

Simpósio de Integração Acadêmica

“Ciências Básicas para o Desenvolvimento Sustentável”

SIA UFV 2023

UFV

Universidade Federal
de Viçosa

Otimização da produção de dsRNA para controle de *Spodoptera frugiperda* por RNA de interferência

Sarah Júnia Gomes da Costa, Ananda Pereira Aguilar, Cíntia Soares Custódio, Maria Eduarda Pizzatto Nogueira, Rafael de Almeida Barros, Tiago Antônio de Oliveira Mendes

Palavras-Chave: *Spodoptera frugiperda*, RNA de interferência, produção de dsRNA por bactéria

Introdução

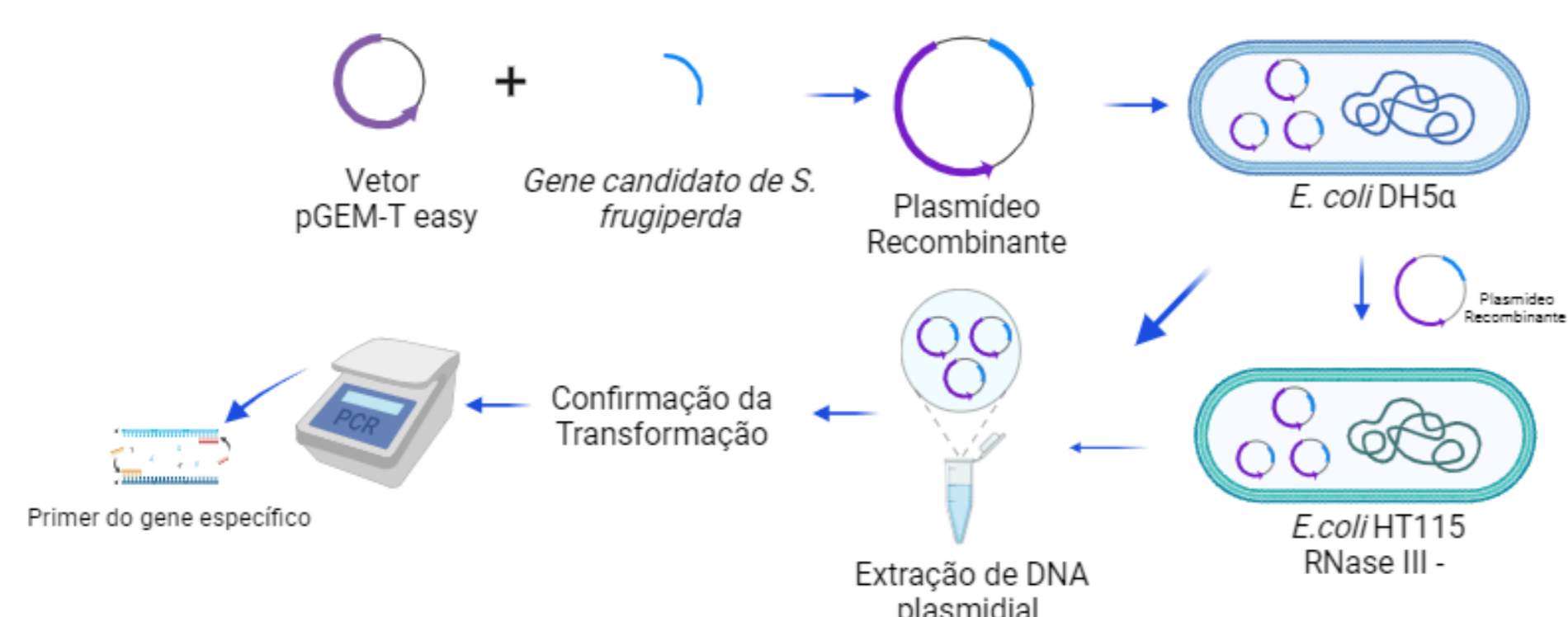
A lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) vem causando grandes perdas nas lavouras brasileiras e, entre elas, as plantações de soja. A principal forma de controle desse inseto é através da aplicação de pesticidas, que em larga escala criam grandes impactos no solo, água, ar e vida humana. Outra alternativa seria a utilização de RNA de interferência em que ocorre a degradação do RNA mensageiro (mRNA), e conduz a redução ou eliminação completa da expressão do gene alvo. As produções de dsRNA podem ser realizadas “*in vivo*” ou “*in vitro*”, sendo o primeiro método largamente utilizado devido ao seu custo mais baixo e elevado rendimento de produção.

Objetivos

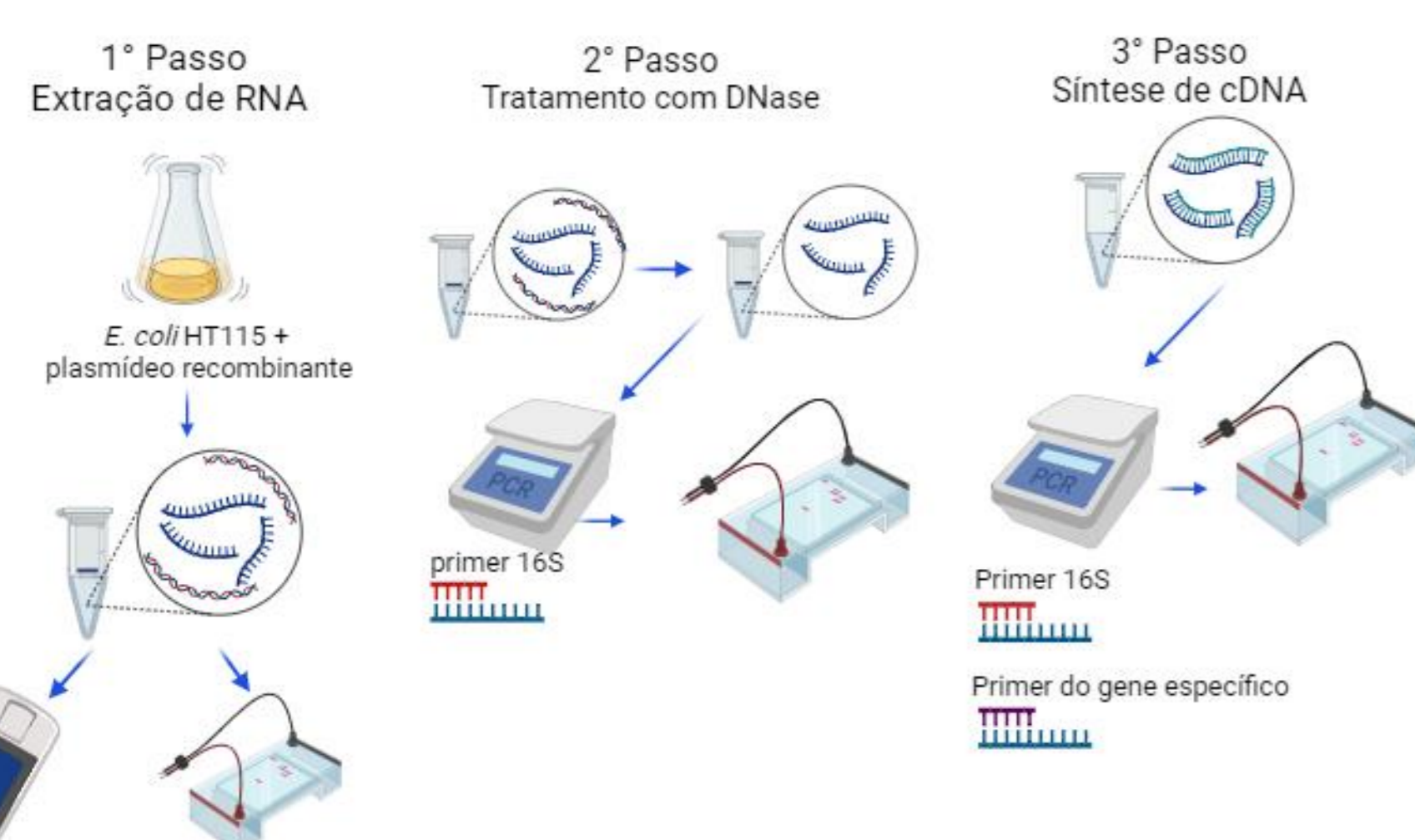
O objetivo deste projeto foi produzir dsRNA, a partir da *Escherichia coli* HT115, para controlar a lagarta-do-cartucho.

Material e Método

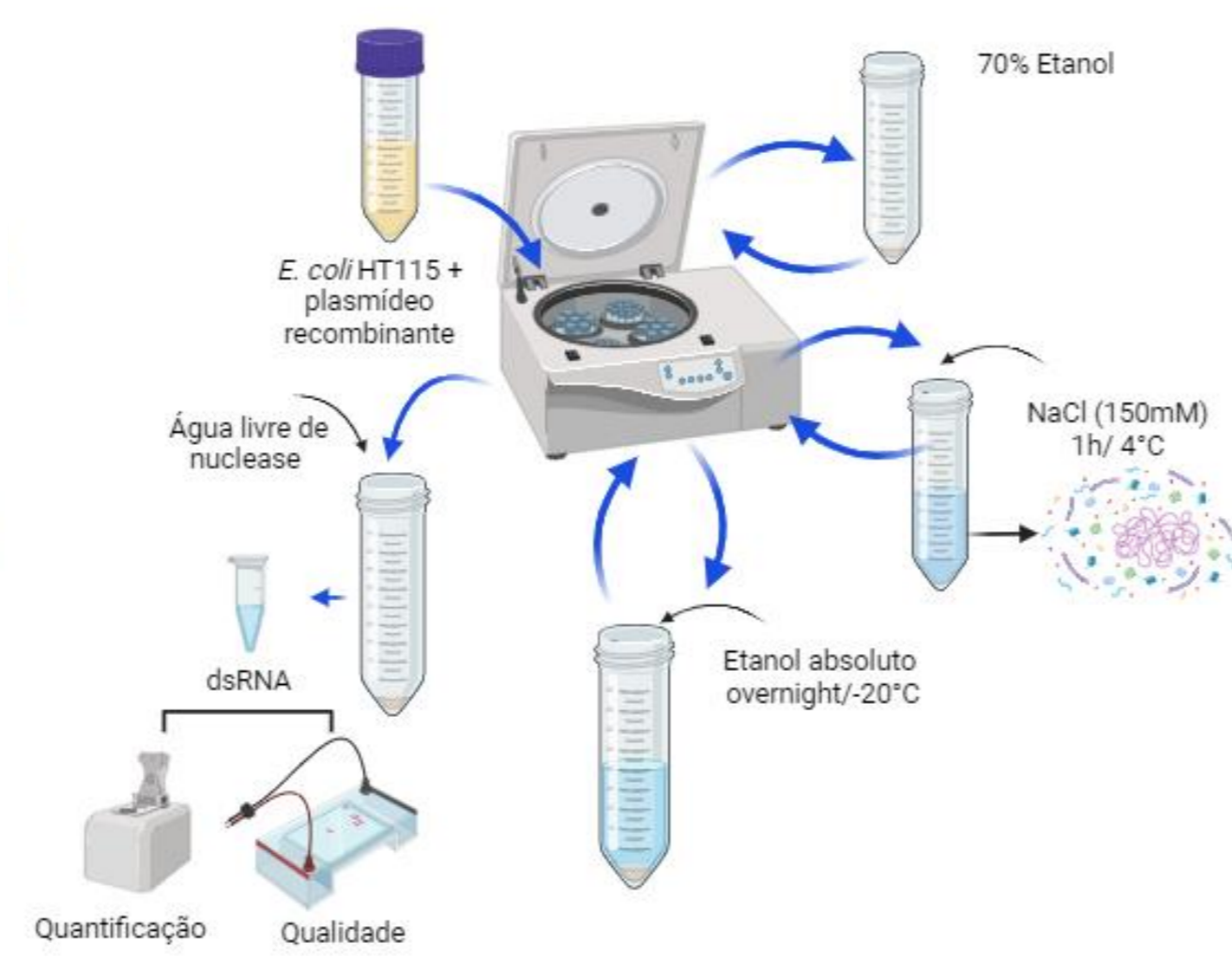
Transformação *E. coli* HT115



Expressão do gene alvo

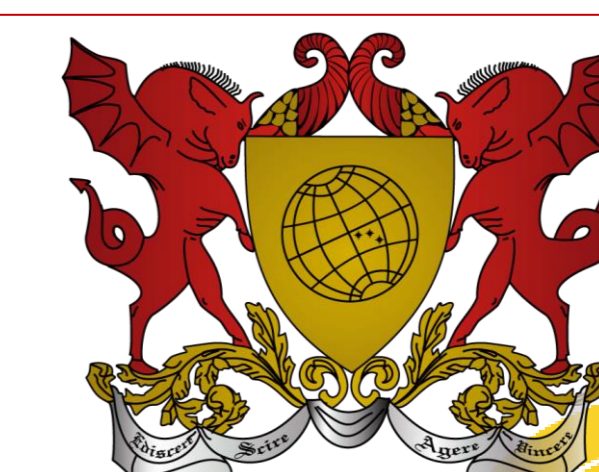


Extração de dsRNA



Created in BioRender.com bio

Apoio financeiro



Resultados e Discussão

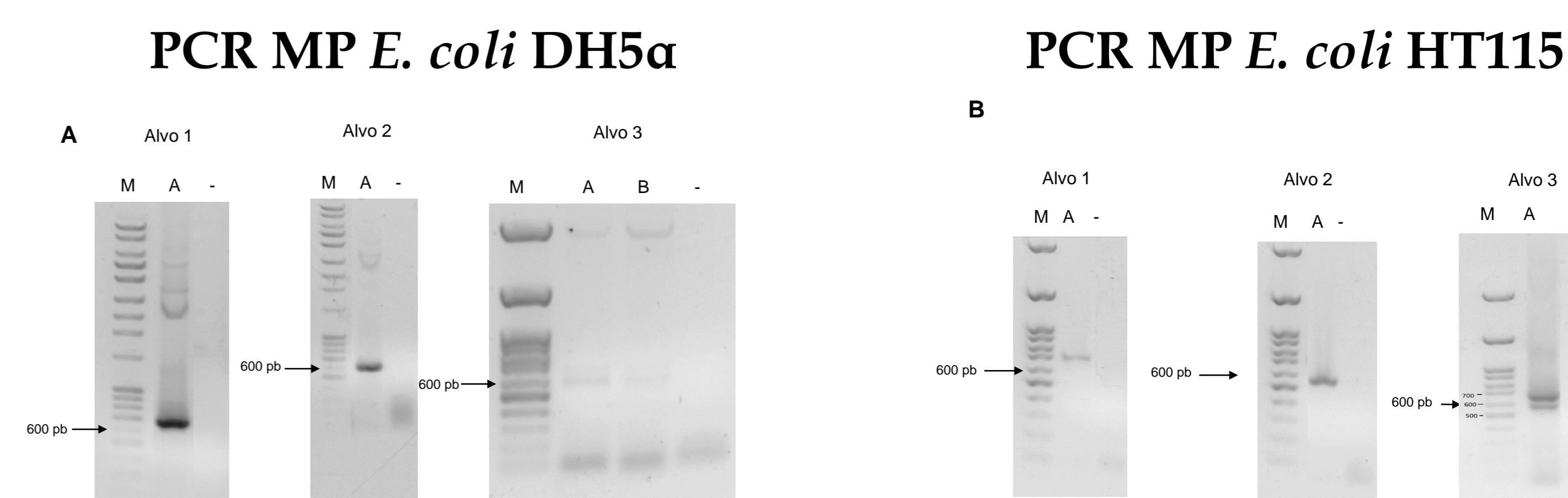


Fig. 1. A) Gel de agarose 1% do produto de amplificação usando o primer do gene alvo de *S. frugiperda* e DNA plasmidial de *E. coli* DH5α transformada com o vetor recombinante do alvo. Marcador de 100 pb (Norgen - High Ranger Plus 100 pb DNA ladder - Alvo 1 e 2 e GeneDireX - 100 pb ladder H3RTU para Alvo 3) (M), amplicon obtido do PCR com DNA plasmidial (A e B), controle negativo - água (-). B) Gel de agarose 1% do produto de amplificação usando o primers do gene alvo de *S. frugiperda* e DNA plasmidial de *E. coli* HT115 transformada com o vetor recombinante do alvo. Marcador de 100 pb (GeneDireX - 100 pb ladder H3RTU) (M), amplicon obtido do PCR com DNA plasmidial (A), controle negativo - água (-).

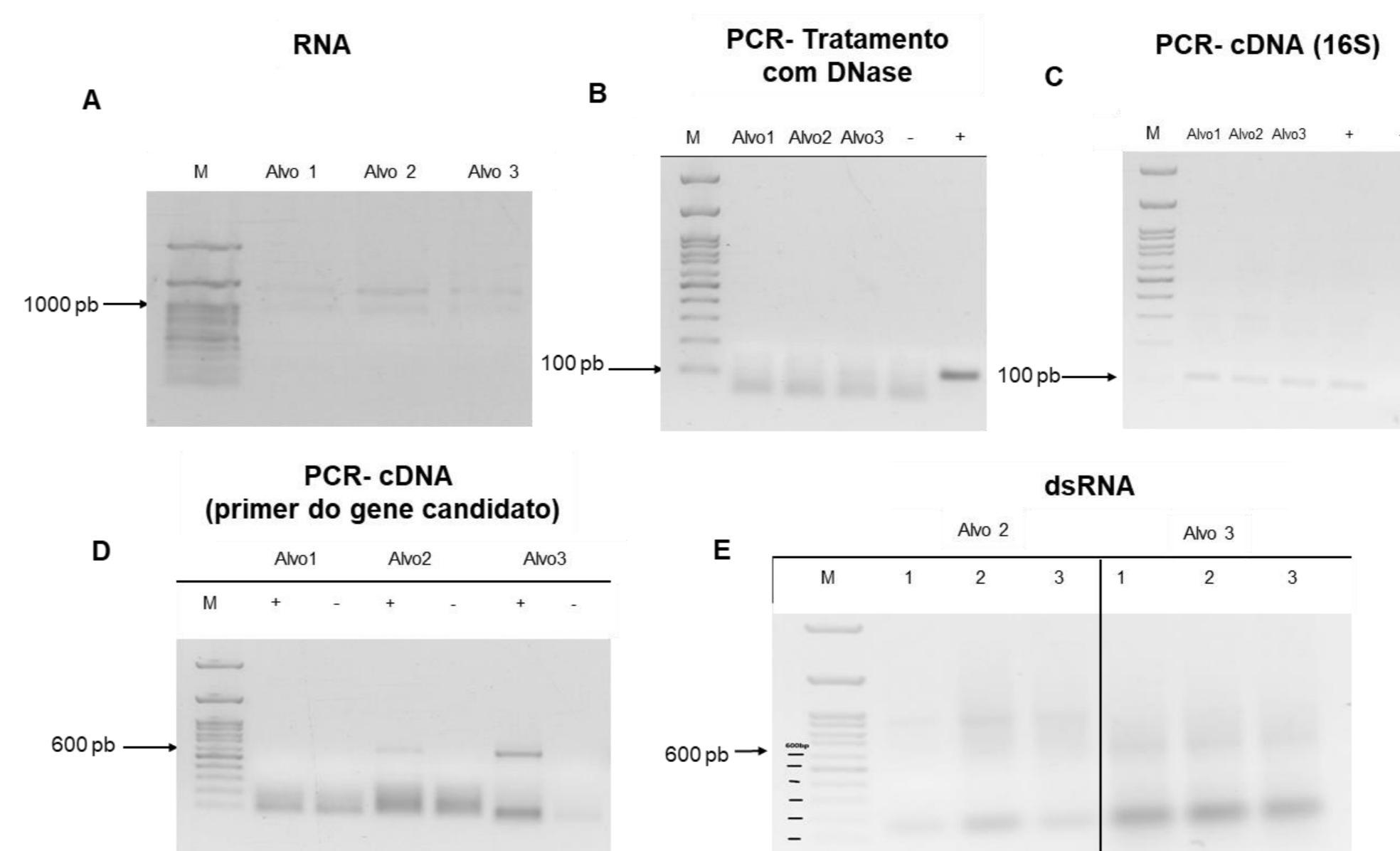


Fig. 2. A) Gel de agarose 1% do RNA total de *E. coli* HT115 com o vetor recombinante extraído pelo kit Qiagen RNeasy Mini kit B) Gel de agarose 2% dos produtos de amplificação do PCR usando o primer do gene do RNA ribossômico 16S, a partir das amostras: RNA tratado com DNase de *E. coli* HT115 transformada com o vetor recombinante (Alvo 1, Alvo 2 e Alvo 3), controle negativo - água (-), controle positivo - cDNA de *Pseudomonas fluorescens* (+). C) Gel de agarose 2% dos produtos de amplificação do PCR, usando o primer do gene do RNA ribossômico 16S, a partir das amostras: cDNA de *E. coli* HT115 transformada com o vetor recombinante (Alvo1, Alvo2, Alvo3), controle positivo - cDNA de *P. fluorescens* (+), controle negativo - água (-). D) Gel de agarose 1% do produto de amplificação, usando o primer do gene alvo específico, a partir das amostras: cDNA de *E. coli* HT115 transformada com o vetor recombinante (Alvo 1, Alvo 2 e Alvo 3 - (+)), controle negativo - água (-). E) Gel de agarose 1% do dsRNA alvo isolado da cultura de *E. coli* HT115 com o vetor recombinante.

Conclusões

Através deste trabalho foi possível produzir o dsRNA por meio de sistemas biológicos e a nossa expectativa é demonstrar a aplicabilidade dessa molécula no controle da lagarta-do-cartucho.

Bibliografia

Papić, L., Rivas, J., Toledo, S., Romero, J. (2018). Double-stranded RNA production and the kinetics of recombinant *Escherichia coli* HT115 in fed-batch culture. *Biotechnology Reports*, 20, e00292.

Guan, R., Chu, D., Han, X., Miao, X., Li, H. (2021). Advances in the development of microbial double-stranded RNA production systems for application of RNA interference in agricultural pest control. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 753790.

Agradecimentos