

## RNAi para el control de *Piezodorus guildinii* en soja

Claudia Schwartzman<sup>1</sup>, Pablo Fresia<sup>2</sup>, Sara Murchio<sup>1</sup>, Valentina Mujica<sup>3</sup>, Marco Dalla Rizza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Canelones, Uruguay

<sup>2</sup>Unidad Mixta Pasteur + INIA (UMPI), Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay

<sup>3</sup>Unidad de Protección Vegetal, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Canelones, Uruguay  
schwartzman@inia.org.uy; mdallarizza@inia.org.uy

*Keywords: control de plagas, RNA de interferencia, biotecnología*

### Introducción

*Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae) causa pérdidas económicas en el cultivo de soja, reduciendo su productividad, afectando el tamaño y calidad, contenido de aceite y poder germinativo de los granos [1]. El control se basa en piretroides y neonicotinoides que impactan en enemigos naturales, el ambiente y favorecen la aparición de resistencia [2]. La interferencia por RNA (RNAi) es un proceso conservado de regulación génica en eucariotas desencadenado por RNA doble cadena con homología de secuencia a RNA mensajero. Si el blanco de la interferencia es un gen esencial, puede generar en el organismo la muerte, inhibición de la reproducción, fenotipos no viables en la descendencia, entre otros, haciendo que el RNAi, sea una potencial técnica biosegura para combinar con estrategias de manejo integrado [3]. Nuestra hipótesis de trabajo es que la administración de RNA con homología a genes esenciales puede desencadenar silenciamiento génico y tener un efecto insecticida en *P. guildinii*. En este trabajo, evaluamos el efecto in vivo de la administración de dsRNAs por inyección e ingesta en la viabilidad de *P. guildinii* como posible estrategia de control.

### Métodos

Se seleccionaron once genes blanco y para cada uno se diseñaron y sintetizaron dsRNAs entre 300 y 500 pb y una secuencia de 496bp del gen GFP control negativo. Se evaluó la inyección de 1,2 µg de dsRNA en adultos de acuerdo a [4] mientras que la evaluación por ingesta se realizó utilizando 1µg de dsRNA. Se siguió la mortalidad por 14 días y se determinó el nivel de expresión de los genes blanco por qRT-PCR según [4].

### Resultados y discusión.

Se evaluó la sobrevivencia a 14 días post inyección de los once interferentes diseñados observándose diferencias significativas (Log-Rank test  $\chi^2=170$ ,  $df=12$   $P < 0.0001$ ) De éstos, los 3 interferentes que mostraron mayor mortalidad acumulada superaron el 76% ( $P < 0.001$ , corrección Bonferroni). De forma consistente, los niveles de expresión evaluados por RT-qPCR de los mismos fueron significativamente menores respecto al control a las 24, 48 y 72h post inyección llegando a una expresión del 62%, 36% y 0.01% respecto al grupo control, demostrando así que el efecto de silenciamiento

está relacionado a la mortalidad observada. De forma adicional, en los genes *dcr-2* y *ago-2* se observó una sobreexpresión a las 48hs de 1.8 veces ( $P=0.04$ ) de *dcr-2* mientras que para *ago-2*, un aumento en la expresión relativa a las 24hs y 48hs de 1.8 veces respecto al grupo control ( $P=0.02$ ). Se seleccionaron los tres interferentes que mostraron mejor respuesta por inyección para su evaluación por ingesta. Se observó que la mortalidad fue significativa respecto al grupo control llegando al 46% ( $P < 0.0004$ ).

### Conclusiones.

Estos resultados muestran que *P. guildinii* es sensible al uso de RNAi hacia genes esenciales, con un efecto significativo en la viabilidad. Esta tecnología podría representar una nueva estrategia para el manejo integrado de este insecto.

### Agradecimientos.

Este proyecto fue financiado por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) FSA\_1\_2018\_1\_151855 y por INIA con una beca de doctorado.

### Referencias.

1. Depieri, R. & Panizzi, (2011) A. Duration of feeding and superficial and in depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). *Neotrop. Entomol.* 40,197-203
2. Sosa-Gómez, D.R. et al (2020) Prevalence, damage management and insecticide resistance of stink bug populations (Hemiptera: Pentatomidae) in commodity crops. *Agric. For. Entomol.* 22,99-118
3. Svoboda, P. (2020). Key Mechanistic Principles and Considerations Concerning RNA Interference. *Front. Plant. Sci.* 11,1-13
4. Schwartzman C. et al (2022) RNAi in *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae): Transcriptome Assembly for the Development of Pest Control Strategies. *Front Plant Sci.* 13,1-10