



## SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2016
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	DESENHO DE PROTOCOLOS DE RT-PCR EM TEMPO REAL PARA DETECÇÃO E DIAGNÓSTICO DE STRAWBERRY LATENT RING SPOT VIRUS E COWPEA SEVERE MOSAIC VIRUS EM SEMENTES
<b>Autor</b>	BETINA LUÍZA LERNER
<b>Orientador</b>	EDSON BERTOLINI

## DESENHO DE PROTOCOLOS DE RT-PCR EM TEMPO REAL PARA DETECÇÃO E DIAGNÓSTICO DE *STRAWBERRY LATENT RING SPOT VIRUS* E *COWPEA SEVERE MOSAIC VIRUS* EM SEMENTES

*Betina Luíza Lerner, Edson Bertolini (orientador) – UFRGS*

O Brasil possui um intenso comércio internacional de sementes e grãos que podem ser portadores de fitopatógenos. A comercialização de material vegetal e sementes envolve riscos de introdução de pragas. O feijão caupi (*Vigna unguiculata*) é a principal fonte de proteína das regiões Norte e Nordeste do Brasil. O vírus *Cowpea severe mosaic virus* (CPSMV) afeta diretamente a produção dessa leguminosa, causando redução na produtividade. O *Strawberry latent ringspot virus* (SLRSV) é quarentenário no Brasil, mas é transmitido por sementes de diversas espécies, sendo necessário o monitoramento do mesmo impedindo sua introdução no país. Atualmente, uma das técnicas mais utilizadas para detecção de vírus é a PCR em tempo real, a qual permite a amplificação, detecção e quantificação de um patógeno em um único passo e tem sido utilizada em larga escala para detecção de vírus em sementes. O estudo teve como objetivo o desenvolvimento e a aplicação de RT-PCR em tempo real para a detecção dos vírus CPSMV e SLRSV e a validação dos métodos, para seu uso em análises de sementes em programas de controle fitossanitário. Inicialmente, buscaram-se as sequências nucleotídicas dos isolados virais por meio do banco de dados do Centro Nacional de Informação Biotecnológica dos Estados Unidos (National Center for Biotechnology Information - NCBI). Fez-se uso dos programas BLAST e Geneious para a comparação e localização de regiões conservadas entre os isolados dos vírus. Posteriormente, com o auxílio do programa Primer Express, desenharam-se iniciadores e sondas para uso em RT-PCR em tempo real para os dois vírus. As sequências para o **CPSMV** são: Primer F: 5'-TGCACGAAGCTTACCACACACT-3'; Primer R: 5'-TGGTTGGTATTGAATGTCCCAA-3'; Sonda: 5'-FAM-AGGCAACATGTGCCGATAGTGTACCTGC-3'-TAMRA. Para o **SLRSV** são: Primer F: 5'-TTTGCRCCTCYCCAAA-3'; Primer R: 5'-TCCGCCTCACCA GTATGC-3'; Sonda 1: 5'-FAM-CCTTTCACAATCGTGTGGGTG CCC-3'-TAMRA; Sonda 2: 5'-FAM-CCTTTCATAATAGTGGTGGGTGTCC-3'-TAMRA. As amplificações por RT-PCR em tempo real foram realizadas utilizando-se extrações de RNA de material vegetal e de sementes naturalmente infectadas. Foram analisados 3 diferentes isolados de CPSMV de distintos locais e hospedeiros para comprovar a capacidade do protocolo em detectar todos os isolados conhecidos da espécie. Os isolados DEPA, 2 e 5 são oriundos das seguintes cultivares: 'carrapicho', de feijão caupi; 'IPA 206', de feijão caupi e 'clay', de feijão caupi e feijão fava, provenientes de Recife e Paudalho – PE. Os testes com os primers e sondas do SLRSV, com distintos isolados foram realizados no Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) na Espanha. Apesar da grande variabilidade existente entre os diferentes isolados tanto do CPSMV como do SLRSV, todos os materiais de referência analisados apresentaram amplificação com os protocolos de RT-PCR em tempo real desenvolvidos, demonstrando o correto desenho dos primers e das sondas. Os protocolos de RT-PCR em tempo real desenhados, para ambos os vírus, estão sendo validados e poderão ser utilizados para detecção e diagnóstico em diferentes laboratórios.

Apoio: PIBIC CNPQ-UFRGS