

## ELUCIDAÇÃO DE DETERMINANTES DA PATOGENICIDADE DE *COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA* VIA ESTUDOS POR RNAi<sup>(\*)</sup>

**Raquel Pereira Passos Salgado<sup>(1)</sup>, André da Silva Xavier<sup>(2)</sup>, Luciano Viana Costa<sup>(3)</sup>,  
Andréa Almeida Carneiro<sup>(4)</sup> e Newton Portilho Carneiro<sup>(5)</sup>**

Palavras-chave: *Zea mays*, Antracnose, *Colletotrichum gaminicola*, RNA interferente, RNAi.

O fungo filamentosso *Colletotrichum graminicola* é um fitopatógeno agente causal da doença antracnose do milho e responsável por afetar diretamente a produção de grãos em até 35%. Ferramentas biotecnológicas como o RNA de interferência (RNAi) têm sido utilizadas para determinar a função de vários genes, incluindo aqueles relacionados à proteção contra o ataque de patógenos. A síntese de dsRNA/siRNA associada com a entrega a organismos alvo, vem apresentando resultados promissores na indução do silenciamento gênico. Abordagens baseadas no uso tópico de RNA dupla fita (dsRNA) têm grande potencial no controle da referida doença em milho. Esse estudo tem o objetivo de avaliar a entrega de dsRNA/siRNA em milho e viabilizar a redução da infestação do *C. graminicola*. Foram inicialmente realizados testes em meio de cultura e posteriormente em folha, utilizando dsRNA/siRNA sintetizados para genes alvo de *C. graminicola* associados à síntese de quitina (quitina sintases *CHSV* e *CHSVII*) e melanina, “Fosfopanteteinil transferase 1” (*PPT1*). As quitinas sintase são importantes componentes estruturais e sítio alvo de fungicidas e os PPTs estão associados a patogenicidade. Os resultados da análise da expressão gênica por qRT-PCR obtidos em meio de cultura sólido demonstraram que a aplicação do siRNA (siPPT1, siCHSV e CgCHSVII) apresentou uma redução significativa no nível dos transcritos para todos os genes. O mesmo não foi possível observar para os tratamentos com dsRNA (dsPPT1, dsCHSV e dsCHSVII), cujos transcritos mantiveram-se significativamente inalterados, quando comparados ao dsGFP. Os tratamentos com siRNA, siPPT1 e siCHSV obtiveram maior redução na biomassa seca, estimada em cerca de 75% em relação ao controle siGFP. Enquanto o tratamento siCHSVII obteve cerca de 45% de redução na biomassa. Já nos experimentos de aplicação do dsRNA/siRNA em folhas de milho (BSR1010), obteve-se o resultado inverso aos observados no crescimento *in vitro*. Portanto, não houve redução na expressão dos genes *PPT1*, *CHSV* e *CHSVII* mediante aplicação do siRNA foram observadas lesões necróticas evidenciando que o fungo *C. graminicola* obteve sucesso na infecção e colonização das folhas. No entanto, para todos os tratamentos com aplicação do dsRNA (dsPPT1, dsCHSV e dsCHSVII) foi possível verificar que o fungo *C. graminicola* não obteve um progresso no processo de colonização. Os tratamentos com dsRNA apresentaram também redução significativa na quantidade de transcritos para os três genes (dsPPT1, dsCHSV e dsCHSVII). Os resultados de inibição de expressão gênica de genes do fungo e redução da infecção e lesões necróticas sugerem potencial uso dessa tecnologia para o controle desse patógeno em milho.

\* Fonte financiadora: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

<sup>(1)</sup> Bióloga, Bolsista de doutorado, Universidade Federal de Lavras; Lavras-MG. rppsalgado@gmail.com

<sup>(2)</sup> Engenheiro Agrônomo, Professor Universidade Federal do Espírito Santo, Fapemig. andre.s.xavier@ufes.br

<sup>(3)</sup> Engenheiro Agrônomo, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo; luciano.cota@embrapa.br

<sup>(4)</sup> Bióloga, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo; andrea.carneiro@embrapa.br

<sup>(5)</sup> Biólogo, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo; newton.carneiro@embrapa.br