

## **Identificação e caracterização de nucleases intestinais do bicudo-do-algodoeiro: um desafio para o sucesso do RNAi no controle de insetos-praga**

**Rayssa A. Garcia<sup>1</sup>; Danila C. Nascimento<sup>2</sup>; Leonardo L. P. Macedo<sup>3</sup>; Maria F. Grossi-de-Sá<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular. Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, 70910-900 Brasília, DF, Brasil. Email: rayssaagc@gmail.com. <sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Genômicas. Universidade Católica de Brasília, Campus Avançado Asa Norte, 70790-160 Brasília, DF, Brasil. <sup>3</sup> Analista A, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Cenargen, 70770-917, Brasília, DF, Brasil. <sup>4</sup> Pesquisadora A, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Cenargen, 70770-917, Brasília, DF, Brasil.

O algodão é a fibra natural mais importante do mundo, sendo produzido em mais de 60 países e o Brasil é um dos maiores produtores e exportadores do mundo. Entre os insetos-pragas que devastam as plantações de algodão, o coleóptero *Anthonomus grandis* (bicudo-do-algodoeiro) é o mais destrutivo. Devido ao seu hábito endofítico e capacidade reprodutiva, o uso de inseticidas é ineficiente, ambientalmente prejudicial e possui altos custos. O desenvolvimento de novas estratégias para o controle do bicudo-do-algodoeiro tornou-se uma necessidade. O uso de RNA fita dupla (dsRNA) para silenciar expressão gênica é, atualmente, uma abordagem muito explorada para gerar plantas geneticamente modificadas resistentes a patógenos e insetos. Apesar do sucesso reportado por essa estratégia para algumas espécies de insetos-praga, a ação de ribonucleases no intestino médio do inseto continua sendo um desafio. Este trabalho tem como objetivo contribuir com o desenvolvimento de estratégias moleculares capazes de aumentar a estabilidade de dsRNAs, a fim de este ser refratário à ação de ribonucleases de *A. grandis*. Três nucleases foram identificadas no transcrito de *A. grandis* e validadas por silenciamento via microinjeção de dsRNA em insetos adultos. A expressão das nucleases foi analisada por RT-qPCR em diferentes tecidos e após o silenciamento. Ensaios para verificar a estabilidade do dsRNA foram realizados com homogenato intestinal do intestino médio anterior de *A. grandis*. O número de transcritos diminuiu consideravelmente 48 e 148 horas após a microinjeção em insetos adultos. A atividade nucleásica, capacidade de degradar tanto dsRNA quanto dsDNA, foi identificada no intestino de *A. grandis*, mostrando redução significativa 48 horas após a microinjeção. O desenvolvimento de estratégias capazes de inibir RNases e, assim, aumentar a biodisponibilidade do dsRNA são promissoras para a aplicabilidade do RNAi em eventos de algodão GM para o controle do bicudo-do-algodoeiro.