



## Identificação de alvos genéticos em *Diaphorina citri* visando estratégias de controle via RNA interferente

Jonatha dos Santos Silva<sup>1</sup> e Eduardo Chumbinho de Andrade<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestrando em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, estagiário da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA; <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

O Brasil se destaca na citricultura mundial como maior produtor e exportador de suco de laranja. O setor é responsável por gerar receita anual que pode ultrapassar US\$ 2 bilhões. Apesar de bem estabelecida, a cultura dos citros enfrenta problemas fitossanitários que limitam sua produção. O Huanglongbing (HLB) ou greening dos citros é considerada a mais devastadora doença da citricultura mundial. O HLB é causado por bactérias pertencente ao gênero *Candidatus Liberibacter* (Ca L.). No Brasil, a transmissão do agente causal do HLB é feita pelo psíldeo dos citros, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). O controle de *D. citri* é baseado no uso de pesticidas sintéticos, que causam um impacto negativo no meio ambiente. Há a necessidade do desenvolvimento de novos meios de controle que sejam eficientes e ambientalmente sustentáveis. Estratégias para proteção de culturas utilizando vias genéticas vêm sendo estudadas ao longo dos últimos anos e se mostram altamente promissoras. O mecanismo de RNA interferente (RNAi) pode ser utilizado como uma eficiente ferramenta para o controle de pragas. O RNAi é ativado pela presença de uma molécula de RNA de fita dupla (dsRNA), e promove a degradação de RNAs com sequências homólogas, levando ao silenciamento gênico. A eficiência no controle do psíldeo pela tecnologia de RNAi requer que sejam desenhados dsRNAs que afetem genes que sejam críticos à sobrevivência do inseto. Com isso, é de grande importância a identificação de genes alvos que sejam essenciais à sobrevivência de *D. citri*. Deste modo, o presente trabalho visa produzir dsRNAs homólogos a genes associados a importantes rotas metabólicas de *D. citri*. O RNA total do psíldeo foi extraído utilizando o reagente TRIzol®, seguindo o protocolo do fabricante. As amostras foram tratadas com DNase e submetidas a reação de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR). Para reação de PCR, foram utilizados oligonucleotídeos específicos desenhados a partir de sequências de nucleotídeos de diferentes genes de *D. citri* depositadas no banco de dados NCBI (*GeneBank*). As moléculas de dsRNA foram sintetizadas utilizando o kit comercial Mega-script RNAi, seguindo o protocolo do fabricante. Foram obtidos cinco dsRNAs; dsRNA-Syn, dsRNA-VTPase, dsRNA-Imp, dsRNA-PF39 e dsRNA-Mom. Estas moléculas têm como alvo genes associados a síntese de ATP, bombas de prótons, importação de substrato, processamento de pré-mRNAs e reprodução em fêmeas, respectivamente. Os dsRNAs serão testados em bioensaios para avaliar o potencial de induzir a mortalidade ou suprimir a reprodução do psíldeo dos citros. Se os resultados foram promissores, estes dsRNAs poderão ser utilizados para desenvolvimento de estratégias para o manejo de *D. citri*.

**Significado e impacto do trabalho:** O HLB é transmitido pelo inseto *Diaphorina citri*, e o desenvolvimento de estratégias de controle do inseto vetor é importante para evitar a proliferação da doença em campo. A utilização do mecanismo de RNAi para controle de insetos abre a possibilidade do desenvolvimento de pesticidas altamente específicos, reduzindo o custo ambiental e tornando a citricultura mais sustentável.