

Transcriptoma de diferentes estágios de desenvolvimento da cigarrinha *Mahanarva spectabilis* Distant (Hemiptera: Cercopidae)

Gustavo Fernando Ferreira Gonçalves¹; Isabela dos Santos Begnami²; Wilson Malagó Júnior³;
Marcos Rafael Gusmão³; Bianca Baccili Zanotto Vigna³

¹Aluno de graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. Bolsista PIBIC/CNPq, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP; gustavoffg@estudante.ufscar.br

²Aluna de doutorado em Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

³Pesquisador(a) da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

A cigarrinha *Mahanarva spectabilis* é uma praga significativa em pastagens tropicais. Ao sugarem a seiva das plantas, injetam toxinas que causam o amarelecimento, secagem e morte das folhas, resultando em uma redução estimada de 20% na produção de biomassa. Atualmente, poucas opções de controle são viáveis, sendo o RNA de interferência (RNAi) um método promissor devido à sua alta especificidade e eficiência, além de causar menor impacto ambiental. Nosso objetivo foi montar um transcriptoma de diferentes fases do desenvolvimento da cigarrinha visando a identificação de genes do mecanismo do RNAi e a identificação de genes alvos para o controle. A partir de triplicatas de amostras de ovos, ninfas pequenas (NP, do 1º ao 3º instar), ninfas grandes (NG, do 4º e 5º instar) e adultos (AD), extraímos o RNA total utilizando o kit Quick-RNA Tissue/Insect Microprep para ovos e NP, e o TRI Reagent (Sigma-Aldrich) no caso de NG e adultos, conforme orientações dos fabricantes. Construímos 12 bibliotecas de cDNA utilizando o kit TruSeq Stranded mRNA (Illumina), e sequenciamos as mesmas na plataforma Illumina NextSeq 550 2x75pb. Para averiguar a qualidade das extrações utilizamos Nanodrop, onde as concentrações ng/µL apresentaram valor médio de 165,66 para os ovos, 572,92 para NP, 1071,28 para NG e 950,01 para AD. Além disso, a integridade do material foi comprovada através de eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo, onde na grande maioria das amostras houve a formação de banda única e intensa. A completude das bibliotecas de cDNA formadas foi avaliada utilizando um sistema TapeStation 4200 (Agilent), onde os resultados estiveram entre 200 e 400 pb, considerados satisfatórios. A qualidade dos dados obtidos foi avaliada com FastQC, as sequências de baixa qualidade e os adaptadores foram cortadas com Trimmomatic e o rRNA residual foi filtrado com SortMeRNA. Realizamos uma montagem de novo de um transcriptoma único agrupando todas as amostras através do software Trinity, devido à ausência de genoma de referência para a espécie. Retiramos a redundância com o programa cd-hit e verificamos a qualidade com o BUSCO e o Bowtie2. Do total de reads sequenciadas, cerca de 10,31% foram descartadas por baixa qualidade e 1,75% por conter rRNA. No transcriptoma final obtivemos 197.003 contigs não redundantes com N50 de 853 pb. Dos transcritos, 96,6% apresentaram similaridades com genes ortólogos conservados em Hemiptera e 90,59% das leituras foram alinhadas com esta referência. O transcriptoma gerado é considerado adequado, por isso seguimos atualmente para etapas de pesquisa de genes relacionados à maquinaria de RNAi e para a prospecção de genes alvos para silenciamento.

Apoio financeiro: CNPq

Área: Ciências Biológicas

Palavras-chave: cigarrinha-das-pastagens, ninfa, forrageira, RNAi, RNA-Seq.

Número Cadastro SisGen (se aplicável): A7276ED

N. do Processo PIBIC/PIBIT (se aplicável): 170909/2023-9