

Caracterização populacional do nematoide *Deladenus siricidicola*, parasita da vespa-da-madeira *Sirex noctilio*

Gisleine Jarenko Steil

Aluna do curso de Ciências biológicas, Universidade Federal do Paraná

Guilherme Schnell e Schühli

Pesquisador da Embrapa Florestas, schuhli@cnpf.embrapa.br

Susete do Rocio Chiarello Penteadó

Pesquisadora da Embrapa Florestas, susete@cnpf.embrapa.br

O nematoide *Deladenus siricidicola* é o agente de controle biológico mais importante para o controle da vespa-da-madeira (*Sirex noctilio*). Além do ciclo de vida parasitário, apresenta ciclo de vida livre, o que permite a sua criação em laboratório. Existem diversos registros de perda de virulência do nematoide em função da criação massal em laboratório, assim como variações na eficiência de isolados originários de diferentes regiões geográficas. Em razão disso, é importante conhecermos a variabilidade genética dos diferentes isolados de nematoides para monitorar a sua eficiência e detectar estruturas populacionais e suas dinâmicas. Foram compilados marcadores de sequências para *D. siricidicola* e espécies evolutivamente próximas no Genbank. Para avaliar a variabilidade destes marcadores foram realizadas buscas Blast e avaliações em alinhamentos múltiplos. Foi sintetizado um conjunto de marcadores variáveis em nível intraespecífico para teste. Espécimes de *D. siricidicola* enviados pelo laboratório de entomologia da Embrapa Florestas foram triados para desenvolvimento de protocolo de extração individual de DNA genômico. A partir destes extratos foram avaliados os marcadores selecionados em sua aplicabilidade para as amostras de *D. siricidicola*, aprimorando e desenvolvendo protocolos de PCR. Dentre os marcadores avaliados, elegeu-se uma região da sequência espaçadora intergênica (ITS), responsável pela amplificação de aproximadamente 520 pares de base. Foram examinados espécimes de diferentes regiões geográficas: Irani, Ventania e Guarapuava, PR; Correia Pinto e Caçador, SC; e Cambará do Sul, RS. Um protocolo de extração individual foi desenvolvido. Os produtos de PCR foram sequenciados. Os eletroferogramas gerados, para ambas as direções da fita de DNA, foram confirmados visualmente (GAP4, pacote Staden) e avaliadas via busca BLAST no Genbank. Todas as amostras tiveram identificação positiva como *D. siricidicola* (>99,9% coincidência). Uma análise de máxima parcimônia apresentou a seguinte topologia (Irani, Correia Pinto e Guarapuava (Caçador, Cambará do Sul)) que deve ser considerada como não enraizada (não ordenada). Pretende-se, na sequência do trabalho, examinar um maior número de amostras de cada região geográfica incluindo também outros marcadores que se mostraram viáveis. Para isto, encontra-se em andamento uma articulação da Embrapa Florestas com o Inta (Argentina) para aprofundamento deste trabalho.

Palavras-chave: Extração DNA; marcadores moleculares; filogeografia.