

Caracterização molecular de nematoides entomopatogênicos

Juliana M. O. Rosa - julianamagrini@hotmail.com

Natali R. da Silva - natali-silva@hotmail.com

Luis G. Leite - lgleite@biologico.sp.gov.br

Ricardo Harakava - harakava@biologico.sp.gov.br

Claudio M. G. de Oliveira - marcelo@biologico.sp.gov.br

Centro Experimental Central e Centro de P&D de Sanidade Vegetal

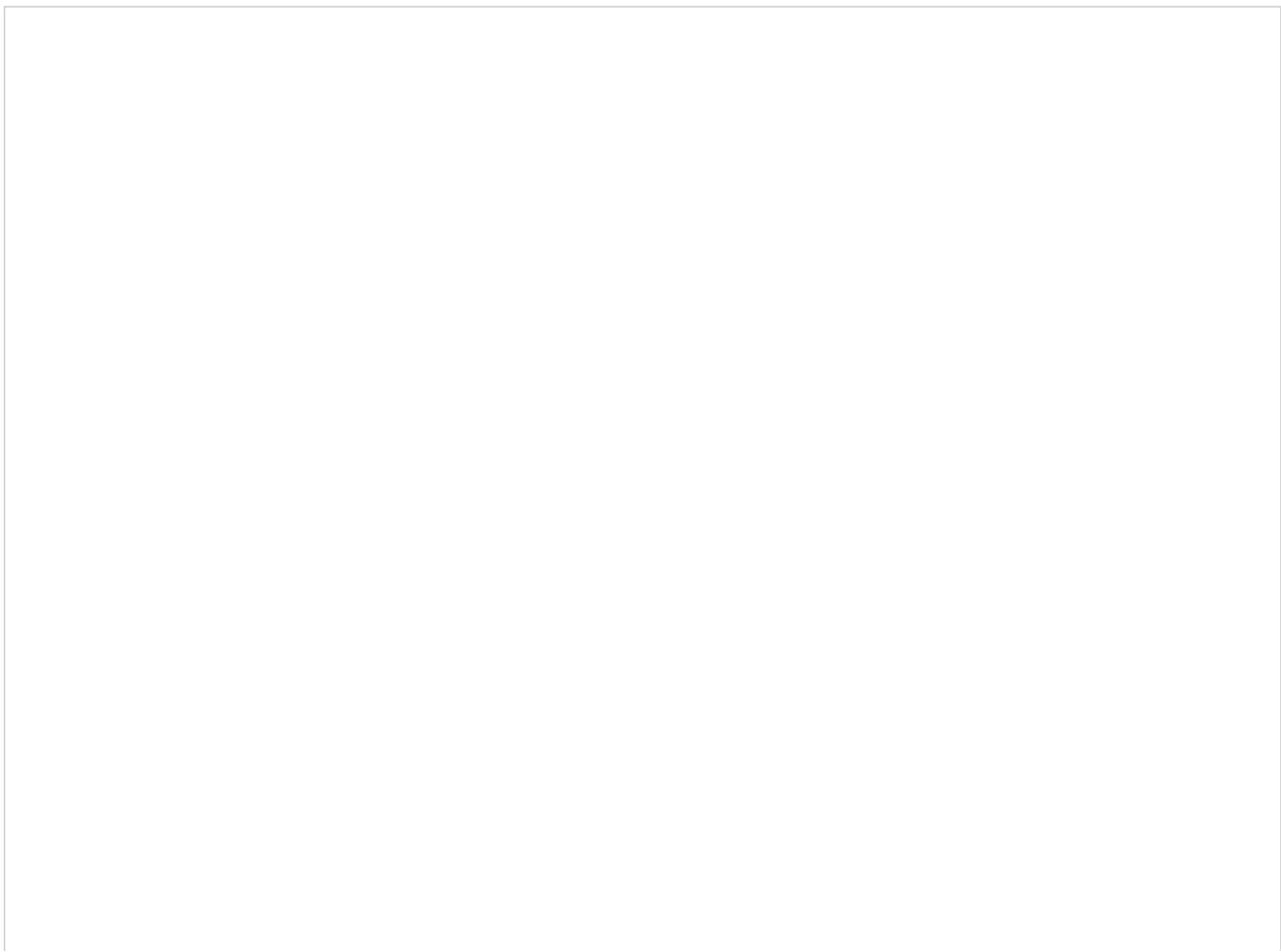
Número 191 - 03/06/2013

O controle biológico de pragas de solo é uma prática bastante estudada apresentando resultados satisfatórios, principalmente com a utilização de nematoides entomopatogênicos (NEPs) dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*. Esses organismos possuem um conjunto de atributos peculiares, nas quais se destaca a capacidade de matar rapidamente o inseto alvo, em virtude do complexo nematoide/bactéria mutualística, favorecendo sua ação em relação a outros organismos entomopatogênicos, o que os tornam alternativas promissoras para o controle de pragas. Outros dois gêneros, *Rhabditis* e *Oscheius*, também merecem a atenção pelos pesquisadores, uma vez que são relatados como nematoides capazes de causar parasitismo em insetos. Estudos da biodiversidade, variabilidade morfológica, molecular e principalmente a patogenicidade desses organismos vêm se tornando de grande importância para o desenvolvimento de produtos à base desses agentes para uso no controle biológico. Entretanto, a caracterização das espécies nativas mais adaptadas às condições brasileiras ainda é bastante escassa. Com isso, pesquisadores do Instituto Biológico estão desenvolvendo estudos com o objetivo de elucidar esses parâmetros através da caracterização morfológica, utilizando técnicas de microscopia eletrônica de varredura, morfometria e molecular, através de sequenciamento da expansão D2/D3 do 28S DNA ribossômico (rDNA).

Até o presente, aproximadamente 616 amostras de solo provenientes dos municípios de Delmiro Gouveia e Teotônio Vilela (AL); Calçoene, Macapá e Oiapoque (AP); Bom Jesus da Lapa (BA); Rio Verde (GO); Sinop (MT); Acará, Barcarena e Igarapé-Açu (PA); Araras, Itapetininga, Limeira, Piracicaba, São Pedro e Santa Fé do Sul (SP) e Aceguá (RS), foram coletadas em áreas destinadas ao cultivo de plantas anuais, perenes e em vegetação nativa. Dessas amostras, foram obtidos 98 isolados de NEPs que estão sendo multiplicados em lagartas de *Galleria mellonella* (Figuras 1 e 2 - Link (<http://www.youtube.com/watch?v=NdX4j9wvxww>)) e a suspensão de cada isolado mantida em estufa incubadora do tipo BOD e em câmara climatizada a 15°C, no Instituto Biológico, Campinas, SP.

Visando-se conhecer as espécies de NEPs nativas no Brasil, foi realizada a caracterização molecular desses isolados, através de PCR, seguido de sequenciamento da expansão D2/D3 do 28S rDNA. Com base nos resultados parciais da análise filogenética das sequências obtidas (Figura 3), observou-se a formação de quatro grupos distintos, incluindo espécies pertencentes aos gêneros *Heterorhabditis*, *Steinernema*, *Rhabditis* e *Oscheius*. As espécies identificadas foram *H. amazonensis*, *H. indica*, *S. brazilense*, *S. puertoricense*, *S. rarum*, *R. rainai*, *O. tipulae* e *O. myriophila*, demonstrando a grande variabilidade genética entre os isolados obtidos. Além disso, estudos mais detalhados envolvendo o conceito de taxonomia integrativa deverão ser conduzidos em três isolados de *Oscheius* sp. e em três isolados de *Steinernema* sp. pela possibilidade de se constituírem espécies não descritas.

Cabe ressaltar que esses estudos constituem parte integrante do projeto: "Dimensionamento e exploração da diversidade de agentes de controle biológico de pragas agrícolas: entomopatogênicos e ácaros predadores edáficos", com financiamento do CNPq e FAPESP, dentro do programa SISBIOTA Brasil, Chamada 2 - Pesquisa em Redes Temáticas para Ampliação do Conhecimento sobre a Biota, o Papel Funcional, Uso e Conservação da Biodiversidade Brasileira, processo 2010/52342-4.





Multiplicação de nematoides entomopatogênicos em lagartas de *Galleria mellonella*.

Fig. 1 - Multiplicação de nematoides entomopatogênicos em lagartas de Galleria mellonella.

(uploads/artigos/191/1.jpg)



Fig. 2 - Detalhe dos juvenis infectivos de NEPs emergindo do interior de *G. mellonella*.

Fig. 2 - Detalhe dos juvenis infectivos de NEPs emergindo do interior de G. mellonella.

(uploads/artigos/191/2.jpg)

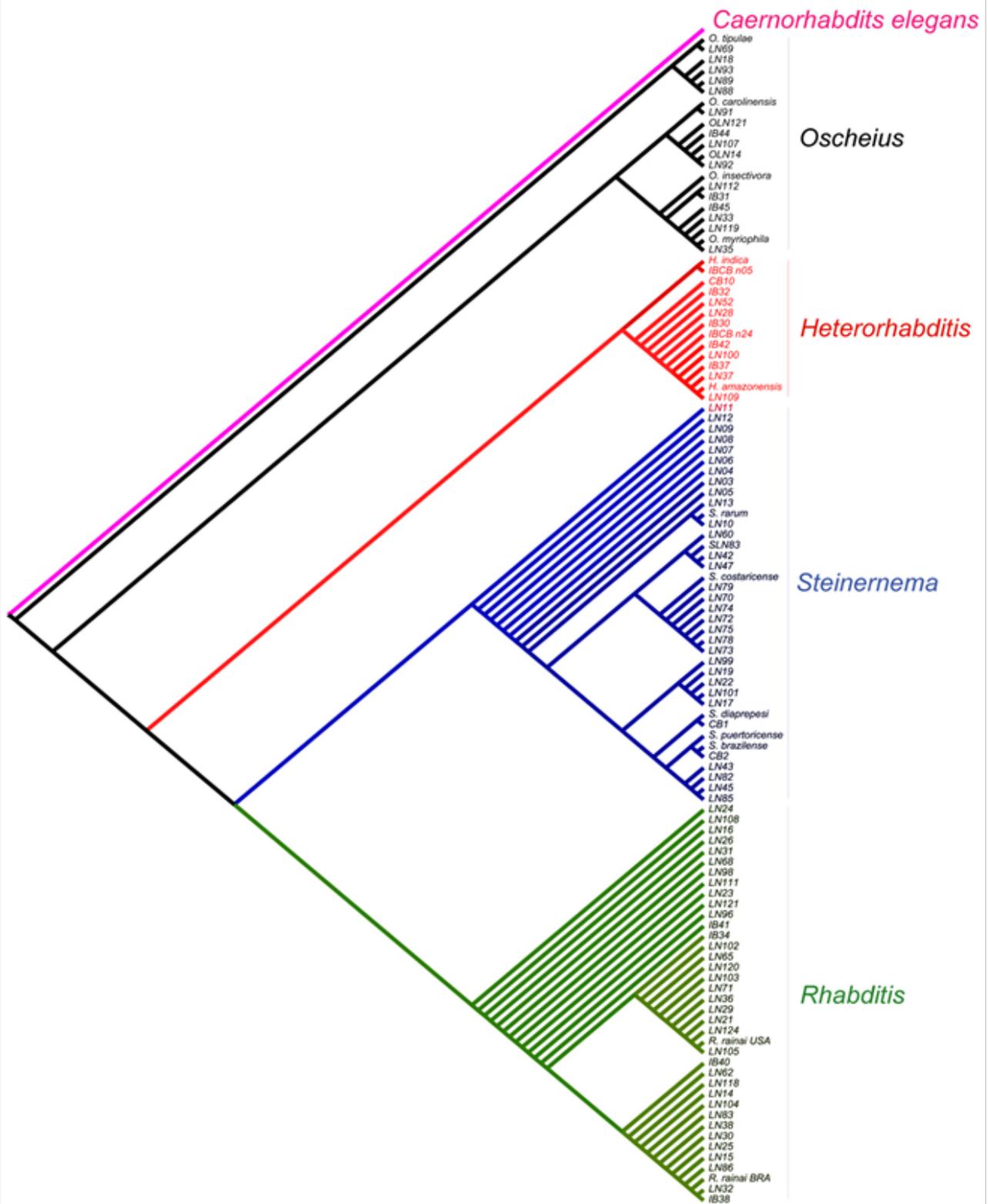


Fig. 3 - Árvore filogenética mostrando as relações entre os isolados de NEPs estudados no Instituto Biológico, baseada nas sequências da expansão D2/D3 do 28S rDNA. *Caenorhabditis elegans* foi utilizado como outgroup.

Fig. 3 - Árvore filogenética mostrando as relações entre os isolados de NEPs estudados no Instituto Biológico, baseada nas sequências da expansão D2/D3 do 28S rDNA. *Caenorhabditis elegans* foi utilizado como outgroup.

(uploads/artigos/191/3.jpg)