III CONGRESSO LATINOAMERICANO DE ACAROLOGIA E VI SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ACAROLOGIA



29 DE JULHO A 02 DE AGOSTO DE 2018 - PIRENÓPOLIS, GOIÁS, BRASIL ISBN: 978-85-66836-21-9

ISOLAMENTO DE MICROSSATÉLITES PARA Phytoseiulus macropilis (ACARI: PHYTOSEIIDAE) RESISTENTE A PIRETROIDES

M.C.V. Queiroz¹, F.A. de Oliveira² & M.E. Sato¹

¹Laboratório de Acarologia, Instituto Biológico, Campinas, SP, Brasil; ²CBMEG, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil.

O entendimento da dispersão e padrão de distribuição dos ácaros fitoseídeos é essencial para promover a conservação desses inimigos naturais e dar suporte ao seu uso em controle biológico. Na prática é muito difícil observar direta e continuamente a dispersão de pequenos organismos, tais como ácaros predadores, durante gerações, apesar de terem sido realizados inúmeros esforços na tentativa de estimar os seus deslocamentos. Como alternativa, a estimativa de fluxo gênico utilizando marcadores genéticos pode fornecer informações sobre estrutura populacional e padrões de dispersão dos ácaros predadores. Os marcadores moleculares microssatélites (SSR -Simple Sequence Repeat) surgiram como uma ferramenta genética poderosa para responder perguntas sobre dinâmica de populações. São abundantes em genomas eucarióticos, de herança codominante, multialélicos, com altos níveis de polimorfismo que os tornam um marcador ideal para o estudo de variação intra e interpopulacional. O objetivo desse trabalho foi desenvolver marcadores SSR específicos para uma linhagem do ácaro predador Phytoseiulus macropilis (Acari: Phytoseiidae) resistente a fenpropatrina, visando estudos de dispersão em campo. Para esse propósito, o DNA genômico de 400 indivíduos foi extraído usando o kit Wizard® (Promega) e utilizado para construção da biblioteca genômica enriquecida em SSR, envolvendo as seguintes etapas: 1) Digestão do DNA genômico com a enzima Afa I; 2) Ligação de adaptadores; 3) Seleção de fragmentos contendo microssatélites usando sondas biotiniladas (CT)n e (GT)n; 4) Amplificação dos fragmentos selecionados; 5) Clonagem em vetor pGEM-T; 6) Eletroporação em células competentes de E. coli "DH10B"; 7) Isolamento e seleção dos clones positivos usando o gene da β-galactosidase; 8) Extração plasmidial; 9) Sequenciamento. As sequencias foram trimadas e os SSR identificados com a ferramenta SSRIT – (Simple Sequence Repeat Identification Tool). Foram analisadas 96 sequências. Dentre os diferentes motivos SRR nas sequências, os dinucleotídeos foram os mais abundantes. Foram encontrados também tetra e pentanucleotídeos. Desses 33% foram classificadas como Classe I (>20pb) e 67% como Classe II (entre 12 a 20 pb). A partir das sequências contendo SSR foram desenhados 30 pares de primers. Após caracterização, os marcadores obtidos serão os primeiros desenvolvidos para P. macropilis e poderão ser utilizados no estudo genético populacional da espécie.

Palavras-chave: marcadores moleculares, ácaro predador, estrutura populacional, padrões de dispersão.

Financiamento: FAPESP, CNPq.