



IV Mostra de Extensão, Ciência e Tecnologia

XXIX Seminário de Iniciação Científica

XIV Salão de Ensino e Extensão

IV Mostra da Pós-Graduação Stricto Sensu

III Seminário de Inovação Tecnológica



Título:	IDENTIFICAÇÃO DE FITONEMATOIDES DO GÊNERO <i>MELOIDOGYNE</i> COM TÉCNICAS MOLECULARES		
Autores:	<i>Jamile Ferreira da Siqueira</i> <i>David Gabriel dos Santos Fagundes</i> <i>Láís Mara Santana Costa</i> <i>Alexandro Cagliari</i> <i>Pedro Paulo Ferreira Lemos</i> <i>Alexandre Rieger</i>		
Área	<input type="checkbox"/> Humanas <input type="checkbox"/> Sociais Aplicadas <input type="checkbox"/> Biológicas e da Saúde <input checked="" type="checkbox"/> Exatas, da Terra e Engenharias	Dimensão:	<input type="checkbox"/> Ensino <input type="checkbox"/> Pesquisa <input type="checkbox"/> Extensão <input checked="" type="checkbox"/> Inovação
Resumo: Introdução: Os fitonematoides são uma das pragas mais nocivas para as culturas agrícolas gerando um prejuízo de R\$ 35 bilhões anuais. O gênero <i>Meloidogyne</i> , denominado como “nematóide de galhas” é um dos mais nocivos, pois causa hipertrofia das raízes, dificultando o crescimento da planta. A identificação é realizada em laboratório pela análise morfológica e tem como fatores limitantes a necessidade de isolamento de fêmeas juvenis e da expertise do examinador. Em contrapartida, a PCR em tempo real (qPCR) apresenta a possibilidade de identificação de amostras mesmo sem encontrar a fêmea em estágio juvenil, pois baseia-se na amplificação do material genético do indivíduo que pode ser obtido em qualquer fase da sua vida, do ovo ao adulto. Objetivo: Realizar a identificação molecular de fitonematoides do gênero <i>Meloidogyne</i> por meio da qPCR. Metodologia: Após revisão da literatura, selecionamos o par de <i>primers</i> RKN para a detecção do gênero <i>Meloidogyne</i> . Na sequência, foi realizada a análise <i>in silico</i> com o algoritmo BLASTn para identificar sequências de espécies do gênero com maior similaridade. Para testar a especificidade e sensibilidade da qPCR, extraímos DNA de seis espécies de fitonematoides de culturas puras cedidas pela Fundação Mato Grosso, com o Kit E.Z.N.A. de acordo com			

Site do Evento: www.unisc.br/Mostra



IV Mostra de Extensão, Ciência e Tecnologia

XXIX Seminário de Iniciação Científica

XIV Salão de Ensino e Extensão

IV Mostra da Pós-Graduação Stricto Sensu

III Seminário de Inovação Tecnológica

as recomendações do fabricante. Foram utilizadas 148 amostras de solo e raiz para validar os resultados da qPCR com amostras de campo comparando-se ao método morfológico. Para essas amostras, três inovações foram estabelecidas no protocolo de extração de DNA: 1) a partir do filtrado, a amostra foi decantada durante 1 hora concentrando os fitonematoides em um volume final de 200µl; 2) etapa de disrupção mecânica realizada no aparelho FastPrep 24™ - MPBio; 3) banho-maria, 2h à 70°C. Após essas modificações utilizou-se o KIT E.Z.N.A. para a obtenção do DNA que foi submetido qPCR. A análise estatística foi realizada para determinar a concordância, sensibilidade e especificidade dos resultados da qPCR em relação a metodologia padrão de identificação. **Resultados:** Com a análise *in silico*, foram identificadas 1000 seqüências que possuíam 100% de cobertura e identidade, na qual foram detectadas 13 espécies do gênero *Meloidogyne*. A qPCR permitiu identificar a especificidade dos *primers* para 2 espécies de *Meloidogyne*: *M. incognita* e *M. javanica*. As curvas de sensibilidade permitiram a amplificação da razão de 1:10.000 nematoides e ambas as espécies, indicando a alta sensibilidade do par de *primers* RKN. Com a testagem de 148 amostras de campo, foi possível constatar que a concordância entre as análises moleculares de qPCR e morfológicas foi 67,6%, especificidade de 76,2% e sensibilidade de 55%. As análises das curvas de *melting da* qPCR apresentaram uma variação nas faixas de temperaturas dos amplicons maior em campo que nos testes com amostras puras sugerindo que isso possa ser devido a uma maior diversidade genética das populações de espécies de *Meloidogyne* em amostras de campo. **Conclusão:** As modificações no protocolo de extração de DNA foram eficientes para viabilizar a detecção molecular de fitonematoides do gênero abordado. O par de *primers* RKN mostrou-se adequado para detecção de indivíduos do gênero *Meloidogyne* em amostras de campo e a especificidade do método foi adequada para complementar a análise morfológica, e viabilizar a detecção em diversos estágios de vida dos fitonematoides.

Palavras – chave: Fitonematologia, métodos moleculares, primer, análise morfológica.

Link do Vídeo:

<https://drive.google.com/drive/folders/1dVv8P659bqkyQvd9Jp-6wn5-8vQp3Nci?usp=sharing>