

RNAi-bioinseticida: a molécula de quitina como alvo para o controle de vetores e pragas

Victor Guimarães Ribeiro (PG)¹, Sheila Barbara G. Lopez (PQ)¹, Maria Luiza dos Santos M. Conceição (IC)¹, Ana Cláudia A. Melo (PQ)¹, Mônica F. Moreira (PQ)^{1*}

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Bioquímica/ IQ (RJ Brasil)

Palavras Chave: RNAi, quitina sintase, *Aedes aegypti*.

Introdução

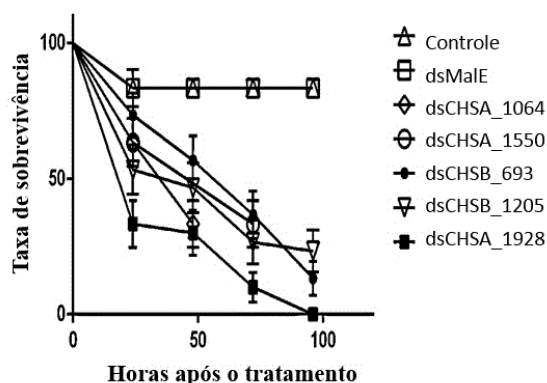
Dengue, chikungunya e Zika são arboviroses, transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti*, que estão entre os principais desafios da saúde pública no Brasil. A principal forma de controle vetorial tem sido o uso de inseticidas, porém, a pressão seletiva do uso constante destes compostos tem conferido aos insetos o fenótipo de resistência. O silenciamento gênico por técnica de RNA de interferência (RNAi) é uma ferramenta que vem sendo estudada para o controle de vetores, sendo possível, o silenciamento de um gene específico. A quitina, polímero de N-acetilglicosamina, está presente em diversas estruturas do *Ae. aegypti* que são importantes para sua sobrevivência, como a cutícula e a matriz peritrófica (MP), sendo um ótimo alvo para controle do vetor. Esse mosquito possui dois genes de quitinas sintases (CHSA e CHSB), que são enzimas chaves na biossíntese de quitina da cutícula e da MP, respectivamente.

Resultados e Discussão

A partir de buscas dos genes dessas proteínas puderam ser criadas cinco construções de duplas de RNA para silenciar os genes de CHS (dsCHS). Essas construções foram feitas em locais específicos dos genes: dsCHSA_1064, dsCHSB_693, dsCHSA_1550 e dsCHSB_1205 e no sítio catalítico, dsCHSA_1928, região com alta homologia nos genes de CHSA e CHSB. Com base neste estudo, foi desenvolvido por nosso grupo um bioinseticida, trata-se de um microrganismo recombinante, crescido em meio Luria Bertani (LB), capaz de produzir dsRNAs (p-CHSA_1928) com especificidade para silenciamento dos genes CHSA e B simultaneamente. O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos do silenciamento dos genes de CHS A e B com dsCHSA_1928 (1µg/mL) no desenvolvimento dos mosquitos. No período de larva foi observada uma alta taxa de mortalidade tanto em estágio L1 quanto em L4. As poucas larvas que sobreviveram ao tratamento foram acompanhadas até a fase adulta, os mosquitos adultos sobreviventes apresentaram menor tamanho, cutícula fragilizada e menos escamas quando comparados ao indivíduo do grupo controle.

Em seguida foi investigada a capacidade do dsCHSA_1928 ser utilizado como adjuvante de inseticida com outros inseticidas. Nesse ensaio a fármaco diflubenzuron (DFB, 10⁻⁴ mg/L) sozinho matou aproximadamente 37% das larvas, o bioinseticida, sozinho, matou em torno de 43% no 6º dia após o tratamento. Na associação dsCHSA_1928 e DFB, o percentual de mortalidade foi aproximadamente de 73%.

Figura 1- taxa de sobrevivência de larvas L1 após o tratamento com dsRNA.



Conclusões

O conjunto destes resultados demonstraram a eficácia da técnica de RNAi, logo a bactéria produtora de dsRNA para silenciamento dos genes de CHS pode ser utilizada como bioinseticida ou como agente adjuvante de inseticidas, possibilitando diminuir as doses dos inseticidas usados tradicionalmente para controle, diminuindo o impacto ambiental.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à CAPES, CNPq, FAPERJ pelo suporte financeiro.

• Moreira M. F. et al. A chitin-like component in *Aedes aegypti* eggshells, eggs and ovaries. *Insect Biochem Mol Biol.*, v. 37, n. 12, p. 1249–61, 2007

• Sheila Barbara G. Lopez, et al. RNAi-based bioinsecticide for *Aedes* mosquito control. *Scientific reports*, v. 9, n. 1, p. 4038, 2019.