

Validação funcional da enzima Lacase 2 em *Anthonomus grandis*

Alexandre Augusto Pereira Firmino¹; Ana Gabriela Borges Leite^{1,2*}; José Dijair Antonino de Souza Junior¹; Roberta Ramos Coelho¹; Maria Fátima Grossi-de-Sá^{1,2}.

¹Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. PqEB, Final W5 Norte Asa Norte 70770900 - Brasília, DF - Brasil - Caixa-postal: 02372. ²Programa de pós-graduação em Biologia Molecular da Universidade de Brasília (UnB), Brasília-DF E:mail: fatima.grossi@embrapa.br e gabioborges@gmail.com

*Autor apresentador

O Brasil é o terceiro maior exportador mundial de algodão e alvo de uma grande variedade de insetos praga, que causam perdas significativas à produção. A principal praga do algodão no Brasil é o *Anthonomus grandis* (bicudo-do-algodoeiro) e seu principal método de controle inclui o uso de inseticidas, o que aumenta os custos de produção. Por esta razão, há a necessidade do desenvolvimento de novas ferramentas de controle, onde a biotecnologia desempenha papel importante. Dentro deste contexto, a técnica de silenciamento gênico por RNA interferente é uma ferramenta bastante promissora para controle desta praga e a disponibilidade do transcrito de *A. grandis* provê uma base de dados de genes que podem ser explorados. Proteínas como lacases estão, geralmente, envolvidas na formação e esclerotização da cutícula, sendo importantes em processos de muda e metamorfose em insetos, o que as torna possíveis alvos de silenciamento gênico. Assim, o objetivo do estudo foi validar a função de um gene da lacase 2 no desenvolvimento de *A. grandis* via RNA interferente. Uma sequência de 332pb de *A. grandis*, foi molde para síntese do dsRNA. Larvas de 3^o instar foram microinjetadas com dsRNA ou água bi-distilada. Após 14 dias, foram avaliados os fenótipos e expressão gênica. O silenciamento da lacase 2 resultou na formação de intermediários pupa/adulto e larvas “gigantes” que não completaram o desenvolvimento. No tratamento controle, as larvas desenvolveram-se normalmente, chegando à fase adulta sem comprometer a reprodução. A análise molecular do silenciamento gênico foi feita por qRT-PCR nos insetos tratados, levando em consideração os fenótipos encontrados. A expressão da lacase 2 foi 15 vezes menor no intermediário pupa/adulto e 3 vezes menor nas larvas “gigantes” em relação aos insetos do tratamento controle. Os resultados demonstram que a lacase 2 é uma proteína altamente importante na ecdise de *A. grandis*, sendo um alvo potencial controle desta praga.

Palavras-chave: bicudo-do-algodoeiro, RNA interferente, neuropeptídeos de *Anthonomus grandis*

Apoio: Universidade de Brasília (UnB), Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.