



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	DESENHO DE PROTOCOLOS DE RT-PCR EM TEMPO REAL PARA DETECÇÃO E DIAGNÓSTICO DO COWPEA SEVERE MOSAIC VIRUS EM SEMENTES
Autor	FRANCIS ZANINI
Orientador	EDSON BERTOLINI

DESENHO DE PROTOCOLOS DE RT-PCR EM TEMPO REAL PARA DETECÇÃO E DIAGNÓSTICO DO *COWPEA SEVERE MOSAIC VIRUS* EM SEMENTES

Francis Zanini, 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. 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 amplamente empregada para detecção de vírus em sementes. O estudo teve como objetivo a otimização e validação de metodologia de preparação de amostras para a aplicação em RT-PCR em tempo real na detecção do vírus. Foram comparadas sequências do vírus e localizadas regiões conservadas entre os isolados e com o auxílio do Programa Primer Express foram desenhados os iniciadores e a sonda para uso em RT-PCR em tempo real. Posteriormente, foram comparados kits comerciais de extração e purificação de RNA com métodos diretos de extração de RNA para uso em análises de RT-PCR em tempo real. Nesta etapa, sementes naturalmente infectadas com CPSMV foram submetidas às purificações de RNA através dos kits comerciais: i) RNease plant mini kit (Quiagen), ii) SV total RNA isolation system (Promega), iii) Trizol (Thermo Fisher Scientific) e iv) Direct-zol (Zymo Research), bem como as preparações diretas dos extratos através de “spot” em membranas de papel e diluições dos extratos utilizando tampão de extração. As purificações com os kits comerciais e as extrações com os métodos diretos foram submetidas a diluições seriadas, e após fez-se a amplificação via RT-PCR em tempo real para comparação da sensibilidade, e qualidade do RNA. Além de critérios técnicos foram considerados aspectos econômicos e práticos dos diferentes métodos comparados. Os resultados obtidos evidenciaram uma maior sensibilidade dos kits comerciais frente aos métodos diretos, porém, estes foram mais econômicos e de fácil utilização, demonstrando que podem ser empregados em análises rotineiras laboratoriais para detecção destes vírus por RT-PCR em tempo real em material vegetal e sementes.

Apoio: BIC-UFRGS.