente. Este trabalho, até o momento, é pioneiro na descrição e comparação do proteoma de larvas de um inseto que tem ampla significância dentro de uma cultura de tamanha influência global como o café e dispõe a identificação de proteínas importantes para a compreensão dos mecanismos de desenvolvimento e adaptação larval, que podem subsidiar o desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes.

Nas análises proteômicas conduzidas, foram identificadas 141 proteínas diferencialmente abundantes na primeira abordagem e 324 na segunda. A caracterização funcional desses conjuntos revelou que grande parte dessas proteínas está envolvida em processos biológicos essenciais, incluindo atividades celulares, metabólicas e biossintéticas, além de funções diretamente relacionadas ao desenvolvimento larval, crescimento, metamorfose e adaptação ao ambiente. Esses resultados fornecem insights relevantes sobre os mecanismos moleculares que sustentam o desenvolvimento dos estágios larvais do BMC. O processo biológico mais enriquecido nos dados foi associado à translação citoplasmática, destacando o papel central de proteínas envolvidas na síntese proteica, bem como de

componentes relacionados à produção de energia e à fosforilação oxidativa. Além disso, o estudo permitiu identificar proteínas com funções vitais para a manutenção dos processos celulares básicos, como *lethal(2) essential for life-like* e *lethal(3) malignant blood neoplasm-1*, cuja ausência ou inativação pode comprometer a sobrevivência dos ínstaes larvais. Em conjunto, esses achados ampliam a compreensão da biologia molecular do BMC e oferecem bases sólidas para futuras investigações voltadas ao desenvolvimento de estratégias de manejo e controle mais eficientes.

A análise de expressão diferencial por RT-qPCR permitiu validar a expressão de cinco genes codificadores de proteínas (g9534, g5460, g32592, g34086 e g34147). Esses genes desempenham funções críticas para o desenvolvimento e a manutenção dos processos celulares das larvas de BMC. Os resultados obtidos constituem um ponto de partida promissor para futuras análises funcionais, que podem ser valiosas para elucidar o potencial desses genes como alvos em estratégias de controle, incluindo abordagens de silenciamento gênico por RNAi ou ASO. Além disso, este estudo evidencia a importância de anotações ômicas bem curadas para organismos de relevância agrícola, como o BMC, especialmente para o avanço de tecnologias de controle que dependem de precisão molecular. As análises proteômicas realizada neste estudo fortalecem a base necessária para o desenvolvimento de ferramentas inovadoras e sustentáveis de manejo, contribuindo para um cenário futuro de controle de pragas mais eficiente, moderno e impactante.

8. REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; MORGAN, D.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P.; WILSON, J.; HUNT, T. 2017. *Molecular Biology of the Cell*. 6th ed. New York: Garland Science. Artmed Editora.
- ALTAMIRANDA-SAAVEDRA, M.; CAMAHO-PORTOCARRERO, R.; ORTIZ MACHADO, J.; MARTINEZ JARAMILLO, J.; TORRES-MORENO, N.; MARÍN-ORTIZ, J.; GIRALDO-JARAMILLO, M. 2024. Identifying areas of invasion risk and changes in the ecological niche occupied by the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). *Neotropical Entomology*, v. 53, p. 608–616. DOI: 10.1007/s13744-024-01148-3.
- ALVES, D. S.; OLIVEIRA, D. F.; CARVALHO, G. A.; CARVALHO, D. A.; SOUZA, L. P.; LASMAR, O. 2013. Selection of active plant extracts against the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 15, n. 3, p. 352–362. DOI: 10.1590/S1516-05722013000300007.
- ANDERSON, N. L.; ANDERSON, N. G. 1998. Proteome and proteomics: New technologies, new concepts, and new words. *Electrophoresis*, v. 19, n. 11, p. 1853–1861. DOI: 10.1002/elps.1150191103.
- ARAÚJO, S. J.; TEAR, G. 2003. Axon guidance mechanisms and molecules: lessons from invertebrates. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 4, n. 11, p. 910–922. DOI:10.1038/nrn1243.
- ARIYOSHI, C.; OLIVEIRA, F. F.; SHIGUEOKA, L. H.; SILVA, A. G.; ARIAS, A. G.; VILLALTA-VILLALOBOS, J.; IVAMOTO-SUZUKI, S. T.; SERA, G. H.; CAIXETA, E. T.; ROCHA, M. R.; MORAES, W. B.; PARTELLI, F. L.; PEREIRA, L. F. P. 2022. Current challenges and genomic advances toward the development of coffee genotypes resistant to biotic stress. In: SINGH, Ram (Ed.). *Genomic Designing for Biotic Stress Resistant Technical Crops*. Cham: Springer. p. 159–189. DOI: 10.1007/978-3-031-09293-0_4.
- ASHRAF, M. Z.; MOGILICHERLA, K.; SELLAMUTHU, G.; SIINO, V.; LEVANDER, F.; ROY, A. 2023. Comparative gut proteomics study revealing adaptive physiology of Eurasian spruce bark beetle, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytinae). *Frontiers in Plant Science*, v. 14, p. 1157455. DOI: 10.3389/fpls.2023.1157455.
- BALOG, J. Á.; HONTI, V.; KURUCZ, É.; KARI, B.; PUSKÁS, L. G.; ANDÓ, I.; SZEBENI, G. J. 2021. Immunoprofiling of *Drosophila* hemocytes by single cell mass cytometry. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, v. 19, n. 2, p. 243–252. DOI: 10.1016/j.gpb.2020.06.022.
- BANFI, D.; BIANCHI, T.; MASTORE, M.; BRIVIO, M. F. The role of heat shock proteins in insect stress response, immunity, and climate adaptation. *Insects*, v. 16, n. 7, p. 741, 2025. DOI: 10.3390/insects16070741.
- BEDE, J. C.; MUSSER, R. O.; FELTON, G. W.; KORTH, K.L. 2006. Caterpillar herbivory and salivary enzymes decrease transcript levels of *Medicago truncatula* genes encoding early enzymes in terpenoid biosynthesis. *Plant Molecular Biology*, v. 60, n. 4, p. 519–531. DOI: 10.1007/s11103-005-4923-y.

BELLÉS, Xavier. 2013. Origen y evolución de la metamorfosis de los insectos. In: LAVAGNINO, Nicolás (org.). *Evolución y desarrollo: mutantes y genes heterocrónicos en Drosophila*, p. 1–14.

BHARADWAJ, A.; BYDOUN, M.; HOLLOWAY, R.; WAISMAN, D. 2013. Annexin A2 heterotetramer: structure and function. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 14, n. 3, p. 6259–6305. DOI: 10.3390/ijms14036259.

BLIJLEVEN, M.; KOMOR, M. A.; SCIARRILLO, R.; SMIT, E. F.; FIJNEMAN, R. J. A.; VAN BEUSECHEM, V. W. 2020. Silencing core spliceosome Sm gene expression induces a cytotoxic splicing switch in the proteasome subunit beta 3 mRNA in non-small cell lung cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 12, p. 4192. DOI: 10.3390/ijms21124192.

BÖTTINGER, L.; OELJEKLAUS, S.; GUIARD, B.; ROSPERT, S.; WARSCHIED, B.; BECKER, T. 2015. Mitochondrial heat shock protein (Hsp) 70 and Hsp10 cooperate in the formation of Hsp60 complexes. *Journal of Biological Chemistry*, Washington, DC, v. 290, n. 18, p. 11611–11622. DOI: 10.1074/jbc.M115.642017.

BÜSCHGES, A.; ACHE, J. M. 2024. Motor control on the move – from insights in insects to general mechanisms. *Physiological Reviews*, v. 104, n. 1, p. 1–52. DOI: 10.1152/physrev.00009.2024.

CAIXETA, S. L.; MARTINEZ, H. E. P.; PICANÇO, M. C.; CECON, P. R.; ESPOSTI, M. D. D.; AMARAL, J.F.T. 2004. Nutrição e vigor de mudas de cafeeiro e infestação por bicho-mineiro. *Ciência Rural*, v. 34, n. 5, p. 1429–1435. DOI:10.1590/S0103-84782004000500016.

CAO, F.; YU, J.; SUN, H.M.; HE, J.X.; LI, S.; LIU, S.; LI, M. Y. 2023. Epsilon class glutathione S-transferase confers phoxim tolerance in the black cutworm *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 71, n. 51, p. 20680–20689. DOI: 10.1021/acs.jafc.3c07964.

CARDOSO, D.C., MARTINATI, J.C., GIACHETTO, P.F. et al. 2014. Large-scale analysis of differential gene expression in coffee genotypes resistant and susceptible to leaf miner—toward the identification of candidate genes for marker assisted-selection. *BMC Genomics* 15, 66. DOI:10.1186/1471-2164-15-66.

CARVALHO, C. H. S. 2008. Cultivares de café: origem, características e recomendações. Brasília, DF: Embrapa Café. 334 p.

CEPEA. 2025. Café/Cepea: baixo estoque e firme demanda mantêm recorde preço do arábica. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo, 19 fev. Disponível em: <https://www.cepea.org.br/br/cafe-cepea-baixo-estoque-e-firme-demanda-mantem-recorde-preco-do-arabica.aspx>. Acesso em: 10 jan. 2026.

CHATTERJEE, M.; ROSCHITZKI, B.; GROSSMANN, J.; RATHINAM, M.; KUNZ, L.; WOLSKI, W.; PANSE, C.; YADAV, J.; SCHLAPBACH, R.; RAO, U.; SREEVATHSA, R. 2024. Developmental stage-specific proteome analysis of the legume pod borer *Maruca vitrata* provides insights on relevant proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 254, p. 127666. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127666.

CHO, W. C. S. 2007. Proteomics Technologies and Challenges. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, v. 5, n. 2, p. 77–85.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. 2025. Acompanhamento da safra brasileira de café. Brasília, DF: Conab, v. 12, n. 3. 3º levantamento. 61 p.

CORREIA, L. C. 2021. Estudo metabolômico de genótipos de café resistentes ou suscetíveis ao bicho-mineiro-do-cafeeiro (*Leucoptera coffeella*). 112 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2021.

COSTA, D. C. M.; SOUZA, B.H. S.; CARVALHO, C. H. S.; GUERREIRO FILHO, O. 2025. Characterization and levels of resistance in *Coffea arabica* × *Coffea racemosa* hybrids to *Leucoptera coffeella*. *Journal of Pest Science*, v. 98, p. 1075–1084. DOI: 10.1007/s10340-024-01844-4.

COSTA, J. N. M.; FONSECA, A. S.; FREIRE, T. C.; LIMA, A. P. C. 2020. Identificação e manejo de pragas do cafeeiro (*Coffea canephora*). In: Guia de bolso: diagnose e manejo de doenças e pragas do cafeeiro na Amazônia. Porto Velho: Embrapa Rondônia. cap. 2, p. 45–70.

DANTAS, J.; PIMENTA, A. P.; SOUSA, J. C.; GUEDES, R. N. C.; PICANÇO, M. C. 2021. A comprehensive review of the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae)—A major pest for the coffee crop in Brazil and other neotropical countries. *Insects*, Basel, v. 12, n. 12, p. 1130. DOI: 10.3390/insects12121130.

DASTRANJ, M.; GHARECHAH, J.; SALEKDEH, G. H. 2016. Insect pest proteomics and its potential application in pest control management. In: SALEKDEH, Ghasem Hosseini (org.). *Agricultural Proteomics*. Cham: Springer. p. 267–287. DOI: 10.1007/978-3-319-43278-6_12.

DAWKAR, V. V.; CHIKATE, S. P.; GUPTA, S. V.; DHOLAKIA, N. T.; GIRI, V. S. 2016. The expression of proteins involved in digestion and detoxification are regulated in *Helicoverpa armigera* to cope up with chlorpyrifos insecticide. *Insect Science*, v. 23, n. 1, p. 68–77. DOI:10.1111/1744-7917.12177.

DITTMER, N.T.; HIROMASA, H.; TOMICH, J. B.; LU, M. R.; BEEMAN, L. A.; KANOST, M.R.; PARK, Y. 2015. Annotation and expression analysis of cuticular proteins from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v. 62, p. 100–113. DOI: 10.1016/j.ibmb.2014.12.010

DU, Q.-Y.; ZHU, Z.-M.; PEI, D.-S. The biological function of IGF2BPs and their role in tumorigenesis. *Investigational New Drugs*, v. 39, n. 6, p. 1682–1693, 2021. DOI: 10.1007/s10637-021-01148-9.

EMBRAPA. Cafés do Brasil no ano-cafeeiro 2024 têm faturamento bruto calculado em R\$ 79,59 bilhões. 15 jan. 2025. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/97382574/artigo---cafes-do-brasil-no-ano-cafeeiro-2024-tem-faturamento-bruto-calculado-em-r-7959-bilhoes>. Acesso em: 7 fev. 2026.

EMIDIO, N. B.; CARPANEZ, A. G.; QUELLIS, L. R.; FARANI, P. S.; VASCONCELOS, E. G.; FARIA PINTO, P. 2015. Proteômica: uma introdução aos métodos e aplicações. *HU Revista, Juiz de Fora*, v. 41, n. 3 4, p. 101 111, jul./dez.

EPAMIG. 2025. Manejo integrado das principais pragas do cafeeiro: Bicho-mineiro do cafeeiro (BMC). Disponível em: <https://www.livrariaepamig.com.br/wp-content/uploads/2025/07/Manejo-integrado-das-principais-pragas-do-cafeeiro-BMC.pdf>.

Acesso em: 7 fev. 2026

ESPÍNDOLA, F.S.; CAMPOS, A. C.; REZENDE, L. S.; SILVEIRA, D.; SIQUEIRA, A. L. 2010. Recursos de bioinformática aplicados às ciências ômicas como genômica, transcriptômica, proteômica, interatômica e metabolômica. Bioscience Journal, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 463-477, maio/jun.

EVANGELISTA, B. V. V.; BAPTISTA, J. A. A.; NOVAIS, R. A. B. 2019. Estudo das exportações de café brasileiro no mercado internacional. Encontro de Gestão e Tecnologia, EnGeTec, São Paulo, 3–4 dez.

FANELA, T. L. M.; BALDIN, E. L. L.; BENTIVENHA, J. P. F.; SANTANA, A.S. 2020. Assessing potential plants extracts to reduce *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) attack in coffee. Coffee Science, Lavras, v. 15, e151653. DOI: 10.25186/cs.v15i.1653.

FARAH, A.; SANTOS, T. F.; TRUGO, L. C. 2015. The coffee plant and beans: an introduction. In: Coffee in Health and Disease Prevention. Amsterdam: Academic Press/Elsevier. p. 5-10. DOI: 10.1016/B978-0-12-409517-5.00001-2.

FERNANDES, C. A. S.; DIAS, Y. F. S.; ALCANTRA, E.; FREITAS, A. S.; REZENDE, R. M.; MARQUES, R. F. P. V.; OLIVEIRA, A. S. 2021. Incidência de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) em diferentes variedades e sistemas de manejo do cafeeiro. Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, v. 12, n. 4, p. 105-115, DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2021.004.0011.

FERNANDES, F. L.; MANTOVANI, E. C.; BONFIM NETO, H.; NUNES, V. V. 2009. Efeitos de variáveis ambientais, irrigação e vespas predadoras sobre *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mêneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) no cafeeiro. Neotropical Entomology, v. 38, n. 3, p. 410-417.

FLYBASE CONSORTIUM. Mitochondrial Complex II (Succinate Dehydrogenase) Subunits. Disponível em: <https://flybase.org/reports/FBgg0000485>. Acesso em: 25 fev. 2026.

FOLHA AGRÍCOLA. 2025. Bicho mineiro ameaça a lavoura de café: estratégias de manejo para garantir a sustentabilidade da produção. Folha Agrícola, 15 abr. Disponível em: <https://folhaagricola.com.br/2025/04/15/bicho-mineiro-ameaca-a-lavoura-de-cafe-estrategias-de-manejo-para-garantir-a-sustentabilidade-da-producao/>. Acesso em: 7 mar. 2026.

FOURNIER, M. L.; GILMORE, J. M.; MARTIN-BROWN, S.A.; WASHBURN, M. P. 2007. Multidimensional separations-based shotgun proteomics. Chemical Reviews, v. 107, n. 8, p. 3654-3686. DOI: 10.1021/cr068279a.

FRAGOSO, D. B.; GUEDES, R. N. C.; LADEIRA, J. A. 2003. Seleção na evolução de resistência a organofosforados em *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mêneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). Neotropical Entomology, v. 32, n. 2, p. 329-334.

FURUSAWA, T.; RAKWAL, Y.; AGRAWAL, R.; YONEKURA, T.; SHIMADA, S.; AGRAWAL, T. 2008. Systematic investigation of the hemolymph proteome of *Manduca sexta*

at the fifth instar larvae stage using one- and two-dimensional proteomics platforms. *Journal of Proteome Research*, v. 7, n. 3, p. 938–959.

GOLDBERG, J.K.; VIDAL, L. A.; QUEIROZ, E. S. L.; NASCIMENTO, E. F. M. B.; VIANA, M. J. A.; CLARINDO, W.R.; MARANHÃO, A. Q.; MARTINS, N. F.; ALBUQUERQUE, E. V. S. 2026. A draft genome assembly of the agricultural pest *Leucoptera coffeella* and analysis of its dsRNA processing machinery is a key step toward RNAi-based biopesticides in Lepidoptera. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, v. 16, n. 3, DOI: 10.1093/g3journal/jkag003

GOWDA, S. B. M.; SALIM, S.; MOHAMMAD, F. 2021. Anatomy and Neural Pathways Modulating Distinct Locomotor Behaviors in *Drosophila* Larva. *Biology*, v. 10, n. 2, p. 90. DOI: 10.3390/biology10020090

GU, X.; MA, Z.; KANG, J.; LI, Z.; WANG, F.; LIU, J. 2015. A whole genome screening and RNA interference identify a juvenile hormone esterase-like gene of the diamondback moth. *Journal of Insect Physiology*, v. 80, p. 81–87. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2015.02.001.

GUERREIRO FILHO, O.; MAZZAFERA, P. 2000. Caffeine does not protect coffee against the leaf miner *Perileucoptera coffeella*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 26, p. 1447-1464. DOI: 10.1023/A:1005587725704.

HASAN, M. M.; CHA, M.; BAJPAI, V. K.; BAEK, K. H. 2013. Production of a major stilbene phytoalexin, resveratrol in peanut (*Arachis hypogaea*) and peanut products: a mini review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 12, p. 209–221. DOI: 10.1007/s11157-012-9294-7.

HEGEDUS, D. D.; TOPRAK, U.; ERLANDSON, M. 2015. Lepidopteran peritrophic matrix composition, function, and formation. In: *Short Views on Insect Genomics and Proteomics*. Cham: Springer. p. 63–87. DOI: 10.1007/978-3-319-24244-6_3.

HIKOSAKA, K.; TSUJIMOTO, K. 2021. Linking remote sensing parameters to CO₂ assimilation rates at a leaf scale. *Journal of Plant Research*, v. 134, p. 695–711. DOI: 10.1007/s10265-021-01313-4.

HILLOU, F.; CHERTEMPS, T.; MAÏBÈCHE, M.; LE GOFF, G. 2021. Resistance in the Genus Spodoptera: Key Insect Detoxification Genes. *Insects*, v. 12, n. 6, p. 544, DOI: 10.3390/insects12060544.

HOFVANDER, P.; DOAN, T. T. P.; HAMBERG, M. A prokaryotic acyl CoA reductase performing reduction of fatty acyl CoA to fatty alcohol. *FEBS Letters*, v. 585, p. 3538–3543, 2011. DOI: 10.1016/j.febslet.2011.10.016.

HUANG, Y.; LIAO, M.; YANG, Q.; XIAO, J.; HU, Z.; CAO, H. 2018. iTRAQ-based quantitative proteome revealed metabolic changes of *Sitophilus zeamais* in response to terpinen-4-ol fumigation. *Pest Management Science*, v. 75, n. 2, p. 444–451, DOI: 10.1002/ps.5135.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2026. Produção de café no Brasil. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/cafe/br>. Acesso em: 7 mar. 2026.

INFANTE, F.; ARMBRECHT, I.; CONSTANTINO, L. M.; BENAVIDES, P. 2023. Coffee pests. In: Tree Diseases and Pests. 1. ed. Amsterdam: Elsevier. p. 213 219. DOI: 10.1016/B978-0-443-18694-3.00015-8.

IOST, R. 2013. Problemas fitossanitários e crescimento de duas cultivares de café durante o primeiro ano em experimento FACE (“Free Air Carbon Dioxide Enrichment”). 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

ISMAN, M. B. 2020. Botanical insecticides in the twenty first century—fulfilling their promise? Annual Review of Entomology, v. 65, p. 233 249. DOI: 10.1146/annurev-ento-011019-025010.

JAHAN, E.; SHARWOOD, R. E.; TISSUE, D. T. 2023. Effects of leaf age during drought and recovery on photosynthesis, mesophyll conductance and leaf anatomy in wheat leaves. Frontiers in Plant Science, v. 14. DOI: 10.3389/fpls.2023.1091418.

JONES, G.; MANCZAK, M.; HORN, M. 1993. Hormonal regulation and properties of a new group of basic hemolymph proteins expressed during insect metamorphosis. Journal of Biological Chemistry, v. 268, n. 2, p. 1284–1291.

JÚNIOR, A. L. M.; LAZZARI, S. M. N.; JÚNIOR, A. R. P. 2006. Inibidores de enzimas digestivas de insetos-praga. Revista Acadêmica Ciência Animal, v. 4, n. 1, p. 57–61.

JUNIOR, S. T. D.; FERREIRA, M. C.; LASMAR, O.; FOUQUET, G. 2015. Reducing spray volume for the control of *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) in coffee plants. Coffee Science, Lavras, v. 10, n. 4, p. 491-498, out. /dez.

JUNQUEIRA, C. I. C. V. F.; NASCIMENTO, E. F. M. B.; VIDAL, L. A.; QUEIROZ, E. S. L.; ALBUQUERQUE, E. V. S. 2024. Molecular diagnostics for monitoring insecticide resistance in lepidopteran pests. Agronomy, v. 14, n. 11, p. 2553. DOI: 10.3390/agronomy14112553.

JUNQUEIRA, M.; SPIRIN, V.; BALBUENA, T. S.; THOMAS, H.; ADZHUBEI, I.; SUNYAEV, S.; SHEVCHENKO, A. 2008. Protein identification pipeline for the homology-driven proteomics. Journal of Proteomics, v. 71, n. 3, p. 346-356, DOI: 10.1016/j.jprot.2008.07.003.

KELLNER, R. 2000. Proteomics: concepts and perspectives. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, v. 366, p. 517-524. DOI: 10.1007/s002160051551.

KONRAD, L.; BECKER, E.; SCHMIDT, M.; WIMMER, E. K. K. 1994. Cloning, structure, cellular localization, and possible function of the tumor suppressor gene lethal(3)malignant blood neoplasm-1 of *Drosophila melanogaster*. Developmental Biology, v. 163, n. 1, p. 98–111.

KRISHNAMURTHY, S.; VEERASAMY, M.; KARRUPPAYA, G. 2020. A Review on Plant Sources for Nano Biopesticide Production. Letters in Applied NanoBioScience, v. 9, n. 3, p. 1348–1358.

- KRISHNAN, S. 2020. Sustainable coffee production. Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science, Oxford University Press. DOI: 10.1093/acrefore/9780199389414.001.0001/acrefore-9780199389414-e-224.
- LAWRENCE, S. D.; NOVAK, N. G.; BLACKBURN, M. B. 2007. Inhibition of proteinase inhibitor transcripts by *Leptinotarsa decemlineata* regurgitant in *Solanum lycopersicum*. Journal of Chemical Ecology, v. 33, n. 5, p. 1041–1048.
- LEITE, S. A.; SANTOS, M. P.; COSTA, D. R.; MOREIRA, A. A.; GUEDES, R. N. C.; CASTELLANI, M. A. 2021. Time–concentration interplay in insecticide resistance among populations of the Neotropical coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*. Agricultural and Forest Entomology, v. 23, n. 2, p. 232–241, DOI: 10.1111/afe.12425.
- LIMA, E. R.; VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C.; ATAÍDE, L. M. S. 2008. Age and time related pheromone production in coffee leafminer *Leucoptera coffeella* Guérin-Ménéville (Lepidoptera: Lyonetiidae). Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 19, n. 8, p. 1659–1662, DOI: 10.1590/S0103-50532008000800028.
- LIMA, V. O.; BRAGHINI, A.; PAULA, F. C.; SOUZA, J. M. R.; FIGUEIREDO, G. P.; VACARI, A. M. 2024. Toxicity of botanical insecticides at different developmental stages of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae), and their side effects on predator *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). Crop Protection, v. 180, p. 106678. DOI: 10.1016/j.cropro.2024.106678.
- LU, J. W.; JIN, L.; LI, M. G.; YU, B. Q.; WEN, Y. F.; GU, Y. Q.; LIN, Y.; YU, X. Q. 2022. A possible mechanism of Cry7Ab4 protein in delaying pupation of *Plutella xylostella* larvae. Frontiers in Immunology, v. 13, 849620. DOI: 10.3389/fimmu.2022.849620.
- MADASAMY, M.; SAHAYARAJ, K.; SAYED, S. M.; AL-SHURAYM, L. A.; SELVARAJ, P.; EL-ARNAOUTY, S.; MADASAMY, K. 2023. Insecticidal mechanism of botanical crude extracts and their silver nanoliquids on *Phenacoccus solenopsis*. Toxics, v. 11, n. 4, p. 305. DOI: 10.3390/toxics11040305.
- MAGHULY, F.; JANKOWICZ-CIESLAK, J.; BADO, S. 2020. Improving coffee species for pathogen resistance. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, v. 15, n. 009. DOI: 10.1079/PAVSNNR202015009.
- MARTINS, N. F.; GOLDBERG, J. K.; NASCIMENTO, E. F. M. B.; QUEIROZ, E. S. L.; VIDAL, L. A.; ALBUQUERQUE, E. V. S. 2022. Transcriptoma da fase de pupa do bicho-mineiro do cafeeiro. Redape – Repositório de Dados de Pesquisa da Embrapa, DOI: 10.48432/HTKLJ4.
- MATOS, D. F.; ALVES, M. C. S.; RUZENE, D. S.; BATISTA, M. V. A.; SILVA, D. P. 2023. Bioinformática aplicada às ciências ômicas: uma breve revisão bibliográfica. In: Tecnologia e inovação na agricultura: aplicação, produtividade e sustentabilidade em pesquisa. p. 23–43. DOI: 10.37885/230312569.
- MENDONÇA, J. M. A.; CARVALHO, G. A.; GUIMARÃES, R. J.; REIS, P. R.; ROCHA, L. C. D. 2006. Produtos naturais e sintéticos no controle de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Ménéville & Perrottet, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae) e seus efeitos sobre a predação por vespas. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 30, n. 5, p. 892–899.

- MENON, K. P.; CARRILLO, R. A.; ZINN, K. 2013. Development and plasticity of the *Drosophila* larval neuromuscular junction. Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology, v. 2, n. 5, p. 647-670. DOI: 10.1002/wdev.108.
- MISHRA, S.; ANDE, S. R.; NYOMBA, B. L. G. 2010. The role of prohibitin in cell signaling. The FEBS Journal, v. 277, n. 19, p. 3937-3946, DOI: 10.1111/j.1742-4658.2010.07809.x.
- MONDEGO, J. M. C.; DUARTE, M. P.; KIYOTA, E.; MARTÍNEZ, L.; CAMARGO, S. R.; DE CAROLI, F. P.; ALVES, B. S. C.; GUERREIRO, S. M. C.; OLIVA, M. L. V.; GUERREIRO-FILHO, O.; MENOSSI, M. 2011. Molecular characterization of a miraculin-like gene differentially expressed during coffee development and coffee leaf miner infestation. Planta, v. 233, p. 123-137. DOI: 10.1007/s00425-010-1284-9.
- MONDEGO, J. M. C.; GUERREIRO FILHO, O.; BENGTSON, M. H.; DRUMMOND, R. D.; FELIX, J. M.; DUARTE, M. P.; RAMIRO, D.; MALUF, M. P.; SOGAYAR, M. C.; MENOSSI, M. 2005. Isolation and characterization of *Coffea* genes induced during coffee leaf miner (*Leucoptera coffeella*) infestation. Plant Science, v. 169, p. 351-360. DOI: 10.1016/j.plantsci.2005.03.020.
- MOT, R. D.; VANDERLEYDEN, J. 1989. Application of two-dimensional protein analysis for strain fingerprinting and mutant analysis of *Azospirillum* species. Canadian Journal of Microbiology, v. 35, n. 10, p. 960-967.
- MOTTA, I. O.; DANTAS, J.; VIDAL, L.; BILIO, J.; PUJOL-LUZ, J. R.; ALBUQUERQUE, É. V. S. 2021. The coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae): identification of the larval instars and description of male and female genitalia. Revista Brasileira de Entomologia, v. 65, n. 3, e20200122. DOI: 10.1590/1806-9665-RBENT-2020-0122.
- NASCIMENTO, E. F. M. B.; GOLDBERG, J.K.; QUEIROZ, E. S. L.; VIDAL, L. A.; MARTINS, N. F.; ALBUQUERQUE, E. V. S. 2025. Optimization of genomic DNA and total RNA extraction protocols from microlepidopterans for high-fidelity long-read sequencing. BMC Methods, v. 2, n. 19. DOI: 10.1186/s44330-025-00038-3.
- NASEER, A.; MOGILICHERLA, K.; SELLAMUTHU, G.; ROY, A. 2023. Age matters: Life-stage, tissue, and sex-specific gene expression dynamics in *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Frontiers in Forests and Global Change, v. 6, p. 1-22. DOI:10.3389/ffgc.2023.1124754.
- NATION, J. L. 2015. Insect Physiology and Biochemistry. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, DOI: 10.1201/b18110.
- NESATYY, V. J.; SUTER, M.J. F. 2007. Proteomics for the analysis of environmental stress responses in organisms. Environmental Science & Technology, v. 41, n. 20, p. 6891-6899. DOI: 10.1021/es070561r.
- NESTEL, D.; DICKSCHEN, F.; ALTIERI, M. I. A. 1994. Seasonal and spatial population loads of a tropical insect: the case of the coffee leaf-miner in Mexico. Ecological Entomology, v. 19, n. 2, p. 159-167. DOI: 10.1111/j.1365-2311.1994.tb00406.x.
- NIU, D.; ZHAO, Q.; XU, L.; LIN, K. 2024. Physiological and Molecular Mechanisms of Lepidopteran Insects: Genomic Insights and Applications of Genome Editing for Future

Research. International Journal of Molecular Sciences, v. 25, n. 22, p. 12360. DOI: 10.3390/ijms252212360.

NORIEGA, D. D.; ARIAS, P. L.; BARBOSA, H. R.; ARRAES, F. B. M.; OSSA, G. A.; VILLEGAS, B.; COELHO, R. R.; ALBUQUERQUE, E. V. S.; TOGAWA, R. C.; GRYNBERG, P.; WANG, H.; VELEZ, A. M.; ARBOLEDA, J. W.; GROSSI-DE-SA, M. F.; SILVA, M. C. M.; VALENCIA-JIMÉNEZ, A. 2019. Transcriptome and gene expression analysis of three developmental stages of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. Scientific Reports, v. 9, n. 12804. DOI: 10.1038/s41598-019-49178-x.

NOTLEY, F. B. 1948. The Leucoptera Leaf Miners of Coffee on Kilimanjaro. I — *Leucoptera coffeella*, Guér. Bulletin of Entomological Research, v. 39, n. 3, p. 399-416, DOI: 10.1017/S0007485300022501.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; GUEDES, R. N. C. 2021. Manejo da resistência do bicho-mineiro do café a inseticidas. IRAC-BR. Disponível em: https://92813ac4-b3b4-47f4-a8b3-43c4292d561c.filesusr.com/ugd/2bed6c_0e75e5fd039d4ff1b8d11f9724ea3e7c.pdf. Acesso em: 19 fev. 2026.

ORDONIO, R. L.; BARANDA, E. J. G.; BENAVIDEZ II, P. J.; VILLAREAL, R. L. A. 2023. Review of New Plant Breeding Techniques (NBTs) from the Viewpoint of Regulation. Los Baños: Southeast Asian Regional Center for Graduate Study and Research in Agriculture (SEARCA), (SEARCA Monograph Series, n. 2023:539).

ORLANDO, V. S.W.; GALO, M. L. B T; MARTINS, G. D.; LINGUA, A. M.; ASSIS, G. A.; BELCORE, E. 2024. Hyperspectral Characterization of Coffee Leaf Miner (*Leucoptera coffeella*) (Lepidoptera: Lyonetiidae) Infestation Levels: A Detailed Analysis. Agriculture, v. 14, n. 12, p. 2173. DOI: 10.3390/agriculture14122173.

PANCSIRA, J. 2022. International Coffee Trade: a literature review. Journal of Agricultural Informatics, v. 13, n. 1, p. 26–35. DOI: 10.17700/jai.2022.13.1.654.

PANTOJA-GOMEZ, L. M.; et al. Common Origin of Brazilian and Colombian Populations of the Neotropical Coffee Leaf Miner. Journal of Economic Entomology, v. 112, n. 2, p. 924–931, 2019. DOI: 10.1093/jee/toy372.

PANTOJA-GÓMEZ, L. M.; PICANÇO, M. C.; GUEDES, R. N. C.; PIMENTA, A. P.; SOUSA, J. C. 2019. Common origin of Brazilian and Colombian populations of the Neotropical coffee leaf miner. Journal of Economic Entomology, v. 112, n. 2, p. 924–931, DOI: 10.1093/jee/toy372.

PARK, B.S.; LEE, S. E. 2007. Proteomics in Insecticide Toxicology. Molecular & Cellular Toxicology, v. 3, n. 1, p. 11–18. DOI: 10.5487/MCT.2007.3.1.011.

PARRA, J. R. P.; REIS, P. R. 2013. Manejo integrado para as principais pragas da cafeicultura, no Brasil. Visão Agrícola, n. 12, p. 47–50, jan./jul.

PAUCHET, Y.; MUCK, S.; SVATOS, C.; HECKEL, E. A.; HECKEL, D. G. 2008. Mapping the larval midgut lumen proteome of *Helicoverpa armigera*. Journal of Proteome Research, v. 7, n. 4, p. 1629–1639. DOI: 10.1021/pr700695r.

- PERTHUIS, B.; PRADON, J. L.; MONTAGNON, C.; DUFOUR, M.; LEROY, T. 2005. Stable resistance against the leaf miner *Leucoptera coffeella* expressed by genetically transformed *Coffea canephora* in a pluriannual field experiment in French Guiana. *Euphytica*, v. 144, p. 321–329. DOI: 10.1007/s10681-005-8003-9.
- PFAFFL, M. W.; HORGAN, G. W.; DEMPFL E. L. 2002. Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Research*, v. 30, n. 9, p. e36. DOI:10.1093/nar/30.9.e36.
- RAMIRO, D. A.; GUERREIRO-FILHO, O.; MAZZAFERA, P. 2006. Phenol Contents, Oxidase Activities, and the Resistance of Coffee to the Leaf Miner *Leucoptera coffeella*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 32, n. 9, p. 1977–1988. DOI: 10.1007/s10886-006-9122-z.
- RAPPSILBER, J.; MANN, M.; ISHIHAMA, Y. 2007. Protocol for micro-purification, enrichment, pre-fractionation and storage of peptides for proteomics using StageTips. *Nature Protocols*, v. 2, n. 8, p. 1896–1906.
- REICHMUTH, C.; BUCHNER, B.; BUCHNER, E. 1995. The sap47 gene of *Drosophila melanogaster* codes for a novel conserved neuronal protein associated with synaptic terminals. *Molecular Brain Research*, v. 32, n. 1, p. 45–54.
- ROBERTSON, E.; CARTER, L.; MITCHELL, S. 2025. The chemistry of pesticide resistance in insects: Molecular mechanisms and sustainable alternatives. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, v. 13, n. 3, p. 369–373. DOI: 10.22271/j.ento.2025.v13.i3d.9601.
- RUNTUWENE, L. R.; KAWASHIMA, S.; PIJOH, V. D.; TUDA, J. S. B.; HAYASHIDA, K.; YAMAGISHI, J.; SUGIMOTO, C.; NISHIYAMA, S.; SASAKI, M.; ORBA, Y.; SAWA, H.; TAKASAKI, T.; JAMES, A. A.; KOBAYASHI, T.; ESHITA, Y. 2020. The Lethal (2)-Essential-for-Life [L(2)EFL] Gene Family Modulates Dengue Virus Infection in *Aedes aegypti*. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 20, p. 7520. DOI: 10.3390/ijms21207520.
- SABINO, P. H. S.; REIS JÚNIOR, F. A.; CARVALHO, G. A.; MANTOVANI, J.R. 2018. Nitrogen fertilizers and occurrence of *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) in transplanted coffee seedlings. *Coffee Science, Lavras*, v. 13, n. 3, p. 410–414.
- SALGADO, P. R. 2009. Compostos fenólicos relacionados à resistência do cafeeiro ao bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) e à ferrugem (*Hemileia vastatrix*). 2009. Tese (Doutorado em Agronomia – Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 109 f.
- SANTOS FILHO, O. A.; ALENCASTRO, R. B. Modelagem de proteínas por homologia. *Química Nova*, v. 26, n. 2, p. 253–259, 2003.
- SANTOS, I. R.; SILVA, J. C.; LATADO, R. R.; RESENDE, M. D. V.; XAVIER, A. C.; TAVARES, M. T. 2018. Genotype-dependent changes of gene expression during somatic embryogenesis in oil palm hybrids (*Elaeis oleifera* × *E. guineensis*). *PLOS ONE*, v. 13, n. 12, e0209445. DOI: 10.1371/journal.pone.0209445.
- SANTOS, J. P.; SILVA, A. G.; OLIVEIRA, L. M.; FERREIRA, R. S.; ALMEIDA, F. L.; PEREIRA, T. C.; COSTA, M. A. 2024. Morphometric Characterization of Larval Instars of *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Insects*, v. 17, n. 3, p. 344. DOI: 10.3390/insects17030344.

SANTOS, M. P.; MOTA, A. P. Z.; TOGAWA, R. C.; MARTINS, N. F.; NASCIMENTO, E. F. M. B.; LUCENA, V. S.; CASTELLANI, M. A.; ALBUQUERQUE, E. V. S.; HILLIOU, F. 2024. The complete mitochondrial genome of *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) and phylogenetic relationships within the Yponomeutoidea superfamily. Scientific Reports, v. 14, n. 7119. DOI: 10.1038/s41598-024-57869-3.

SANTOSO, T. J.; SISHARMINI, A.; SYAFARUDDIN. 2022. Application of CRISPR/Cas9 technology to improve the important traits in coffee. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Bristol: IOP Publishing, v. 974, n. 1, p. 012082. DOI: 10.1088/1755-1315/974/1/012082.

SAUMWEBER, T.; WEYHERSMÜLLER, A.; HALLERMANN, S.; DIEGELMANN, S.; MICHELS, B.; BUCHER, D.; FUNK, N.; REISCH, D.; KROHNE, G.; WEGENER, S.; BUCHNER, E.; GERBER, B. 2011. Behavioral and synaptic plasticity are impaired upon lack of the synaptic protein SAP47. Journal of Neuroscience, Washington, DC, v. 31, n. 9, p. 3508–3518. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2646-10.2011.

SETOTAW, T. A.; CAIXETA, E. T.; PEREIRA, A. A.; OLIVEIRA, A. C. B.; CRUZ, C. D.; ZAMBOLIM, E.M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. 2013. Coefficient of parentage in *Coffea arabica* L. cultivars grown in Brazil. Crop Science, Madison, v. 53, n. 4, p. 1237–1245. DOI: 10.2135/cropsci2012.09.0541.

SHAW, P. E. 2002. Peptidyl-prolyl isomerases: a new twist to transcription. EMBO Reports, Oxford, v. 3, n. 6, p. 521–526. DOI: 10.1093/embo-reports/kvf118.

SI, W.; WANG, Q.; LI, Y.; DONG, D. 2020. Label-free quantitative proteomic analysis of insect larval and metamorphic molts. BMC Developmental Biology, London, v. 20, n. 24. DOI: https://doi.org/10.1186/s12861-020-00227-z.

SILVA, P. C.; RIBEIRO JUNIOR, W. Q.; RAMOS, M. L. G.; ROCHA, O. C.; VEIGA, A. D.; SILVA, N. H.; BRASILEIRO, L. O. 2024. Water stress alters growth and fruit uniformity of arabica coffee genotypes in the Brazilian Cerrado. Scientia Agricola, Piracicaba, v. 81, e20230001. DOI: https://doi.org/10.1590/1678-992X-2023-0001.

SILVA, R. A.; BERNARDI, L. F. O.; MATO, C. S. M.; PEREIRA, A. B.; ALCÂNTARA, E. N. 2022. Long term study in *Leucoptera coffeella* (Guérin Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) population from southern Minas Gerais, Brazil. Lundiana: International Journal of Biodiversity, v. 15, n. 1, p. 1–6. DOI: 10.35699/2675-5327.2022.36942.

SLAVOVA, G.; GEORGIEVA, V. 2019. World production of coffee imports and exports in Europe, Bulgaria and USA. Trakia Journal of Sciences, v. 17, supl. 1, p. 619–626. DOI: 10.15547/tjs.2019.s.01.098.

SONG, K. H.; JUNG, M. K.; EUM, J. H.; HWANG, I. C.; HAN, S. S. 2008. Proteomic analysis of parasitized *Plutella xylostella* larvae plasma. Journal of Insect Physiology, v. 54, n. 8, p. 1271–1280. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2008.06.010.

SOUZA, D. S. 2022. Clorantraniliprole em bicho-mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*): biologia e comportamento. 34 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Entomologia, Viçosa. DOI: 10.47328/ufvbbt.2022.090.

STEINBRECHER, R. A. 2015. Genetic engineering in plants and the “New Breeding Techniques” (NBTs): inherent risks and the need to regulate. Oxford: EcoNexus, 8 p.

TAKAGI, S.; TAKANO, S.; TOMOHIRO K.; HASHIMOTO, Y.; MORISE, S.; ZENG, X.; NOSE, A. 2024. Segment-specific axon guidance by Wnt/Fz signaling diversifies motor commands in *Drosophila* larvae. eLife, v. 13, DOI: 10.7554/eLife.98624.2.

TAO, D.; ZHANG, L.; SHAN, Y.; LIANG, Z.; ZHANG, Y. 2011. Recent advances in micro-scale and nano-scale high-performance liquid-phase chromatography for proteome research. Analytical and Bioanalytical Chemistry, v. 399, p. 229-241. DOI: 10.1007/s00216-010-3946-7.

THIKEKAR, A.K., RATHOD, V.S., PANCHAL, V.P. et al. A review on analytical tools in proteomics. Journal of Proteins and Proteomics, v. 14, n. 3, p. 201–221, 2023. DOI: 10.1007/s42485-023-00108-6.

TRIENT, D. A.; CINEL, S. D.; KAWAHARA, A. Y. 2018. Lepidoptera genomes: current knowledge, gaps and future directions. Current Opinion in Insect Science, v. 25, p. 99–105. DOI: 10.1016/j.cois.2017.12.004.

VEGRO, C. L. R.; ALMEIDA, L. F. 2020. Global coffee market: socio economic and cultural dynamics. In: ALMEIDA, Luciana Florêncio de; SPERS, Eduardo Eugênio (org.). Coffee Consumption and Industry Strategies in Brazil. Duxford: Woodhead Publishing, p. 3 19. DOI: 10.1016/B978-0-12-814721-4.00001-9.

VIEIRA JUNIOR, J. R.; FERNANDES, C. F.; RAMALHO, A. R.; ROCHA, R. B.; MARCOLAN, A. L.; COSTA, J. N. M.; TEIXEIRA, C. A. D.; VIEIRA, A. H.; SILVA, D. S. G.; SANTOS, A. R.; LOCATELLI, M. 2011. Elaboração de escala diagramática de severidade para o bicho-mineiro do cafeeiro. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 4 p. (Comunicado Técnico, 373).

VIEIRA, H. D. 2024. Café Rural: Noções da cultura. Editora Europa.

VIEIRA, L. G. E. et al. 2006. Brazilian coffee genome project: an EST based genomic resource. Brazilian Journal of Plant Physiology, v. 18, n. 1, p. 95–108. DOI: 10.1590/S1677-04202006000100008.

VILLALTA VILLALOBOS, J.; GATICA ARIAS, A. 2019. Una mirada en el tiempo: mejoramiento genético de café mediante la aplicación de la biotecnología. Agronomía Mesoamericana, v. 30, n. 2, p. 577 599. DOI: 10.15517/am.v30i2.34173.

WONG, J. 2024. Comparative proteomics: unravelling species-specific protein functions. Journal of Cell Biology and Metabolism, v. 6, n. 1, p. 1–5.

WRIGHT, C.J., SHIREY, V.M., CONDAMINE, F.L. et al. 2026. Evolution, genomics and conservation of butterflies and moths. Nature Reviews Biodiversity. DOI: 10.1038/s44358-025-00128-8.

XIA, J.; GUO, Z.; YANG, Z.; ZHU, X.; KANG, S.; YANG, X.; YANG, F.; WU, Q.; WANG, S.; XIE, W.; XU, W.; ZHANG, Y. 2016. Proteomics-based identification of midgut proteins correlated with Cry1Ac resistance in *Plutella xylostella* (L.). Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 132, p. 108-117. DOI: 10.1016/j.pestbp.2016.01.002.

- XIAO, D.; LIANG, X.; GAO, X.; YAO, J.; ZHU, K. Y. 2014. The lethal giant larvae gene in *Tribolium castaneum*: molecular properties and roles in larval and pupal development as revealed by RNA interference. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 15, n. 4, p. 6880–6896, DOI: 10.3390/ijms15046880.
- YANG, W. J.; CHEN, C.X.; YAN, Y.; XU, K. K.; LI, C. 2020. Clip-domain serine protease gene (LsCLIP3) is essential for larval–pupal molting and immunity in *Lasioderma serricorne*. *Frontiers in Physiology*, v. 10, p. 1631. DOI: 10.3389/fphys.2019.01631.
- YANG, W. J.; XU, K. K.; YAN, X.; LI, C. 2019. Knockdown of β -N-acetylglucosaminidase 2 impairs molting and wing development in *Lasioderma serricorne* (Fabricius). *Insects*, v. 10, n. 11, p. 396. DOI: 10.3390/insects10110396.
- YANG, Y.; SAAND, M. A.; HUANG, L.; ABDELAAL, W. B.; ZHANG, J.; WU, Y.; LI, J.; SIROHI, M. H.; WANG, F. 2021. Applications of multi-omics technologies for crop improvement. *Frontiers in Plant Science*, v. 12, p. 563953. DOI: 10.3389/fpls.2021.563953.
- YIN, F.; LIN, Q.; WANG, X.; LI, Z.; FENG, X.; SHABBIR, M. Z. 2021. The glutathione S-transferase (PxGST2L) may contribute to the detoxification metabolism of chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (L.). *Ecotoxicology*, v. 30, p. 1007–1016. DOI: 10.1007/s10646-021-02431-4.
- ZAMPIROLI, R.; ALVARENGA, C. B.; RINALDI, P. C. N.; ANDALÓ, V.; PRADO, J. R.; GONÇALVES, P. A. S. 2020. Effectiveness of coffee leaf miner control associated with spray deposition in coffee leaves. *Revista Ceres*, v. 67, n. 5, p. 1–10. DOI: 10.1590/0034-737X202067050007.
- ZHAO, L.; JONES, W. A. 2012. Expression of heat shock protein genes in insect stress responses. *Invertebrate Survival Journal*, v. 9, n. 1, p. 93–101.
- ZHUO, W., FANG, Y., KONG, L. et al. 2014. Chitin synthase A: a novel epidermal development regulation gene in the larvae of *Bombyx mori*. *Molecular Biology Reports*, v. 41, n. 7, p. 4177–4186. DOI: 10.1007/s11033-014-3288-1.
- ZUÑIGA, N. R.; DUMOULIN, A.; VACCARO, G.; STOECKLI, E. T. 2023. Cables1 links Slit/Robo and Wnt/Frizzled signaling in commissural axon guidance. *Development*, v. 150, e201671. DOI: 10.1242/dev.201671.

9. PRODUÇÃO CIENTÍFICA E PREMIAÇÕES

Artigos submetidos:

NASCIMENTO, Bruna de Oliveira et al. Proteomic Insights into Larval Stages of Coffee Leaf Miner (*Leucoptera coffeella*): A Step Towards the Development of Pest Management strategies. Submetido à revista Comparative Biochemistry and Physiology - Part D: Genomics and Proteomics. 2026.

Artigos publicados:

NASCIMENTO, BRUNA, et al. Prospection of Nematotoxic Aqueous Seeds Extracts Derived from the Preserved *Arachis* (Fabaceae) Germplasm Bank. INTERNATIONAL JOURNAL OF PLANT BIOLOGY, v. 15, p. 1-12, 2024.

Resumos publicados em anais de congressos:

1. NASCIMENTO, B. O.; SANTOS, I. R.; MENDES, P. N.; RIBEIRO, D. G.; FONTES, W.; MEHTA, A. Proteomic analysis of the coffee leaf miner (*Leucoptera coffeella*): an economically relevant pest affecting coffee production. In: XIII Simpósio de Biologia Molecular, 2025, Brasília. **XIII Simpósio de Biologia Molecular**, 2025.

2. NASCIMENTO, B.; SANTOS, I. R.; ARAGAO, F. A. S.; FONTES, W.; MEHTA, A. Decifrando o Diálogo Molecular: A Interação Proteômica entre Plantas e Insetos Minadores. In: XVIII Encontro do Talento Estudantil, 2025, Brasília. **XVII Encontro do Talento Estudantil**, 2025.

3. NASCIMENTO, B. O.; SANTOS, I. R.; RIBEIRO, D. G.; MENDES, P. N.; FONTES, W.; LUZ, I. S.; ARAGAO, F. A. S.; MEHTA, A. Identificação de proteínas-alvo para o controle da mosca minadora do melão (*Liriomyza sativae*). In: XVII Encontro do Talento Estudantil, 2024, Brasília. **XVII Encontro do Talento Estudantil**, 2024.

4. PALHARES, A. R. M.; NASCIMENTO, B.; SANTOS, I. R.; RODRIGUES, R. H. O.; BLUM, L. E. B.; MEHTA, A. Expressão de genes de suscetibilidade em tomateiro durante o processo de infecção por *Sclerotinia sclerotiorum*. In: XVII Encontro do Talento Estudantil, 2024, Brasília. **XVII Encontro do Talento Estudantil**, 2024.

Prêmios e títulos:

2024

3º Lugar na categoria Pós-graduação no XVII Encontro do Talento Estudantil, Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia.