



SÍNTESE DO PLANO DE TRABALHO

DETECÇÃO RÁPIDA DE NEMATÓIDES DE IMPORTÂNCIA AGRONÔMICA UTILIZANDO MÉTODOS MOLECULARES

Termo de Colaboração: SICT /2021
Processo PROA: 21/2500-0000276-7
Gestora: Sílvia Regina Schumacher
Suplente: Jonathan Vaz Martins Silva

Edital 03/21 - Programa Techfuturo
Número FPE: 3623/2021
(Portaria SICT 53/2021- DOE 03/12/2021, pág.137)
(Portaria SICT 53/2021- DOE 03/12/2021, pág.137)

Data da Assinatura do Termo:
Data da Publicação no DOE:
Data de Vencimento:
Data do Pagamento:
Última atualização:

CONTA CORRENTE:
Banco 041 Banrisul
Agência: 1134
Conta corrente: 06/203252.0-6
Município: Santa Cruz do Sul

SIGNATÁRIOS DO INSTRUMENTO

a) Secretaria de Inovação, Ciência e Tecnologia

CNPJ: 32.526.453/0001-42
Endereço: Av. Borges de Medeiros, 1501 – 18º Andar, Ala Sul, Bairro Praia de Belas
Município: Porto Alegre, RS **CEP:** 90119-900
Telefone: (51) 3288-1055 **E-mail:** gabinete@sict.rs.gov.br

Nome do responsável: Luis da Cunha Lamb
CPF: 517.504.140-15
RG: 2031971051 **Órgão expedidor:** SSP/PC RS
Cargo/função: Secretário de Estado
Endereço: Rua Marcelo Gama, nº 1001/902, Auxiliadora
Município: Porto Alegre, RS **CEP:** 90540-041
Telefone: (51) 3288-1055 **E-mail:** luis-lamb@sict.rs.gov.br

b) Nome da Instituição Parceira: Universidade de Santa Cruz do Sul

CNPJ: 95.438.412/0002-03
Endereço: Av. Independência, nº 2293, Bairro Universitário, RS
Município: Santa Cruz do Sul **CEP:** 96815-900
Telefone: (51) 37177304 **E-mail:** carmenh@unisc.br

Nome do representante legal: Carmen Lúcia de Lima Helfer
CPF: 888954400-72
RG: 7009753521 **Órgão expedidor:** SSP/RS
Cargo/Função: Reitora
Endereço: Rua Borges de Medeiros, 27/204 – Bairro Centro
Município: Santa Cruz do Sul **CEP:** 96810-034
Telefone: (51) 37177304 **E-mail:** carmenh@unisc.br



c) Nome da Mantenedora da Instituição Parceira: Associação Pró-Ensino em Santa Cruz do Sul – APESC

CNPJ: 95.438.412/0001-14

Endereço: Av. Independência, nº 2293, Bairro Universitário, RS

Município: Santa Cruz do Sul

CEP: 96815-900

Telefone: (51) 37177304

E-mail: carmenh@unisc.br

Nome do representante legal: Carmen Lúcia de Lima Helfer

CPF: 88895440072

RG: 7009753521

Órgão expedidor: SSP/RS

Cargo/Função: Presidente

Endereço: Rua Borges de Medeiros, 27/204

Bairro Centro

Município: Santa Cruz do Sul

CEP: 96810-034

Telefone: (51) 37177304

E-mail: carmenh@unisc.br

Coordenador do projeto:

Nome: Alexandre Rieger

Vínculo com ICT proponente: Professor Adjunto

E-mail: rieger@unisc.br

Endereço: Acesso Rubem Guilherme Kaempf, 187

Cidade: Santa Cruz do Sul

CEP: 96817-000

Fone: (51) 37177360 **Celular:** (51) 984235929

I. OBJETO

Desenvolver e validar a identificação de espécies de nematoides de importância agrônômica para a cultura da soja por métodos moleculares.

II. DESCRIÇÃO DA REALIDADE E NEXO COM O PROJETO

Os fitonematoides são vermes que trazem prejuízo às diferentes culturas através de dois mecanismos básicos retirando substâncias nutritivas e pela injeção de substâncias tóxicas no interior da célula vegetal. Na lavoura, os resultados são visíveis no sistema radicular, onde ocorre a formação de galhas de variados tamanhos, sendo que as plantas não se desenvolvem o suficiente devido à baixa absorção de água e nutrientes.

Estima-se que os fitonematoides encontrados nas diferentes culturas em todo mundo são responsáveis por uma perda de cerca de 14% da produtividade nas mais diversas culturas no mundo refletindo num prejuízo global estimado em U\$ 125 bilhões nas diferentes culturas ao redor do mundo. Já, no Brasil, estima-se que os fitonematoides sejam responsáveis por um prejuízo anual de R\$ 35 bilhões ao ano no agronegócio, podendo ser responsáveis por uma perda de até 30% de produtividade na soja. Uma vez instalada a praga dos nematoides, existirá uma perda de produtividade até que seja possível recuperar a área, o que pode implicar em longo tempo. Sendo assim, uma série de tecnologias estão sendo propostas para tentar diagnosticar mais rapidamente o surgimento da contaminação permitindo ao produtor de soja entrar com medidas mitigadoras de modo mais precoce.

Pelo exposto acima o projeto pretende desenvolver uma tecnologia molecular de diagnóstico rápido de fitonematoides em soja que pode ser ampliada para outras culturas. O processo inicial servirá



como um piloto uma vez que a empresa parceira é especialista em agricultura de precisão para os produtores de soja. Por outro lado, os fitonematoides são comuns a várias culturas incluindo milho, tomate, batata, tabaco e outras. Dessa forma, pequenos ajustes na metodologia podem resultar em novos segmentos do agronegócio. Além disso, a detecção de outros tipos de fitopatógenos também por testes moleculares pode ser vislumbrada, especialmente vírus e fungos, resultando em valor agregado aos detentores da tecnologia com escalabilidade.

O projeto será desenvolvido pela UNISC com parceira da UERGS com sede regional localizada também em Santa Cruz do Sul e que oferece a graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. O projeto está dentro da área de Biotecnologia e conta com a infraestrutura do TecnoUnisc que contempla laboratórios de Biotecnologia, como linha temática prioritária, e Biologia molecular. Terá também parceria com a empresa Farm Connetion que fornecerá as amostras de solo e plantas vindas dos seus clientes sojicultores e disponibilizará também um funcionário Msc Engenheiro Agrônomo especialista em defensivos agrícolas e em consultoria na área.

III. JUSTIFICATIVA

Atualmente não existe nenhuma empresa no Brasil que faça uso da tecnologia proposta neste projeto para identificação de fitonematoides. Toda a identificação ainda é realizada pelas análises convencionais, ficando os métodos moleculares restritos a pesquisas de universidades em nível de mestrado e doutorado. Essa realidade, não é muito diferente fora do Brasil, por isso, os cientistas têm chamado a atenção do número crescente de novos trabalhos com nematoides, sendo a maior parte de fitonematoides. Também tem chamado a atenção uma ampla gama de novas técnicas de amostragem e de novas metodologias moleculares para parasitas e fitoparasitas que podem ser rápidas e algumas cada vez mais acessíveis e por isso com potencial de serem usadas e se tonarem escaláveis.

Devido à demora na entrega dos resultados de fitopatógenos, tais como os de fitonematoides, o produtor acaba gastando desnecessariamente com vários agrotóxicos numa tentativa de controlar os sintomas sem antes mesmo saber o que está acontecendo. O projeto se propõe a oferecer um método rápido de diagnóstico para que o produtor não só diminua seu custo como também possa oferecer um produto com menor contaminação química, minimizando o impacto ambiental. Desta forma, o produtor terá mais precisão na sua estratégia a partir do laudo entregue rapidamente.

Portanto, desenvolver uma técnica para diagnosticar de modo rápido os fitonematoides para uma cultura de importância econômica como a soja no Rio Grande do Sul é de grande valia. Justifica-se porque a tecnologia que será empregada tem potencial de ser usada tanto nas plantas afetadas confirmando a doença e proporcionando o manejo rápido e eficiente, bem como também nas análises de solo. Sendo assim, os resultados poderão ser usados como um monitoramento preventivo ou para evitar a disseminação dos vermes para as áreas de solo saudáveis.

A soja semeada no RS já atingiu 53,5% conforme o Boletim Milho e Soja: RS/BR/EUA de 05 de novembro de 2021 divulgado pela SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DESENVOLVIMENTO RURAL do



estado do Rio Grande do Sul, representando um aumento de 15% em relação à safra anterior. Estima-se uma perda em cerca de até 14% devido aos fitonematoides na lavoura, podendo chegar a atingir de 30 a 70% quando as medidas adequadas não são tomadas, sem falar no comprometimento de safras futuras que não irão ocorrer devido a restrição no plantio em áreas contaminadas. Com um diagnóstico da contaminação do solo em tempo hábil para o melhor manejo, este prejuízo pode ser significativamente reduzido ou até evitado.

IV. OBJETIVO GERAL

Desenvolver e validar métodos moleculares de resposta rápida na identificação de espécies de nematoides para a cultura da soja.

V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Realizar uma análise *in silico* para identificar as sequências alvo dos fitonematoides de interesse na cultura da soja;
- b) Desenvolver a metodologia da PCR em Tempo Real para identificar as espécies de fitonematoides relevantes na cultura da soja;
- c) Testar e validar a reação de PCR em Tempo Real em amostras de plantas de soja com sintomas coletadas a campo;
- d) Testar e validar a reação de PCR em Tempo Real em amostras solo de cultura de soja;
- e) Realizar testes de PCR em tempo real em escala com amostras de plantas de soja com sintomas e amostras de solo.

VI. METAS

META 1: Realizar análise *in silico* para determinar as sequências de DNA de no mínimo 6 espécies de interesse de fitonematoides seguido da identificação e seleção das regiões alvo para a construção dos oligonucleotídeos e sondas que serão usadas nas reações de PCR em tempo real.

COMPROVAÇÃO DA META: Relatório técnico das análises realizadas com a apresentação dos resultados e seleção de sequências de oligonucleotídeos que serão utilizadas na etapa da PCR neste projeto.

META 2: Testar pelo menos 3 métodos diferentes de ruptura mecânica de tecidos das plantas alvo e do solo, seguidos da extração de ácidos nucleicos e avaliação da sua qualidade para a etapa de realização da PCR em tempo real.

COMPROVAÇÃO DA META: Relatório técnico com a apresentação dos resultados.



META 3: Desenvolver uma metodologia de PCR capaz de ser usada em amostras de plantas e de solos para identificar as espécies de nematoides.

COMPROVAÇÃO DA META: Relatório técnico conclusivo da metodologia desenvolvida.

META 4: Validação da metodologia de PCR com amostras coletadas a campo em um estudo com pelo menos 100 amostras.

COMPROVAÇÃO DA META: Relatório técnico com a apresentação dos resultados.

META 5: Utilizar a metodologia da PCR em escala sendo testadas amostras que façam a cobertura de, pelo menos, 1000 hectares de produtores atendidos pela FarmConnection e que tem algum tipo de perda de produtividade ou suspeita de áreas com contaminação de nematoides.

COMPROVAÇÃO DA META: Relatório técnico com a apresentação dos resultados.

META 6: Realizar 1 evento online (ou presencial), com carga horário de 4h, para pelo menos 50 pessoas, cujo público-alvo é estudantes de graduação / pós-graduação, técnicos da área do agronegócio, profissionais do agronegócio em geral, professores e pesquisadores, com a finalidade de divulgar os resultados iniciais obtidos na etapa de padronização e proporcionar a compreensão e utilização da metodologia desenvolvida na detecção dos nematoides.

COMPROVAÇÃO DA META: Materiais de divulgação e outros documentos comprobatórios da realização do evento e da participação do público alvo.

META 7: Realizar 1 evento online, de pelo menos 2h, para a divulgação (*live*) dos resultados do teste a campo para, pelo menos, 100 pessoas, cujo público-alvo é estudantes de graduação/ pós-graduação, professores, agrônomos, pesquisadores, técnicos agrícolas, profissionais de empresas do agronegócio, agricultores e produtores rurais.

COMPROVAÇÃO DA META: Materiais de divulgação e outros documentos comprobatórios da realização do evento e da participação do público alvo.



III PLANO DE APLICAÇÃO DE RECURSOS

a) APOIO DA SECRETARIA

a1) Equipamentos e Outros Materiais Permanentes

ITEM Nº	ESPECIFICAÇÃO Completa	LOCAL DE INSTALAÇÃO (Laboratório)	QTDE	CUSTO Unitário R\$1,00	CUSTO Total R\$ 1,00
1	Disruptor mecânico de células e tecidos para 24 amostras utilizando microesferas	Laboratório de Biotecnologia e Genética da UNISC	1	69.697,37	69.697,37
2	Adaptador para tubos em disruptor de células e tecidos	Laboratório de Biotecnologia e Genética da UNISC	1	8.492,41	8.492,41
3	Disruptor mecânico de células e e tecidos portátil operado a bateria	Laboratório de Biotecnologia e Genética da UNISC	1	24.481,84	24.481,84
4	Pipeta Eletrônica, com RFID e porta-cone Universal, faixa de volume 2 - 20 µL	Laboratório de Biotecnologia e Genética da UNISC	1	7.851,41	7.851,41
5	Pipeta Eletrônica, com RFID e porta-cone Universal, faixa de volume 20 - 300 µL	Laboratório de Biotecnologia e Genética da UNISC	1	7.851,41	7.851,41
	TOTAL				118.374,44



a2) Material de Consumo

ITEM	ESPECIFICAÇÃO	UNIDADE	QTDE	CUSTO	CUSTO
N.º				UNITÁRIO	TOTAL
1	Kit composto de reagentes, microtubos e microesferas para a disrupção e homogeneização das amostras	kit/cx.	12	3.500,00	42.000,00
2	Reagentes para extração e processamento de ácidos nucleicos	kit/cx	25	3.000,00	75.000,00
3	Reagentes para reações de PCR em tempo real	Cx	55	2.000,00	110.000,00
4	Plásticos e descartáveis para biologia molecular (reações de PCR, extração de ácidos nucleicos e preparo de amostras)	Pcte/cx	30	1.000,00	30.000,00
5	Licença de 2 softwares de análise multivariada e modelos de previsão (Infometrix)	progr	2	8.250,00	16.500,00
6	Licença de software PLS Toolbox para ser usado com o programa MathLab cuja a licença a UNISC possui	progr	1	4.500,00	4.500,00
7	Licença de software para estatística univariada e construção de gráficos (Graphpad Prism)	progr	1	2.000,00	2.000,00
	TOTAL				280.000,00

TOTAL SICT (a1 + a2) = R\$ 398.374,44



b) CONTRAPARTIDA DO PARCEIRO: UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL - UNISC

b1) Pessoal

NOME	FORMAÇÃO	FUNÇÃO NO PROJETO	CUSTO HORA	TOTAL DE HORAS NO PROJETO	CUSTO TOTAL R\$1,00
------	----------	-------------------	------------	---------------------------	---------------------

b.1.1) TÉCNICO/CIENTÍFICO

Alexandre Rieger	Dr em Genética e Biologia Molecular	Pesquisador: Responsável pela coordenação do projeto, recebimento e armazenagem das amostras; preparação das amostras e extração dos ácidos nucleicos; desenvolvimento da PCR em tempo real. Também será responsável pelas análises estatísticas, confecção dos relatórios e orientação de bolsistas.	██████████	████	██████████
Total b.1.1					121.413,60

TOTAL CONTRAPARTIDA b UNISC R\$ 121.413,60



c) CONTRAPARTIDA DO PARCEIRO1: Farm. Connection Consultoria Agrícola LTDA

c1) Pessoal

NOME	FORMAÇÃO	FUNÇÃO NO PROJETO	CUSTO HORA	TOTAL DE HORAS NO PROJETO	CUSTO TOTAL R\$1,00
TÉCNICO/CIENTÍFICO					
Desenvolvimento Tecnológico e Industrial - DTI 1	Profissional de nível superior, com titulação de doutor	Participará de todas as etapas do projeto (análise <i>in silico</i> , padronização da extração dos ácidos nucleicos e da PCR, além dos testes com amostras de campo). Irá auxiliar na orientação dos bolsistas de iniciação que serão solicitados aos órgãos de fomento e a universidade sempre que ocorrerem editais para esta finalidade; também irá participar da divulgação dos resultados através de escrita para eventos e artigos científicos, notas a imprensa, além dos eventos de divulgação que constam neste projeto.	██████	██████	██████████
Rodrigo Franco Dias	Eng. Agrônomo, Mestre em Agricultura de Precisão	Pesquisador: Participará na inteligência de dados para a seleção das áreas que irão fornecer as amostras na fase inicial do projeto e posteriormente na seleção de produtores para os testes de escalabilidade e replicabilidade.	0,00	0,00	0,00
ADMINISTRATIVO					
Guilherme Rechden Lobato	Administrador, Mestre em Tecnologia de Agricultura	Será responsável pela divulgação e mídia dos resultados do projeto para a comunidade e público alvo a saber, mídia especializada e demais atores do agronegócio que possam se interessar pela metodologia proposta no projeto.	0,00	0,00	0,00

TOTAL CONTRAPARTIDA c FARM CONNECTION R\$ 96.012,80



d) CONTRAPARTIDA DO PARCEIRO2: Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

d1) Pessoal

NOME	FORMAÇÃO	FUNÇÃO NO PROJETO	CUSTO HORA	TOTAL DE HORAS NO PROJETO	CUSTO TOTAL R\$1,00
TÉCNICO/CIENTÍFICO					
Alexandro Cagliari	Doutorado em Genética e Biologia Molecular	Pesquisador: Atuará como pesquisador e será responsável pelas análises <i>in silico</i> e irá participar na preparação das amostras e extração dos ácidos nucleicos, bem como no desenvolvimento da PCR em tempo real. Irá participar das análises estatísticas, confecção dos relatórios, escrita de artigos científicos e orientação de bolsistas.	—	—	—

TOTAL CONTRAPARTIDA d UERGS R\$ 29.395,08

TOTAL GERAL DO PROJETO (a + b + c + d) = R\$ 398.374,44 + R\$121.413,60 + R\$96.012,80 + R\$29.395,08 = R\$ 645.195,92

IX CRONOGRAMA DE DESEMBOLSO

O desembolso dos recursos da Secretaria de Inovação, Ciência e Tecnologia - SICT será realizado em uma única parcela.