

# **SEQUENCIAMENTO POR NANOPOROS NA IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE ANIMAIS, VEGETAIS E MICROBIOMAS BACTERIANOS: UMA ESTRATÉGIA INOVADORA PARA ESTUDOS BIOLÓGICOS**

**Laura de Souza Rodrigues, André Oliveira de Souza Lima, Gabriela Scholante Delabary**  
Genética - Genética Molecular e de Microorganismos

A identificação molecular de espécies tem papel estratégico em diferentes áreas científicas e aplicadas, como a conservação da biodiversidade, o monitoramento de ecossistemas, o estudo de microbiomas e a validação da autenticidade de produtos de interesse medicinal e alimentar. Nesses contextos, é frequentemente necessário lidar com amostras de origem diversa, muitas vezes degradadas ou com presença de contaminantes, o que exige metodologias capazes de gerar informações robustas, rápidas e economicamente viáveis. A tecnologia de nanoporos (MinION, Oxford Nanopore) vem se destacando por possibilitar a análise de múltiplas amostras em paralelo, com leituras longas e em tempo real, além de oferecer maior tolerância a DNA degradado e custos reduzidos. Tais características ampliam as possibilidades de aplicação em projetos de diferentes escalas, viabilizando investigações que demandam maior volume de dados e flexibilidade metodológica. Neste estudo, o objetivo foi avaliar a eficiência do sequenciamento por nanoporos na identificação molecular de animais, plantas e micro-organismos. Foram processadas mais de 20 amostras biológicas, com extração de DNA conduzida por protocolos específicos para cada grupo taxonômico, utilizando kits comerciais (DNeasy Blood & Tissue Kit, Qiagen, para animais; Plant RNA/DNA Purification Kit, Norgen Biotec, para vegetais; e MagMAX™ Microbiome Ultra Nucleic Acid Isolation Kit, Applied Biosystems, para microbiomas), etapa determinante para garantir concentrações mínimas de 10 ng/μL e qualidade adequada. Os genes COI (animais), matK (plantas) e 16S rRNA (bactérias) foram amplificados por PCR, com confirmação da amplificação por eletroforese em gel de agarose, normalizados e empregados na construção de bibliotecas sequenciadas em célula Flongle. O processo gerou centenas de leituras por amostra, processadas no MinKNOW para controle do sequenciamento e basecalling (conversão dos sinais elétricos em sequências nucleotídicas). Em seguida, o BLASTn foi utilizado para comparação com bancos de referência genômicos, e o BOLD Systems para a validação taxonômica por DNA barcoding. Por meio da análise dos resultados, foi possível verificar a identificação de organismos de diferentes grupos taxonômicos. Em animais, foram caracterizadas cinco amostras: duas espécies de poliquetas (Perinereis sp. e Eunice miurai, ambas com 100% de identidade), uma ave marinha (Ardena grisea, 93,7%) e dois registros de cetáceo (Stenella frontalis, 100%). A obtenção desses dados, mesmo a partir de DNA ambiental degradado obtido em monitoramento costeiro, evidencia o potencial da tecnologia para conservação e fiscalização da fauna marinha. Nos testes com microrganismos, quatro amostras intestinais de cefalópodes foram analisadas pelo gene 16S rRNA a partir de eDNA, revelando a dominância de Mycoplasma em três delas, em concordância com a literatura e reforçando seu papel simbiótico estável. Nas plantas medicinais, quatro amostras do Horto da UNIVALI foram sequenciadas via gene matK, todas com identidades ≥99% no BOLD Systems. Entre elas, destacaram-se Mikania glomerata (guaco) e Cordia curassavica (planta baleeira), ambas aprovadas em programas oficiais de fitoterapia. Já a identificação de Maytenus evonymoides, quando a expectativa era a obtenção de Maytenus ilicifolia (espinheira-santa), espécie correta segundo a referência botânica da coleta, reforça a necessidade de fragmentos mais longos e de bancos de dados melhor curados para assegurar a rastreabilidade e a confiabilidade de insumos fitoterápicos. De modo geral, o estudo reforça que a etapa de extração de DNA de alta qualidade é essencial para o sucesso das análises e demonstra que a tecnologia de nanoporos amplia significativamente a capacidade de identificação molecular. A possibilidade de integrar velocidade, custo reduzido, processamento paralelo e leituras longas evidencia seu potencial para atender demandas crescentes em biodiversidade, ecologia molecular e biotecnologia.

**Palavras-chave:** sequenciamento; nanoporos; biodiversidade

**Apoio:** Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica Junior (PIBIC-EM/CNPq); Universidade do Vale do Itajaí (Univali); Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (Fapesc)