



**Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:**

**Resumo**

**Relato de Caso**

**Nova alternativa para controle do inseto praga *Helicoverpa armigera* pelo mecanismo de RNA de interferência visando o silenciamento gênico**

**AUTOR PRINCIPAL:** Cássia Canzi Ceccon

**CO-AUTORES:** Dielli Didone, Tiago Teixeira, Natália Crestani, Marília Rodrigues da Silva, José Roberto Salvadori, Robert Shatters, Magali Ferrari Grando

**ORIENTADOR:** Magali Ferrari Grando

**UNIVERSIDADE:** Universidade de Passo Fundo

## **INTRODUÇÃO**

*Helicoverpa armigera* destaca-se como um dos principais insetos-praga das plantas cultivadas. Atualmente, além do controle químico, existem plantas geneticamente modificadas contendo o gene *cry* que confere resistência a insetos, porém o uso intensivo e inadequado pode resultar em indivíduos resistentes a esta tecnologia. O RNA de interferência (RNAi), mecanismo natural de regulação gênica, pode ser aplicado no controle de insetos pelo silenciamento de genes. O bloqueio da expressão de genes vitais pode causar mortalidade e/ou efeitos deletérios no desenvolvimento do inseto alvo. Visando uma nova estratégia de controle de *H. armigera*, foi produzido o RNA dupla fita (RNAdf), molécula indutora do mecanismo de silenciamento, do gene *rieske*, envolvido no transporte de elétrons da mitocôndria para produção de energia. O objetivo do trabalho foi avaliar a mortalidade e o efeito tóxico resultante da alimentação de larvas neonatas de *H. armigera* com o RNAdf do gene *rieske*.

## **DESENVOLVIMENTO:**

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade de Passo Fundo em colaboração com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA-USA) e Laboratório de Entomologia da Universidade de Passo Fundo. As larvas de *H. armigera* foram obtidas e mantidas em ambiente controlado com 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Para o experimento, as mesmas foram individualizadas em placas Petri para evitar o canibalismo e foram alimentadas com discos foliares de soja contendo o RNAdf do gene *rieske*.

Foram testadas três doses de RNAdf, 0,03, 0,3 e 3 $\mu$ g/cm<sup>2</sup>, e água livre de nucleases foi utilizada como controle negativo. O RNAdf foi disponibilizado aos insetos nos dias 0, 2 e 4. Após este período foi disponibilizado aos insetos discos foliares não tratados com RNAdf para manutenção dos insetos até o décimo sétimo dia. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e dez repetições.

Diariamente foi avaliada a mortalidade, desenvolvimento e consumo do disco foliar, sendo contabilizados os insetos mortos a partir do quarto dia para evitar a interferência do estresse inicial na mortalidade dos mesmos. A cada três dias, a partir do sexto dia, foi realizada a pesagem dos insetos.

A maior taxa de mortalidade foi observada com a dose de 0,3 ug/cm<sup>2</sup> de RNAdf-*rieske*, alcançando 75% de mortalidade no décimo sétimo dia, ou seja 41,7% acima da mortalidade observada no controle (33,3%) (Tabela 1).

A maior dose, 3 ug/cm<sup>2</sup> RNAdf-*rieske*, não se mostrou eficiente, apresentando taxa de mortalidade menor que do controle. Este fato pode ter ocorrido pela saturação de RNAdf na célula que impediu o funcionamento normal do mecanismo de processamento do RNAdf. A dose de 0,03 ug/cm<sup>2</sup> RNAdf – *rieske* apresentou resultados intermediários (Tabela 1).

Quanto ao ganho de peso e consumo de área foliar, o tratamento de 0,3 ug/cm<sup>2</sup> de RNAdf - *rieske* foi mais eficiente. Em média, o peso das larvas tratadas foi 70% menos do que as larvas controles (Figura 1). A taxa de consumo de área foliar foi menor nas larvas alimentadas com 0,3 ug/cm<sup>2</sup> de RNAdf - *rieske* (9,7 cm<sup>2</sup>) quando comparadas ao controle (33,4cm<sup>2</sup>). A redução no consumo associada a redução de peso, resultou em diferenças significativas no tamanho das larvas (Figura 2). A ocorrência destes efeitos deletérios no desenvolvimento do inseto é de extrema importância, uma vez que reduz os danos causados na lavoura.

Para confirmação da efetividade do dsRNA *rieske* na mortalidade, foi realizado novo experimento com as mesmas condições experimentais do experimento anterior, porém com 30 repetições comparando a melhor dose e controle. O uso de 0,3 ug/cm<sup>2</sup> RNAdf – *rieske*, resultou no aumento de 5 vezes na mortalidade dos insetos em relação ao controle, indicando a possibilidade da utilização desta estratégia para controle de *H. armigera*. Estudos para relacionar a mortalidade e silenciamento do gene alvo estão em andamento.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS:**

A alimentação de larvas de *H. armigera* com o RNAdf do gene *rieske* causa mortalidade e interfere no desenvolvimento das larvas. A dose mais eficiente é de 0,3 ug/cm<sup>2</sup> RNAdf – *rieske*. Indicando que esta tecnologia pode ser utilizada como uma nova alternativa de controle de *H. armigera*.

**NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA ( para trabalhos de pesquisa):** Número da aprovação.

## ANEXOS

Tabela 1: Mortalidade e eficiência das três diferentes doses de RNAdf do gene *rieske* comparadas ao controle no décimo sétimo dia de desenvolvimento das larvas de *H. armigera*.

Tratamento	Mortalidade (%)	Eficiência
Controle	33,3	
Rieske 3,0 µg	25	-8,3
Rieske 0,3 µg	75	41,7
Rieske 0,03 µg	50	16,7

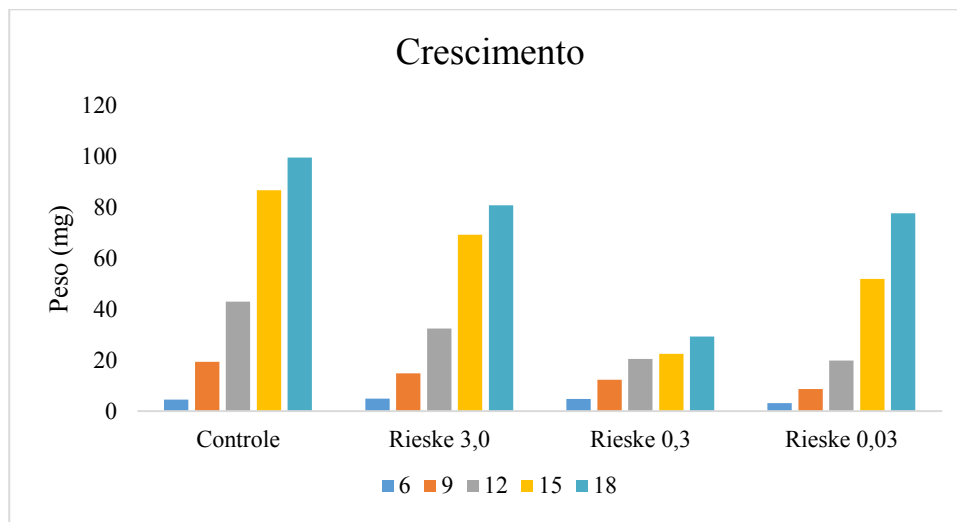


Figura 1: Peso médio das larvas de *H. armigera* alimentadas com diferentes doses de dsRNA do gene *rieske* e controle aos 6, 9, 12, 15 e 18 dias.

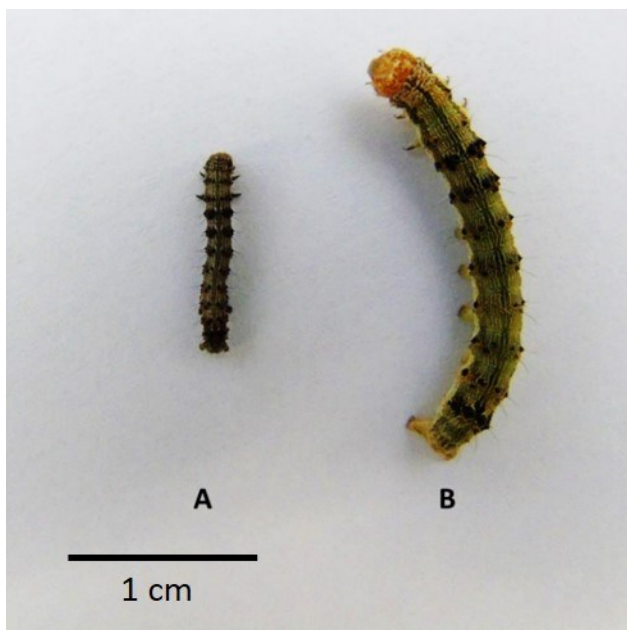


Figura 2: Crescimento das larvas de *H. armigera* alimentada com RNAdf do gene *rieske* (A) e controle (B) no décimo quinto dia de experimento.