

IX TALENTO ESTUDANTIL

RESUMOS DOS TRABALHOS



ANAIS
2004

Embrapa

**IX ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA
EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E
BIOTECNOLOGIA
2004**

Anais

Resumos dos Trabalhos

**Brasília, DF
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
2004**

República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

José Amauri Dimárzio
Presidente

Clayton Campanhola
Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires
Dietrich Gerhard Quast
Sérgio Fausto
Urbano Campos Ribeiral
Membros

Diretoria-Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola
Diretor-Presidente

Gustavo Kauark Chianca
Herbert Cavalcante de Lima
Mariza Marilena T. Luz Barbosa
Diretores-Executivos

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

José Manuel Cabral de Souza Dias
Chefe -Geral

Maurício Antonio Lopes
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Maria Isabel de Oliveira Penteado
Chefe-Adjunto de Comunicação e Negócios

Maria do Rosário de Moraes
Chefe-Adjunto de Administração

**IX ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA
EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E
BIOTECNOLOGIA
2004**

Anais

Resumos dos Trabalhos

**Brasília, DF
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
2004**

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) - Brasília, DF

CEP 70.770-900 - Caixa Postal 02372

PABX: (61) 448-4600 , Fax: (61) 340-3624

<http://www.cenargen.embrapa.br>

e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Maria Isabel de Oliveira Penteadó

Secretária Executiva: Maria da Graça S. Pires Negrão

Membros: Arthur da Silva Mariante

Maria Alice Bianchi

Maria da Graça S. P. Negrão

Maria de Fátima Batista

Maria Isabel de O. Penteadó

Maurício Machain Franco

Regina Maria Dechechi Carneiro

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares de Campos Carneiro

Revisor de texto: Responsabilidade dos autores

Normalização bibliográfica: Maria Lara Pereira Machado

Tratamento de ilustrações da capa: Raul César Pedroso da Silva

Confecção de Pôsteres: Raul César Pedroso da Silva e Cristiano Spohr

Criação & Design: Gustavo Coelho de Souza & Paulo Euler Texeira Pires

Editoração Eletrônica: Altevir Carvalho Freitas

1ª edição

1ª impressão (2004): tiragem 400 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

-
- E 53 Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Encontro do Talento Estudantil (9. : 2004 : Brasília, DF).
Anais: resumos dos trabalhos : IX Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004.
198 p.

Corpo editorial: João Batista Tavares da Silva e Zilda Maria de Araújo Ribeiro.
ISBN 85-87697-26-9

1. Recursos genéticos. 2. Biotecnologia. 3. Controle biológico. I. Título. II. Título: IX Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CDD 575.1

©Embrapa 2004

**IX ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS
GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA - 2004**

COMISSÃO ORGANIZADORA

**PRESIDENTE: João Batista Tavares da Silva
Maria Abadia Fernandes Solino
Mônica Athayde Ferreira
Zilda Maria de Araújo Ribeiro**

COMISSÃO DE SELEÇÃO DOS RESUMOS

**PRESIDENTE: João Batista Tavares da Silva
Gláucia Salles Cortopassi Buso
Luciano Lourenço Nass
Maurício Machaim Franco
Maria de Fátima Batista
Vera Tavares de Campos Carneiro**

**CORPO EDITORIAL: João Batista Tavares da Silva
Zilda Maria de Araújo Ribeiro**

COMISSÃO JULGADORA

Ailton Reis – Embrapa Hortaliças

Bergmann Morais Ribeiro – Universidade de Brasília - UnB

Carlos Alberto de Oliveira – CNPq

Charles M. de Oliveira – Embrapa Cerrados

Cláudio de Oliveira Cunha – CNPq

Clésia Maria dos Santos – Ministério/DDIV

David Bertiolli – Universidade Católica de Brasília – UCB

Gustavo Henrique Marquim Firmo de Araújo– Ministério/DDIV

Janine Tavares Camargo – União Pioneira de Integração Social - UPIS

José Estáquio de Menêzes – Embrapa/SCT

Octavio Luis Franco – Universidade Católica de Brasília - UCB

Regina Buani Santos – FAP/DF

APRESENTAÇÃO

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia promove anualmente, desde 1996, o **Encontro do Talento Estudantil**, um evento em que a produção e a capacidade científica dos estudantes de graduação e de pós-graduação da Unidade são apresentadas e onde os resultados das pesquisas são valorizados. O interesse na participação dos Encontros tem sido crescente, principalmente entre os estudantes de iniciação científica. Em 1996, houve 29 trabalhos inscritos. Em 2003 foram 117 e neste ano de 2004, 141 trabalhos foram apresentados

O **Encontro do Talento Estudantil** é organizado por uma comissão que estabelece os procedimentos e regras para realização do evento. Os estudantes fazem suas inscrições acompanhadas dos resumos dos trabalhos que são avaliados e selecionados por um comitê formado por pesquisadores doutores da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A apresentação do conteúdo exposto durante o evento, pelo estudante, é avaliada por uma comissão julgadora, formada por pesquisadores de outras unidades da Embrapa e instituições de pesquisa e professores de universidades e faculdades do Distrito Federal. Estudantes que demonstram melhor desempenho recebem uma premiação a título de incentivo.

Neste ano de 2004, em sua IX edição, dos 141 trabalhos inscritos no **Encontro do Talento Estudantil**, 95 (67,4%) foram elaborados por estudantes de iniciação científica e 46 (32,6%) por estudantes graduados, compreendendo 5 (3,5%) de recém graduados, 21 (15,0%) de mestrandos e 20 (14,1%) de doutorandos. Os resultados de pesquisa dos trabalhos inscritos, cujos resumos estão incluídos nestes anais, são apresentados, durante o Encontro, sob a forma de pôsteres, para apreciação da comissão julgadora e do público interessado.

Parabenizamos e agradecemos, antecipadamente, a todos que participaram do evento e da organização do mesmo, da seleção e do julgamento dos trabalhos. Agradecemos, também aos empregados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pelo apoio e incentivo aos estudantes, à Embrapa Sede por ceder o espaço para exposição dos pôsteres, bem como ao patrocínio da Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAP/DF, vinculada à Secretaria de Estado para o Desenvolvimento da Ciência e Tecnologia – SCTDF, e ao apoio da União Pioneira de Integração Social - UPIS. Queremos destacar a grande contribuição que todos estão

prestando ao desenvolvimento científico e tecnológico e à formação de profissionais nas áreas de Recursos Genéticos, Biotecnologia, Controle Biológico e Segurança Biológica.

É importante salientar que ao longo dos seus 30 anos de existência (completados em 22 de novembro de 2004) a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia sempre se preocupou com a formação e a qualificação de recursos humanos e é muito gratificante verificar que muitos pesquisadores da Unidade aqui começaram as suas carreiras científicas como bolsistas e estagiários de iniciação científica, exatamente como estão fazendo os participantes deste **IX Encontro do Talento Estudantil**.

José Manuel Cabral de Sousa Dias
Chefe Geral
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

SUMÁRIO

BIOLOGIA CELULAR	31
001 - ANÁLISE DE ASPECTOS REPRODUTIVOS DA F1 DE PLANTAS TETRAPLÓIDES ARTIFICIAIS DE <i>Brachiaria brizantha</i> (POACEAE) (Analysis of reproductive aspects of the F1 of artificial tetraploid <i>Brachiaria brizantha</i> (Poaceae)) Nóbrega, J.M., Carneiro, V.T.C., Araújo, A.C.G.....	33
002 - ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DE <i>Baccharis dracunculifolia</i> (Analysis of reproductive development of <i>Baccharis dracunculifolia</i>) Rocha, J.A., Falcão, R., Cruz, D.R.O., Araújo, A.C.G., Dusi, D.M.A.....	34
003 - DESENVOLVIMENTO DE UM PROTOCOLO PARA REGENERAÇÃO DE PLANTAS DE FEIJÃO (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) (Development of a regeneration protocol of common bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) plants) Albino, M.M.C., Vianna, G.R., Aragão, F.J.L.	35
004 - OBTENÇÃO DE MUDAS CLONAIAS DE CAFÉ (<i>Coffea arabica</i> L.) VIA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA (Clonal propagation of coffee (<i>Coffea arabica</i> L.) through somatic embryogenesis) Pereira, A.J.P., Junqueira, C.S., Melo, R.I.S., Silva, A.P.D., Mundim, D.A., Teixeira, J.B.....	36
005 - OTIMIZAÇÃO DE MEIO PARA A PROPAGAÇÃO IN VITRO DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE <i>Arachis</i> VIA CULTURA DE ÁPICES CAULINARES (Medium optimization for <i>in vitro</i> propagation of interspecific <i>Arachis</i> hybrids through shoot-apex culture) Santos, R.F., Silva Filho, J.G., Torres, A.C., Fávero, A.P., Valls, J.F.M.....	37
BIOLOGIA MOLECULAR	39
006 - AMPLIFICAÇÃO DE SEQUÊNCIAS GÊNICAS ENVOLVIDAS NA REPRODUÇÃO DE <i>Brachiaria brizantha</i> POR PCR INVERSA (Amplification of gene sequences involved in <i>Brachiaria brizantha</i> reproduction by inverse PCR) Guimarães, L.A., Silveira, E.D., Carneiro, V.T.C.	41
007 - ANÁLISE COMPARATIVA DE PROTOCOLOS DE REAÇÕES DE SEQUENCIAMENTO E PURIFICAÇÕES DE DNA (Comparative analysis of the sequencing reaction protocols and DNA purification) Labuto, L.B.D., Borges Neto, C.R., Castro, A.S., Oliveira, E.M., Sousa, Z.A.R., Rocha, S.M.	42

008 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CLONES DE cDNA ISOLADOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DE <i>Brachiaria brizantha</i> POR HIBRIDIZAÇÃO IN SITU (Expression analysis of two cDNA clones isolated during the reproductive development of <i>Brachiaria brizantha</i> by in situ hybridization) Alves, E.R., Dusi, D.M.A., Carneiro, V.T.C.	43
009 - ANÁLISE DE RESTRIÇÃO DO DNA DE ISOLADOS TEMPORAIS DE <i>Erinnyis ello</i> GRANULOVIRUS COM A ENZIMA <i>Eco</i>RI (Analysis of <i>Erinnyis ello</i> Granulovirus seasonal isolates by viral DNA restriction with <i>Eco</i>RI) Costa, N.R., Ferreira, B.C., Castro, M.E.B., Souza, M.L.	44
010 - ANÁLISES DE SEQÜÊNCIAS EXPRESSAS NO ESTÁGIO INFECTIVO DO NEMATÓIDE FORMADOR DE GALHAS <i>Meloidogyne incognita</i> (Sequences expressed in the infective stage of the southern root-knot nematode <i>Meloidogyne incognita</i>) Viana, A.A.B., Fragoso, R.R., Guimarães, L.M., Batista, J.A.N., Paes, N.S., Grossi-de-Sá, M.F.	45
011 - CARACTERIZAÇÃO DE GENES CANDIDATOS À COORDENAÇÃO TRANSCRICIONAL NO PARÊNQUIMA DURANTE A MATURAÇÃO DO EMBRIÃO DE <i>Arabidopsis thaliana</i> (Characterization of candidate genes to coordinate transcription in the parenchyma of <i>Arabidopsis thaliana</i> during embryo maturation) Guimarães, L.L., Holanda, I.L. de., Oliveira, L.D., Lacerda, T.S., Paiva, G.R. de.....	46
012 - CARACTERIZAÇÃO DE GENES CANDIDATOS À REGULAÇÃO DA TRANSCRIÇÃO NO PARÊNQUIMA EXTERNO DOS ÓRGÃOS DE ESTOCAGEM DO EMBRIÃO DE <i>Arabidopsis thaliana</i> (Characterization of candidates genes to transcriptional regulators of the external parenchyma of storage organs of <i>Arabidopsis thaliana</i> embryos) Lacerda, T.S., Paiva, G. R. de	47
013 - CARACTERIZAÇÃO DE GENES CANDIDATOS À REGULAÇÃO DA TRANSCRIÇÃO NO PARÊNQUIMA HIPOCOTILAR DO EMBRIÃO DE <i>Arabidopsis thaliana</i> (Characterization of candidates genes to transcriptional regulators of the embryonic hypocotyl parenchyma of <i>Arabidopsis thaliana</i>) Oliveira, L.D., Paiva, G. R. de	48
014 - CARACTERIZAÇÃO DE GENES CANDIDATOS A REGULADORES TRANSCRICIONAIS DO PARÊNQUIMA COTILEDONAR EMBRIONÁRIO DE <i>Arabidopsis thaliana</i> (Characterization of candidates genes to transcriptional regulators of the cotyledon parenchyma of <i>Arabidopsis thaliana</i>) Holanda, I.L. de , Guimarães, L.L., Paiva, G.R. de	49

015 - CARACTERIZAÇÃO GÊNICA DE PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS ISOLADOS DE HYLÍDIOS DA FAUNA BRASILEIRA - *Phyllomedusa* SPP. (Gene Characterization of Antimicrobial Peptides Isolated from Brazilian Hylids - *Phyllomedusa* spp.)

Barbosa, E.A., Vinecky, F., Brito, K.M., Prates, M.V., Bloch Jr., C., Andrade, A.C....50

016 - CLONAGEM DE UM GENE DO TIPO OSMOTINA EM CACAU (*Theobroma cacao* L.) (Cloning of an osmotin-like gene from cocoa)

Ramos, A.R., Gander, E.S., Martins, N.F., Togawa, R., Marcellino, L.H.51

017 - CLONAGEM E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO GENE QUE CODIFICA UM INIBIDOR DE α -AMILASE DE *Phaseolus coccineus* E SEU POTENCIAL NO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ (*Hypothenemus hampei*) [Molecular cloning and characterization of a novel α -amylase inhibitor gene from *Phaseolus coccineus* and its potential on the control of coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*)]

Pereira, R.A., Batista, J.A.N., Oliveira Neto, O.B., Silva, M.C.M., Valença, A., Santos, L.L.S., Grossi-de-Sá, M.F.52

018 - COMPARAÇÃO DE PROTOCOLOS DE REAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO, UTILIZANDO OS KITS ABI BIG DYE TERMINATOR E DYENAMIC ET TERMINATOR (Comparison of protocols of sequencing reaction, using kits abi big dye terminator and dyenamic et terminator)

Sousa, Z.A.R., Oliveira, E.M. Castro, A.S., Labuto, L.B.D., Borges Neto, C.R., Rocha, S.M....53

019 - CONSTRUÇÃO DE BACULOVIRUS RECOMBINANTE PARA EXPRESSÃO DE INIBIDOR ALPHA-AMILASE BIII ISOLADO DE CENTEIO (Construction of a recombinant baculovirus to express the BIII alpha-amylase inhibitor isolated from rye)

Martins, A.G.G.M., Sihler, W., Dias, S.C., Souza, M.L.54

020 - CONSTRUÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES DO TIPO RGA PARA O MAPEAMENTO GENÉTICO DE *Arachis* SILVESTRE (Development of RGA markers for wild *Arachis* genetic mapping)

José, A.C.F.V., Leal-Bertioli, S.C., Bertioli, D.J., Guimarães, P.M.55

021 - CONSTRUÇÃO DE UM VETOR PARA ESTUDO DO PROMOTOR DO GENE “OPAQUE-2-LIKE” DE MILHETO (Construction of a vector for functional studies of an opaque-2-like promotor from pearl millet)

Pires, M.V., Ramos, A.R., Gander, E.S., Marcellino, L.H.....56

- 022 - CONSTRUÇÃO DE UM VÍRUS RECOMBINANTE DO MUTANTE DE *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus*, vApAg CONTENDO A PROTEÍNA FLUORESCENTE GFP (Construction of a recombinant vApAg, an *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus* mutant harbouring the GFP fluorescent protein)**
Soares, E. F., Ribeiro, B. M., Castro, M. E. B.57
- 023 - DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE SEQUÊNCIAS COM AFINIDADE PELA PROTEÍNA ROL A DE *Agrobacterium rhizogenes* (Functional properties determination of sequences with affinity to the Rol A protein of *Agrobacterium rhizogenes*)**
Santos, D.B.M. , Carneiro, M.....58
- 024 - ESTRATÉGIA DE RNA INTERFERENTE PARA OBTENÇÃO DE PLANTAS GENETICAMENTE MODIFICADAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* MILL.) RESISTENTES A GEMINIVÍRUS (Strategy of interference RNA for obtaining genetically modified tomatoes resistant to geminiviruses)**
Zimbres, B.Q.C. , Bonfim, K. , Santos, M.O. , Aragão, F.J.L.....59
- 025 - EVOLUÇÃO DO PROJETO ESTs DE UMA ESPÉCIE SILVESTRE DE *Arachis* (Further developments on the *Arachis* ESTs project)**
Proite, K. , Leal-Bertioli, S.C. , Bertioli, D. J. , Guimarães, P.M.60
- 026 - EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS DE *Coffea canephora* NA INTERAÇÃO COM O NEMATÓIDE *Meloidogyne* spp. (Differential expression of proteins of *coffea canephora* in the interaction with the nematode *Meloidogyne* spp.)**
Andrade, A.E. , Barros, E.V.S., Grossi-de-Sá, M.F., Carneiro, R.M.D.G., Mehta, A.61
- 027 - GERAÇÃO DE EST'S DE OVÁRIOS DE *Brachiaria brizantha* SEXUAL E APOMÍTICA EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO (Generation of EST's of apomictic and sexual *Brachiaria brizantha*'s ovaries in different stages of development)**
Silveira, E.D., Arrais, L., Carneiro, V.T.C.62
- 028 - IDENTIFICAÇÃO DE GENES CONTROLADOS POR PROMOTORES PÓLEN-ESPECÍFICOS E ANÁLISE DOS PADRÕES DE EXPRESSÃO GÊNICA EM PLANTAS DE TABACO TRANSFORMADAS PELO GENE *rolA* DE *Agrobacterium rhizogenes* (Identification of genes controlled by pollen-specific promoters and analysis of the expression patterns in tobacco plants transformed by the *rolA* gene of *Agrobacterium rhizogenes*)**
Thees, M.F.R.S. , Carneiro, M.63

029 - IDENTIFICAÇÃO DE UMA SMASED-LIKE ISOLADA DA GLÂNDULA DA SEDA DE *Nephilengys cruentata* (Identification of an smased-like isolated from silk gland of *Nephilengys cruentata*)

Souto, B.M., Leite, A.P.F., Madeira, L.M., Vinecky, F., Carvalho, D.M., Vianna, G.R., Silva, F.R.da, Aragão, F.J.L., Daffre, S., Silva Jr., P.I., Andrade, A.C., Rech, E.....64

030 - INFECÇÃO DE DIFERENTES LINHAGENS CELULARES DE INSETO COM BACULOVÍRUS RECOMBINANTE CONTENDO O GENE *rolA* DE *Agrobacterium rhizogenes* (Infection of different insect cell lines with recombinant baculovirus containing the *rolA* gene of *Agrobacterium rhizogenes*)

Ferreira, B. C. , Carneiro, M. & Souza, M. L.....65

031 - INTERFERÊNCIA DE RNA (RNAi) PARA REDUÇÃO DE ÁCIDO FÍTICO EM SOJA (*Glycine max* (L.) MERRIL) (Interferent RNA (RNAi) for decreasing of phytic acid in soybean seeds)

Nunes, A.C.S. , Vianna, G.R. , Rech, E.L. , Aragão, F.J.L.....66

032 - INTRODUÇÃO E EXPRESSÃO DO GENE DA OXALATO DESCARBOXILASE (OxDC) DE *Flamulina velutipes* EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.) (Introduction and expression of *Flamulina velutipes* Oxalate decarboxylase gene (OxDC) in Lettuce (*Lactuca sativa* L.))

Dias, B.B.A. , Cunha, W.G. , Morais, L.S. , Aragão, F.J.L.....67

033 - ISOLAMENTO DE GENES *cry* COM POTENCIAL USO NO CONTROLE DO BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*) (Isolation of *cry* genes with potential use in the cotton boll weevil control).

Magalhães, M.T.Q. , Batista, J.A.N. , Oliveira, G.R. , Fragoso, R.R. , Silva, S.M.B, Oliveira-Neto, O.B. , Figueira, E.L.Z. , Monnerat, R.G. , Grossi-de Sá, M.F68

034 - ISOLAMENTO DE GENES QUE CODIFICAM PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS PRODUZIDOS POR HYLÍDIOS DA FAUNA BRASILEIRA (Isolation of genes that encode antimicrobial peptides produced by brazilian hylids)

Vinecky, F. , Barbosa, E.A. , Brito, K.M. , Prates, M.V. , Bloch Jr., C. , Andrade, A.C.69

035 - JABURETOX-2EC: PEPTÍDEO RECOMBINANTE DERIVADO DE UREASE DE *Canavalia ensiformis* COM ATIVIDADE INSETICIDA (Jaburetox-2Ec: an insecticidal recombinant peptide derived from *Canavalia ensiformis* urease)

Mulinari, F. , Stanisçuaski, F. , Carlini, C.R. , Grossi-de-Sá, M.F.70

036 - OBTENÇÃO DE PLANTAS *Coffea arabica* GENETICAMENTE MODIFICADAS ATRAVÉS DO BOMBARDEAMENTO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS (Obtention of genetically modified *Coffea arabica* plants through bombardeament of embryogenic calli)

Machado, F.R.B., Berçot, M.A., Palácio, T.C., Almeida, C.D.S., Paes, N.S., Vianna, G.R., Grossi-de-Sá, M.F., Barros, E.V.S.A.71

037 - OTIMIZAÇÃO DOS PROTOCOLOS DE EXTRAÇÃO, PURIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DAS EXTREMIDADES DE CLONES BACs DE UMA BIBLIOTECA DE DNA BOVINO (Optimization of the extraction, purification and sequencing protocols of BAC-ends from a bovine genomic DNA library)

Figueiredo, G.S.F. , Labuto, L.B.D., Reis, A.C.M., Bisol, T.B., Castro, A.S., Nardelli-Costa, J., Borges Neto, C.R., Caetano, A.R.72

038 - PLANTAS DE *Nicotiana tabacum* TRANSFORMADAS COM A FUSÃO TRADUCIONAL *rolA::gfp* APRESENTAM FENÓTIPO E DESENVOLVIMENTO ALTERADOS (*Nicotiana tabacum* plants transformed with *rolA::gfp* translational fusion exhibit phenotypical and developmental alterations)

Arrial, R.T., Barros, L.M.G., Lacorte, C., Carneiro, M.73

039 - RNA INTERFERENTE (RNAi) PARA OBTENÇÃO DE PLANTAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) RESISTENTES A GEMINIVÍRUS (Interference RNA (RNAi) to obtain genetically modified bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) resistant to geminivirus)

Bonfim, K., Póvoa, A.M., Madeira, L.M., Macedo, R.G., Faria, J.C., Aragão, F.J.L.....74

040 - SELEÇÃO DE FRAGMENTOS DE ANTICORPOS SCFV PARA PROTEÍNAS DE SECREÇÃO DO FITONEMATÓIDE *Meloidogyne incognita* (Selection of antibodies fragments scFv to secretions proteins of the phytonematode *Meloidogyne incognita*).

Lima, L.M., Vieira, P.M.M.M., Carneiro, R.M.D.G., Maranhão, A.Q., Brígido, M.M., Grossi de Sá, M.F.75

041 - SELEÇÃO DE INIBIDORES DE α -AMILASE CONTRA α -AMILASE DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* - BOHEMAN) (α -Amylase Inhibitor Selection against α -Amylase from Cotton Boll Weevil- *Anthonomus grandis* - Boheman)

Del Sarto, R.P.Z., Costa, M.F.da, Teixeira, F.R., Figueira, E.L.S., Silva, M.C.M., Grossi-de-Sá, M.F.....76

042 - SELEÇÃO DE TOXINAS Cry COM ALTA ESPECIFICIDADE E TOXICIDADE CONTRA O BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*) E LAGARTA DO CARTUCHO DO MILHO (*Spodoptera frugiperda*) [Cry toxins selection with high specificity and toxicity against cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*) and fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)]

Brunetta, P. S. F., Oliveira, G. R., Cavalcante, K. L., Figueira, E. L. Z., Silva, M. C. M., Grossi-de-Sá, M. F.77

043 - TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE SOJA [*Glycine max* L. (MERRIL)] VISANDO TOLERÂNCIA À SECA (Genetic transformation of soybean [*Glycine max* L. (Merril)] for drought tolerance).

Morais, A.T., Menezes, C.C., Vianna, G.R., Fontes, E.P.B., Vaez, J.R., Aragão, F.J. L.....78

044 - USO DA BIBLIOTECA COMBINATÓRIA DE INIBIDORES DE α -AMILASE PARA A SELEÇÃO DE GENES POTENCIALMENTE ATIVOS CONTRA O BRUQUÍDEO *Zabrotes subfasciatus* (Combinatorial library of alpha-amylase inhibitor mutants: screening for improved activity against *Zabrotes subfasciatus*)

Teixeira, F.R., Figueira, E.L.Z., Brígido, M.M, Maranhão, A.Q., Grossi-de-Sá, M. F., Silva, M.C.M.79

CARACTERIZAÇÃO81

045 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE ESPÉCIE NATIVA DO SEMI-ÁRIDO COM O USO DE MARCADOR MOLECULAR – RAPD (Genetic analysis of a target species native to the semi-arid using RAPD markers)

Lacerda, A.L.M., Póvoa, J.S.R., Ciampi, A.Y.83

046 - ANÁLISE GENÉTICA DE UMA ESPÉCIE ALVO NATIVA DO SEMI-ÁRIDO UTILIZANDO-SE MARCADOR RAPD (Analysis of genetic diversity between populations of a species native to the semi-arid using RAPD markers)

Póvoa, J.S.R., Lacerda, A.L.M., Ciampi, A.Y.84

047 - AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE ALGODÃO ARBÓREO *Gossypium barbadense* POR MARCADORES SSRs (Evaluation of genetic diversity in perennial cotton (*Gossypium barbadense*) based on SSR markers)

Rodrigues, J.C.A., Barroso, P.A.V. , Costa, J.N. , Ciampi, A.Y.85

048 - CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA A *Cercosporidium personatum* EM HÍBRIDOS de *Arachis hypogaea* COM ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* (Characterization of resistance to *Cercosporidium personatum* in hybridis of *Arachis hypogaea* with wild *Arachis* species)

Ramos, V.R., Custodio, A.R., Ribeiro, V.S., Fávero, A.P., Valls, J.F.M.86

049 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE UMA FAMÍLIA DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *Arachis* (Morphological characterization of a family of interspecific *Arachis* hybrids)

Palma, F.R., Santos, R.F., Dias, J.G.O., Fávero, A.P., Leonardecz Neto, E., Bertoli, D.J., Valls, J.F.M.87

050 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE GENÓTIPOS DE MENTA (*Mentha* SPP.) NAS CONDIÇÕES DO DISTRITO FEDERAL, BRASIL (Chemical characterization of mint (*Mentha* spp.) germplasm at Federal District, Brazil)

Gracindo, L.A.M.B., Grisi, M.C.M., Potzernheim, M.L., Silva, D.B., Alves, R.B.N., Bizzo, H.R., Agostini-Costa, T.S., Vieira, R. F.88

051 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE *Piper* L. DO DISTRITO FEDERAL, BRASIL (Chemical characterization of *Piper* L. essential oil from Federal District, Brazil)

Potzernheim, M.L., Bizzo, H. R., Costa, A.F., Carvalho-Silva, M., Vieira, R. F.....89

052 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES DE REGIÕES REPETITIVAS (SSRs) PARA ANÁLISE GENÉTICA DE FEIJÃO (Development of repetitive regions markers (SSRs) for genetic beans analysis).

Cerqueira, A.A., Azevedo V.C.R., Amaral, Z.P.S., Buso, G.S.C.90

053 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MOLECULARES MICROSSATÉLITES E ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO NATURAL DE *Manilkara huberi* (DUCKE) STANDL. (SAPOTACEAE) NA AMAZÔNIA BRASILEIRA ORIENTAL (Development of microsatellite molecular markers and study of the genetic diversity of a natural population of *Manilkara huberi* (Ducke) Standl. (Sapotaceae) at the oriental Brazilian Amazon)

Azevedo, V.C.R., Vinson, C.C., Silva, V.P., Almeida, T.N., Kanashiro, M., Ciampi, A.Y.91

054 - DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITE NA AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Amburana cearensis* (Development and evaluation of microsatellite markers for genetic diversity analysis in *Amburana cearensis*)

Catelan, R.C., Nakasu, E.Y.T., Ciampi, A.Y.92

055 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE BANCO DE GERMOPLASMA DE ALHO UTILIZANDO MARCADORES RAPD (Study of the genetic variability of garlic germoplasm bank accessions using RAPD markers)

Paiva, M.R., Cerqueira, A.A., Amorim, J.C., Amaral, Z.P.S., Dusi, A.N., Torres, A.C., Resende, F.V., Buso, J.A., Buso, G.S.C.93

056 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MELÃO DE UMA COLEÇÃO DE GERMOPLASMA UTILIZANDO MARCADORES RAPD (Genetic variability study of melon accessions from a germplasm collection using RAPD markers)

Amorim, J.C., Marques, J.M., Souza, Z.P., Buso, J.A., Buso, G.S.C.94

057 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE INDIVÍDUOS DE POPULAÇÕES DE *Heliconia bihai* E *Heliconia rostrata* (Study of genetic variability among individuals of *Heliconia bihai* and *Heliconia rostrata* populations)

Marques, J.M., Coelho, P.J.A., Ferreira, M.A., Amaral, Z.P.S., Torres, A.C., Amorim, J.C., Buso, G.S.C.95

058 - USO DOS SISTEMAS DE INFORMAÇÃO GEOGRÁFICA – SIG – ARCVIEW E DIVA-GIS PARA A PREDIÇÃO DE NOVOS LOCAIS DE OCORRÊNCIA DE *Arachis stenosperma* KRAPOV. & W. C. GREGORY (Use of geographical information systems – Sig – Arcview and Diva-Gis for prediction of potential new sites of occurrence of *Arachis stenosperma* Krapov. & W. C. Gregory)

Custodio, A.R., Noronha, S.E., Valls, J.F.M.96

CONSERVAÇÃO97

059 - AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MELANCIA PARA EXPRESSÃO SEXUAL (Watermelon germplasm evaluation for sexual expression).

José Jr., G., Santos, R.F., Irala, L.H., Ferreira, M.A.J. da F., Fávero, A.P., Nass, L.L.99

060 - CONSERVAÇÃO A LONGO PRAZO DE *Bromelia balansae* MEZ (Long term conservation of *Bromelia balansae* Mez)

Mamão, L. de S., Martins-Costa, L.F.M., Pereira Neto, L.G. 100

061 - MICROPROPAGAÇÃO DE *Hippeastrum puniceum* (LAM.) KUNTZE (AMARYLLIDACEAE) (Micropropagation of *Hippeastrum puniceum* (Lam.) Kuntze (Amaryllidaceae))

Amaral, A. C., Santos, I. R.I., Cavalcanti, T. B..... 101

062 - PATÓGENO DA BRUSONE DO ARROZ EM GERMOPLASMA ARMAZENADO A LONGO PRAZO (Rice blast pathogen in long-term stored germplasm)

Ramos, V. R., Ribeiro, V. S. , Wetzal, M.M.V. da S. 102

063 - RESGATE DE *Pseudananas sagenarius* (ARR. CAM.) CAMARGO E A CONSERVAÇÃO A LONGO PRAZO (The *Pseudananas sagenarius* (Arr. Cam.) Camargo rescue and the long term conservation)

Sacramento, E.R.S., Martins-Costa, L.F.M., Wetzell, M.M.V.S., Ferreira, F.R. 103

064 - TAXA DE GERMINAÇÃO IN VITRO DE SEMENTES DE *Syngonanthus elegans* (BONG.) RUHLAND (*Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland seeds in vitro germination)

Souza, G.A.B., Cardoso, L.D., Mendes, R.A. 104

065 - USO DE *Ananas bracteatus* COMO CERCA VIVA (Utilization of *Ananas bracteatus* as hedgerow)

Sacramento, E. R. S., Ferreira, F. R., Fávero, A. P., Cabral, J. R. S. 105

CONTROLE BIOLÓGICO 107

066 - ALTERAÇÕES DO METABOLISMO DA SOJA BR-16 DEVIDO AOS DANOS CAUSADOS POR ALIMENTAÇÃO E OVIPOSIÇÃO DO PERCEVEJO-PRAGA DA SOJA *Euschistus heros* (Changes in the metabolism of the soybean variety B-R16 induced by the feeding and oviposition behaviour of the soybean stink bug *Euschistus heros*)

Bortolini, C.F.B., Oliveira, V. L., Laumann, R., Moraes, M.C.B., Borges, M. 109

067 - ANÁLISE DA PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DOS FUNGOS *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* O CARRUNCHO DE FEIJÃO DE CORDA (*CALLOSOBRUCHUS MACULATUS*) (Analysis of pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* against cowpea seed beetle (*Callosobruchus maculatus*))

Sarmiento, R.B.C., Pereira, M., Lauman, R., Franco, O.L., Valadares-Ingliš, M.C. 110

068 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DAS AMÉRICAS DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES (Genetic variability analysis of american *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae) populations using molecular markers)

Queiroz, P.R., Martins, E. S., Monnerat, R.G., Lima, L.H.C. 111

069 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES RAPD (Genetic variability analysis of a population of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae) using molecular markers RAPD)

Queiroz, P.R., Martins, E.S., Monnerat, R.G., Lima, L.H.C. 112

070 - ANÁLISE DE INFECÇÕES POR *Anticarsia gemmatalis* MNPV : PASSAGEM SERIADA DO VIRUS EM CULTURA DE CÉLULAS DE INSETOS (Analysis of infections by *Anticarsia gemmatalis* MNPV : serial virus passage in insect cell culture)

Sousa, N.O.M., Ribeiro, Z.M.A., Castro, M.E.B. 113

071 - A TOXINA RECOMBINANTE Cry1Ia DE *Bacillus thuringiensis*, EXPRESSA EM CÉLULAS DE INSETO, POSSUI ALTA ATIVIDADE CONTRA O BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1843) (The *Bacillus thuringiensis* Cry1Ia recombinant toxin, expressed in insect cells, has high activity against the boll weevil, *Anthonomus grandis* Boheman, 1843)

Martins, E.S., Aguiar, R.W. de S., Ribeiro, B.M., Monnerat, R.G. 114

072 - ATRATIVIDADE DE VOLÁTEIS DA SOJA INDUZIDOS POR DANOS CAUSADOS POR ALIMENTAÇÃO E OVIPOSIÇÃO DO PERCEVEJO-PRAGA DA SOJA *Euschistus heros* SOBRE O PARASITÓIDE DE OVOS *Telenomus podisi* (Attraction of the soybean volatiles to the egg parasitoid *Telenomus podisi* induced by feeding and oviposition behaviour of the soybean stink bug *Euschistus heros*)

Bitencourt, O.C., Laumann, R., Moraes, M.C.B. Borges, M. 115

073 - AVALIAÇÃO DA COMUNIDADES DE ARTRÓPODOS PREDADORES EM SOLOS DE LAVOURA DE ALGODÃO NO DISTRITO FEDERAL (Community of predator arthropods evaluation on the ground of cotton crop in Distrito Federal)

Portilho, T.C., Schmidt, F.G.V., Faria, M.R., Fontes, E.M.G., Pires, C.S.S., Sujii, E.R. 116

074 - AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. (Assessment of the variability of *Trichoderma* spp. isolates)

Auler, A.C.V., Ávila, Z.R., Carvalho, S.S., Orioli, F.P., Falcão, J.V., Mello, S.C. M. 117

075 - AVALIAÇÃO DE BIOINSETICIDAS A BASE DE *Bacillus thuringiensis* NA CULTURA DO REPOLHO PARA O CONTROLE DA TRAÇA DAS CRUCÍFERAS (Evaluation of biopesticides based on *Bacillus thuringiensis* for controlling Diamondback moth)

Medeiros, P.T., Dias, J.M.C.S., Sone, E.H., Soares, C.M., Barreto, E.G.S., Monnerat, R.G. 118

076 - AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sclerotium rolfsii* NA CULTURA DA SOJA (Assessment of the biocontrol potential of *Trichoderma* spp. isolates against *Sclerotium rolfsii* in soybean)

Falcão, J.V., Ávila, Z.R., Orioli, F.P., Auler, A.C.V., Silva, J.B.T., Mello, S.C.M., Braúna, L.M. 119

077 - BACULOVÍRUS PATOGÊNICO À LAGARTA *Condylorrhiza vestigialis* (Pathogenic baculovirus to *Condylorrhiza vestigialis* caterpillar)

Santos, A.C.B., Ribeiro, Z.M.A., Souza, M.L., Sousa, N.J., Castro, M.E.B. 120

078 - BIOCONTROLE DE TOMBAMENTO EM PLÂNTULAS DE FEIJOEIRO CAUSADO POR *Sclerotium rolfsii* (Biocontrol of damping-off in beans caused by *Sclerotium rolfsii*)

Carvalho, S.S., Auler, A.C.V., Orioli, F.P., Falcão, J.V., Braúna, L.M., Silva, M.C.F., Mello, S.C.M.....121

079 - CLONAGEM DO GENE TRUNCADO *cry1Ca* DE *Bacillus thuringiensis* DENTRO DE GENOMA DO BACULOVIRUS *Autographa californica nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV). (Cloning of the truncated gene *cry1Ca* of *Bacillus thuringiensis* into the genome of the baculovirus *Autographa californica nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV))

Aguiar, R.W. de S., Martins, E.S., Monnerat, R.G., Ribeiro, B.M.122

080 - COMBINAÇÃO DE CULTIVO SUBMERSO E SUBSTRATOS SÓLIDOS PARA PRODUÇÃO DE INÓCULO DE *Dicyma pulvinata* (Combined submerged fermentation and solids substrates for inoculums production of *Dicyma pulvinata*)

Catalão, G.L., Silva, J.B.T., Mello, S.C.M., Frazão, H.F.....123

081 - COMPARAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE TRÊS POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* AO *Bacillus thuringiensis israelensis* (Comparison of the susceptibility of three populations of *Aedes aegypti* to *Bacillus thuringiensis israelensis*)

Nunes, A.C., Dumas, V.F., Pimentel, L.W., Monnerat, R.G.....124

082 - CRESCIMENTO E ESPORULAÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E SEUS EFEITOS ANTAGONISTAS SOBRE *Sclerotinia sclerotiorum* E *Sclerotium rolfsii* (Growth and sporulation of *Trichoderma* spp. isolates and their antagonistic effects on *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii*)

Auler, A.C.V., Ávila, Z.R., Carvalho, S.S., Orioli, F.P., Falcão, J.V., Braúna, L.M., Mello, S.C.M.125

083 - DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE BIOENSAIO DE DOSE CONTRA O BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1843) UTILIZANDO ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* (Development of bioassays methodology against to bolweevil (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843) making strains of *Bacillus thuringiensis*)

Martins, E.S., Praça, L.B., Dumas, V.F., Monnerat, R.G.126

- 084 - DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE BIOENSAIO PARA SELECIONAR ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* EFICAZES NO COMBATE À MOSCA BRANCA (*Bemisia tabaci*, (BIÓTIPO B). (Development of Bioassay method to select *Bacillus thuringiensis* strains to control white fly)**
Espindula, E., Demo, C., Berry, C., Monnerat, R. 127
- 085 - EFEITO DE EXTRATOS DE SEMENTES DE PLANTAS ANTAGONISTAS SOBRE A MORTALIDADE DE JUVENIS DE SEGUNDO ESTÁGIO DE *Meloidogyne incognita* (Effects of antagonists plants seed extracts on second stage juvenile mortality of *Meloidogyne incognita*)**
Almeida, C.D.S. de, Magalhães, J.C.C., Franco, P., Salomão, D., Randig, O., Carneiro, R.M.D.G., Grossi-de-Sá, M.F., Rocha, T.L. 128
- 086 - EFEITO INIBITÓRIO DE AGROTÓXICOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE *Dicyma pulvinata* (Inhibitory effects of chemical pesticide on *Dicyma pulvinata* development)**
Melo, D.F., Ávila, Z.R., Mello, S.C.M. 129
- 087 - EFICÁCIA DE BIOINSETICIDAS BACTERIANOS UTILIZADOS NO CONTROLE DE LARVAS DE *Aedes aegypti* (Efficacy of bioinsecticides used for controlling *Aedes aegypti* larvae)**
Pimentel, L.W., Nunes, A.C., Dumas, V.F., Monnerat, R.G. 130
- 088 - ESTABELECIMENTO DE METODOLOGIA PARA CONTAMINAÇÃO DE SOLO COM PROPÁGULOS DE *Sclerotinia sclerotiorum* E *Sclerotium rolfsii*, E EXPRESSÃO DE DOENÇA EM SOJA (Methodology for establishment of soil contamination with propagulos of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii* for disease symptom expression in soybean)**
Falcão, J.V., Avila, Z.R., Orioli, F.P., Auler, A.C.V., Silva, J.B.T., Mello, S.C.M. 131
- 089 - ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE ARTRÓPODES ASSOCIADA À CULTURA DO ALGODÃO NO DISTRITO FEDERAL (The arthropod community structure associated to cotton fields in the Federal District)**
Ortis, G.S., Frizzas, M.R., Pires, C.S.S., Sujii, E.R., Pereira, F.F.O., Portilho, T.C., Pinheiro, E.M.L., Fontes, E.M.G. 132
- 090 - ESTUDO DA ATIVIDADE DE UMA ESTIRPE DE *Bacillus thuringiensis israelensis* S1806, TÓXICA AO BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1843) (Study of activity of one strain of *Bacillus thuringiensis israelensis* S1806, toxic to the bolweevil (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843)**
Dumas, V.F., Martins, E.S., Praça, L.B., Berry, C., Monnerat, R.G. 133

091 - ESTUDO DO COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DO PERCEVEJO DO COLMO DO ARROZ *Tibraca limbativentris* (Studies of the courtship behaviour of the rice stink bug, *Tibraca limbativentris*)

Cordeiro, D.M., Moraes, M.C.B., Laumann, R., Borges, M.....134

092 - ESTUDOS DA BIOLOGIA MOLECULAR DA ANTENA DO PERCEVEJO-PRAGA DA SOJA *Euschistus heros* PARA IDENTIFICAÇÃO DAS PROTEÍNAS LIGANTES DE FEROMÔNIOS (PLF) (Studies of molecular biology of antennae of stink bug *Euschistus heros* for the identification of pheromone bind proteins [PBp])

Damacena, I., Felix, G.C.S., Moraes, M.C.B., Laumann, R., Borges, M., Mehta, A.....135

093 - ESTUDOS DE MORFO-FISIOLOGIA DE LINHAGEM DE *Metarhizium anisopliae*, APRESENTANDO MICROCICLO DE CONIDIAÇÃO (Morpho-physiological studies of *Metarhizium anisopliae* presenting microcycle of conidiation)

Moreira, M.P., Sarmento, R.B.V., Frazão, H.F., Inglis, P.W., Valadares-Inglis, M.C.....136

094 - FAUNA DE ABELHAS EM ESPÉCIES CULTIVADAS E NÃO CULTIVADAS DE ALGODÃO (*Gossypium* spp.) NO CENTRO OESTE E NORDESTE DO BRASIL (The bee fauna on cultivated and non cultivated cotton (*Gossypium* spp.) in the Midwest and Northeast of Brazil)

Pereira, F.F.O., Pires, C.S.S., Silveira, F.A., Barroso, P.A.V., Sujii, E.R., Fontes, E.M.G.137

095 - FLUTUAÇÃO POPULACIONAL E INCIDÊNCIA DE PARASITÓIDES EM LAGARTAS DO CURUQUERÊ DO ALGODÃO *Alabama argillacea* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM UMA ÁREA DE PRODUÇÃO DO DISTRITO FEDERAL (Population fluctuation and incidence of parasitoids in caterpillars of *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in a production area of Federal District)

Silva, P.V., Aquino, M.F.S., Laumann, R., Moraes, M.C.B., Borges, M., Sujii, E.R., Pires C.S.S., Fontes, E.M.G.....138

096 - IDENTIFICAÇÃO DOS VOLÁTEIS DE *Lagenaria vulgaris* (SER.) (CUCURBITACEAE) E SEU POTENCIAL PARA O MANEJO DE *Diabrotica speciosa* (GERMAR, 1824) (COLEÓPTERA: CHRYSOMELIDAE) (Identification of Volatiles from *Lagenaria vulgaris* (Ser.) (Cucurbitaceae) and its Potential for the Management of *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae)

Santos, P. H. R., Oliveira, V. L., Borges, M., Moraes, M. C. B., Sujii, E. R. , Laumann, R.....139

097 - IDENTIFICAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO SEXUAL DO PERCEVEJO-PRAGA DA SOJA *Piezodorus guildinii* (Identification of the sex pheromone of the soybean stink bug *Piezodorus guildinii*)

Oliveira, V.L., Borges, M., Laumann, R., Moraes, M.C.B. 140

098 - INFLUÊNCIA DE *Trichoderma* spp. SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotinia sclerotiorum* E *Sclerotium rolfsii* (Influence of *Trichoderma* spp. on *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii* mycelial growth)

Orioli, F.P., Ávila, Z.R., Braúna, L.M., Falcão, J.V., Auler, A.C.V., Silva, M.C.F., Mello, S.C.M. 141

099 - INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E MOLECULAR DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS AO BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1983) (Investigation of activity and biochemical and molecular characterization of *Bacillus thuringiensis* strains toxic against bollweevil (*Anthonomus grandis* Boheman, 1983))

Martins, E.S., Sone, E.H., Praça, L.B., Dumas, V.F., Waga, I.C., Gomes, A.C.M.M., Monnerat, R.G. 142

100 - PARASITISMO DE *Sclerotinia sclerotiorum* E *Sclerotium rolfsii* POR *Trichoderma* spp. (Parasitism of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp.)

Carvalho, S.S., Auler, A.C.V., Ávila, Z.R., Falcão, R., Capdeville, G. de, Mello, S.C.M. 143

101 - SELEÇÃO IN VIVO E IN VITRO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sclerotium rolfsii* (In vivo and in vitro selection of *Trichoderma* spp. isolates for biological control of *Sclerotium rolfsii*)

Orioli, F. P., Ávila, Z.R., Carvalho, S.S., Braúna, L.M., Auler, A.C.V., Falcão, J.V., Silva, M.C.F., Mello, S.C.M. 144

102-TOXICIDADE DE DIFERENTES PROTEÍNAS Cry SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*) (Cry proteins toxicity against cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*) development)

Oliveira, G.R., Figueira, E.L.Z., Magalhães, M.T.Q., Monnerat, R.G., Brunetta, P.S.F., Grossi-de-Sá, M.F. 145

103 - UTILIZAÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS ATRAVÉS DE USO SISTÊMICO (Use of *Bacillus thuringiensis* in biological pest control through systemic utilization)

Demo, C., Medeiros, P.T., Batista, A.C., Melatti, V.M., Praça, L. B., Berry, C., Monnerat, R. 146

104 - VARIABILIDADE GENÉTICA E FENOTÍPICA DE LINHAGEM DE *Dicyma pulvinata*, MANTIDA EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO (Genetic and phenotypic variability of *Dicyma pulvinata* strains mantained in different storage conditions)

Pinho, D.S., Inglis, P.W., Mello, S.C.M., Valadares-Inglis, M.C.147

105 - VARIABILIDADE GENÉTICA E FENOTÍPICA DE LINHAGENS MONOSPÓRICAS DE *Metarhizium anisopliae* (Genetic and phenotypic variability of *Metarhizium anisopliae* monosporic strains)

Gavião, C.F.C., Inglis, P.W., Martins, I., Valadares-Inglis, M.C.148

106 - VARIABILIDADE SUB-TELOMÉRICA DE LINHAGENS DE *Dicyma* sp. E *Alternaria* sp. (Sub-telomeric variability among strains of *Dicyma* sp. and *Alternaria* sp.)

Jerônimo, M.A.G., Gavião, C.F.C., Inglis, P.W., Mello, S.C.M., Valadares-Inglis, M.C.149

107 - VARREDURA DAS ESTIRPES DE *Bacillus Thuringiensis* EFETIVAS PARA O CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* E *Anticarsia gemmatalis* (Screening of *Bacillus thuringiensis* toxic against *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda*)

Batista, A.C., Silva, C.R.M., Demo, C., Praça, L.B., Monnerat, R.G.150

INTERCÂMBIO E QUARENTENA151

108 - BANCO DE DADOS DE FUNGOS EM MACIEIRA (*Malus domestica*) (Data base of fungi in apple (*Malus domestica*))

Castro, P.K.G. de, Melo, L.A.M.P. de, Mendes, M.A.S.153

109 - BANCO DE DADOS DE FUNGOS EM MELOEIRO (*Cucumis melo*) (Data base of fungi in melon (*Cucumis melo*))

Castro, P.K.G. de, Felix, A.A.A., Melo, L.A.M.P. de, Mendes, M.A.S.154

110 - BANCO DE DADOS DE OCORRÊNCIA DE NEMATÓIDES NO BRASIL (Databases of geographic distribution of nematodes in Brazil)

Ogibowski, A.R.G., Tenente, R.C.V., Melo, L.A.M.P.155

111 - BUSCA DE GENES DE RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE *Meloidogyne incognita* ENTRE DIFERENTES CLONES DE BANANEIRA (*Musa* spp.) (Searching of resistant genes to nematode *Meloidogyne incognita* among different clones of banana (*Musa* spp.))

Pinto, A.C.B.V., Borzuk, M., Sousa, A.I. de M., Tenente, R.C.V., Silva Neto, S.P.da Carrijo, O.A.156

- 112 - CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* EM BANANEIRA UTILIZANDO ADUBAÇÕES ORGÂNICAS, EM MICROPARCELAS, SOB CONDIÇÕES DE CAMPO (Control of *Meloidogyne javanica* in banana clones, using organic manures, in microplots, under field conditions)**
Boas, L.C.V., Cares, J.E., Tenente, R.C.V., Silva Neto, S.P.157
- 113 - EFEITO DE MATERIAIS ORGÂNICOS NO CONTROLE DO NEMATÓIDE DAS GALHAS *Meloidogyne incognita* EM BANANEIRA, SOB CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO (Effect of organic manures to control the root knot nematodes *Meloidogyne incognita* in banana clones, under greenhouse conditions)**
Boas, L.C.V., Cares, J.E., Tenente, R.C.V., Silva Neto, S.P.158
- 114 - EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO SECO NA SANIDADE DE SEMENTES DE ALGODÃO (Effect of dry thermic treatment on seed-borne fungi of cotton)**
Rodrigues Jr., A.J.G., Mendes, P.D., Oliveira, A.S., Fonseca, J.N.L., Mendes, M.A.S.159
- 115 - FORMAÇÃO DE UM BANCO DE DADOS SOBRE PRAGAS EM BORBULHAS DE FRUTEIRAS, BASE PARA ELABORAÇÃO DE ARP-NQR (Development of a database about pests in buds base for ARPQNR elaboration)**
Barros, T.O., Mendes, M.A.S., Melo, L.A.M.P., Fonseca, J.N.L., Felix, A.A.A.160
- 116 - FUNGOS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA EM *Olea Europaea* PARA O BRASIL OCORRENTES NA ESPANHA (Fungi of quarantine expression in *Olea europaea* for Brazil that occurs in Spain)**
Felix, A.A.A., Mendes, M.A.S., Santos, M.F.161
- 117 - FUNGOS DE IMPORTÂNCIA QUARENTENÁRIA EM TAMAREIRA NO BRASIL (Fungi of quarantine importance on date palm (*Phoenix dactylifera*) to Brazil)**
Felix, A.A.A., Medeiro, S.A., Mendes, M.A.S.162
- 118 - FUNGOS TRANSMITIDOS POR SEMENTES DE *Brachiaria* PROVENIENTES DE CAMPO GRANDE, MATO GROSSO DO SUL (Seed-borne fungi of *Brachiaria* from Campo Grande, Mato Grosso do Sul)**
Mendes, P.D., Rodrigues Jr., A.J.G., Mendes, M.A.S., Oliveira, A.S. de163
- 119 - IDENTIFICAÇÃO DE INSETOS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA PARA A VITICULTURA NO BRASIL (Identification of insects of quarantine important to wine crop in Brazil)**
Aquino, Y.M., Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Oliveira, M.R.V.164

- 120 - IDENTIFICAÇÃO NUTRICIONAL E SOROLÓGICA DE *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Nutritional and serological identification of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*)**
Melo, L.A., Santos, J.P., Marques, A.S.A.165
- 121 - INSPEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO ENTOMOLÓGICA NA QUARENTENA DE GERMOPLASMA VEGETAL (Inspection and entomological identification on plant germplasm quarantine)**
Silva, S.F., Vilarinho, K.R., Aquino, Y.M., Oliveira, M.R.V.166
- 122 - INTERCEPTAÇÃO DE *Phoma exigua* var. *foveata*, PRAGA QUARENTENÁRIA A1 PARA O BRASIL, EM GERMOPLASMA PROCEDENTE DA FRANÇA (Interception of *Phoma exigua* var. *foveata*, a1 quarantine pest to Brazil in germoplasm from France)**
Mendes, P.D., Oliveira, A.S., Mendes, M.A.S., Marinho, V.L.A., Urben, A.F.....167
- 123 - MOSCA-BRANCA DA MANDIOCA *Bemisia tuberculata* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) NO VALE DO IVINHEMA (Cassava whitefly *Bemisia tuberculata* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Ivinhema Valley)**
Vilarinho, K.R., Queiroz, P.R., Simões, K.C.C., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V.168
- 124 - MOSCAS-BRANCAS DE EXPRESSÃO ECONÔMICA COM REFERÊNCIA AO BRASIL (Whiteflies of economic importance to Brazil)**
Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Aquino, Y.M., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V.169
- 125 - MOSCAS-BRANCAS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (Whiteflies of quarantine importance to Brazil)**
Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Aquino, Y.M., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V.170
- 126 - NEMATÓIDES DAS GALHAS, *Meloidogyne incognita*, UM IMPORTANTE PARASITA AFETANDO A RESISTÊNCIA DE CLONES DE BANANEIRA (Root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, an important parasite affecting the resistance of banana clones)**
Pinto, A.C.B.V., Borzuk, M., Sousa, A.I. de M., Tenente, R.C.V., Carrijo, O.A., Silva Neto, S.P. da171
- 127 - OCORRÊNCIA DA MOSCA NEGRA DOS CITROS, *Aleurocanthus woglumi* ASHBY (HEMIPTERA, ALEYRODIDAE), NA REGIÃO NORTE DO BRASIL (Occurrence of citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera, Aleyrodidae), in the North Region of Brazil)**
Queiroz, P.R., Vilarinho, K.R., Simões, K.C.C., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V.....172

128 - PATOGENICIDADE DE *Meloidogyne javanica* A DUAS ESPÉCIES DE *Pfaffia* (Pathogenicity of *Meloidogyne javanica* on two species of *Pfaffia*).

Mesquita, L.F.G., Cirotto, P.A.S., Silva, D.B., Carneiro, R.M.D.G.173

129 - PRAGAS DE EXPRESSÃO ECONÔMICA E QUARENTENÁRIA EM CRAVO ORNAMENTAL (*Dianthus caryophyllus*) (Important economic and quarantine pests in ornamental carnation (*Dianthus caryophyllus*))

Silva, S.F., Vilarinho, K.R., Aquino, Y.M., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V.174

130 - PRAGAS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA NA CULTURA DA SOJA (*Glycine max* (L.) MERRILL) (Important quarantine pests to soybean crops (*Glycine max* (L.) Merrill))

Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Aquino, Y.M., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V.175

131 - QUALIDADE SANITÁRIA DE GERMOPLASMA DE FEIJÃO E SOJA EM CONDIÇÕES DE PRÉ E PÓS ARMAZENAMENTO A LONGO PRAZO, AVALIADA POR MÉTODOS CONVENCIONAIS E BIO-PCR (Sanitary quality of bean and soybean germplasm at the beginning of the storage and under long-term storage conditions, evaluated by conventional methodology and Bio-PCR)

Batista, C.A., Ramos, V.R., Melo, L.A., Santos, J.P., Wetzel, M.M.V.S., Marques, A.S.A.176

132 - 30 ANOS DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA E AS INTERCEPTAÇÕES DE VÍRUS EM GERMOPLASMA VEGETAL PELO LABORATÓRIO DE QUARENTENA (30 years of Embrapa Genetic Resources and Biotechnology and the interceptions of viruses in plant germplasm by the Quarantine Laboratory)

Silva, R.D.C., Marinho, V.L.A., Batista, M. de F.177

133 - USO DA TÉCNICA DE CRIOPRESERVAÇÃO PARA ESPÉCIES DE NEMATÓIDES DO GÊNERO *Ditylenchus* (Use of the criopreservation technique of nematode species of the genus *Ditylenchus*)

Neiva, L. de F., Prates, M., Martins, I., Tenente, R.C.V.178

134 - VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Aleurodicus dispersus* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) (RUSSELL, 1965) EM CABO VERDE (Genetic variability of *Aleurodicus dispersus* (Hemiptera, Aleyrodidae) (Russell, 1965) in Cape Verde)

Monteiro, A.H.R.R., Queiroz, P.R., Simões, K.C.C., Vilarinho, K.R., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V.179

135 - AVALIAÇÃO DA BIPARTIÇÃO COMO ALTERNATIVA PARA MELHORAR OS ÍNDICES DE GESTAÇÃO NA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EQUÍNOS (Evaluation of embryo splitting as an alternative to improve gestation indices from embryo transfer in horses)

Silveira, L.L., Souza, R.V., Melo, N.S.S., Pezzini, T.G., Pimentel, C.M., Rumpf, R..... 183

136 - CONGELAMENTO E ESTOQUE DE MEIOS PRONTOS PARA USO: A ROTINA SIMPLIFICADA DA PIV DE EMBRÕES BOVINOS (Freezing and stock of ready to use medium: the simplified ivp routine of bovine embryos)

Corrêa, G.A., Brandão, D.O., Pereira, D.C., Dode, M.A.N., Rumpf, R..... 184

137 - DETECÇÃO DA EXPRESSÃO DE RNA MENSAGEIRO (mRNA) *IMPRINTED* EM CÉLULAS DO CUMULUS, FIBROBLASTOS, PLACENTA E EMBRIÕES BOVINOS (Detection of *imprinted* mRNA expression in cumulus cells, fibroblasts, placenta and bovine embryos)

Avila, F.F., Melo, E.O., Mundim, T.C.D., Pereira, D.C., Iguma, L.T., Rumpf, R., Franco, M.M..... 185

138 - EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE FSH EM VACAS DOADORAS DE OVÓCITOS PARA A TRANSFERÊNCIA NUCLEAR USANDO FIBROBLASTOS DA ORELHA DE BOVINO JUNQUEIRA (Effects of FSH administration in oocyte donor cows for nuclear transfer using ear Skin fibroblasts of Brazilian creole's breed)

Iguma, L.T., Pivato, I., Câmara, J.U., Damato, J., Ramiro, E., Antônio, T., Pereira, D.C., Corrêa, G.A., Sousa, R.V., Franco, M.M., Rumpf, R. 186

139 - PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS POR INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZÓIDE LIOFILIZADO. RESULTADOS PRELIMINARES (Bovine embryo production by intracytoplasmic lyophilized sperm injection. Preliminary results)

Martins, C.F., Dode, M.A. N., Pereira, D.C., Correa, G.A., Rumpf, R. 187

140 - VITORIOSA DA EMBRAPA – PRIMEIRO CLONE DO CLONE DA AMÉRICA LATINA (Vitoriosa da Embrapa – The first clone of the clone of Latin America)

Iguma, L.T., Pivato, I., Melo, L.F., Pereira, D.C., Machado, G.M., Moscardine, A.R.C., Grattapaglia, D., Ferreira, M.E., Paludo, G.R., Reis Jr., J.L., Franco, M.M., Borges, J.R.J., Rumpf, R. 188

141 - USO DE LOCI MICROSSATÉLITES NA CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS DE *Ovis aries* NO BRASIL (Molecular characterization of *Ovis aries* genetics resources in Brazil by microsatellite markers)

Silvério, V.C., Paiva, S.R., Faria, D.A., Paixão, D.M., Sollero, B.P., McManus, C., Egito, A.A., Dergam, J.A., Guimarães, S.E.F, Castro, S.R., Albuquerque, M.S.M., Mariante, A.S. 189

Biologia Celular

001- ANÁLISE DE ASPECTOS REPRODUTIVOS DA F1 DE PLANTAS TETRAPLÓIDES ARTIFICIAIS DE *Brachiaria brizantha* (POACEAE) (Analysis of reproductive aspects of the F1 of artificial tetraploid *Brachiaria brizantha* (Poaceae))

Nóbrega, J.M.¹, Carneiro, V.T.C.², Araújo, A.C.G.²

Plantas do gênero *Brachiaria* possuem grande importância econômica como forrageiras nos países tropicais. A maioria das espécies cultivadas de *Brachiaria* reproduz-se por apomixia, uma forma de reprodução assexuada que, em Poaceae, está diretamente associada à poliploidia, enquanto a sexual, à diploidia. O melhoramento genético de *Brachiaria* foi incrementado com o uso de plantas tetraplóides artificiais, sexuais de *B. ruziziensis*. Visando aumentar a variabilidade e buscar qualidades agronômicas presentes na espécie, foram obtidas plantas tetraplóides artificiais de *B. brizantha*. Para avaliar o potencial uso de *B. brizantha* tetraplóide, sexual em programas de melhoramento e para estudos sobre a herança da apomixia, foi obtida progênie (F1) das plantas tetraplóides artificiais e análises dos aspectos reprodutivos destas plantas estão sendo conduzidas. A partir da tetraplóide artificial C14, obtivemos progênie por autopolinização (plantas 1, 4, 9 e 12) e por polinização aberta (plantas 7, 8, 10, 11, 13-20). F1 das tetraplóides artificiais C31, C41, C42, C43, C48 foram obtidas após polinização aberta e gentilmente cedidas por C. B. do Valle da Embrapa Gado de Corte. O número de cromossomos na F1 foi determinado através de análises citogenéticas de células do meristema radicular. A tetraploidia ($2n=4x=36$) foi confirmada nas plantas 12 e 14, e nas progênies F1 de C31, C41, C42, C43 e C48, triploidia ($2n=3x=27$) nas plantas 1, 4, 7-11, 13, 15, 17-20 e a diploidia ($2n=2x=18$) na planta 16. O tipo de saco embrionário presente nos ovários das plantas 1, 4, 7, 10, 13, 14 e da F1 de C41, C42, C43 e C48 foi observado em ovários fixados e clareados em metilsalicilato em microscopia de contraste diferencial de interferência. A presença de sacos embrionários morfológicamente similares ao tipo Polygonum foi confirmada nas plantas 1, 4, 7 e 10 e na F1 de C43 e C48. Sacos embrionários do tipo Polygonum e do tipo Panicum foram observados em um mesmo ovário nas plantas S13 e S14, na F1 de C41 e C42, obtidas através de polinização aberta. A fertilidade foi estimada baseada na razão entre o número de cariopses cheias e o número de pistilos identificados. Esses pistilos foram isolados por 10 dias após antese, autopolinização e polinização com *B. brizantha* tetraplóide, apomítica. Apesar do baixo número de cariopses cheias obtidas, os resultados indicam auto-compatibilidade e compatibilidade intraespecífica em algumas plantas.

¹Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB, PIBIC/CNPq

²Biologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

002 - ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DE *Baccharis dracunculifolia* (Analysis of reproductive development of *Baccharis dracunculifolia*)

Rocha, J.A.¹, Falcão, R.², Cruz, D.R.O.³, Araújo, A.C.G.⁴, Dusi, D.M.A.⁵

A família Asteraceae é uma das maiores famílias das angiospermas com cerca de 1100 gêneros e 25.000 espécies, muitas delas com reprodução apomítica, ou seja, reprodução assexuada por de sementes. *Baccharis dracunculifolia* é uma espécie da família Asteraceae, arbustiva, dióica, com flores reunidas em capítulos. Cada flor feminina possui um ovário ínfero, unilocular, com óvulo basal. Apesar de nesta espécie as sementes serem produzidas após a fertilização, em um indivíduo de flores pistiladas pertencente a uma população de *B. dracunculifolia* ocorrente em vegetação ruderal, foram observados desenvolvimento de frutos e início da embriogênese sem fertilização. Para verificar os aspectos reprodutivos que levam à formação de embrião sem fertilização, foi iniciado um trabalho de caracterização morfológica do desenvolvimento do óvulo deste indivíduo. Foram encontrados sacos embrionários com oito núcleos como no tipo Polygonum e embriões no estágio globular foram observados em capítulos após a antese. Não havia indícios de aposporia ou embriões adventícia. No contexto deste estudo, o objetivo deste trabalho é verificar se os sacos embrionários encontrados são de natureza meiótica ou diplospórica, e até que estágio o embrião se desenvolve normalmente. Assim, neste trabalho foram observados os aspectos de desenvolvimento do óvulo na fase de meiose e o desenvolvimento do embrião. Foram utilizadas flores de capítulos antes e após antese, de inflorescências não polinizadas e fixadas em FAA fornecidas pelo Dr. Goldenberg (UFPR). O material foi preparado segundo as técnicas de clareamento e de secções histológicas. Foram observadas tétrades morfológicamente bem formadas indicando que a meiose foi completa. Na região micropilar, embriões em diferentes estágios de desenvolvimento foram observados em ovários clareados após a abertura da flor. A observação de secções de ovários maduros confirmou a ausência de embriões adventícios. A ausência de indicativos de apomixia, a existência de tétrades morfológicamente bem formadas e a estrutura do saco embrionário maduro, indicam que a os embriões observados são provavelmente originados da divisão partenogenética de oosferas reduzidas.

¹Eng. Florestal, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

²Bióloga, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³Bióloga, B.Sc., Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

003 - DESENVOLVIMENTO DE UM PROTOCOLO PARA REGENERAÇÃO DE PLANTAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) (Development of a regeneration protocol of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants)

Albino, M.M.C.¹, Vianna, G.R.², Aragão, F.J.L.²

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma espécie pertencente à família Leguminosae, sendo amplamente utilizado como alimento em países da América Latina, África e Ásia, como uma das principais fontes de proteínas e carboidratos, principalmente para populações de baixa renda. O Brasil é um dos maiores produtores mundiais, porém ocorrem muitas perdas na produção, devido a diversos problemas, como as doenças causadas por fungos, vírus, competição com plantas daninhas e estresse hídrico. Portanto, faz-se necessário a introdução de genes de interesse agrônômico no feijoeiro, com o objetivo de amenizar tais problemas. Neste contexto, a introdução de genes por meio da engenharia genética torna-se uma opção viável. Porém, a falta de um sistema eficiente de regeneração continua sendo a principal causa da baixa taxa de transformação genética desta espécie e isso se torna especialmente problemático, se o objetivo é a obtenção de um evento elite. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo de regeneração eficaz para o feijoeiro o que pode auxiliar nos trabalhos de transformação. Para tanto, tecidos de embriões zigóticos maduros foram cultivados em meio básico MS, suplementado com 2 % de sacarose e diferentes combinações de AIA e TDZ, nas seguintes concentrações: 0,00; 0,25; 0,5; 0,75 mg/L, na indução da formação de gemas. Para induzir brotações, foi utilizado BAP (Benzil aminopurina) na concentração de 1 mg/L, os brotos obtidos foram transferidos para meio básico sem reguladores de crescimento para o desenvolvimento da parte aérea e enraizamento. O tratamento de tecidos basais com 0,25 mg/L de AIA e 0,5 mg/L de TDZ promoveram organogênese somática direta em alta frequência. As plantas desenvolvidas foram aclimatadas e se mostraram fenotipicamente normais. Foram realizados estudos anatômicos nos tecidos nos diferentes estágios objetivando determinar a origem dos tecidos organogênicos.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

004 - OBTENÇÃO DE MUDAS CLONAIS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) VIA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA (Clonal propagation of coffee (*Coffea arabica* L.) through somatic embryogenesis)

Pereira, A.J.P.¹, Junqueira, C.S.², Melo, R.I.S.³, Silva, A.P.D.⁴, Mundim, D.A.⁵, Teixeira, J.B.⁶

O uso de variedades de *Coffea arabica* geneticamente estáveis, embora tenha contribuído para se atingir um patamar elevado de produtividade, limita as possibilidades de exploração da variabilidade genética existente, sobretudo no que se refere ao potencial representado pela heterozigose em plantas híbridas. A exploração da heterozigose, por meio de cruzamentos inter-varietais e inter-específicos, depende da disponibilidade de uma metodologia de multiplicação vegetativa. Esta metodologia é essencial, tanto para a multiplicação do material genético para os experimentos de avaliação e seleção de clones em condições de campo quanto para plantios comerciais em larga escala das variedades híbridas após o seu lançamento. Visando revisar a metodologia de clonagem de café via embriogênese somática, experimentos foram conduzidos, nos quais foram utilizadas plantas matrizes de vários genótipos, cultivadas em casa de vegetação. Folhas expandidas foram desinfestadas em álcool a 70% por 1-3 minutos, seguido de hipoclorito de sódio a 2,4% por 10 minutos e lavadas três vezes com água estéril. Explantes de 0,5 x 0,5 cm aproximadamente foram inoculados em placas de Petri contendo 20 ml do meio básico de MS a 50%, acrescido de 4,9 mM de IBA, 9,8 mM de 2-iP e 20 mM de 2,4-D. Após 30 dias, os explantes foram transferidos para placas contendo o mesmo meio fresco, com redução do 2,4-D para 10 mM, onde permaneceram por mais 90 a 120 dias até o aparecimento dos setores embriogênicos, quando foi feita a avaliação final. A taxa de formação de calos primários foi próxima de 100% para a maioria dos genótipos, enquanto a taxa de formação de setores embriogênicos foi de 8,3; 36,8; 41,9; 100 e 84,3%, respectivamente para 'Mundo Novo', 'Icatu Amarelo', 'Acaia Cerrado', 'Catuaí Vermelho' e 'Rubi'. Os setores embriogênicos foram isolados e diferenciados em meio de regeneração de MS a 50%, acrescido de 1,3 mM de ANA e 8,8 mM de BAP. A taxa de regeneração foi de 71,5%. Os embriões foram transferidos para maturação e germinação em meio de MS a 50%, acrescido de 1,1 mM de BAP e 2,6 mM de AIA. Após dois meses, os embriões foram transferidos para meio de crescimento em magenta, constituído do meio básico de DKW a 20%, acrescido de 1,3 mM de BAP. Com mais um a dois meses de cultivo, as plântulas foram transferidas para casa de vegetação para aclimação.

¹Eng. Biotec., graduanda, Escola Superior Agrária de Bragança, Portugal.

²Eng. Agr., M.Sc., Universidade Federal de Viçosa-UFV /Café

³Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB /Café

⁴Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB/IBICT.

⁵Técnico de Nível Médio, Consórcio Brasileiro de Pesquisa de Café (Café)

⁶Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

005 - OTIMIZAÇÃO DE MEIO PARA A PROPAGAÇÃO IN VITRO DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *Arachis* VIA CULTURA DE ÁPICES CAULINARES (Medium optimization for *in vitro* propagation of interspecific *Arachis* hybrids through shoot-apex culture)

Santos, R.F.¹, Silva Filho, J.G.², Torres, A.C.³, Fávero, A.P.⁴, Valls, J.F.M.⁴

O gênero *Arachis* tem 69 espécies descritas, sendo *A. hypogaea* comumente cultivada para produção de grãos. Espécies silvestres do gênero tem-se caracterizado como fontes alternativas para introgressão de genes de resistência a doenças fúngicas em *A. hypogaea*. A baixa quantidade de sementes obtida dessas plantas cultivadas em telado faz com que a multiplicação e preservação de seus genótipos por meio de técnicas de micropropagação seja fundamental para a continuidade do programa de melhoramento genético. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de ápices caulinares sob diferentes concentrações de cinetina. Indivíduos da progênie oriunda do cruzamento *A. hypogaea* subsp. *fastigiata* var. *fastigiata* cv. BR-1 x [*A. ipaënsis* KGPScS 30076 x *A. duranensis* VNvEv 14167]^c, desenvolvida em casa de vegetação, foram usados como fonte de explantes. As plantas foram pulverizadas com Benlat (2 g/L) e Distreptine (200 mg/L). Ápices caulinares com 25 mm de comprimento foram coletados e desinfestados em solução de 0,6% de NaClO (pH 8,0), com 3 gotas de Tween 20 por 100ml de solução, por 25 minutos sob vácuo, seguido de uma lavagem com água destilada autoclavada. Após, explantes de, aproximadamente, 600 micra de comprimento foram excisados e inoculados nos respectivos meios de cultura. O meio básico de cultura usado foi composto de macro e micronutrientes MS, 3% de sacarose, 0,7% de ágar e em mg/L: i-inositol 100; tiamina.HCl 1,0; piridoxina.HCl 0,5; ácido nicotínico 0,5; glicina, 2,0. A esse meio foram adicionadas, respectivamente, cinetina (0,0;1,0;2,0;4,0 mg/L). O pH dos meios foi ajustado a 5,7 ±0,1. As culturas foram mantidas em câmara de crescimento a 27°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 62 mmol.m⁻².s⁻¹. Após 60 dias os propágulos foram repicados para meio de mesma composição. Os dados foram coletados 90 dias após a inoculação. Dos explantes inoculados, 60% sobreviveram. A análise dos resultados mostrou o efeito benéfico da cinetina no desenvolvimento dos ápices caulinares. Maior comprimento dos propágulos e massa fresca de parte aérea foram obtidos em meio suplementado com 4mg/L de cinetina. Os propágulos foram enraizados em meio básico com a concentração salina reduzida à metade.

¹Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB/CNPq

²Eng. Agr., B.Sc., Embrapa Hortaliças

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Biologia Molecular

006 - AMPLIFICAÇÃO DE SEQUÊNCIAS GÊNICAS ENVOLVIDAS NA REPRODUÇÃO DE *Brachiaria brizantha* POR PCR INVERSA (Amplification of gene sequences involved in *Brachiaria brizantha* reproduction by inverse PCR)

Guimarães, L.A.¹, Silveira, E.D.², Carneiro, V.T.C.³

A apomixia é o modo de reprodução assexual por sementes. O processo ocorre no óvulo, na parte feminina da flor. No desenvolvimento apomítico apospórico, o gametófito feminino é gerado sem a redução meiótica e o embrião é formado sem ocorrer fecundação da oosfera, gerando uma planta idêntica à planta mãe. Para a compreensão do mecanismo da apomixia e a sua relação com a reprodução sexual, a expressão gênica em ovários de plantas apomíticas e sexuais foi comparada por *differential display*. Assim, seqüências expressas diferencialmente em ovários de *B. brizantha* apomítica e sexual foram identificadas, isoladas, clonadas e avaliadas por northern reverso. Dentre elas estão os clones 20 e 10. O clone 20 está relacionado com a megasporogênese em ovários de plantas apomíticas e apresenta identidade com a superfamília de exonuclease RecB, que está envolvida na replicação, recombinação e reparação do DNA. Já o clone 10, para o qual não foi encontrada homologia, tem expressão diferencial na megasporogênese e similar na megagametogênese nas plantas sexuais e apomíticas. Com o objetivo de obter as seqüências gênicas completas desses fragmentos, foi utilizada a técnica de PCR inversa. Para tanto, foram desenhados, a partir da região já conhecida, três primers para o clone 20 e dois para o clone 10. O DNA genômico foi digerido com diferentes enzimas de restrição, que não possuíam sítios na região conhecida do fragmento. No caso do clone 20, foram utilizadas as enzimas *EcoRI* e a *SpeI* e para o clone 10, *HindIII*. Os fragmentos obtidos na digestão foram ligados para formar DNA's circulares de diferentes tamanhos, que foram utilizados na reação de PCR inversa. Os produtos da PCR foram isolados e clonados no vetor pCR 2.1. Os clones gerados foram purificados e seqüenciados. As seqüências obtidas estão sendo analisadas em bancos genômicos. Experimentos futuros deverão ser realizados para validar os resultados já obtidos.

Apoio financeiro: Embrapa, CNPq

¹Bióloga, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

²Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

007 - ANÁLISE COMPARATIVA DE PROTOCOLOS DE REAÇÕES DE SEQUENCIAMENTO E PURIFICAÇÕES DE DNA (Comparative analysis of the sequencing reaction protocols and DNA purification)

Labuto, L.B.D.¹, Borges Neto, C.R.², Castro, A.S.³, Oliveira, E.M.⁴, Sousa, Z.A.R.⁵, Rocha, S.M.⁶

A Biologia Molecular conta hoje com diversas técnicas que possibilitam o estudo do genoma das espécies. É possível estudar os genes individualmente e/ou utilizar metodologias de larga escala para avaliar grandes regiões do genoma. Para isso, é necessária a construção de bibliotecas genômicas, cuja extensão é determinada tanto pelo tamanho do fragmento clonado quanto do genoma em estudo. A estratégia básica na construção de bibliotecas é minimizar o número de clones necessários, através da clonagem de fragmentos de DNA de maior tamanho possível. Quanto maior o inserto clonado, menor o número de clones necessários para representar o genoma. Vetores BAC (*Bacteria Artificial Chromosomes*), cromossomos artificiais de bactéria, suportam a inserção de fragmentos de DNA longos, de até 250M bases. Algumas espécies já estão sendo mapeadas a partir da clonagem em vetores do tipo BAC. Isso implica no desenvolvimento de protocolos específicos, adequados aos objetivos de cada projeto. Esse trabalho consiste na análise e comparação dos resultados obtidos, a partir de dois protocolos-padrão, indicados para o preparo de reação de sequenciamento e purificação do DNA, provenientes de bibliotecas de BACs: pTARBAC1.3 (*Bos taurus*), e pBAC/oriV, (*Eucalyptus*). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e Teste de Tukey. A qualidade das seqüências foi processada através do *software* PHRED, parâmetros 20 e 30. Foram testados quatro tratamentos diferentes. Cada tratamento foi seqüenciado tanto com o *primer* T7_direto, quanto com o *primer* SP6_reverso. No total foram analisadas 768 amostras. O protocolo-padrão gerou resultados estatisticamente melhores para os dois *primers*. Contudo, o *primer* SP6 apresentou resultados numericamente melhores no tratamento cuja reação foi preparada conforme o protocolo de pBAC/oriV, seguido de purificação conforme o protocolo pTARBAC1.3 (que é economicamente mais interessante, pois possibilita a redução na quantidade de *primer* utilizado, uma vez que a concentração do *primer* utilizada no preparo da reação é, aproximadamente, 6 vezes menor que aquela utilizada no protocolo-padrão adotado para reações com BAC pTARBAC1.3.

¹Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Eng Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Farmácia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁴Eng. Florestal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Técnica do Projeto Genolyptos, Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Estudante Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

008 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE CLONES DE cDNA ISOLADOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DE *Brachiaria brizantha* POR HIBRIDIZAÇÃO IN SITU (Expression analysis of two cDNA clones isolated during the reproductive development of *Brachiaria brizantha* by in situ hybridization)

Alves, E.R.¹, Dusi, D.M.A.², Carneiro, V.T.C.³

Em *Brachiaria* a diferença entre plantas de reprodução sexual e apomítica pode ser visualizada dentro do óvulo através da morfologia dos sacos embrionários (SE). Plantas sexuais possuem SE do tipo Polygonum, enquanto nas plantas apomíticas os SE são do tipo Panicum. Esta diferença é resultado da expressão diferencial de genes durante o desenvolvimento do óvulo. Seqüências de cDNA de ovários de plantas sexuais e apomíticas de *B. brizantha* foram isoladas, clonadas e, por “reverse northern blot”, determinadas aquelas específicas da megasporogênese e megagametogênese. As seqüências dos clones 10 e 30 apresentaram maior expressão em ovários no estágio de megasporogênese em plantas apomíticas. Neste trabalho, objetivamos por hibridização in situ, localizar a expressão destes clones durante o desenvolvimento de ovários de plantas apomíticas e sexuais. Para síntese das sondas sense e antisense de mRNA, os plasmídeos (pGEM-T Easy vector System I) contendo as seqüências 10 e 30 foram linearizados por digestão com *Nco I* e *Spe I*, as sondas sintetizadas com SP6 e T7 polimerase e marcadas com digoxigenina. Paralelamente, pistilos de plantas sexuais e apomíticas em diferentes estágios de desenvolvimento foram coletados, fixados, incluídos e seccionados. As secções foram submetidas à hibridização “overnight” à 42°C, lavadas e incubadas com anti-digoxigenina AP. Em seguida, as secções foram lavadas e incubadas em solução contendo BCIP e NBT. Após enxágües as lâminas foram montadas e fotodocumentadas. Testes com “acridine orange” para verificar a preservação de RNA foram realizados antes das hibridizações. As sondas sense não hibridizaram em nenhum estágio de desenvolvimento tanto em ovários de plantas apomíticas quanto de sexuais. A sonda 10 hibridizou em todos os tecidos de todos os estágios de desenvolvimento do ovário, exceto no início da megasporogênese, em ovários de plantas sexuais e apomíticas. Nas hibridizações feitas com a sonda 30 a marcação foi detectada apenas no óvulo em megagametogênese e se mostrou mais acentuada no aparato da oosfera. Outras hibridizações estão sendo realizadas para validar os resultados descritos.

Apoio financeiro: Embrapa, Capes e CNPq

¹Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

009 - ANÁLISE DE RESTRIÇÃO DO DNA DE ISOLADOS TEMPORAIS DE *Erinnyis ello* Granulovirus COM A ENZIMA *Eco* RI (Analysis of *Erinnyis ello* Granulovirus seasonal isolates by viral DNA restriction with *Eco* RI)

Costa, N.R.¹, Ferreira, B.C.¹, Castro, M.E.B.², Souza, M.L.²

Baculoviridae representa uma importante família de vírus entomopatogênicos, que infecta principalmente representantes da ordem Lepidoptera. Os baculovírus são compostos por dois gêneros diferenciados pelo tamanho de seus corpos de oclusão: *Nucleopolyhedrovirus* (NPVs) e *Granulovirus* (GVs). São vírus dsDNA que contém nucleocapsídeos em forma de bastão envelopados por uma membrana e ocluídos em uma matriz protéica. Os granulovírus produzem oclusões ovais (0.16-0.30 µm X 0.30-0.50 µm), chamado grânulos, que contém geralmente um vírion por corpo de oclusão. O maior componente dos grânulos é uma proteína de cerca de 29 Kda, chamada granulina, que permite a persistência do vírus no ambiente. Um bioinseticida denominado baculovirus *Erinnyis* (EeGV), patogênico ao mandarová da mandioca, foi usado para controle desta praga no Sul do Brasil a partir da década de 80. Neste trabalho, é feita uma análise comparativa do perfil de restrição do DNA de isolados de *Erinnyis ello* Granulovirus (EeGV) coletados em culturas de mandioca na região de Itajaí/Jaguruna (SC) nos anos de 1986, 1990, 1994, 1998, 1999 e 2000. Inicialmente, os grânulos foram purificados das larvas através de ultracentrifugação em gradiente de sacarose 1,17 a 1,26 g/ml e em seguida, o DNA viral foi extraído através de ciclos de fenol e clorofórmio. Após digestão do DNA com a enzima *Eco* RI foi feita análise comparativa dos perfis de restrição dos isolados virais por eletroforese em gel de agarose 0,8%. Um total de vinte e uma bandas molares foram observadas em todos isolados. Destaca-se a presença de uma banda submolar, com cerca 7,5 Kb, intensificada nos anos 1986, 1998 e 1999 e altamente reduzida nos anos 1990, 1994 e 2000. Isto indica um fluxo populacional no qual alguns genótipos virais são expressos diferentemente, tornando-se predominantes em anos distintos da aplicação do bioinseticida. Além disso, foi feita análise protéica dos grânulos por eletroforese em gel poliacrilamida-SDS na qual uma forte banda de 29 KDa foi observada em todos os isolados. Essa proteína foi identificada como granulina, devido ao peso molecular característico, e sua abundância na amostra.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

010 - ANÁLISES DE SEQÜÊNCIAS EXPRESSAS NO ESTÁGIO INFECTIVO DO NEMATÓIDE FORMADOR DE GALHAS *Meloidogyne incognita* (Sequences expressed in the infective stage of the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*)

Viana, A.A.B.¹, Fragoso, R.R.¹, Guimarães, L.M.², Batista, J.A.N.³, Paes, N.S.⁴, Grossi-de-Sá, M.F.⁵

O nematóide formador de galhas *Meloidogyne incognita* possui distribuição mundial e causa enormes perdas em diversas culturas agrícolas. O seu ciclo de vida compreende seis estágios de desenvolvimento (ovo, quatro juvenis e adultos). O juvenil 2 infectivo (J₂) penetra a raiz do hospedeiro combinando força mecânica e degradação enzimática, e estabelece a interação com o hospedeiro. Sob condições de parasitismo favoráveis, o J₂ se diferencia em um adulto fêmea apomítica e completa seu ciclo de vida depositando até 2000 ovos. As estratégias de controle utilizadas atualmente não são eficientes contra o *M. incognita*, portanto, uma ferramenta efetiva promissora para o controle de nematóides é a produção de plantas geneticamente modificadas expressando moléculas capazes de inibir o processo infectivo. Com o objetivo de identificar genes envolvidos na infectividade do nematóide, uma biblioteca de cDNAs foi construída a partir de RNAm de J₂ utilizando-se o kit Superscript Plasmid System for cDNA Synthesis and Cloning (Invitrogen). Além disso, uma biblioteca subtrativa envolvendo tanto o estágio J₂ como o de fêmeas está sendo produzida combinando-se as técnicas de RDA (Representational Difference Analysis) e SSH (Suppression Subtractive Hybridization). Essa estratégia tem como objetivo o aumento da representatividade de transcritos pouco expressos. Até o presente momento, a biblioteca de cDNAs de J₂ gerou 2880 seqüências válidas, que foram anotadas e organizadas em 166 *contigs* e 1357 *singlets*, incluindo também a distribuição funcional das ESTs em classes de ontologia gênica (G.O.). Adicionalmente, placas de micro/macroarranjos estão sendo produzidas com essas seqüências para posterior hibridização com sondas de RNA de diferentes estágios do desenvolvimento do *M. incognita*. Os dados obtidos contribuirão para a determinação do papel dos produtos gênicos envolvidos com o estabelecimento e a manutenção do parasitismo pelo nematóide.

Apoio: Embrapa, CNPq e CAPES.

¹Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

²Biomedicina, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

011 - CARACTERIZAÇÃO DE GENES CANDIDATOS À COORDENAÇÃO TRANSCRICIONAL NO PARÊNQUIMA DURANTE A MATURAÇÃO DO EMBRIÃO DE *Arabidopsis thaliana* (Characterization of candidate genes to coordinate transcription in the parenchyma of *Arabidopsis thaliana* during embryo maturation)

Guimarães, L.L.¹, Holanda, I.L. de.², Oliveira, L.D.², Lacerda, T.S.², Paiva, G.R. de.³

A aplicação do algoritmo *Tranesp* na base de dados *Regulon* (de Paiva, GR, 50° SBG) pré-selecionou 203 genes (g) candidatos (c) a reguladores (r) transcricionais do parênquima (p) hipocótilo-cotilédones na fase de maturação (emb) do embrião (e) de *Arabidopsis thaliana* (*pré-gcrpembe*). Genes *pré-gcrpembe* classe 3 ($x > 10$) (179 fatores transcricionais) mapearam nos cromossomos: Cr. 1 (60 genes, 22 clusters), Cr. 2 (38 genes, 10 clusters), Cr. 3 (37 genes, 8 clusters), Cr. 4 (25 genes, 10 clusters), Cr. 5 (43 genes, 17 clusters) e pertencem a distintas famílias gênicas. Análises de complexidade dos 67 clusters mostrou 37 digênicos, (11 homólogos), 15 trigênicos, (3 homólogos), 9 tetragênicos, 4 pentagênicos, 1 nonagênico (homólogo). A confirmação da seleção por *Tranesp* foi realizada por mensuração de RNA mensageiro por *microarray* (*TAIR*, *TAIR-Microarray Elements*) e *mpss* (*massively parallel signature sequencing - Arabidopsis MPSS Libraries*) e demonstrou que 97 *gcrpembe* (monogenes 34%) foram expressos. Dos 64 *pré-gcrpembe* monogenes, 20 genes (31%) têm expressão constitutiva e 24 genes (37%) apresentam expressão órgão-específica. Dos monogenes cuja expressão foi detectada 48% foram específicos à siliqua. Espectrometria de massa (MALDI-TOF) foi utilizada para estudar os peptideogramas de proteínas *gcrpembe* especificadas por monogenes nas sementes e no embrião de *A. thaliana*. A aplicação conjunta de *Tranesp/Athamap* sobre um conjunto de 46 genes (*gcrpembe*), selecionado por múltiplos critérios, identificou 8 genes reguladores transcricionais candidatos a atuar epistaticamente aos *gcrpembe*. Análises de bancos de mutantes demonstraram que 76% dos *pré-gcrpembe* apresentaram mutações insercionais disponíveis. Resultados permitiram o agrupamento de genes reguladores candidatos à coordenação da expressão de genes de reserva durante a maturação de sementes de plantas.

¹Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

012 - CARACTERIZAÇÃO DE GENES CANDIDATOS À REGULAÇÃO DA TRANSCRIÇÃO NO PARÊNQUIMA EXTERNO DOS ÓRGÃOS DE ESTOCAGEM DO EMBRIÃO DE *Arabidopsis thaliana* (Characterization of candidate genes to transcriptional regulators of the external parenchyma of storage organs of *Arabidopsis thaliana* embryos)

Lacerda, T.S.¹, Paiva, G. R. de²

Programas gênicos distintos podem regular a expressão de genes entre camadas do parênquima embrionário vegetal. Genes (g) candidatos (c) a reguladores (r) do parênquima (p) externo (e) cotiledonar (c) e hipocotilar (h) do embrião (e) de *Arabidopsis thaliana*, *gcrpechea*, foram selecionados no *Regulon*, por aplicação de *Tranesp* e agrupados em duas classes distintas: classe I ($3 < x < 5$; 119 genes) e classe II ($5 < x < 10$; 3 genes). Os *loci gcrpechea* mapearam nos cromossomos Cr.1 (49 genes; 40%); Cr.2 (23 genes; 19%); Cr.3 (20 genes; 16%); Cr.4 (9 genes; 8%) e Cr.5 (21 genes; 17%), e 80% dos genes eram fatores transcricionais de distintas famílias gênicas (*AP2*, *B3*, *BZIP*, *C3H MYB*, *WRKY*, etc), enquanto os demais, envolvidos em outros processos de reconhecimento do DNA. Os *gcrpechea* estavam dispostos como 7 *clusters* homólogos (14%; 5 digênicos; 1 trigênico e 1 hexagênicos) e 42 *clusters* não-homólogos (85%). Monogenes *gcrpechea* (57 genes) distribuíram-se em 24 *clusters*, 2 dos quais eram *clusters* monogênicos homólogos. Testes para comprovar a predição consequente do índice *Tranesp* foram aplicados aos *gcrpechea* por detecção de RNAm via *mpss* (*massively parallel signature sequencing, Arabidopsis MPSS libraries*) e via *microarray* (*TAIR-Microarray Elements*) ou por peptideogramas produzidos por espectrometria de massa, e confirmaram a expressão de alguns dos genes selecionados na siliqua, ou na semente ou no embrião. Análises de bancos de mutantes demonstraram a existência de mutações em 84 *gcrpechea*, entre os quais 39 eram monogenes. A caracterização dos 122 *gcrpechea* permitiu a seleção de 42 genes como candidatos selecionados pelas variáveis: índice *tranesp*, padrão de expressão, perfil de família gênica, característica de cluster, disponibilidade de mutantes, e, quando disponível, fenótipo de mutante. Análise conjunta por *Tranesp* / *Athamap*, permitiram destes 42 genes identificar 7 genes reguladores transcricionais candidatos a ser epistáticos aos genes *gcrpechea*. Tomados em conjunto os *gcrpechea* e os 7 genes candidatos a reguladores dos mesmos, representam modelos experimentais para o estudo de vias reguladoras da expressão gênica e do desenvolvimento da camada externa do parênquima do embrião.

¹Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

013 - CARACTERIZAÇÃO DE GENES CANDIDATOS À REGULAÇÃO DA TRANSCRIÇÃO NO PARÊNQUIMA HIPOCOTILAR DO EMBRIÃO DE *Arabidopsis thaliana* (Characterization of candidates genes to transcriptional regulators of the embryonic hypocotyl parenchyma of *Arabidopsis thaliana*)

Oliveira, L.D.¹, Paiva, G. R. de²

Genes(g) candidatos(c) a reguladores(r) de baterias gênicas do parênquima (p) hipocotilar (h) do embrião (e) de *Arabidopsis thaliana* (a), *gcrphipe*, presentes no *Regulon* (de Paiva, GR, 50°SBG), foram selecionados por aplicação do algoritmo *Tranesp*: classe II ($5 < x < 10$) com 409 genes e classe III ($x > 10$) com 108 genes. Estudos de mapeamento de *loci* demonstraram que os *gcrphipe* localizaram-se nos cromossomos Cr.1 (146 genes, 28%), Cr.2 (96 genes, 18%), Cr.3 (80 genes 15%), Cr.4 (61 genes, 12%) e Cr.5 (134 genes, 26%), dos quais 281 genes (54%) pertencem a famílias de fatores transcricionais (ex. CH3 42 genes, MYB 31 genes, AP2 31 genes, MADS 26 genes, C2H2 com 22 genes) e os restantes parte de outras famílias especificadores de proteínas de reconhecimento do DNA. Estudos de caracterização de regiões cromossomais demonstraram que 212 genes distribuíram-se em clusters: Cr.1 (60 genes / 28%, 53 clusters) Cr.2 (41 genes, 19%, 33 clusters), Cr.3 (24 genes, 11%, 23 clusters), Cr.4 (24 genes, 11%, 22 cluster), Cr.5, (63 genes, 30%, 55 clusters). Estudos comparativos entre genes *gcrphipe* e as seqüências dos cinco cromossomos de *A. thaliana* demonstraram que 237 eram monogenes. Análises de expressão gênica via *mpss* (*massively parallel signature sequencing, Arabidopsis MPSS Libraries*) e via microarray (*TAIR-Microarray Elements*) demonstraram que 166 (70%) dos monogenes tiveram sua expressão mensurada, destes, 117 (70%) foram expressos na siliqua (84 constitutivos e 34 órgãos específico) como previsto. Análises de bancos de mutantes demonstraram a existência de mutações em 70% (364 genes) *gcrphipe*, entre os quais 48% (167 genes) eram monogenes. Adicionalmente, a análise conjunta, via *Tranesp / Athamap*, de 46 *gcrphipe* selecionados por análise multifatorial, permitiram identificar 7 genes reguladores transcricionais candidatos à função epistática aos genes *gcrphipe*, alguns dos quais apresentaram Expressão coordenada com genes especificadores moléculas de reserva sintetizadas e acumuladas no parênquima de reserva. Conjuntamente, os genes *crphipe* / 7 genes candidatos à epistasia dos *gcrphipe* permitem o estudo de redes gênicas ativas durante a diferenciação e em diferentes fases do desenvolvimento do parênquima hipocotilar do embrião vegetal.

¹Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

014 - CARACTERIZAÇÃO DE GENES CANDIDATOS A REGULADORES TRANSCRICIONAIS DO PARÊNQUIMA COTILEDONAR EMBRIONÁRIO DE *Arabidopsis thaliana* (Characterization of candidates genes to transcriptional regulators of the cotyledon parenchyma of *Arabidopsis thaliana*)

Holanda, I.L. de¹, Guimarães, L.L.², Paiva, G.R. de³

Genes (g) candidatos (c) a reguladores (r) do parênquima (p) cotiledonar (c) do embrião(e) de *Arabidopsis thaliana* (a) (*gcrpcea*) foram identificados a partir da aplicação do algoritmo *TranEsp* no banco de dados *Regulon*, composto por 2600 genes contendo fatores transcrpcionais, genes de regulação da topologia do DNA, polimerases, entre outros. Os *gcrpcea* agruparam-se em duas classes: classe II ($5 < \theta < 10$) (154 genes) e classe III ($\theta > 10$) (16 genes). Os *GCRPCEA* mapearam nos cromossomos: Cr. 1(59 genes;34%), Cr.2 (35 genes;20%), Cr.3 (25 genes;14%), Cr.4 (14 genes;8%) e Cr.5 (37 genes;21%). Estudos de caracterização dos *loci gcrpcea* classe II demonstraram a distribuição em 64 clusters, sendo 9 homólogos digênicos e 55 não homólogos (32 digênicos, 13 trigênicos, 6 tetragênicos, 3 pentagênicos e 1 hexagênico). Os *loci gcrpcea* classe III distribuíram-se em 8 clusters, dos quais 2 são homólogos digênicos e 6 são não homólogos(5 digênicos e 1 trigênico). Aproximadamente 81% dos genes *loci gcrpcea* pertenciam a distintas famílias de reguladores transcrpcionais. Análises de expressão gênica por técnica de *mpss* (*massively parallel signature sequencing, Arabidopsis MPSS Libraries*) e microarray (TAIR-*Microarray Elements*) demonstraram que dos 54 monogenes identificados na classell, 39 genes tiveram sua expressão detectada, sendo 30 (56%) expressos na silíqua, (18 constitutivos, 10 específicos e 2 exclusivos a silíqua). Na classe III, de 5 monogenes, 3 tiveram sua expressão detectada em silíqua (2 constitutivos e 1 específico). A aplicação conjunta de *Tranesp/Athamap* sobre uma população selecionada por critério multifatorial de 41 genes *gcrpcea*, permitiu identificar 8 novos genes candidatos à epistasia dos genes *gcrpcea*. Análises de banco de mutantes para *gcrpcea* demonstraram a presença de um total de 123 (72%) genes mutantes, entre os quais 48(66%) eram monogenes. Quando tomados em conjunto, os genes *gcrpcea*/ 8 genes candidatos à epistasia, permitem estudar redes reguladoras da expressão de genes e da biologia do parênquima cotiledonar do embrião de plantas.

¹ Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

² Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³ Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

015 - CARACTERIZAÇÃO GÊNICA DE PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS ISOLADOS DE HYLÍDIOS DA FAUNA BRASILEIRA - *Phyllomedusa* SPP. (Gene Characterization of Antimicrobial Peptides Isolated from Brazilian Hylids - *Phyllomedusa* spp.)

Barbosa, E.A.¹, Vinecky, F.², Brito, K.M.³, Prates, M.V.⁴, Bloch Jr., C.⁵, Andrade, A.C.⁶

A secreção glandular da pele de anfíbios se constitui numa rica fonte de moléculas com atividades biológicas variadas. Além de inúmeros peptídeos com atividade antimicrobiana, várias moléculas apresentando alta similaridade com hormônios e neuropeptídeos de mamíferos têm sido também encontrados. Postula-se que a produção deste arsenal de peptídeos antimicrobianos está diretamente envolvida na proteção dos anfíbios contra os mais diversos microrganismos (fungos, bactérias, etc), normalmente encontrados nos ambientes úmidos, característicos do seu habitat ecológico. Desta forma, esses peptídeos têm reconhecido potencial farmacológico e terapêutico, além de uso potencial na biotecnologia. Em geral, os peptídeos antimicrobianos, já isolados e caracterizados de anfíbios, são produzidos a partir da clivagem de precursores (prépró-proteínas), resultando em pequenas cadeias polipeptídicas de 10-50 resíduos de aminoácidos, os quais já foram agrupados e classificados em pelo menos 13 famílias peptídicas distintas. Análises *in silico* das seqüências nucleotídicas que codificam estas proteínas, isoladas de diferentes espécies de anfíbios, revelaram alta conservação na região N-terminal, onde estão contidas as seqüências do peptídeo sinal e da região precursora intermediária. Com base nestas observações, primers degenerados complementares às regiões conservadas foram desenhados e utilizados com sucesso em reações de 3'-RACE, no isolamento de cDNAs codificando vários destes peptídeos. Até o momento, vários genes da secreção glandular da pele de três espécies de *Phyllomedusa* (*Phyllomedusa distincta*, *P. rohdei* e *P. tarsius*) já foram isolados e caracterizados. Todas as seqüências obtidas foram depositadas numa base de dados específica, localizada no Laboratório de Bioinformática da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A partir dos genes clonados, a produção dos peptídeos em quantidades necessárias para a realização de bioensaios e caracterização funcional torna-se possível, utilizando-se a expressão heteróloga dessas seqüências. Isto determinará o espectro de atividade dos peptídeos, assim como determinará o seu uso potencial na biotecnologia.

¹Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

³Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

016 - CLONAGEM DE UM GENE DO TIPO OSMOTINA EM CACAU (*Theobroma cacao* L.) (Cloning of an osmotin-like gene from cocoa)

Ramos, A.R.¹, Gander, E.S.², Martins, N.F.³, Togawa, R.⁴, Marcellino, L.H.³

A síntese de proteínas tais como osmotina e taumatina em plantas é desencadeada por estresses abióticos e bióticos como ataque por patógenos. Até o momento 14 famílias destas proteínas foram descritas e muitos dos respectivos genes já foram clonados de diferentes fontes e caracterizados. A osmotina, um membro da família PR-5, é sintetizada em resposta ao ataque por fungos, estresse osmótico e de temperatura. Nós iniciamos a caracterização e isolamento de um gene deste tipo em cacau já que é provável que estudos visando a compreensão da expressão deste gene pode contribuir para a elucidação dos processos moleculares envolvidos na resistência contra *Crinipellis pernicioso*. Este basidiomiceto é o causador da Vassoura-de-Bruxa do cacau e responsável por grandes perdas na cacauicultura. O isolamento deste gene foi iniciado por PCR utilizando-se primers desenhados a partir de seqüências consenso de genes do tipo PR-5. Assim foi possível isolar e sequenciar um fragmento de 550 pb. Subseqüentemente utilizou-se a técnica de PCR inverso para a clonagem da extremidade 3' do gene. Análises comparativas com seqüências depositadas no "NCBI gene bank" (Swissprot database) mostraram alta similaridade (cerca de 75%) com genes do tipo taumatina e osmotina de diferentes plantas, e.g. morango, girassol e videira. Também foram encontrados 16 resíduos de cisteína conservados em outras proteínas da família PR-5. A seqüência deduzida de aminoácidos permitiu a construção de um modelo teórico preliminar da estrutura terciária desta proteína onde pode se identificar potenciais sítios envolvidos na atividade biológica.

Apoio: Capes, CNPq e Embrapa

¹Bióloga, doutoranda, Universidade Federal do Pará-UFGPA

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Analista de Sistema, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

017 - CLONAGEM E CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO GENE QUE CODIFICA UM INIBIDOR DE α -AMILASE DE *Phaseolus coccineus* E SEU POTENCIAL NO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ (*Hypothenemus hampei*)[Molecular cloning and characterization of a novel α -amylase inhibitor gene from *Phaseolus coccineus* and its potential on the control of coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*)]

Pereira, R.A.¹, Batista, J.A.N.², Oliveira Neto, O.B.³, Silva, M.C.M.⁴, Valença, A.⁵, Santos, L.L.S.⁶, Grossi-de-Sá, M.F.⁴

O Brasil é o principal produtor e exportador de café do mundo. Existem mais de 25 espécies de café, sendo *Coffea arabica* e *Coffea canephora* as principais espécies comercialmente produzidas. O *C. canephora* é utilizado principalmente na produção industrial do café solúvel, no entanto, é susceptível a broca-do-café, o que causa vários danos aos grãos, afetando seu sabor e seu valor nutricional, diminuindo o padrão de qualidade e conseqüentemente, reduzindo o valor comercial. O controle deste inseto praga depende da aplicação de inseticidas, os quais possuem baixa eficiência, além de ser tóxicos ao homem e ao meio ambiente. A broca-do-café no seu estágio larval possui α -amilases digestivas que são inibidas em até 80% por inibidores (aAIs) presentes em extratos de feijão selvagem *Phaseolus coccineus*. Neste contexto, o gene (669 pb) que codifica um inibidor de α -amilase, denominado aAI-Pc1 foi isolado de *P.coccineus* usando a técnica PCR. Este gene foi subclonado no vetor de expressão de planta e introduzido em tabaco (*Nicotiana tabacum*) via *Agrobacterium tumefaciens*. A expressão foi direcionada pelo promotor da fitohemaglutinina, uma proteína de reserva de semente de feijão. Os transformantes foram identificados por PCR e Westen blot, tendo se obtido um percentual de transformação em torno de 90%. A atividade inseticida da proteína recombinante foi testada em ensaio *in vitro* contra a α -amilase da broca-do-café, mostrando 65% de inibição, confirmando ser esta proteína um potente inibidor no controle desta praga. Ensaio *in vivo* estão sendo conduzidos com o objetivo de confirmar os resultados obtidos anteriormente.

¹Bióloga, doutoranda., Universidade de Brasília-UnB/CNPq

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Biólogo, M.Sc., Universidade de Caldas, Colômbia

⁶Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

018 - COMPARAÇÃO DE PROTOCOLOS DE REAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO, UTILIZANDO OS KITS ABI BIG DYE TERMINATOR E DYENAMIC ET TERMINATOR (Comparison of protocols of sequencing reaction, using kits abi big dye terminator and dyenamic et terminator)

Sousa, Z.A.R.¹, Oliveira, E.M.², Castro, A.S.³, Labuto, L.B.D.⁴, Borges Neto, C.R.⁵, Rocha, S.M.⁶

A técnica de sequenciamento é uma das mais importantes da biologia molecular, pois fornece muitas informações acerca dos genomas funcional e estrutural das diversas espécies, mas sua utilização é bastante restrita devido ao custo oneroso de seus reagentes, em especial os kits de sequenciamento, que são soluções contendo nucleotídeos livres, enzimas e nucleotídeos marcados (terminadores), usados na reação de sequenciamento. Atualmente o preço de um kit de sequenciamento, Applied Biosystems – ABI, Big Dye Terminator, é de US\$ 2.200,00. Em experimentos anteriores buscou-se reduzir a quantidade de Big Dye utilizado na reação, conseguindo reduzir de 2uL para 1uL, gerando uma grande economia deste reagente. Mesmo assim, são necessários ainda um constante aperfeiçoamento e diminuição de custos da técnica, que apesar de tudo ainda continua com valores elevados. Vislumbrou-se então a possibilidade de usar um outro kit que se encontra a um preço mais acessível no mercado da Amersham Biosciences, Dyenamic ET Terminator, a um preço de US\$ 1.700,00. Partiu-se então para testes de qualidade envolvendo os dois kits e seus respectivos tampões, “Sequencing Buffer” 5X da ABI e Acetato da Amersham com os seguintes tratamentos: 1) Big Dye + Tampão Acetato diluído, 2) Big Dye + Tampão Acetato concentrado, 3) Dyenamic + “Sequencing Buffer”, 4) Dyenamic + Tampão Acetato diluído, 5) Dyenamic + Tampão Acetato concentrado, 6) Dyenamic + “Sequencing Buffer”. Cada tratamento possuía 12 repetições, correspondente a uma fileira de uma placa formato 96. Foram utilizadas duas bibliotecas a saber: uma biblioteca de BAC (fragmentos maiores de DNA) e uma de plasmídeo (fragmentos menores). Como controle positivo todas as amostras foram previamente seqüenciadas com o tratamento padrão Big Dye + “Sequencing Buffer”. Observou-se que todas amostras da biblioteca BAC foram reprovadas segundo critérios de análise padrão (PHRED 20 e extensão mínima de 250 bases), mas as amostras da biblioteca de plasmídeo foram reprovadas somente as que pertenciam aos tratamentos com o tampão acetato, sendo que a qualidade das seqüências mostrou-se inversamente proporcional à concentração de acetato. Conclui-se que a troca do kit Big Dye pelo Dyenamic justifica-se, somente quando utilizado para sequenciamento de fragmentos de DNA pequenos (bibliotecas de CDNA, em geral) e com a utilização do “Sequencing Buffer”.

¹Técnica de Laboratório, Nível Médio, Projeto Genolyptus

²Eng. Florestal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³Farmácia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁴Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

⁵Eng Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Estudante Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

019 - CONSTRUÇÃO DE BACULOVIRUS RECOMBINANTE PARA EXPRESSÃO DE INIBIDOR ALPHA-AMILASE BIII ISOLADO DE CENTEIO (Construction of a recombinant baculovirus to express the BIII alpha-amylase inhibitor isolated from rye)

Martins, A.G.G.M.¹, Sihler, W.², Dias, S.C.³, Souza, M.L.⁴

O bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*) é uma das principais pragas da cultura do algodão desenvolvendo-se nos botões florais e nos frutos de seu hospedeiro. Recentemente um novo inibidor protéico denominado BIII foi isolado de sementes de centeio (*Secale cereale*) sendo descrito como tendo uma atividade inibitória de 90% contra extratos de intestino de bicudo. Dessa forma, o gene *bIII* apresenta potencial para o controle desse inseto e vem sendo objeto de estudos voltados à construção de plantas transgênicas. No presente trabalho, foi dado início a expressão, em sistema baculovirus, de um fragmento de 311pb deste gene codificando um peptídeo de 103 aminoácidos contendo motivos de interação da enzima. Após sua produção e purificação, o inibidor BIII deverá ser utilizado em estudos bioquímicos e na realização de bioensaios contra bicudo. O sistema de expressão Bac-to-Bac (Life Technologies) foi escolhido por permitir a produção de grandes quantidades de proteína em ambiente eucariótico. O gene *bIII* foi inicialmente clonado em vetor pFastBac HTa e transformado em células DH10Bac, que contém o genoma do vírus AcMNPV (*Autographa californica* nucleopolyhedrovirus). O DNA viral foi então extraído e utilizada a técnica de PCR para detecção do inserto. A presença do gene *bIII* foi confirmada em um total de seis colônias transformadas tendo os produtos de PCR tamanho de cerca de 300 pb. O DNA purificado foi cotransfectado em células sf9 para produção do vírus recombinante ocluso negativo. Análise dos vírus recombinantes obtidos encontra-se em andamento.

¹Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Biólogo, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

020 - CONSTRUÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES DO TIPO RGA PARA O MAPEAMENTO GENÉTICO DE *Arachis* SILVESTRE (Development of RGA markers for wild *Arachis* genetic mapping)

José, A.C.F.V.¹, Leal-Bertioli, S.C.², Bertioli, D.J.³, Guimarães, P.M.⁴

O amendoim, *Arachis hypogaea* L. é a terceira leguminosa mais consumida em todo mundo, possui alto teor protéico e baixo teor de gorduras saturadas. Embora a espécie apresente alta variabilidade morfológica, tem baixa diversidade genética, além de não possuir resistência a diversas pragas. As espécies silvestres e diplóides de *Arachis* são, por outro lado, geneticamente bem diversas e ricas em fontes de resistência. Genes de resistência possuem regiões conservadas (ex. NBS e LRR) para as quais pode-se desenhar “primers degenerados” que amplificam regiões análogas a genes de resistência (RGAs). Em algumas espécies, estes RGAs apresentam-se fortemente ligados a genes de resistência possibilitando o seu isolamento. Até o momento, foram isolados um total de 79 RGAs de parentes silvestres do amendoim cultivado. O objetivo deste trabalho é o de transformar os RGAs isolados de diferentes espécies de *Arachis* em marcadores moleculares a serem incluídos no mapa genético de *Arachis*, visando a identificação de loci associados a resistência a fungos foliares e ao nematóide das galhas. Para o desenvolvimento de marcadores moleculares baseados em RGAs foram utilizadas duas estratégias: RGAs como sondas em “Southern Blots” e desenvolvimento de “primers” de PCR, através de AFLP ancorado ou “Motif display”. A segunda estratégia combina as características das técnicas de AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), e S-SAP (Sequence-specific amplification polymorphism), utilizando um primer especialmente desenhado para um motivo de interesse (no caso o motivo kinase 2 presente em genes de resistência) e resolução dos produtos amplificados em gel de acrilamida corado com prata. Até o momento, utilizando ambas metodologias, identificou-se 11 RGAs polimórficos para as espécies *A stenosperma* e *A duranensis* (parentais em cruzamentos utilizados na construção do mapa genético de *Arachis*), que produziram 28 bandas diferenciadoras. Estes marcadores estão sendo mapeados na F2, visando sua inclusão no mapa genético. Esses RGAs, uma vez transformados em marcadores moleculares e incluídos em um mapa genético de *Arachis* sp., serão de grande utilidade no melhoramento assistido do amendoim.

¹ Bióloga, mestranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

⁴ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

021 - CONSTRUÇÃO DE UM VETOR PARA ESTUDO DO PROMOTOR DO GENE “OPAQUE-2-LIKE” DE MILHETO (Construction of a vector for functional studies of an opaque-2-like promoter from pearl millet)

Pires, M.V.¹, Ramos, A.R.², Gander, E.S.³, Marcellino, L.H.⁴

Opaque-2 é um fator de transcrição, primeiramente descrito em milho, e que controla a expressão de proteínas de reserva em sementes. Recentemente foi isolado em nosso laboratório um gene semelhante a opaque-2 em milheto (*o2mt*). Devido a grande importância de se obter promotores para utilização em programas de melhoramento de gramíneas, via transgenia, iniciamos a caracterização do promotor que controla a expressão do gene *o2mt*. Trata-se de um fragmento de 550 pb contendo alguns motivos importantes para a expressão específica como por exemplo: “PBF box” (motivo presente em promotores de zeínas, ao qual se ligam fatores de transcrição). Em uma primeira etapa estamos testando se este fragmento já é suficiente para a transcrição de um gene repórter em gramínea. O presente trabalho descreve a construção de um vetor contendo o promotor do gene *o2mt* controlando a expressão do gene reporter *gus*. Para tal, amplificou-se o fragmento do referido promotor utilizando-se primers específicos e contendo sítios para as enzimas *PstI* e *BamHI* nas extremidades 5' e 3'. Após a digestão com estas enzimas, o fragmento foi ligado ao vetor pBI 221 *PstI/BamHI* (contendo seqüências codificantes para o GUS), O plasmídeo resultante foi sequenciado e será utilizado para avaliação da expressão transiente em embriões de milheto via biobalística. Ensaio histoquímico serão utilizados para detectar a expressão do gene *gus*. Na próxima etapa será utilizado um fragmento maior contendo outros motivos potencialmente envolvidos na regulação da expressão. Esta construção também será utilizada em experimentos desenhados a esclarecer se o gene *o2mt* é auto-regulado.

Apoio: CNPq e Embrapa

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., doutoranda, Universidade Federal do Pará-UFGPA

³Biólogo, Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

022 - CONSTRUÇÃO DE UM VÍRUS RECOMBINANTE DO MUTANTE DE *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus*, vApAg CONTENDO A PROTEÍNA FLUORESCENTE GFP (Construction of a recombinant vApAg, an *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus* mutant harbouring the GFP fluorescent protein)

Soares, E. F.¹, Ribeiro, B.M.², Castro, M.E.B.³

O vírus *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus* (AgMNPV) pertence à família *Baculoviridae* e tem sido usado em larga escala como agente de controle biológico contra a lagarta-da-soja no Brasil. Durante a infecção por baculovirus, células podem entrar em apoptose, um tipo de auto-destruição programada, como um mecanismo de defesa do hospedeiro. Entretanto, esses vírus possuem genes que conseguem inibir apoptose para permitir uma infecção produtiva. Em AgMNPV, um gene inibidor de apoptose já foi sequenciado. Durante a construção de um AgMNPV recombinante, um mutante (vApAg) capaz de induzir apoptose em células de *Anticarsia gemmatalis* (UFL-AG-286) foi obtido. O gene inibidor de apoptose, *iap-3*, foi identificado e na sua sequência foi observada uma inserção de transposon de 2500pb. Em estudos de expressão transiente do gene *iap-3* de AgMNPV em células UFL-AG-286 infectadas com vApAg, um aumento na viabilidade foi detectada quando as células foram transfectadas com concentrações crescentes do plasmídeo contendo o gene *iap-3* “downstream” ao promotor de AgMNPV *ie-1*, indicando que esse gene possui uma atividade anti-apoptótica. No presente trabalho, um recombinante de vApAg contendo *gfp* (green fluorescent protein), um gene repórter, sob o controle do promotor *hsp70* foi construído com o propósito de contribuir na caracterização do gene *iap-3*. A linhagem celular derivada de *Trichoplusia ni* (Tn-5B1-4) foi usada para co-transfecção, mediada por lipossomos, do DNA de vApAg e do vetor DPHHUGFP que contém o gene *gfp*. As células foram observadas 7 dias pós-transfecção sob microscopia de fluorescência com luz UV (395nm). As células que apresentaram poliedros em seus núcleos e fluorescência verde foram centrifugadas e o sobrenadante foi utilizado para purificar o vírus recombinante por isolamento em placas de 96 poços em três rodadas. A expressão de GFP é bastante utilizada para visualização de infecções *in vitro* e *in vivo*. Portanto, o vírus recombinante obtido neste trabalho, vApAg contendo *gfp*, será utilizado na continuidade dos estudos comparativos do processo de infecção pelo mutante vApAg e pelo seu vírus selvagem AgMNPV.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

²Biólogo, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

023 - DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE SEQUÊNCIAS COM AFINIDADE PELA PROTEÍNA ROL A DE *Agrobacterium rhizogenes* (Functional properties determination of sequences with affinity to the Rol A protein of *Agrobacterium rhizogenes*)

Santos, D.B.M.¹, Carneiro, M.²

A *Agrobacterium rhizogenes* é uma bactéria comumente encontrada no solo, sendo um patógeno de várias plantas dicotiledôneas e algumas monocotiledôneas e gimnospermas. Quando em contato com um ferimento na planta, a bactéria adere à parede celular e, então, transfere um pequeno segmento de DNA para o núcleo da célula vegetal. Este DNA transferido (T-DNA), proveniente do plasmídeo pRi, contém, entre outros, genes bacterianos responsáveis por induzir a síntese de auxinas no interior das células vegetais e isso faz com que haja o desenvolvimento de raízes adventícias no local da infecção, a chamada síndrome de raiz em cabeleira (“hairy root syndrome”). Dos genes que compõem o T-DNA, o chamado *rolA*, quando introduzido sozinho na planta, resulta em sintomas como a formação de raízes, enrugamento foliar, atraso na floração e senescência, inflorescências condensadas, encurtamento de entrenós e crescimento radicular deficiente. Ensaios *in vitro* demonstraram que a proteína RolA possui afinidade pelo DNA de *Arabidopsis thaliana*, sugerindo que os distúrbios provocados por RolA podem ser resultados de sua interação com promotores celulares e da ativação ou repressão de genes a estes associados. Este trabalho tem como objetivo determinar a capacidade promotora, espacial e temporal, de três seqüências de DNA de *A. thaliana*, utilizando como repórter a região codificadora da enzima GUS (â-glucucosidase). Os genes quiméricos foram clonados, independentemente, no plasmídeo pBIN19 e introduzidos em *Agrobacterium tumefaciens* por eletroporação. As bactérias recombinantes foram utilizadas para infectar discos foliares de *Nicotiana tabacum* e botões florais de *A. thaliana*. A identificação dos transformantes será realizada por intermédio do cultivo dos explantes e das sementes geradas nos processos de transformação com agente seletivo canamicina. Uma vez obtidas, as plantas transformadas serão analisadas quanto à expressão da enzima GUS.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

024 - ESTRATÉGIA DE RNA INTERFERENTE PARA OBTENÇÃO DE PLANTAS GENETICAMENTE MODIFICADAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* MILL.) RESISTENTES A GEMINIVÍRUS (Strategy of interference RNA for obtaining genetically modified tomatoes resistant to geminiviruses)

Zimbres, B.Q.C.¹, Bonfim, K.², Santos, M.O.³, Aragão, F.J.L.⁴

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é uma das espécies cultivadas mais importantes para o Brasil. Seis milhões de hectares são cultivados anualmente para produção do fruto fresco e para a indústria de processamento. No ano de 1996, a produção brasileira de tomate industrial foi de aproximadamente 1,1 milhões de toneladas e uma produtividade média de 55 t/ha. A produção e o processamento do tomate envolve diferentes setores da atividade humana, gerando oportunidades de emprego direta e indiretamente. Nos últimos anos, a mosca branca, *Bemisia argentifolii*, invadiu muitas áreas agrícolas nas principais regiões produtoras no Brasil e os vírus transmitidos por esta mosca, geminivírus, tornaram-se uma das principais doenças que vem causando perdas significativas para a cultura. O aumento da ocorrência de diferentes estirpes do vírus demanda novas estratégias para o desenvolvimento de variedades resistentes. A proposta do presente trabalho é a construção, a partir das estirpes de geminivírus caracterizados no estado de Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte e no Distrito Federal, de vetores para transformação genética via *Agrobacterium* a partir da estratégia de RNA interferente (RNAi), para o desenvolvimento de novas variedades comerciais resistentes a geminivírus. Desta maneira, o gene da replicase viral (*rep*) foi escolhido para a construção do vetor de transformação uma vez que a proteína exerce uma função essencial no ciclo de infecção viral. Os vetores pC2300TRMV RNAi e pC3300TRMV RNAi foram construídos a partir de uma seqüência de 400 pb do gene *rep* do vírus TRMV clonado no plasmídeo pKANNIBAL e subclonado no plasmídeo pCAMBIA 2300 e 3300 que confere resistência ao antibiótico canamicina e ao herbicida PPT, respectivamente. Estes vetores foram introduzidos na linhagem LBA4404 de *A. tumefaciens*. Cotilédones com 8 dias após a germinação foram usados como explantes nas co-culturas com *Agrobacterium*. Brotos resistentes estão sendo selecionados em 100mg/L de canamicina e 0,3mg/L de PPT. As plantas selecionadas serão aclimatadas e mais tarde submetidas a testes de infecção. Os resultados obtidos com tomate poderão gerar tecnologia para desenvolvimento de uma estratégia geral que possa gerar plantas de várias espécies, como feijão, soja, etc., resistentes a vários vírus da família *Geminiviridae*.

¹Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

²Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB/CAPES

³Biólogo, Ph.D., Universidade Federal de Juiz de Fora-UFJF

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

025 - EVOLUÇÃO DO PROJETO ESTs DE UMA ESPÉCIE SILVESTRE DE *Arachis* (Further developments on the *Arachis* ESTs project)

Proite, K.¹, Leal-Bertioli, S.C.², Bertioli, D.J.³, Guimarães, P.M.⁴

O amendoim cultivado (*Arachis hypogaea*) é uma cultura importante entre as oleaginosas, sendo plantado em mais de 20 milhões de hectares nas áreas tropical e subtropical. As pragas e doenças são as principais causas da redução da produtividade e qualidade desta cultura. As espécies silvestres do gênero *Arachis* contêm várias características que podem ser incorporadas nas espécies cultivadas, tais como resistência às doenças e insetos. Até o momento, diversas estratégias tem sido empregadas para investigar a expressão de genes em plantas a fim de identificar genes de resistência candidatos (hibridização subtrativa, *microarrays* e *expressed sequence tags-ESTs*). Neste trabalho é abordada a estratégia de *ESTs*, utilizando-se três bibliotecas de cDNA de *Arachis stenosperma*. Esta é uma espécie silvestre diplóide de *Arachis*, a qual tem mostrado resistência aos nematóides endoparasitas *Meloidogyne arenaria* raça 1 e *M. javanica* raça 4, bem como aos fungos foliares, *Cercospora arachidicola* e *Cercosporidium personatum*. As bibliotecas foram construídas a partir de folhas não inoculadas e raízes não inoculadas e inoculadas com *Bradyrhizobium* sp. As primeiras seqüências geradas revelaram que alguns *ESTs* possuem alta homologia com compostos envolvidos com resistência em plantas tais como, fitoalexinas, proteínas relacionadas a resistências- *PR-proteins* e ainda com proteína RH3 da histona H3 de arroz, responsável nesta cultura, pela resistência ao gafanhoto marrom. Foram possíveis também, as identificações de vários microssatélites (*SSRs*) dentro das seqüências dos *ESTs*, que estão sendo transformados em marcadores microssatélites derivadados de *ESTs*. Apesar destes marcadores encontrados dentro das regiões transcritas do genoma serem potencialmente menos polimórficos que os encontrados em regiões não transcritas, sua conservação os torna mais transferível entre espécies. Isto aumenta seu valor dentro dos programas de melhoramento. Nossos primeiros resultados mostram que o banco de *ESTs* de *Arachis* será uma importante ferramenta nos estudos de sintenia e genômica comparativa com outros legumes, tal como *Lotus japonicus* e *Medicago truncatula*, e ainda para análises dos padrões de expressão gênica na espécie silvestre de *Arachis* sob diferentes estresses bióticos.

¹ Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

² Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

⁴ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

026 - EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS DE *Coffea canephora* NA INTERAÇÃO COM O NEMATÓIDE *Meloidogyne* spp. (Differential expression of proteins of *coffea canephora* in the interaction with the nematode *Meloidogyne* spp.)

Andrade, A.E.¹, Albuquerque, E.V.S.², Grossi-de-Sá, M.F.³, Carneiro, R.M.D.G.⁴, Mehta, A.³

Atualmente as pesquisas têm focado na caracterização funcional de proteínas codificadas por genes de resistência a diversos patógenos. Neste estudo, a expressão de proteínas durante a interação entre a planta de café resistente (*Coffea canephora*) e o patógeno (*Meloidogyne* spp) foi realizada em diferentes tempos após a infecção. Raízes de *Coffea canephora* foram infectadas com inóculos do nematóide na fase de juvenis (J2) com aproximadamente 1000 larvas por planta no total de 24 plantas. As raízes foram coletadas em um intervalo de tempo de 3, 6 e 10 dias após a infecção. Raízes não infectadas foram utilizadas como controle. As raízes foram lavadas com uma solução de água e hipoclorito de sódio a 10%; congeladas e armazenadas a -80°C. O material foi utilizado para extração de proteínas que foram submetidas a eletroforese bidimensional (2-DE). Os resultados obtidos através de 2-DE revelaram várias proteínas diferenciais nos diferentes tempos após a infecção quando os mapas foram comparados à condição controle. Na análise dos mapas de tempo 3, 5 proteínas diferenciais foram visualizadas. Enquanto que os mapas de tempo 6 e 10 revelaram 6 e 5 proteínas diferenciais, respectivamente. Tais proteínas deverão ser identificadas através de espectrometria de massa na tentativa de associá-las a resistência ao nematóide *Meloidogyne* spp, já que os mecanismos de defesa de tais plantas envolvem a expressão de proteínas específicas associadas ao reconhecimento do patógeno, que ativam uma variedade de outras proteínas responsáveis pela resistência.

¹Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

²Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

027 - GERAÇÃO DE EST'S DE OVÁRIOS DE *Brachiaria brizantha* SEXUAL E APOMÍTICA EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO (Generation of EST's of apomictic and sexual *Brachiaria brizantha*'s ovaries in different stages of development)

Silveira, E.D.¹, Arrais, L.², Carneiro, V.T.C.³

A apomixia é definida como modo de reprodução assexual de plantas por sementes. Nesse processo, diferentemente do modo de reprodução sexual, o desenvolvimento embrionário ocorre sem fertilização da oosfera pelo gameta masculino. A apomixia é encontrada em mais de 300 espécies de plantas, entre elas, *Brachiaria brizantha*, forrageira amplamente utilizada como pastagem no Brasil. Essa espécie de forrageira apresenta tanto o modo de reprodução apomítico, quanto o modo de reprodução sexual. Por estar relacionada com um desenvolvimento diferenciado do gametófito feminino em relação ao meiótico (sexual), a apomixia pode estar relacionada com o padrão de expressão gênica no início do desenvolvimento do saco embrionário. Este trabalho, teve como objetivo o sequenciamento de 792 clones oriundos de quatro bibliotecas de cDNA, construídas a partir de ovários de *B. brizantha* sexual e apomítica, em megasporogênese e megagametogênese. Esse sequenciamento inicial visou a validação das bibliotecas e a identificação de EST's (*expressed sequence tags*) associados ao desenvolvimento do embrião de plantas apomíticas e sexuais. Ao total, 792 clones (192 de cada biblioteca) foram sequenciados em seqüenciador automático ABI 3700. Para a análise dos cromatogramas gerados foi utilizado o software PHRED e, após o processamento das seqüências, foram utilizados os programas CAP3, para agrupamento de seqüências semelhantes, e BLASTX contra o banco não redundante, para análise de similaridade dos EST's gerados com seqüências disponíveis nos bancos de dados, respectivamente. A partir dos resultados do BLASTX, as seqüências foram anotadas, utilizando dados fornecidos no Interpro e Gene Ontology. Do total de clones sequenciados, 574 (74.7%) apresentaram qualidade mínima para fazer o BLASTX. Destas, 87,1% apresentaram cópia única e 58.7% não apresentaram similaridade com seqüências disponíveis no banco de dados do programa utilizado para a análise. Apesar de terem sido seqüenciados um número pequeno de clones, os resultados gerados apresentaram qualidade e representatividade, além de terem sido identificados EST's, que apresentaram similaridade com seqüências importantes para o desenvolvimento do saco embrionário. O seqüenciamento de um número maior de clones dessas bibliotecas poderá colaborar na identificação de cDNA's relacionados ao modo de reprodução apomítico em *B. brizantha*.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

²Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

028 - IDENTIFICAÇÃO DE GENES CONTROLADOS POR PROMOTORES PÓLEN-ESPECÍFICOS E ANÁLISE DOS PADRÕES DE EXPRESSÃO GÊNICA EM PLANTAS DE TABACO TRANSFORMADAS PELO GENE *rolA* DE *Agrobacterium rhizogenes* (Identification of genes controlled by pollen-specific promoters and analysis of the expression patterns in tobacco plants transformed by the *rolA* gene of *Agrobacterium rhizogenes*)

Thees, M.F.R.S.¹, Carneiro, M.²

A expressão do gene *rolA* de *Agrobacterium rhizogenes* em plantas é conhecida por provocar diversas modificações fenotípicas, como enrugamento da lâmina foliar, encurtamento dos entre-nós, empobrecimento das raízes, retardo na floração e modificações no conteúdo hormonal. Estudos prévios identificaram, no genoma de *Arabidopsis thaliana*, 13 fragmentos de promotores com afinidade pela proteína Rol A. Dois desses fragmentos, denominados 1.38 e 2.5, localizados nos cromossomos 3 e 5, respectivamente, possuem atividade pólen-específica. Analisando seqüências adjacentes a esses fragmentos, possíveis genes regulados por tais promotores foram identificados. Porém, ainda não se sabe se tais genes são expressos, onde e quando são expressos e se Rol A interfere na expressão dos mesmos. Este trabalho visa, portanto, determinar se os genes putativos são expressos, o padrão de expressão dos promotores completos e qual a influência de Rol A na expressão dos mesmos. Para tanto, foi realizada a amplificação por PCR dos promotores completos e de suas regiões *5'-prime upstream*, seguida da clonagem dos fragmentos amplificados, juntamente com um gene repórter (GUS) em vetor binário. Após a transformação de plantas de tabaco, os padrões de expressão gênica serão estudados. Para determinar a influência da proteína Rol A sobre a expressão dos genes putativos, os RNA totais de folhas de plantas de tabaco selvagens e de transformadas pelo gene *rolA* foram extraídos, separados em gel e transferidos para membranas para análise por *Northern blotting*. A hibridização com sondas específicas para cada gene putativo permitirá estabelecer se os genes putativos são expressos e o impacto da presença da proteína *rolA* na expressão dos mesmos. Estes resultados permitirão um melhor entendimento dos mecanismos moleculares de atuação do gene *rolA* e das alterações fenotípicas decorrentes de sua expressão em plantas de tabaco.

¹Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB/CNPq-PIBIC

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

029 - IDENTIFICAÇÃO DE UMA SMASED-LIKE ISOLADA DA GLÂNDULA DA SEDA DE *Nephilengys cruentata* (Identification of an smased-like isolated from silk gland of *Nephilengys cruentata*)

Souto, B.M.¹, Leite, A.P.F.², Madeira, L.M.¹, Vinecky, F.³, Carvalho, D.M.⁴, Vianna, G.R.⁵, Da Silva, F.R.⁶, Aragão, F.J.L.⁵, Daffre, S.⁷, Silva Jr., P.I.⁸, Andrade, A.C.⁵, Rech, E.⁵

As aranhas do gênero *Loxosceles* são responsáveis pela maior parte dos acidentes com aracnídeos no Brasil, diagnosticados principalmente nas regiões Sul e Sudeste. O veneno destas aranhas causa lesão dermonecrotica e induz hemólise intravascular dependente de complemento, configurando um quadro clínico de intensa gravidade, também conhecido como loxocelismo. Estudos recentes revelaram que uma esfingomielinase (SMAsel), isolada do veneno de *Loxosceles laeta*, é responsável pela maior parte dos efeitos patológicos decorrentes do envenenamento. Esfingomielinases (3.1.4.41) são esterases que catalizam a reação hidrolítica (esfingomielina + H₂O → fosfato de ceramida + colina). Inicialmente, foi postulado que o fosfato de ceramida gerado pela atividade da SMAsel, seria o metabólito envolvido na indução das reações patológicas decorrentes do loxocelismo. Estudos recentes detectaram que SMAsel atua também como lipase e que o ácido lisofosfatídico pode ser o lipídeo mediador da resposta patológica. Surpreendentemente, o resultado das análises de BLASTX das seqüências de ESTs produzidas no âmbito do Projeto “genoma da teia de aranha”, revelou que um dos clones de cDNA (Clone NP001-H09), apresentava alta similaridade de seqüência primária com as seqüências polipeptídicas de SMAsesD de *Loxosceles* spp., presentes no banco de dados (www.ncbi.nlm.nih.gov). A análise da seqüência total do clone NP001-H09 revelou uma molécula de cDNA de 1450 pb, codificando uma proteína de 307 a.a. A expressão do clone NP001-H09 foi analisada através de Northern Blot e RT-PCR do RNA total extraído de glândulas de teia e veneno, de aranhas *Nephilengys cruentata*. Visando-se determinar e comparar a atividade da SMAsel isolada de *Nephilengys* com a atividade de SMAses de outras aranhas, os trabalhos estão concentrados agora, na expressão heteróloga da proteína com vistas à sua purificação e caracterização funcional.

¹Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

²Méd. Vet., mestranda, Universidade de Brasília-UnB, CAPES

³Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁴Méd. Vet.,doutoranda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq,

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷Biologo, Ph.D., Universidade de São Paulo-USP

⁸Biologo, Ph.D., Instituto Butantan.

030 - INFECÇÃO DE DIFERENTES LINHAGENS CELULARES DE INSETO COM BACULOVÍRUS RECOMBINANTE CONTENDO O GENE *rolA* DE *Agrobacterium rhizogenes* (Infection of different insect cell lines with recombinant baculovirus containing the *rolA* gene of *Agrobacterium rhizogenes*)

Ferreira, B. C.¹, Carneiro, M.², Souza, M. L.³

Entre as anomalias causadas pela infecção de plantas com *Agrobacterium rhizogenes* estão a inibição do crescimento da raiz, o retardo na floração e a redução no tamanho da planta. Essas alterações têm como principal responsável o gene *rolA* da agrobactéria. No entanto, um grande impedimento no estudo da proteína RolA é a sua baixa concentração nos tecidos da planta onde ela é funcional. Para tentar obter quantidades maiores da proteína, visando a sua caracterização bioquímica e produção de anticorpos, foi utilizado o sistema de expressão baculovirus em células de insetos. Em trabalhos anteriores, um baculovirus recombinante foi construído com o gene *rolA* no locus do gene da poliedrina, utilizando o sistema Bac to Bac (Invitrogen). O vírus ocluso negativo obtido, capaz de expressar a proteína RolA, foi denominado v-rolA. No presente trabalho, foi analisada a replicação do vírus v-rolA em linhagens celulares de *Trichoplusia ni* (Tn5B1-4), *Spodoptera frugiperda* (IPLB-SF-21AE e SF9) e *Bombyx mori* (BM-5). Essas diferentes linhagens foram utilizadas para a seleção de células que permitam maior multiplicação viral. No processo de infecção, após incubação com o vírus v-rolA as células foram mantidas em meio de cultura TNMFH contendo soro bovino fetal (10%), a 27°C por 48h. As células apresentaram efeitos típicos de infecção com vírus ocluso negativo como hipertrofia nuclear e presença de estrutura densa no núcleo (estroma virogênico). Essas alterações foram visualizadas por microscopia óptica. A multiplicação do vírus recombinante nas células foi comprovada após extração do DNA viral e análise de seu perfil de restrição com a enzima *Pst* I. Também foi observada grande lise em células BM, indicando possível indução de apoptose. Consequentemente a quantidade de DNA viral obtida a partir de células BM-5 infectadas foi extremamente baixa. Além disso, a técnica de PCR confirmou a presença do gene *rolA* no vírus recombinante obtido nas diferentes linhagens, incluindo BM-5, devido a amplificação de uma única banda de 300 pb. Resultados preliminares com base em características morfológicas indicam que as células Tn5B1-4 (High Five) são mais susceptíveis ao v-rolA e poderão ser utilizadas para produção da proteína RolA.

¹ Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

031 - INTERFERÊNCIA DE RNA (RNAi) PARA REDUÇÃO DE ÁCIDO FÍTICO EM SOJA (*Glycine max* (L.) MERRILL) (Interferent RNA (RNAi) for decreasing of phytic acid in soybean seeds)

Nunes, A.C.S.¹, Vianna, G.R.², Rech, E.L.², Aragão, F.J.L.²

Fosfatos são estocados em sementes na forma de ácido fítico (mio-inositol 1,2,3,4,5,6 – hexakisfosfato). Entretanto, o ácido fítico não é prontamente digerido por animais monogástricos e grande parte do fósforo presente nos grãos utilizados na alimentação humana e animal é eliminada pelo trato gastrointestinal. Produzir sementes com menor teor de ácido fítico é um dos objetivos dos programas de melhoramento, tanto para aumentar os nutrientes disponíveis quanto para reduzir o fósforo eliminado pelas fezes. Myo-inositol 1 fosfato sintase (MIPS) catalisa o primeiro passo da biosíntese do ácido fítico. O gene *mipsGm* (que codifica para MIPS) foi isolado de sementes imaturas de soja e uma construção para interferência de RNA foi gerada com um fragmento de 706 pb da região codificante, utilizando o vetor de clonagem pKANNIBAL. O gene *ahas* foi inserido no vetor final para transformação e seleção de eventos geneticamente modificados de soja. Dezesesseis linhagens geneticamente modificadas (T₀) de soja foram geradas e caracterizadas. A progênie (T₁) foi analisada para detectar a presença dos transgenes inseridos. Observou-se a ausência dos transgenes na geração T₁ em várias linhagens. Estudos posteriores revelaram que este fato está relacionado ao bloqueio total da expressão do gene *mipsGm* endógeno, mostrando que a expressão deste gene durante a embriogênese é fundamental para o desenvolvimento do embrião e sementes. Duas linhagens revelaram a presença dos transgenes na geração T₁ e estão sendo analisadas por espectrometria de massa para a presença de ácido fítico e fósforo inorgânico (Pi), nas sementes maduras.

¹Eng. Alimentos, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

032 - INTRODUÇÃO E EXPRESSÃO DO GENE DA OXALATO DESCARBOXILASE (OxDC) DE *Flamulina velutipes* EM ALFACE (*Lactuca sativa* L.) (Introduction and expression of *Flamulina velutipes* Oxalate decarboxylase gene (OxDC) in Lettuce (*Lactuca sativa* L.)

Dias, B.B.A.¹, Cunha, W.G.², Moraes, L.S.³, Aragão, F.J.L.⁴

A alface constitui uma importante fonte de vitaminas e sais minerais, destacando-se como uma das hortaliças folhosas mais consumidas no Brasil. A cultura está sujeita a uma série de doenças causadas por fungos. A patogenicidade de alguns fungos que infectam a alface, como *Sclerotinia sclerotiorum*, parece estar ligada a produção de ácido oxálico onde a penetração do fungo na planta ocorre pela liberação deste, que acidifica a parede celular causando lesão e permitindo a invasão de hifas na planta. A ausência ou o número limitado de variedades de alface resistentes a doenças fúngicas tem conduzido ao desenvolvimento de plantas geneticamente resistentes, por meio de técnicas de DNA recombinante sendo uma forma eficaz e econômica. Sabe-se também que o ácido oxálico é encontrado de forma endógena nas plantas se apresentando combinado com íons bivalentes, dentre eles o cálcio, que nessa forma se torna inviável à absorção humana, contribuindo para doenças de deficiência de cálcio e causando problemas quando acumulados em determinados órgãos. O objetivo do trabalho foi a introdução do gene da oxalato descarboxilase (OxDC) de *Flamulina velutipes*, um cogumelo comestível, que degrada o ac. oxálico criando condição desfavorável ao estabelecimento do fungo e à penetração do mesmo na planta. A expressão desse gene pode contribuir para redução dos níveis de oxalato na alface melhorando o seu valor nutricional. Sementes de alface cv. Verônica foram germinadas e seus cotilédones excisados e co-cultivados com *Agrobacterium tumefaciens*, contendo o vetor com o gene *OxDC* sob controle do promotor 35ScaMV dobrado. Após a co-cultura os cotilédones foram cultivados em meio MS acrescido de 0,1 mg/L de BAP e 0,1 mg/L de AIB contendo cefotaxima (250 mg/L) e higromicina (10 mg/L) como agente seletivo a fim de selecionar os calos transformados. Foram obtidas 36 plantas transgênicas as quais foram aclimatadas em casa de vegetação. Após a análise da expressão do transgene na progênie foi extraído oxalato total de folhas e submetido a espectrometria de massa mostrando redução nos níveis de oxalato nas folhas. As plantas ainda serão submetidas a testes de resistência com o fungo.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB/CAPES

²Eng. Agr., mestrando, Universidade Federal de Lavras-UFLA

³Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

033 - ISOLAMENTO DE GENES *cry* COM POTENCIAL USO NO CONTROLE DO BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*) (Isolation of *cry* genes with potential use in the cotton boll weevil control)

Magalhães, M.T.Q.¹, Batista, J.A.N.², Oliveira, G.R.³, Fragoso, R.R.⁴, Silva, S.M.B.⁵, Oliveira-Neto, O.B.⁶, Figueira, E.L.Z.⁷, Monnerat, R.G.⁸, Grossi-de Sá, M.F.⁸

Bacillus thuringiensis é uma bactéria Gram-positiva que, durante a esporulação, produz inclusões cristalinas, denominadas δ -endotoxinas, de ampla atividade inseticida, específicas para insetos de diferentes ordens e inofensivas a mamíferos. Esta característica vem sendo utilizada no desenvolvimento de plantas transgênicas capazes de controlar as pragas das culturas de importância econômica. Dentre estas podemos destacar a cotonicultura que tem como uma das principais pragas o bicudo-do-algodoeiro, um inseto de hábitos endofíticos causador de grandes prejuízos econômicos. Neste contexto, foi caracterizada uma estirpe de Bt, do Banco de germoplasma EMBRAPA–Recursos Genéticos e Biotecnologia, com atividade tóxica contra o bicudo-do-algodoeiro. As análises bioquímicas e de microscopia eletrônica detectaram a presença de cristais esféricos e bipiramidais compostos de proteínas de massa molecular de cerca de 100kDa, 68kDa e 30kDa. Utilizando-se oligonucleotídeos específicos para genes de diferentes classes e a técnica de TAIL-PCR foram isolados três genes (*cry1Ab*, *cry1Ia* e *cry8Ga*). O gene *cry8Ga* contém 2688pb e codifica para uma proteína de 896 aminoácidos que apresenta 58% de identidade com outras toxinas Cry desta classe. As extremidades N e C-terminal são extremamente conservadas, enquanto que os três domínios estruturais (I, II, III) envolvidos na ligação com o receptor apresentam baixa identidade, confirmando a presença de uma nova toxina. O gene *cry1I* contém 2160pb e possui 100% de identidade e similaridade com os outros genes *cry1Ia* já descritos na literatura. Os genes foram expressos em sistemas homólogo (*Bt* acristalífero) e heterólogo (*Escherichia coli*) e as proteínas recombinantes Cry8Ga e Cry1Ia de aproximadamente 100kDa e 80kDa, respectivamente, foram avaliadas quanto a atividade inseticida sobre o desenvolvimento do bicudo do algodoeiro. As novas toxinas apresentam grande potencial para serem utilizadas em programas de engenharia genética no controle do bicudo-do-algodoeiro.

¹Eng.^a Agr.^a, mestranda, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Biólogo, Doutorando, Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga, Ms.C. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Farmacêutico, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

034 - ISOLAMENTO DE GENES QUE CODIFICAM PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS PRODUZIDOS POR HYLIDIOS DA FAUNA BRASILEIRA (Isolation of genes that encode antimicrobial peptides produced by brazilian hylids)

Vinecky, F.¹, Barbosa, E.A.², Brito, K.M.³, Prates, M.V.⁴, Bloch Jr., C.⁵, Andrade, A.C.⁶

Para sobreviverem nos ambientes úmidos, característicos do seu habitat ecológico e se protegerem dos microorganismos que ali ocorrem, os anfíbios desenvolveram, durante o processo evolutivo, um eficiente mecanismo de proteção, baseado na produção de um arsenal de peptídeos antimicrobianos que podem ser normalmente encontrados nas secreções glandulares de sua pele. A caracterização dos genes que codificam vários destes peptídeos, revela que estes são produzidos a partir da clivagem de precursores (prépró-proteínas), resultando em pequenas cadeias polipeptídicas de 10-50 resíduos de amino ácidos, os quais já foram agrupados e classificados, de acordo com a similaridade das seqüências primárias, em pelo menos 13 famílias peptídicas distintas. Análises *in silico* das seqüências nucleotídicas que codificam essas proteínas precursoras, isoladas de diferentes espécies de anfíbios, revelaram alta conservação na região N-terminal, onde estão contidas as seqüências do peptídeo sinal e da região precursora intermediária. Entretanto, a região C-terminal é consideravelmente variável, o que resulta em peptídeos processados de diferentes tamanhos, seqüências e espectros de ação. Com base nessas observações, primers degenerados complementares às regiões conservadas foram desenhados e utilizados com sucesso em reações de 3'-RACE, no isolamento de cDNAs codificando vários destes peptídeos. Neste trabalho, estão descritos os genes isolados de anfíbios de quatro espécies de *Hyla* (*H. albopunctata*, *H. biobeba*, *H. punctata*, *H. raniceps*), normalmente encontrados na fauna brasileira. Esses resultados permitirão a expressão heteróloga dos genes isolados, visando-se a produção em quantidade dos peptídeos, necessária para a realização de bioensaios e a caracterização do espectro de ação.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

³Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Eng. Agr, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

035 - JABURETOX-2EC: PEPTÍDEO RECOMBINANTE DERIVADO DE UREASE DE *Canavalia ensiformis* COM ATIVIDADE INSETICIDA (Jaburetox-2Ec: an insecticidal recombinant peptide derived from *Canavalia ensiformis* urease)

Mulinari, F.¹, Stanisçuaski, F.², Carlini, C.R.³, Grossi-de-Sá, M.F.⁴

A transformação genética de plantas com genes exógenos codificando fatores de resistência a fitopatógenos é uma interessante estratégia para diminuir as perdas na produção agrícola devido ao ataque de insetos. Desta forma, estudos vêm sendo realizados com o intuito de obter diferentes proteínas inseticidas. Nosso grupo descreveu a atividade entomotóxica da Canatoxina (CNTX), uma isoforma de urease de *Canavalia ensiformis* contra diferentes espécies de insetos. Sua toxicidade depende da liberação de um peptídeo interno de 10 kDa, denominado pepcanatox, gerado pela hidrólise da CNTX por enzimas tipo catepsina do trato digestivo de insetos suscetíveis. Uma terceira isoforma de urease foi clonada a partir de *C. ensiformis* e denominada JBURE-II. O gene *jbure-II* codifica uma seqüência polipeptídica predita com elevada identidade (86%) em relação a JBURE-I, a urease clássica. Neste trabalho, a partir da seqüência N-terminal do pepcanatox, desenhamos iniciadores para a amplificação de um fragmento de 270 pb, correspondente ao pepcanatox, a partir do gene de JBURE-II, que foi denominado *jaburetox-2Ec*. Este foi clonado no vetor de expressão pET 101 para obtenção de expressão heteróloga de Jaburetox-2Ec em células de *Escherichia coli* (BL21 star) em fusão com o epitopo V-5 e seis histidinas na extremidade C-terminal do peptídeo. Jaburetox-2Ec recombinante foi purificado por cromatografia de afinidade a Ni (Ni-NTA) e utilizado no bioensaio contra o hemiptero *Dysdercus peruvianus* (percevejo manchador da maçã de algodoeiro). Ninfas de 2^o estágio foram alimentadas com dietas de farinha de algodão contendo Jaburetox-2Ec 0,02% m/m e após 12 dias, todos os insetos estavam mortos. Foram também realizados ensaios contra baratas *Blattella germanica*, utilizando dieta de ração para gatos contendo 0,1% m/m de Jaburetox-2Ec. Da mesma forma, observou-se 100% de mortalidade dos insetos, após 3 dias de ingestão da dieta. Estes resultados despertam o interesse na investigação do potencial deste peptídeo para uso como bioinseticida doméstico e/ou agrícola, bem como a geração de plantas transgênicas resistentes a insetos.

Financiamento: EMBRAPA, PRONEX, CNPq, FAPERGS, CAPES, PROCAD.

¹Farmacêutica, doutoranda, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS, CNPq

²Bióloga, doutoranda, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

³Biomédica, Ph.D., Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

036 - OBTENÇÃO DE PLANTAS *Coffea arabica* GENETICAMENTE MODIFICADAS ATRAVÉS DO BOMBARDEAMENTO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS (Obtention of genetically modified *Coffea arabica* plants through bombardeament of embryogenic calli)

Machado, F.R.B.¹, Berçot, M.A.¹, Palácio, T.C.², Almeida, C.D.S.³, Paes, N.S.⁴, Vianna, G.R.⁵, Grossi-de-Sá, M.F.G.⁶, Barros, E.V.S.A.⁴

O Brasil é mundialmente reconhecido como um dos países mais competitivos na cafeicultura, com uma produção estimada em 42,40 milhões de sacas de café na safra 2004/2005. Entretanto, a agricultura cafeeira sofre enormes prejuízos, pois a espécie *Coffea arabica*, que corresponde por cerca de 82% da produção de grãos, é altamente susceptível a várias pragas e doenças. Assim, estudos intensivos têm sido feitos por parte do melhoramento genético para um maior vigor das plantas associado à resistência, maior produtividade e melhor qualidade do produto. Uma das principais pragas do cafeeiro é a Broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), que ataca as espécies de *C. arabica* e *C. canephora* em todos os estádios de maturação do fruto e os grãos armazenados, acarretando perda de peso e qualidade de bebida do produto, o que provoca perdas de 40 milhões de reais por ano. A transformação genética tem sido utilizada recentemente como ferramenta do melhoramento genético de café que permite a seleção de características específicas em genótipos-elite em um reduzido espaço de tempo e sem que ocorra a introdução de genes indesejáveis. Foi demonstrado que o inibidor α -amilase 1 (α -AI1), extraído de *Phaseolus vulgaris* inibe *in vitro* a broca. O objetivo deste trabalho é introduzir o gene α -AI1 em *C. arabica* através da metodologia de transformação por bombardeamento de calos embriogênicos e seleção com canamicina. Calos embriogênicos obtidos a partir de discos foliares de *C. arabica* foram utilizados para o bombardeamento o vetor pCKa-AI1. Este plasmídeo contém o gene α -AI1, o gene repórter *gus*, e o gene *nptII* que confere resistência à canamicina. Foi confirmada a presença dos genes *nptII* e α -AI1 através da técnica de PCR em plântulas crescidas no meio seletivo. As plântulas potencialmente transformadas foram aclimatadas para uma posterior análise molecular. Com esta estratégia, espera-se obter plantas de café resistentes ao ataque da broca.

¹Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

²Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁶Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

037 - OTIMIZAÇÃO DOS PROTOCOLOS DE EXTRAÇÃO, PURIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DAS EXTREMIDADES DE CLONES BACs DE UMA BIBLIOTECA DE DNA BOVINO (Optimization of the extraction, purification and sequencing protocols of BAC-ends from a bovine genomic DNA library)

Figueiredo, G.S.F.¹, Labuto, L.B.D.², Reis, A.C.M.³, Bisol, T.B.⁴, Castro, A.S.⁵, Nardelli-Costa, J.⁶, Borges Neto, C.R.⁷, Caetano, A.R.⁸

O Projeto Genoma Bovino faz parte de um consórcio que congrega entidades internacionais, que visam montar um mapa físico (BACMAP) do genoma bovino. As extremidades de clones de uma biblioteca BAC (*Bacterial Artificial Chromossomes*) contendo DNA bovino estão sendo sequenciadas na Plataforma de Sequenciamento de DNA, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, como contribuição para o consórcio. O sequenciamento desses BACs é de extrema importância para a construção do BACMAP, ferramenta indispensável nos trabalhos de prospecção, isolamento e caracterização de genes da espécie em estudo. Visando a obtenção de seqüências de qualidade bem como DNA suficiente ao serviço de sequenciamento, minimizando tempo de trabalho e custos, foram testadas diversas modificações nos protocolos de rotina do laboratório. Na extração de DNA, quatro concentrações da solução de lise foram testadas (1X, 2X, 3X E 4X). Em seguida, dois protocolos de reação de sequenciamento e dois protocolos de purificação da reação também foram testados. O melhor resultado de extração de DNA foi obtido com a solução de lise 4X. Os melhores resultados na reação de sequenciamento foram obtidos com primer na concentração final de 2,0 uM. As amostras purificadas com etanol 70%/ 0,3uM de MgSO₄ apresentaram melhores resultados de sequenciamento. Esses protocolos têm rendido DNA em quantidade e qualidade suficiente ao trabalho de sequenciamento. Habitualmente, as seqüências geradas apresentam resultado de 75% de aproveitamento (mínimo de 200bp com PHRED³ 20). Os resultados obtidos com os protocolos, são compatíveis com os resultados obtidos pelos demais participantes do Consórcio Internacional a um custo significativamente mais baixo.

¹Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

⁴Química, mestranda, Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC

⁵Farmácia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁶Bióloga, mestranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

⁷Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recurso Genéticos e Biotecnologia

⁸Zootecnista, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

038 - PLANTAS DE *Nicotiana tabacum* TRANSFORMADAS COM A FUSÃO TRADUCIONAL *rolA::gfp* APRESENTAM FENÓTIPO E DESENVOLVIMENTO ALTERADOS (*Nicotiana tabacum* plants transformed with *rolA::gfp* translational fusion exhibit phenotypical and developmental alterations)

Arrial, R.T.¹, Barros, L.M.G.², Lacorte, C.³, Carneiro, M.⁴

O gene *rolA* é originário de *Agrobacterium rhizogenes*, uma bactéria encontrada no solo, baciliforme, Gram-negativa, patógeno de uma grande variedade de plantas dicotiledôneas e algumas monocotiledôneas. A infecção resulta no desenvolvimento de raízes adventícias neoplásicas no sítio de inoculação, doença conhecida como síndrome de raiz em cabeleira. Esse mecanismo de parasitismo é denominado Colonização Genética, consistindo na transferência de um segmento do plasmídeo pRi de *A. rhizogenes* designado T-DNA para o genoma vegetal. As raízes neoplásicas quando cultivadas *in vitro* podem originar plantas férteis, porém com fenótipo alterado. Os genes do T-DNA responsáveis pelas alterações morfológicas são vários, no entanto, o que causa maior impacto é o gene *rolA*. Plantas transgênicas expressando o gene *rolA* apresentam baixo porte, enrugamento foliar, atraso na floração e senescência e diminuição das concentrações de giberelinas e poliaminas. O objetivo deste trabalho é gerar uma fusão traducional da proteína RolA com a proteína repórter sGFP (“synthetic Green Fluorescent Protein”) e observar a atividade da proteína quimérica. Para tanto, foram construídos dois plasmídeos agrobacterianos, em um deles foi feita uma fusão traducional da região codante do gene *rolA* com a região codante do gene *sgfp(S65T)* e esta colocada sob controle do promotor CaMV 35S (*35S-rolA::gfp*), no outro plasmídeo apenas o gene repórter *sgfp(S65T)* foi colocado sob regulação do promotor CaMV 35S (*35S-gfp*). Em seguida, o gene quimérico *35S-rolA::gfp* bem como o gene *35S-gfp* foram transferidos para plantas de *Nicotiana tabacum* via *A. tumefaciens*. As plantas transgênicas foram analisadas quanto ao número de cópias do gene exógeno e o fenótipo resultante. Todas as plantas transformadas com o gene *35S-rolA::gfp* apresentaram fenótipo e desenvolvimento alterados sendo a intensidade das alterações variável entre os clones. No entanto, não houve correlação entre o número de cópias do gene exógeno e a intensidade das alterações, sugerindo em algumas plantas um mecanismo de bloqueio de sua expressão. As plantas transformadas com o gene *35S-gfp* mostraram-se morfológicamente semelhantes ao tipo selvagem. Os resultados obtidos permitem concluir que a proteína RolA quando fusionada com a proteína GFP mantém sua atividade nas células vegetais.

¹Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Biólogo, doutorando, Wageningen University, Holanda

⁴Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

039 - RNA INTERFERENTE (RNAi) PARA OBTENÇÃO DE PLANTAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) RESISTENTES A GEMINIVÍRUS (Interference RNA (RNAi) to obtain genetically modified bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) resistant to geminivirus)

Bonfim, K.¹, Póvoa, A.M.², Madeira, L.M.³, Macedo, R.G.⁴, Faria, J.C.⁵, Aragão, F.J.L.⁶

A produção mundial de feijão, compreendendo os gêneros *Phaseolus* e *Vigna* é superior a 12 milhões de toneladas e o Brasil ocupa o segundo lugar na produção mundial e o primeiro quando se trata apenas do gênero *Phaseolus*. Entretanto, sua produção ainda está aquém do necessário para suprir a demanda interna. Dentre os principais problemas relacionados com a baixa produção de feijão no Brasil estão a competição com plantas daninhas, estresse hídrico e o ataque de pragas e doenças como mosaico dourado do feijoeiro causado por um geminivírus. Estes vírus são considerados os mais importantes economicamente, constituem um fator limitante para a produção de feijão, chegando a causar perdas de 100%, inviabilizando a produção. A proposta deste trabalho é a construção de um vetor para transformação genética via biobalística utilizando a estratégia de RNA interferente (RNAi), para o desenvolvimento de novas variedades comerciais resistentes a geminivírus. Desta maneira, o gene da replicase (*rep*) viral foi escolhido para a construção do vetor de transformação uma vez que a proteína exerce uma função essencial no ciclo de infecção viral. REP é a única proteína requerida para a replicação do genoma viral. O vetor pBGMVRNAiAHAS foi construído a partir de uma sequência do gene *rep* do vírus BGMV clonado no plasmídeo pKANNIBAL e subclonado no plasmídeo pAC321 que confere resistência ao herbicida Imazapyr. Brotos resistentes estão sendo selecionados em 100nM de imazapyr, uma nova alternativa que está se mostrando mais eficiente na seleção de transformantes. As plantas selecionadas serão aclimatadas e mais tarde submetidos a testes de infecção. Devido à sua importância social e econômica na América Latina e à falta de genes para resistência a doenças nos bancos de germoplasma, faz-se necessário o desenvolvimento de um programa de melhoramento associado à engenharia genética para o lançamento de novas variedades, que possibilitará a diminuição dos principais problemas relacionados com a produção de feijão.

¹ Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB, CAPES

² Biólogo, mestrando, Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

⁴ Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

⁵ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Arroz e Feijão

⁶ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

040 - SELEÇÃO DE FRAGMENTOS DE ANTICORPOS SCFV PARA PROTEÍNAS DE SECREÇÃO DO FITONEMATÓIDE *Meloidogyne incognita* (Selection of antibodies fragments scFv to secretions proteins of the phytonematode *Meloidogyne incognita*).

Lima, L.M.¹, Vieira, P.M.M.M.², Carneiro, R.M.D.G.³, Maranhão, A.Q.⁴, Brígido, M.M.⁵, Grossi de Sá, M.F.⁵

Os fitonematóides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) atacam quase todas as culturas e provocam prejuízos econômicos de bilhões de dólares à agricultura mundial, reduzindo o total de alimentos produzidos. Além dos prejuízos causados direto a produtividade, esses nematóides podem causar outros danos às culturas permitindo a infecção por outros microrganismos. Estratégias biológicas, visando o controle desses organismos, vêm sendo desenvolvidas utilizando bactérias, fungos, vírus e anticorpos. Este trabalho teve como objetivo a construção de uma biblioteca de fragmentos de anticorpos (scFv), expressos na superfície de fagos (Phage display library), específicos às proteínas envolvidas no fitoparasitismo de nematóides. A biblioteca gerou $1,4 \times 10^7$ genes, clonados no vetor pComb3XSS e após cinco ciclos de seleção contra proteínas total e proteínas de secreção de nematóides, imobilizadas em placa de microtitulação, obteve-se o enriquecimento de formas ligantes no terceiro e quarto ciclo. Os clones selecionados nestes dois ciclos foram expressos em células *E. coli* TOP10F', confirmado por dot blot com o anticorpo anti-HA e seqüenciados. As seqüências foram analisadas e as regiões de CDRs (regiões determinadas por complementariedade) das cadeias leve e pesada dos anticorpos foram determinadas, mostrando as CDRs das cadeias pesadas bastante conservadas e as CDRs das cadeias leves com uma alta variabilidade. A partir dessas análises, seis anticorpos foram selecionados, expressados e estão sendo caracterizados. Ensaio de imunolocalização e subclonagem em um vetor de expressão em plantas, para avaliar a eficiência desses anticorpos, também estão sendo conduzidos. Os resultados obtidos com esses estudos poderão contribuir para os avanços das pesquisas visando o controle de nematóides e de doenças relacionadas às culturas agrícolas.

Apoio: EMBRAPA/ Prodetab/ CNPq

¹ Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq

² Med. Vet., graduando, Universidade de Brasília-UnB

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Bióloga, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁵ Biólogo, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁶ Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

041 - SELEÇÃO DE INIBIDORES DE α -AMILASE CONTRA α -AMILASE DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* - BOHEMAN) (α -Amylase Inhibitor Selection against α -Amylase from Cotton Boll Weevil- *Anthonomus grandis* - Boheman)

Del Sarto, R.P.¹, Costa, M.F.da², Teixeira, F.R.³, Figueira, E.L.S.³, Silva, M.C.M.⁴, Grossi-de-Sá, M.F.⁴

O bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*) é uma das principais pragas da cultura do algodão, ocasionando perdas significativas devido ao hábito endofítico das larvas, cujos botões florais e as maçãs do algodoeiro são os órgãos preferencialmente atacados pelos insetos, tanto para alimentação, quanto para oviposição, dificultando seu controle pelo uso de inseticidas. Vários estudos têm focado a caracterização estrutural, bioquímica e molecular de proteínas vegetais relacionadas aos mecanismos de defesa das plantas. Dentre estas, os inibidores de α -amilases foram extensivamente estudados e são conhecidos por suas distintas especificidades. Em prévios experimentos, demonstramos a presença de altos níveis de atividade de α -amilases em intestino de larvas de bicudo alimentado em campo, indicando que essas enzimas são importantes na obtenção de nutrientes para o inseto. O presente trabalho tem por objetivo selecionar inibidores de α -amilase mutantes para α -amilases do bicudo do algodoeiro, a partir de uma biblioteca combinatória de genes codificadores para inibidores de α -amilases, obtidos através da recombinação entre os inibidores α -A11 e α -A12, isolados de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*). A biblioteca foi construída pelo uso de técnicas de evolução molecular “*in vitro*” (*DNA shuffling* e *Phage display*) e, atualmente, 31 mutantes foram selecionados e estão em processo de sequenciamento e expressão, para avaliação em bioensaios contra o bicudo do algodoeiro. Os estudos de estrutura primária e terciária podem contribuir com a elucidação dos mecanismos de interação entre inibidores e as respectivas α -amilases visando sua aplicação no desenvolvimento de algodão geneticamente modificado com resistência ao bicudo do algodoeiro.

Apoio: Embrapa, CNPq, CAPES, FACUAL.

¹Biologia, graduando, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

²Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

³Farmacêutico, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/CNPq

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

042 - SELEÇÃO DE TOXINAS Cry COM ALTA ESPECIFICIDADE E TOXICIDADE CONTRA O BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*) E LAGARTA DO CARTUCHO DO MILHO (*Spodoptera frugiperda*) [Cry toxins selection with high specificity and toxicity against cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*) and fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*)]

Brunetta, P. S. F.¹, Oliveira, G. R.², Cavalcante, K. L.³, Figueira, E. L. Z.⁴, Silva, M. C. M.⁵, Grossi-de-Sá, M. F.⁵

Nos últimos dez anos, a cotonicultura aumentou significativamente a sua participação na economia agrícola, atingindo principalmente a região Centro-Oeste e implementando uma nova realidade nos sistemas de cultivo utilizando tecnologias avançadas de produção, o que contribui para o restabelecimento do fornecimento de fibra no mercado interno e a participação nas exportações agrícolas. No entanto, o cultivo intensivo em grandes extensões por vários anos tem gerado altos índices de infestações por pragas, como o bicudo e a lagarta do cartucho do milho, demandando grandes volumes de inseticida, que além de dispendiosos, apresentam eficiência variável, já que são pragas endofíticas que se alimentam nos botões florais e maçãs, comprometendo a produtividade e/ou a qualidade da fibra. Assim, este trabalho teve por objetivo a seleção de genes para proteínas, com alta especificidade e toxicidade em uma biblioteca combinatória de genes *cry*, do tipo *Phage Display*. Os genes *cry3Aa* (doados pelo Bacillus Genetic Stock Center) e *cry8Ea* foram submetidos à recombinação por meio de técnica de evolução molecular *in vitro* (DNA *shuffling*), que compreenderam as etapas: (i) amplificação dos genes em reação de PCR com oligonucleotídeos específicos contendo o sítio de restrição para a enzima *Sfi1*, (ii) fragmentação dos genes amplificados com a enzima *DNAseI*, cujos fragmentos obtidos apresentaram entre 30-50 pb, (iii) recombinação aleatória dos fragmentos em reação de PCR sem a adição de oligonucleotídeos e (iv) amplificação dos novos genes recombinados. Os novos genes foram digeridos com *Sfi1*, introduzidos no fagomídeo pCOMB3X, clonados em *Escherichia coli* XL1 Blue, obtendo uma biblioteca combinatória de genes *cry* mutantes com 10⁵ transformantes. Estes genes foram submetidos à seleção por *Phage Display* utilizando como ligantes receptores do intestino do bicudo do algodoeiro e receptores do intestino de *S. frugiperda*. Foram selecionados 21 genes para larvas do bicudo e 16 para a lagarta do cartucho, os quais foram expressos em *E. coli* TOP10F'. Os genes mutantes foram seqüenciados e analisados e as toxinas recombinantes foram avaliadas em bioensaios.

¹Eng. Agr., mestranda, Universidade Católica de Brasília-UCB/FIALGO

²Biologia, graduando, FACUAL/CNPq

³Bióloga, FIALGO/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴Farmacêutico, Ph.D., CNPq/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, FIALGO/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴Farmacêutico, Ph.D., CNPq/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

043 - TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE SOJA (*Glycine max* L. (MERRIL) VISANDO TOLERÂNCIA À SECA (Genetic transformation of soybean (*Glycine max* L. (Merril) for drought tolerance)

Morais, A.T.¹, Menezes, C.C.², Vianna G.R.³, Fontes, E.P.B.⁴, Vaez, J.R.⁵, Aragão, F.J. L.

O sucesso produtivo de uma planta depende muito do ambiente no qual ela está inserida. Se as condições ambientais não forem favoráveis, o crescimento e o desenvolvimento são fortemente prejudicados. Fatores físicos com baixa temperatura, seca, alta salinidade, metais pesados e excesso de água, caracterizados como estresses abióticos, influenciam nessa produtividade. A planta, utiliza mecanismos fisiológicos e bioquímicos, envolvendo a função de muitos genes, em respostas à esses estresses. O estresse por deficiência hídrica é o principal fator abiótico limitante para a produção agrícola no mundo. Esse trabalho visa a obtenção de plantas de soja transgênicas tolerantes a esse fator. Neste sentido se propôs introduzir uma seqüência gênica quimérica do gene *Bip*, para super expressão em soja. A região codificante foi clonada sob controle do promotor duplicado 35S do CaMV no vetor pUC35SAMV Nos. O cassete de expressão foi então transferido para o vetor pAC321 que contém o gene *ahas* (que confere resistência ao herbicida imazapyr). No presente trabalho foram geradas plantas transgênicas de soja cultivar BR16, via biobalística. A presença do transgene foi detectada por PCR na geração F₁. Uma linhagem mostrou maior tolerância ao estresse hídrico e crescimento mais rápido quando comparada com plantas não modificadas.

¹Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Rio Verde-FESURV

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴Eng. Tec. de Alimentos, Ph.D., Universidade Federal de Viçosa-UFV

⁵Eng. Química, doutoranda, Universidade Federal de Viçosa-UFV

044 - USO DA BIBLIOTECA COMBINATÓRIA DE INIBIDORES DE α -AMILASE PARA A SELEÇÃO DE GENES POTENCIALMENTE ATIVOS CONTRA O BRUQUÍDEO *Zabrotes subfasciatus* (Combinatorial library of alpha-amylase inhibitor mutants: screening for improved activity against *Zabrotes subfasciatus*)

Teixeira, F.R.¹, Figueira, E.L.Z.², Brígido, M.M.³, Maranhão, A.Q.⁴, Grossi-de-Sá, M. F.⁵, Silva, M.C.M.

Os inibidores de α -amilase ocorrem em muitas plantas como parte do mecanismo de defesa natural e constituem excelentes ferramentas para o uso no desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos. Os inibidores α AI-1 e α AI-2, encontrados em feijão (*Phaseolus vulgaris*), estão bem caracterizados e apresentam interessante especificidade em relação a insetos e mamíferos. O α AI-1 inibe α -amilases de mamíferos, tais como, a amilase pancreática de porco (PPA) e dos insetos *Calosobruchus chinensis*, *C. maculatus* e *Bruchus pisorium*, mas não inibe a α -amilase do caruncho do feijão mexicano, *Zabrotes subfasciatus* (ZSA), que representa uma importante praga de armazenamento de feijão comum. A outra isoforma, o α AI-2, possui 78% de identidade de aminoácidos com o α AI-1, porém inibe unicamente a α -amilase de *Z. subfasciatus*. Os genes que codificam para os inibidores α AI-1 e α AI-2 foram submetidos à recombinação pela técnica de DNA *Shuffling*, gerando uma população de mutantes. Este produto foi inserido no fagomídeo pComb3X para a construção da biblioteca combinatória de inibidores. A biblioteca com 10⁶ clones variantes tem potencial para uso na seleção de genes específicos com atividade nova ou melhorada contra pragas de importância para agricultura. Este trabalho, especificamente, apresenta os resultados da seleção utilizando a metodologia de *Phage Display* e usando o extrato total de larvas do intestino de *Z. subfasciatus*. A partir das seqüências primárias de vários recombinantes foi possível selecionar genes para expressão em outro sistema vivo, com o objetivo de se obter proteínas ativas em quantidade para realização de bioensaios. Este procedimento é importante para identificação de inibidores mutantes potentes contra insetos-praga.

¹Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

²Farmacêutico, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/CNPq

³Biólogo, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁵Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Caracterização

045 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE ESPÉCIE NATIVA DO SEMI-ÁRIDO COM O USO DE MARCADOR MOLECULAR – RAPD (Genetic analysis of a target species native to the semi-arid using RAPD markers)

Lacerda, A.L.M.¹, Póvoa, J.S.R.², Ciampi, A.Y.³

Espécies nativas do Semi Árido brasileiro têm sido utilizadas em estudos visando obter informações sobre a diversidade genética, bioprospecção e conservação de recursos naturais da região, pelo projeto IMSEAR (Instituto Milênio do Semi-Árido). Os marcadores moleculares têm sido utilizados como ferramentas na análise genética das espécies nativas, dentre eles se destaca o marcador RAPD (Random Amplified Polimorfic DNA), por ser de fácil acesso, de baixo custo em curto prazo, permitindo gerar informações genéticas em grande volume, avaliando vários indivíduos, amostrando o genoma em grande extensão, por amplificar várias regiões ao mesmo tempo, por utilizar iniciadores de seqüência arbitrária e curta. De maneira a permitir a condução de planos de coleta e conservação de forma eficiente, dados de variabilidade genéticos vêm sendo considerados. Com o objetivo de quantificar a variabilidade genética entre e dentro de populações, foram utilizados marcadores moleculares do tipo RAPD. Uma espécie alvo da família Fabaceae – Caesalpinioideae de ocorrência no semi-árido, com potencial farmacológico, provenientes de 5 locais distintos, foi amostrada pela equipe de coleta do Cenargen. Para a análise genética, foram extraídos DNA de folhas dessecadas de 120 indivíduos. Uma seleção inicial de primers foi feita utilizando 4 indivíduos, 1 de cada população, com 96 primers, dos quais 20 permitiram ampliações na média de 5 bandas/primer. A genotipagem dos 120 indivíduos de 5 populações distintas com 20 primers, permitiu gerar 129 marcas RAPDs, as quais foram analisadas pelo programa NTSYS 2.1, utilizando o coeficiente DICE pelo método de agrupamento UPGMA. No dendrograma foi observada a formação de 4 agrupamentos distintos: pop1, pop2, pop3 e 4 e pop 5 sugerindo diferença genética entre as populações. Nessa análise foi observada dissimilaridade entre os indivíduos de aproximadamente 38%. A quantificação da variabilidade genética avaliada pela Análise de Variância Molecular (AMOVA) mostrou variação genética de 36% ($P < 0,001$) entre as 5 populações e de 64% dentro das populações. Com base nesses resultados pode-se concluir que mesmo havendo variação genética de 36% entre as populações analisadas, a maior diferença está dentro de cada população. Os resultados obtidos fornecem dados para tomada de decisões nas estratégias de coleta e conservação desta espécie alvo.

¹Bióloga, B.Sc., CNPq/DTI

²Eng.Agr, doutoranda, Universidade Federal de Lavras-UFLA, CNPq/DTI

³Bióloga, Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

046 - ANÁLISE GENÉTICA DE UMA ESPÉCIE ALVO NATIVA DO SEMI-ÁRIDO UTILIZANDO-SE MARCADOR RAPD (Analysis of genetic diversity between populations of a species native to the semi-arid using RAPD markers)

Póvoa, J.S.R.¹, Lacerda, A.L.M.², Ciampi, A.Y.³

Estudos em nível genético-populacional são de suma importância principalmente para espécies sob forte pressão antrópica e/ou com alto potencial econômico e ecológico. Para espécies que não se tem informação genética prévia, o marcador molecular RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) tem sido bastante utilizado por se tratar de uma técnica de baixo custo, que não requer conhecimento aprofundado e permite analisar um grande número de indivíduos em curto prazo. Esta consiste na utilização de um “primer” de seqüência arbitrária que permite a amplificação de DNA via PCR. Com o objetivo de se avaliar a variabilidade genética em populações de espécies nativas do semi-árido com potencial farmacológico, foi utilizada a técnica RAPD. Para verificar o nível da variabilidade genética, foram analisadas 4 populações de localidades distintas do semi-árido, de uma espécie alvo da família Bignoniaceae, totalizando 96 indivíduos. A extração DNA seguiu o protocolo CTAB 2%. A integridade e a concentração de DNA foram verificadas em géis de agarose corados com brometo de etídeo e visualizados em luz ultravioleta. Para seleção dos “primers”, as reações de amplificação com quatro amostras foram efetuadas utilizando-se 144 “primers”. Destes, 19 foram selecionados para a análise dos 96 indivíduos. Foram gerados 130 marcadores RAPD polimórficos os quais foram analisados pelo programa NTSYS 2.1, utilizando o coeficiente DICE pelo método de agrupamento UPGMA. O dendrograma mostra similaridade entre os indivíduos superior a 30%, com formação de três grupos: grupo 1, indivíduos da população 0; grupo 2, indivíduos da população 1, e; grupo 3, indivíduos das populações 2 e 3. A análise de variância molecular (AMOVA) feita para as 4 populações mostra que maior parte da variação genética se encontra dentro de populações, 74,17%, sendo 25,83% da variação genética entre populações. Para as duas populações tomadas, todos os pares analisados apresentaram diferenciação genética entre as populações significativa ($P < 0,001$). Os resultados aqui apresentados servirão de base para programas de conservação de recursos genéticos da espécie-alvo

¹Eng.Agr., doutoranda, Universidade Federal de Lavras-UFLA, CNPq/DTI

²Bióloga, B.Sc., CNPq/DTI

³Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

047 - AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE ALGODÃO ARBÓREO *Gossypium barbadense* POR MARCADORES SSRs (Evaluation of genetic diversity in perennial cotton (*Gossypium barbadense*) based on SSR markers)

Rodrigues, J.C.A.¹, Barroso, P.A.V.², Costa, J.N.³, Ciampi, A.Y.⁴

Gossypium barbadense é uma espécie de algodoeiro amplamente distribuída no Brasil, sendo este país considerado um importante centro de diversidade da espécie. Em muitos locais há simpatria com o algodoeiro cultivado, esta simpatria pode estar permitindo a ocorrência de fluxo gênico. A diversidade presente nas populações de *G. barbadense* e a intensidade do fluxo gênico podem ser quantificadas via análise de dados gerados por marcadores microssatélite ou SSR (*Simple Sequence Repeats*), um dos marcadores mais utilizados para análise de diversidade genética. Estes marcadores são ideais para o estudo de diversidade genética, fluxo gênico e relações de parentesco por serem multialélicos, codominantes e amplificados via PCR (*Polymerase Chain Reaction*) utilizando pouca quantidade de DNA. O polimorfismo é baseado nas diferenças de comprimento das seqüências amplificadas, as quais são instáveis e possuem número de repetições variáveis no genoma. No Estado do Mato Grosso foram coletadas folhas de 203 indivíduos adultos divididos em 4 populações, além de sementes de 80 acessos. O DNA genômico foi extraído das folhas, segundo o protocolo CTAB 2%. A genotipagem vem sendo realizada utilizando locos SSR já publicados para algodão. Para as análises foram selecionados cinco primers com número de alelos/loco maior ou igual a quatro. A detecção do polimorfismo foi realizada em gel desnaturante de poliacrilamida 4%, corado com nitrato de prata utilizando-se 24 indivíduos. Nessa seleção foi verificada média de 6,2 alelos/loco e alta diversidade genética ($He=0,752$ e $Ho=0,916$). A média do coeficiente de fixação (f) estimado foi de $-0,22$ não foi significativo (CI 95% $-0,4$ a $0,02$). Na análise com todos os acessos no total de 188 indivíduos com três locos SSR obtivemos a média de 6,6 alelos/loco, média de heterozigosidade esperada de $He=0,53$ e heterozigosidade observada de $Ho=0,71$. O coeficiente de fixação (f) estimado foi de $-0,30$ não significativo (CI 95% $-0,53$ a $0,47$) indicando cruzamento ao acaso. Os resultados indicam que o marcador SSR permitirá avaliar o fluxo gênico na análise de famílias meio-irmãs da espécie, além da diversidade genética que vem sendo avaliada.

¹Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq/PIBIC

²Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Algodão

³Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Algodão

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

048 - CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA A *Cercosporidium personatum* EM HÍBRIDOS de *Arachis hypogaea* COM ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* (Characterization of resistance to *Cercosporidium personatum* in hybridis of *Arachis hypogaea* with wild *Arachis* species)

Ramos, V.R.¹, Custodio, A.R.², Ribeiro, V.S.³, Fávero, A.P.⁴, Valls, J.F.M.⁴

A mancha preta, causada pelo fungo *Cercosporidium personatum* (Berk. & Curt.) Deighton, aliada a outros fatores, é responsável por um rendimento abaixo do potencial de produção da cultura do amendoim. O uso de germoplasma resistente seria uma solução eficiente e economicamente viável, pois várias espécies silvestres de *Arachis* possuem alto nível de resistência a doenças. As reações de seis híbridos de espécies silvestres de *Arachis* com *A. hypogaea*, obtidos por Fávero (2004), foram avaliadas quanto à resistência a *Cercosporidium personatum*. Utilizou-se a técnica de folhas destacadas e o inóculo constou de uma mistura de isolados provenientes das regiões produtoras de amendoim do Estado de São Paulo. A inoculação, por pincelamento, foi feita na face adaxial dos folíolos, com uma suspensão contendo 100.000 esporos/ml. O bioensaio foi mantido sob luz alternada (10h luz/14h escuro) e temperatura entre 25-27°C. O delineamento utilizado foi o de Bloco Inteiramente Casualizado, com 4 repetições. A cultivar Tatu de *A. hypogaea* foi utilizada como testemunha por ser considerada suscetível ao fungo. A avaliação foi feita 32 dias após a inoculação. Através de uma relação entre a área infectada por folíolo e a área total do folíolo, calculou-se o índice de infecção. Foram obtidas a análise de variância e a comparação de médias através do Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Houve diferenças significativas entre os genótipos, sendo que dois mostraram-se mais suscetíveis, dois mais resistentes e três de comportamento intermediário quanto à infecção por *Cercosporidium personatum*. Uma situação atípica foi apontada pela testemunha, que apesar de ter apresentado alto índice de infecção, não comprovou sua maior suscetibilidade, encontrando-se entre os genótipos de comportamento intermediário. O bioensaio será repetido, para que se possa fazer nova comparação com o padrão tradicional, *A. hypogaea*, e seja verificado o real potencial dos genótipos híbridos em estudo.

¹Eng. Agr., doutoranda, Universidade Estadual Paulista-Unesp/Botucatu, CNPq,

²Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq

³Estudante Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CNPq

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CNPq

049 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE UMA FAMÍLIA DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *Arachis* (Morphological characterization of a family of interspecific *Arachis* hybrids)

Palma, F.R.¹, Santos, R.F.¹, Dias, J.G.O.², Fávero, A.P.³, Leonardecz Neto, E.⁴, Bertoli, D.J.⁴, Valls, J.F.M.³

Espécies de *Arachis* são cultivadas para produção de grãos, óleo, forragem e adubos verdes, e para ornamentação. O melhoramento de *A. hypogaea* L. pode ser beneficiado pela introgressão de genes de seus parentes silvestres. Entre estes, *A. duranensis* Krapov. & W.C. Gregory e *A. stenosperma* Krapov. & W.C. Gregory são diplóides ($2n=20$) e compartilham o genoma A do amendoim. Objetivou-se caracterizar morfológicamente genitores e indivíduos das progêneses F₁ e F₂ do cruzamento de *A. duranensis* e *A. stenosperma*. O experimento foi conduzido na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em março-abril de 2004. Foram analisados o comprimento e largura dos folíolos basal e apical, comprimento do pecíolo e pecíolulo, comprimento das partes adnata e livre da estípula, largura da estípula, comprimento do hipanto e do cálice (lábio superior e inferior), altura e largura do estandarte e da asa, presença de antocianina no hipanto e no cálice, cor do estandarte e da asa. Foi feita a análise de variância, para se obter os parâmetros genéticos e calculou-se a correlação de Pearson. Foi estimada a herdabilidade no sentido amplo. Houve diferença significativa entre os tratamentos e um coeficiente de variação de 13,3%. O coeficiente de variação para a maioria dos caracteres foi baixo e o coeficiente de correlação de Pearson (R^2) considerado médio (0,5 a 0,7) a alto (0,7 a 0,9). Quando o R^2 foi determinado como alto, pode-se inferir que tais características deverão mostrar o mesmo padrão observado, quaisquer que sejam os conjuntos de dados estudados dentro do gênero. O mesmo não pode ser afirmado para dados com correlação de Pearson abaixo de 0,7. A maioria dos caracteres estudados apresentou valores de herdabilidade superiores a 0,80. A maioria dos caracteres de flor está correlacionada positivamente entre si, assim como os de folha. Contudo, a maioria dos caracteres de flor não se correlaciona com os de folha. Caracteres da cor de flor mostraram correlação significativa com poucos outros caracteres, indicando haver poucos locos controlando o caráter e, em geral, segregando independentemente dos demais. Para os caracteres fortemente correlacionados, espera-se que haja ligação ou efeito pleiotrópico, mas é necessário aumentar a amostra para confirmar tais eventos.

¹Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB, CNPq

²Bolsista, Funarbe

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

050 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE GENÓTIPOS DE MENTA (*Mentha* SPP.) NAS CONDIÇÕES DO DISTRITO FEDERAL, BRASIL (Chemical characterization of mint (*Mentha* spp.) germplasm at Federal District, Brazil)

Gracindo, L.A.M.B.¹, Grisi, M.C.M.², Potzernheim, M.L.³, Silva, D.B.⁴, Alves, R.B.N.⁵, Bizzo, H.⁶, Agostini-Costa, T.S.⁷, Vieira, R. F.⁸

A menta (*Mentha* spp.), é uma planta herbácea originária da Europa e Ásia. O principal produto da planta é o óleo essencial rico em mentol. O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar diferentes genótipos de *Mentha* spp. na região do Distrito Federal. Foram avaliados peso da massa verde, matéria seca, porcentagem e composição do óleo essencial. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação e analisado por cromatografia gasosa usando FID e cromatografia gasosa acoplada a espectrofotômetro de massa, para caracterizar a composição química de cada genótipo. Os genótipos apresentaram comportamento diferenciado para todos os parâmetros avaliados. Os genótipos “Green Curly Mint” (*M. spicata*), “Grapefruit Mint” (*M. suaveolens* x *M. piperita*), “Orange Mint” (*M. aquatica*), “Lime Mint Field” (*M. x piperita*), “Lime Mint” (*M. x piperita*), “Persian Mint Field” (*Mentha* sp.), “Chinese Mint” (*M. haplocalix*), “Eau de Cologne” (*M. aquatica*) e “Hillary’s Sweet Lemon Mint” (*Mentha* sp.) apresentaram tendência de superioridade em relação ao peso fresco e peso seco da planta inteira e peso seco das folhas. O genótipo “Hillary’s Sweet Lemon” (*Mentha* sp.) destacou-se dos demais, apresentando rendimento maior em 23,7%, 24,08% e 15,45% de peso fresco e peso seco da planta e peso seco das folhas, respectivamente, em relação ao genótipo de segundo melhor desempenho. O genótipo “Japanese Field Mint” apresentou o maior teor de óleo essencial (4,17%) e os genótipos: “Chinese Mint”, “Grapefruit Mint”, “Persian Mint Fiel” e “Eau de Cologne” foram os que mostraram maiores rendimentos de óleo, 75,0 L/ha, 67,1 L/ha, 53,6 L/ha e 50,5 L/ha, respectivamente. Foram detectados como principais constituintes o 1,8-cineol, carvona, limoneno, linalool, linalil acetato, mentol, mentona, mentil acetato, piperitenone oxido. O genótipos apresentam entre 20 (Bergamot *Mentha gracilis*) e 66 (Green Curly Mint *Mentha piperita*) constituintes do óleo essencial. Dentre os constituintes que mais se destacaram, podem ser citados o óxido de piperitona (74.37% em Pineapple Mint - *Mentha suaveolens*), carvona (72.55% em Chinese Mint - *Mentha canadensis*) e linalool (67.88% em Ginger Mint - *Mentha arvensis*).

¹Farmácia e Bioquímica, graduando, Universidade Paulista-UNIP, CNPq

²Eng. Agr., mestranda, Universidade Federal de Goiás-UFG

³Eng. Florestal, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, Capes

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Químico, Ph.D., Embrapa Agroindústria de Alimentos

⁷Farmacêutica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁸Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

051 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE *Piper* L. DO DISTRITO FEDERAL, BRASIL (Chemical characterization of *Piper* L. essential oil from Federal District, Brazil)

Potzernheim, M.L.¹, Bizzo, H. R.², Costa, A.F.³, Carvalho-Silva, M.⁴, Vieira, R. F.⁵

O Cerrado brasileiro possui uma rica flora de uso medicinal. A coleta intensa de espécies nativas e a expansão da agricultura têm contribuído para a perda de variabilidade genética das populações de espécies medicinais e aromáticas no Cerrado. A família Piperaceae, bem estabelecida em áreas tropicais, contém diversas espécies aromáticas, usadas na medicina tradicional brasileira, e é também usada como o inseticida. O gênero *Piper* L. é o mais representativo da família, com 700 espécies. Na área do Distrito Federal foram descritas dezesseis espécies de *Piper*, algumas contêm aromas devido à presença de óleos essenciais. O objetivo principal deste trabalho foi verificar a presença do óleo essencial, avaliar seu rendimento e identificar os constituintes principais em espécies de *Piper* do Distrito Federal. As amostras de folhas de 8 espécies de *Piper* foram coletadas na Fazenda Sucupira, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. As exsiccatas foram depositadas no herbário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CEN). As folhas foram secas em estufa e o óleo essencial extraído por hidrodestilação. O óleo coletado e armazenado foi analisado por cromatografia gasosa (FID) e espectrometria de massa acoplada a cromatografia gasosa para caracterizar a composição química de cada espécie. Os resultados preliminares indicam duas espécies promissoras com base no rendimento do óleo essencial: *P. Xylosteoides* e *P. aduncum*, com 2,4% e 1,0% de óleo essencial em relação ao peso seco das amostras, respectivamente. Os compostos como o α -pineno, mirceno, limoneno, óxido carifileno, β -muroleno, nerolidol, espatulenol, viridiflorol e cariofileno estão presentes na maioria das espécies *Piper*. Os compostos principais são α -pineno (30,5%) em *P. amalago*, cis-b-ocimeno (19,6%); b-cariofileno (11,3%) em *P. dilatatum*, α -pineno (23,2%) e β -pineno (14,2%), em *P. ovatum*, mirceno (31%) e α -terpineno (26,1%) em *P. xylosteoides*, b-pineno em *P. hispidum*, biclogermacreno (12,1%), óxido de cariofileno (10,1%) e spatulenol (8,4%) em *P. arboreum*, α -pineno (12,9%), óxido de cariofileno (10,9%) e β -pineno (8,7%) em *P. tectonifolium*.

¹Eng. Florestal, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, Capes

²Químico, Ph.D., Embrapa Agroindústria de Alimentos

³Eng. Florestal, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga, M.Sc., Jardim Botânico do Rio de Janeiro

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

052 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES DE REGIÕES REPETITIVAS (SSRs) PARA ANÁLISE GENÉTICA DE FEIJÃO (Development of repetitive regions markers (SSRs) for genetic beans analysis).

Cerqueira, A.A.¹, Azevedo V.C.R.², Amaral, Z.P.S.³, Buso, G.S.C.⁴

O gênero *Phaseolus* compreende aproximadamente 55 espécies, das quais apenas cinco são cultivadas. Sobre o gênero *Phaseolus*, o Brasil é o segundo produtor mundial e o primeiro da espécie *Phaseolus vulgaris*. A importância dessa produção deve-se a que o feijão, além de constituir um dos alimentos básicos da população brasileira, é um dos principais produtos fornecedores de proteína, ferro e carboidratos na dieta alimentar dos extratos sociais, economicamente menos favorecidos. Contudo, há a necessidade de se desenvolver métodos que acelerem a capacidade analítica dos estudos genéticos de feijão, assim como localizar regiões genômicas que controlam caracteres de importância, o que se torna possível com o mapeamento genético. Os SSRs, ou microssatélites, são marcadores genéticos poderosos para uma análise genômica detalhada, apresentando o maior conteúdo informativo por loco gênico entre todas as classes de marcadores moleculares. Eles são baseados em PCR, têm herança codominante, possuem alto conteúdo de informação de polimorfismo, são multialélicos e podem ser ainda semi-automatizados em ensaios com multiplexes. Neste estudo, DNA genômico da cultivar de feijão Pérola foi digerido com a enzima *Tsp* 509 I. Os fragmentos entre 200 e 800 pb foram recuperados do gel. Fragmentos que continham SSRs foram recuperados por hibridização a oligonucleotídeos biotinilizados, ligados a contas magnéticas. Esta fração foi utilizada para construção de uma biblioteca genômica enriquecida para dinucleotídeos AG. Após a ligação do DNA ao plasmídeo, células de *E. coli* (XL1- blue) foram transformadas por choque térmico e inoculadas em meio LB contendo IPTG e X-gal. Quinhentos e onze clones foram selecionados através de hibridização e PCR-ancorado para confirmação da presença do microssatélite. Trezentos e trinta e seis clones foram escolhidos para serem seqüenciados. As seqüências flanqueadoras das repetições foram utilizadas para o desenho de primers. Até o momento foram desenhados 90 primers que serão utilizados, entre outros estudos, no mapeamento genético de feijão.

Apoio financeiro: PRODETAB

¹Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

³Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

053 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MOLECULARES MICROSSATÉLITES E ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO NATURAL DE *Manilkara huberi* (DUCKE) STANDL. (SAPOTACEAE) NA AMAZÔNIA BRASILEIRA ORIENTAL (Development of microsatellite molecular markers and study of the genetic diversity of a natural population of *Manilkara huberi* (Ducke) Standl. (Sapotaceae) at the oriental Brazilian Amazon)

Azevedo, V.C.R.¹, Vinson, C.C.², Silva, V.P.³, Almeida, T.N.⁴, Kanashiro, M.⁵, Ciampi, A.Y.⁶

O desmatamento e a exploração predatória da madeira fazem necessária a promoção de um manejo florestal sustentável. A maçaranduba (*Manilkara huberi*) é uma espécie amazônica madeireira hermafrodita, de grande ocorrência e intensamente explorada devido à dureza e alta resistência de sua madeira. Para estudos genéticos da espécie, foram desenvolvidos 14 marcadores microsatélites ou SSR (“Simple Sequence Repeats”). Esses marcadores são co-dominantes, multi-alélicos, sendo ideais para estudos de paternidade, fluxo gênico, variabilidade genética, sistemas de cruzamento. Para o desenvolvimento dos marcadores SSR, o DNA total foi extraído segundo o protocolo de CTAB 2%, e digerido com a enzima TSP 509 I. Após o processo de enriquecimento da biblioteca genômica, o DNA foi ligado ao vetor pGEM-T e transformado em *E. coli*, cepa XL1-Blue. Na seleção por hibridização com sonda poli AG/TC, foram obtidos 271 clones positivos dos quais 251 foram seqüenciados, e 29 pares de primers desenhados utilizando o software Primer 3. Do total, 24,1% (sete pares) não amplificaram e 75,8% (22 pares) amplificaram em temperaturas de anelamento que variaram desde 52°C à 62°C. Estes foram analisados quanto ao número de alelos polimórficos/loco em gel desnaturante de poli(acrilamida) 4%, corado com nitrato de prata. Quatorze pares de primers apresentaram polimorfismo satisfatório. A análise populacional foi realizada em seqüenciador automático 377 utilizando a técnica de primer tail, com 288 indivíduos provenientes da Floresta Nacional do Tapajós, Belterra, PA, utilizando 8 locos que apresentaram maior polimorfismo. Foi obtida uma média de 18,25 alelos/loco, heterozigosidade esperada de 0,86 e heterozigosidade observada de 0,70 e índice de fixação 0,19 significativo (CI 95% 0,134 a 0,245) indicando endogamia. O teste de exclusão de paternidade revelou que utilizando esses locos é possível excluir um falso pai com 99,9% de confiança. Análises de famílias meio-irmãs ainda estão sendo realizadas, para a definição de fluxo de pólen, fluxo gênico, sistemas de cruzamento e análise de diferentes gerações. Os resultados obtidos indicam que esses locos permitem uma discriminação individual precisa e eficiente para estudos de paternidade e genéticos importantes para a definição de estratégias adequadas à conservação e manejo da espécie.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq.

²Bióloga, M.Sc., Universidade Federal do Pará-UFPa, Projeto Dendrogene.

³Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, FUNTEC/IBAMA/DFID

⁴Eng. Florestal, Ph.D., Embrapa Amazônia Oriental

⁵Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

054 - DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITE NA AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Amburana cearensis* (Development and evaluation of microsatellite markers for genetic diversity analysis in *Amburana cearensis*)

Catelan, R.C.¹, Nakasu, E.Y.T.², Ciampi, A.Y.³

Nos programas de conservação, as indicações de estratégias e ações necessárias ao manejo de espécies ameaçadas de extinção podem ser realizadas de maneira mais eficaz com a utilização de marcadores moleculares, dentre eles os marcadores SSRs (*Simple Sequence Repeats*), ou microsatélites, uma ferramenta importante para estudo populacional de espécies nativas por ser um marcador multialélico, de natureza co-dominante, amplamente distribuído no genoma eucarioto e por permitir amplificação via PCR. A espécie estudada foi *Amburana cearensis* (Cerejeira), uma arbórea pertencente à família Fabaceae – Papilionoideae, a qual ocorre em diferentes formações vegetais do território brasileiro. Devido à raridade desta espécie em florestas nativas, surge a necessidade de um estudo genético para populações naturais de cerejeira, visando o fornecimento de subsídios aos programas de coleta e conservação desta espécie. A extração de DNA genômico foi feita a partir de folhas utilizando-se o protocolo CTAB 2%. No desenvolvimento dos marcadores SSRs, foi utilizado um indivíduo adulto da espécie, cujo DNA genômico foi digerido pela enzima *Mse* I, que gerou perfil adequado para a construção da biblioteca. O procedimento de enriquecimento da biblioteca para elementos AG/TC foi realizado com alta eficiência e os fragmentos obtidos foram ligados em vetor pGEM-T e transformados em *Escherichia coli* cepa XL1-Blue. Um total de 360 clones de *A. cearensis* foram seqüenciados em seqüenciador automático ABI 377 e 23 pares de primers foram desenhados utilizando-se o programa primer 3. Esses primers foram submetidos a PCR com temperaturas de anelamento que variaram de 52°C a 62°C, com o intuito de obter ampliações robustas. As reações foram analisadas em gel de agarose 3,5% corado com brometo de etídio sob luz UV. Do total, três pares de primers não amplificaram, e a detecção de polimorfismo foi realizada para vinte primers em gel desnaturante de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata. Destes, oito locos (40%) apresentaram polimorfismo e oito (40%) apresentaram monomorfismo e/ou bandas inespecíficas e sem valor informacional. Para estimativas de diversidade genética foram genotipados 96 indivíduos provenientes das florestas estacionais decíduais do Vale do Paranã - GO. As análises feitas com o programa GDA estimaram alta diversidade genética de cerejeira ($H_e=0,79$) e índice de fixação ou média de coeficiente de endogamia não significativo ($f=0,06$; CI=95%; -0,07 a 0,21) na região de estudo.

¹ Biólogo, B.Sc., bolsista, Fundação Dalmo Giacometti

² Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³ Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

055 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE BANCO DE GERMOPLASMA DE ALHO UTILIZANDO MARCADORES RAPD (Study of the genetic variability of garlic germoplasm bank accessions using RAPD markers)

Paiva, M.R.¹, Cerqueira, A.A.¹, Amorim, J.C.², Amaral, Z.P.S.³, Dusi, A.N.⁴, Torres, A.C.⁴, Resende, F.V.⁴, Buso, J.A.⁴, Buso, G.S.C.⁵

A produção mundial de alho é de aproximadamente oito milhões de toneladas. No Brasil, o alho é uma das principais hortaliças em área cultivada (14 mil ha), detendo também expressivo volume de produção (102 mil toneladas anuais). A variação regional de produtividade é muito grande, com alguns produtores chegando a colher mais de 15 t/ha, enquanto outros não colhem nem 3 t/ha. Um melhor aproveitamento dos recursos genéticos existentes é uma excelente alternativa para se incrementar a produtividade e qualidade dessa cultura. Para a utilização desses recursos faz-se necessário um estudo detalhado da variabilidade genética disponível. Marcadores moleculares do tipo RAPD têm sido muito utilizados para análise de variabilidade genética por seu baixo custo, alto conteúdo informativo, por identificarem um bom número de locos polimórficos por reação, além de necessitar de pouca mão-de-obra. Este trabalho teve como objetivo o estudo da variabilidade genética de acessos do banco de germoplasma de alho da Embrapa Hortaliças, utilizando marcadores RAPD. A similaridade genética calculada utilizando-se o coeficiente de Jaccard resultou em um dendrograma que revelou três agrupamentos principais. Os dados revelaram variação de similaridade entre 16 e 98%. O agrupamento formado após a observação da variação molecular revelada pela utilização de RAPD é concordante com o agrupamento baseado nas características ciclo de crescimento do alho, formato e cor do bulbo, entre outras. Esta relação indica a possibilidade de utilização de marcadores RAPD na caracterização, aumentando a eficiência da mesma, já que, para utilização da técnica, não há necessidade de se ter o ciclo completo da planta, ficando, também, independente da localização do banco de germoplasma.

Apoio financeiro: CBAB – Centro Brasileiro Argentino de Biotecnologia.

¹Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Eng. Agr., graduanda, Universidade de Brasília-UnB

³Técnica de laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

056 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MELÃO DE UMA COLEÇÃO DE GERMOPLASMA UTILIZANDO MARCADORES RAPD (Genetic variability study of melon accessions from a germplasm collection using RAPD markers)

Amorim, J.C.¹, Marques, J.M.¹, Souza, Z.P.², Buso, J.A.³, Buso, G.S.C.⁴

O melão (*Cucumis melo*) é originário da Ásia. É uma planta rasteira e herbácea da família Cucurbitaceae, sendo que as mais cultivadas no Brasil são as de origem espanhola, como as do tipo Amarelo Valenciano. Os programas de melhoramento buscam viabilizar a produção de melões que atendam as rígidas exigências do mercado brasileiro e, principalmente, do internacional, sendo uma cultura de grande aceitação. Para o sucesso desses programas, é necessário conhecer a variabilidade genética entre os diferentes acessos utilizados no melhoramento das cultivares. Uma das formas de identificar a variabilidade é através da utilização de marcadores moleculares, dentre estes, RAPD apresenta baixos custos e identifica alto número de locos polimórficos. Este tipo de marcador foi utilizado para conhecer e estudar a variabilidade de acessos da coleção de germoplasma. Analisou-se 34 acessos de melão de origens variadas, mantidos pela Embrapa Hortaliças. Foram identificados 106 marcadores polimórficos, utilizados para construção de uma matriz de similaridade e de um dendrograma que mostra a variabilidade entre os acessos da coleção. A análise do dendrograma permitiu verificar cinco grupos, sendo que um deles contém apenas um acesso com similaridade de 70% originário da USDA (melão tipo MR1). Em geral, há grande dissimilaridade entre os grupos, porém dentro dos mesmos identificam-se agrupamentos de acessos similares, de mesma origem, provavelmente de background genético muito próximo. Um dos grupos, com acessos provenientes do Japão formou um agrupamento com aproximadamente 87% de similaridade. Por outro lado, melões denominados Caipira se agruparam proximamente apresentando pouca variabilidade entre eles (cerca de 93%), apesar de serem provenientes de diferentes regiões. No conjunto de acessos avaliado é possível identificar acessos divergentes que provavelmente possibilitarão o aumento da variabilidade genética quando utilizados nos programas de melhoramento de populações.

Apoio financeiro: Embrapa - Projeto Macroprograma 2

¹Eng. Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

²Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

057 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE INDIVÍDUOS DE POPULAÇÕES DE *Heliconia bihai* E *Heliconia rostrata* (Study of genetic variability among individuals of *Heliconia bihai* and *Heliconia rostrata* populations)

Margues, J.M.¹, Coelho, P.J.A.², Ferreira, M.A.³, Amaral, Z.P.S.⁴, Torres, A.C.⁵, Amorim, J.C.⁶, Buso, G.S.C.⁷

As helicônias são plantas tropicais muito usadas ornamentalmente. No Brasil estão cerca de 40 espécies. Têm grande aceitação no mercado internacional. Estima-se o PIB da comercialização de plantas ornamentais no Brasil em US\$ 1,2 bilhões, porém as exportações não passam os US\$ 15 milhões/ano (0,2% do total mundial). O meio de propagação mais utilizado no cultivo de helicônias é por rizomas, pois a obtenção de plantas por sementes é um processo lento e difícil. Além disso, a identificação da variabilidade resultante do cruzamento é feita com base no fenótipo, após o florescimento. Pode-se detectar a variabilidade ainda no início do desenvolvimento da planta através da utilização de marcadores moleculares. Dentre estes, RAPD se caracteriza por ser uma técnica simples e rápida. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a variabilidade genética dentro de duas populações de helicônia, obtidas através da extração dos embriões das sementes de plantas de duas espécies: *Helicônia rostrata* e *H. bihai*. Os embriões foram cultivados em frascos com substrato, transferidos para vasos e mantidos em casa de vegetação, formando duas populações: 31 indivíduos de *H. bihai* e 33 de *H. rostrata*, constituídas de indivíduos meios-irmãos. O DNA foi extraído seguindo o protocolo CTAB 2 %. Testou-se 50 primers, sendo 15 polimórficos. Identificaram-se 101 marcadores polimórficos utilizados na construção de uma matriz de similaridade e de um dendrograma. O grau de similaridade variou de 0,47 a 0,98 na população de *H. rostrata* e de 0,67 a 1,00 na de *H. bihai*. Com a análise de variância molecular (AMOVA), constatou-se que o grau de variação entre os indivíduos de cada população foi estatisticamente significativo, sendo possível verificar que a obtenção de plantas de helicônia por meio do cultivo de embriões de sementes apresenta considerável variabilidade genética, importante nos programas de melhoramento.

¹Eng. Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Agroindústria tropical

³Químico, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

⁶Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

⁷Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

058 - USO DOS SISTEMAS DE INFORMAÇÃO GEOGRÁFICA – SIG – ARCVIEW E DIVA-GIS PARA A PREDIÇÃO DE NOVOS LOCAIS DE OCORRÊNCIA DE *Arachis stenosperma* KRAPOV. & W. C. GREGORY (Use of geographical information systems – Sig – Arcview and Diva-Gis for prediction of potencial new sites of occurrence of *Arachis stenosperma* Krapov. & W. C. Gregory)

Custodio, A.R.¹, Noronha, S.E.², Valls, J.F.M.³

O gênero *Arachis* L. está dividido em nove seções, todas ocorrentes no Brasil. Das 81 espécies já conhecidas, 64 ocorrem no Brasil, sendo 47 exclusivas da flora brasileira. *Arachis stenosperma* é uma espécie anual, prolífera, com as sementes pouco menores que as dos amendoins comuns, mas com os maiores percentuais de proteínas, atingindo 33,5%, e que ocorre sempre em condições ruderais, do leste de Cuiabá ao nordeste de Barra do Garças, no Mato Grosso, passando por Rondonópolis, Guiratinga e General Carneiro, e de Matinhos até ao Rio de Janeiro, ao longo do litoral atlântico, com coletas intermediárias em Antonina, Paraná, e Cananéia, Peruíbe, São Sebastião, Caraguatatuba e Ubatuba, em São Paulo. Também é conhecida uma população ruderal na cidade universitária em São Paulo, nas proximidades do rio Pinheiros. É difícil interpretar tal ocorrência disjunta e, quanto ao litoral, excepcional para o gênero sem considerar a possibilidade de transporte humano pois, as características geográficas que separam esses materiais dificultam as explicações de dispersão a longas distâncias pelos meios naturais. Um dos locais de ocorrência, Cananéia, situa-se sobre ilha marítima, muito próxima à costa, sem dúvida, mas suficientemente isolada por um braço de mar, para que a penetração da espécie na área possa ser considerada natural. Situação semelhante é constatada na ilha da Cutinga, frente a Paranaguá, na baía de mesmo nome. De fato, considera-se viável a hipótese de transporte da espécie pelos indígenas, do Brasil central ao litoral, em tempos pré-coloniais, associado o seu cultivo para a produção de grãos. Dispõe-se hoje de 48 acessos de germoplasma da espécie, coletados ao longo de mais de duas décadas. Com base nos dados de coleta, foi criada uma base de dados com informações sobre localidade, latitude, longitude e altitude de cada acesso. Com essas informações foi possível, usando o programa Arcview, identificar o clima, a precipitação média anual (mm), a temperatura média anual (°C), as bacias hidrográficas, a geologia e o tipo de solo em que cada um desses acessos ocorre. Com o programa Diva-gis, foi possível gerar predições de novos locais de potencial ocorrência da espécie, sempre em território brasileiro. Este software faz suas análises com base em 15 parâmetros climáticos. Com essas informações será possível, em expedições futuras, confirmar os dados gerados pelo Arcview e identificar novas populações, nos potenciais locais de ocorrência preditos pelo Diva-gis, bem como, priorizar futuras ações de conservação da espécie.

¹ Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

² Geógrafo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Conservação

059 - AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MELANCIA PARA EXPRESSÃO SEXUAL (Watermelon germplasm evaluation for sexual expression).

José Jr., G.¹, Santos, R.F.¹, Irala, L.H.¹, Ferreira, M.A.J. da F.², Fávero, A.P.², Nass, L.L.²

A melancia (*Citrullus lanatus*) foi introduzida no Brasil há aproximadamente 350 anos por escravos africanos, na região nordeste, considerada centro secundário de diversidade genética. Em relação a expressão sexual, nesta espécie ocorrem dois tipos: monoicismo, plantas com flores masculinas e femininas; andromonocismo, plantas com flores masculinas e hermafroditas. A herança da expressão sexual em melancia já foi estudada, sendo que o monoicismo é dominante em relação ao andromonocismo. Acredita-se que as populações andromonóicas evoluíram das populações monóicas, pois o alelo recessivo que determina o andromonocismo deve ter se fixado em algumas populações especialmente naquelas formadas por poucos indivíduos onde a taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados deve ter sido mais elevada. A existência de populações andromonóicas representa algumas implicações para programas de melhoramento, como por exemplo, o fato de nestas populações ser possível a ocorrência de autofecundações naturais e com isto as mesmas apresentarem um sistema misto de reprodução ao invés de serem alógamas como têm sido consideradas. Outra implicação que com certeza constitui-se em uma vantagem, é a possibilidade de serem desenvolvidas variedades para a agricultura familiar a partir de acessos andromonóicos, pois como a reprodução será predominantemente por autofecundação isto reverterá na independência de sementes por parte deste mercado consumidor. Assim, este trabalho teve com objetivo avaliar acessos de melancia para expressão sexual (monoicismo e andromonocismo), assim como verificar a ocorrência de autofecundação natural das flores hermafroditas. O ensaio foi conduzido em casa-de-vegetação na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O experimento foi delineado em blocos ao acaso com três repetições, cinco tratamentos e três plantas por parcela. Os tratamentos consistiram em quatro acessos (M01, M02, M03, M04) do BAG-Melancia da Embrapa Semi-Árido e na cultivar Crimson Sweet (M05). Foi constatado que os Acessos M01, M02 e M04 são andromonóicos visto que apresentaram respectivamente 94,5; 96,7 e 95,9% de flores hermafroditas, ao passo que M03 e M05 foram predominantemente monóicos com 80 e 54% de flores femininas. Foi observada também a ocorrência de autofecundações naturais de flores hermafroditas, inclusive com a formação de frutos e a produção de sementes.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

060 - CONSERVAÇÃO A LONGO PRAZO DE *Bromelia balansae* MEZ (Long term conservation of *Bromelia balansae* Mez)

Mamão, L. de S.¹, Martins-Costa, L.F.M.², Pereira Neto, L.G.³

Algumas espécies da família Bromeliaceae encontram-se na lista de plantas ameaçadas de extinção. Muitas espécies endêmicas já foram dizimadas e outras correm risco semelhante. Antecedendo o processo de formação do lago de Itaipu, no Estado do Paraná, no final dos anos 70, foram realizadas expedições para coleta de diversas espécies vegetais por técnicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen). Dentre as espécies, foram coletadas sementes de *Bromelia balansae* Mez, sendo estas incorporadas à Coleção de Base do Cenargen, em 1980. A planta é conhecida popularmente por caraguatá, gravatá ou macambira. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade das sementes de *B. balansae* Mez, conservadas a longo prazo em câmara fria (-20°C). Ao longo do período de armazenamento foram realizadas monitorações da viabilidade das sementes, aos 4, 15 e 24 anos. Para isto, as amostras foram retiradas da câmara fria e colocadas para descongelar por 24 horas. Sub-amostras de 100 sementes foram separadas para os testes de germinação. As sementes foram colocadas em caixas gerbox tendo como substrato papel filtro umedecido com água destilada, colocadas para germinar em estufa incubadora, a uma temperatura constante de 25°C. Foram feitas observações a cada 3 (três) dias. Avaliou-se o número de plântulas normais, sementes duras e mortas. As sementes apresentaram 100%, 93% e 91% após 4, 15 e 24 anos de armazenamento, respectivamente. Apesar da leve redução do poder germinativo das sementes, após 24 anos, este índice ainda atende os padrões da conservação a longo prazo, que é de 85% de viabilidade, não havendo necessidade de regeneração das sementes. As sementes apresentaram desuniformidade na germinação ao longo do período de avaliação, possivelmente devido a diferença no amadurecimento das mesmas. O comportamento apresentado pela semente de *B. balansae* Mez indica que esta espécie pode ser conservada a longo prazo, em câmaras frias com temperaturas subzero.

¹Estudante Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

²Bióloga, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Engº Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

061 - MICROPROPAGAÇÃO DE *Hippeastrum puniceum* (LAM.) KUNTZE (AMARYLLIDACEAE) (Micropropagation of *Hippeastrum puniceum* (Lam.) Kuntze (Amaryllidaceae))

Amaral, A. C.¹, Santos, I. R.I.², Cavalcanti, T. B.²

O setor produtor de plantas ornamentais no Brasil é quase exclusivamente baseado em espécies exóticas. A flora brasileira apresenta grande riqueza de espécies com potencial ornamental, representado principalmente pelas famílias Amaryllidaceae, Araceae, Bromeliaceae, Cactaceae, Orchidaceae, Piperaceae. A técnica da micropropagação possibilita a produção de mudas de alta qualidade, a intensificação da multiplicação e o encurtamento do ciclo reprodutivo. Uma das dificuldades encontradas nesta técnica é o desenvolvimento de protocolos adequados para cada espécie. No presente estudo, estão sendo testados protocolos para a micropropagação de espécies nativas com potencial ornamental e o gênero *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae) foi um dos grupos escolhidos. O gênero apresenta 130 espécies, ocorrentes do México à Argentina, e no Brasil encontram-se 20-30 espécies. Este trabalho visou o desenvolvimento de um protocolo para a micropropagação de *H. puniceum* (Lam.) Kuntze avaliando-se explantes, meio nutritivo e condições de cultivo apropriado. Secções de bulbo e discos foliares foram isolados e inoculados em Murashige & Skoog (1962) sólido suplementado com diferentes reguladores de crescimento, em concentrações diversas. As culturas foram mantidas sob intensidade luminosa de $39 \mu\text{M}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 hrs. Apenas as secções de bulbo apresentaram resposta positiva de regeneração *in vitro*, com a formação de 4-5 bulbilhos/ secção de bulbo inoculado, ao fim de 10 semanas de cultivo. Os bulbilhos deram origem a plantas de aspecto normal, as quais após cinco meses de cultivo foram transferidas para vasos contendo vermiculita e regadas com solução nutritiva para aclimação. Em seguida as plantas foram transplantadas para sacos plásticos contendo substrato esterilizado composto por terra, areia e matéria orgânica na proporção de 1:1:1.

¹Bióloga, B.Sc., bolsista CNPq/DTI

²Bióloga, Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

062 - PATÓGENO DA BRUSONE DO ARROZ EM GERMOPLASMA ARMAZENADO A LONGO PRAZO (Rice blast pathogen in long-term stored germplasm)

Ramos, V. R.¹, Ribeiro, V. S.², Wetzel, M.M.V. da S.³

A conservação de germoplasma a longo prazo é realizada no Banco Base de Germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e é denominada Coleção de Base (Colbase). O manejo das sementes na Colbase segue os padrões internacionais de qualidade de sementes estabelecidas pela FAO (1994), com algumas adequações (Faiad *et al.*, 1998). São realizadas atividades de monitoramento da viabilidade das sementes durante o período de armazenamento, cuja informação estabelecerá a tomada de decisão quanto à regeneração do acesso. Os testes de sanidade são realizados através de amostragem aleatória correspondendo a 10% dos acessos recebidos, utilizando-se 50 sementes por acesso com duas repetições. Acessos de arroz (*Oryza sativa* L.) armazenados há 15 e 8 anos, sob temperatura de -20°C e baixa umidade relativa, foram analisados através do método de papel de filtro. As sementes foram mantidas sob luz negra (radiação na faixa de 320–400nm), em turnos de 12h luz/12h escuro e temperatura $\pm 25^{\circ}\text{C}$, por um período de 7 dias. Verificou-se a sobrevivência de *Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr, fungo causador da brusone, doença mais importante da cultura do arroz, uma vez que afeta diretamente a formação dos grãos, diminuindo a produtividade. No campo o fungo sobrevive de um ano para outro em restos de cultura, plantas hospedeiras e sementes contaminadas. A disseminação pode ocorrer pela ação do vento transportando esporos e pelas sementes, nas quais pode se localizar interna ou externamente. O desenvolvimento de cultivares resistentes é o método mais viável de controle dessa doença, entretanto, estas têm apresentado uma vida útil de dois a três anos após seu lançamento (Correa-Victoria & Zeigler, 1993). Estudos para um melhor entendimento da dinâmica da virulência do patógeno e testes de patogenicidade devem ser conduzidos. O conhecimento da qualidade sanitária das sementes armazenadas é fundamental para garantir a distribuição e uso de germoplasma em boas condições.

¹ Eng. Agr., doutoranda, Universidade Estadual Paulista-Unesp/Botucatu, CNPq

² Estudante Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

063 - RESGATE DE *Pseudananas sagenarius* (ARR. CAM.) CAMARGO E A CONSERVAÇÃO A LONGO PRAZO (The *Pseudananas sagenarius* (Arr. Cam.) Camargo rescue and the long term conservation)

Sacramento, E.R.S.¹, Martins-Costa, L.F.M.², Wetzel, M.M.V.S.³, Ferreira, F.R.³

A coleta, conservação, caracterização e avaliação de germoplasma de abacaxi, podem indicar genótipos que apresentem características para uso direto por parte dos produtores e/ou de interesse para a pesquisa e melhoramento genético. O gênero *Pseudananas* inclui uma única espécie, *P. sagenarius* (Arr. Cam.) Camargo. Apresenta distribuição geográfica nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil, principalmente na costa litorânea (Mata Atlântica), Sudeste do Paraguai e Nordeste da Argentina (bacias dos rios Paraguai e Paraná). A planta é rústica, exuberante e vigorosa, podendo atingir até dois metros de altura; propaga-se por sementes e principalmente através de estolão. Possui flores sésseis, abrindo de baixo para cima. Seu fruto é sincarpo, de até 20 cm de comprimento e 10 cm de diâmetro, suculento e sem coroa. O acesso de germoplasma foi coletado, em 1980, na área de Itaipu (PR), hoje inundada, e incorporado a Coleção de Base da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade das sementes de *P. sagenarius* (Arr. Cam.) Camargo conservadas a longo prazo em câmara fria (-20°C). As sementes foram limpas, desidratadas a 5% de umidade, embaladas em sacos aluminizados e armazenadas em câmara fria a -20°C. Em 2004, retirou-se uma amostra, para controle da viabilidade das sementes. Para o teste de germinação, realizado com uma repetição, utilizou-se uma amostra de 50 sementes, as quais foram colocadas em Gerbox, tendo como substrato papel filtro (SP) umedecido com água destilada. A amostra foi colocada para germinar em estufa incubadora (germinador Biomatic), a uma temperatura constante de 25°C. Foram feitas observações a cada três dias. A germinação iniciou após 5 dias do plantio, e encerrou aos 30 dias. Buscou-se observar as plântulas normais, sementes duras e mortas. O resultado apresentado foi 88% de plântulas normais e 12% de sementes mortas. Os dados sugerem que as sementes podem ter dormência e ainda diferenças no amadurecimento das mesmas, influenciando a germinação, que ocorreu ao longo de 25 dias. O poder germinativo apresentado após 24 anos de armazenamento indica que a espécie *P. sagenarius* (Arr. Cam.) Camargo possui sementes ortodoxas, o que permite o seu armazenamento e conservação a longo prazo, em câmara fria a temperatura de -20°C.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Bióloga, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

064 - TAXA DE GERMINAÇÃO IN VITRO DE SEMENTES DE *Syngonanthus elegans* (BONG.) RUHLAND (*Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland seeds in vitro germination)

Souza, G.A.B.¹, Cardoso, L.D.², Mendes, R.A.³

A espécie *Syngonanthus elegans*, denominada popularmente como pé-de-ouro, é uma das espécies de plantas conhecidas como “sempre vivas”. Essas plantas são nativas dos campos rupestres e cerrados e intensamente comercializadas devido às suas características peculiares. Mesmo após colhidas e secas ou desidratadas, as inflorescências das sempre vivas não sofrem, praticamente, alteração alguma em sua forma e coloração, conservando características e aparência de estruturas vivas, o que faz delas plantas amplamente utilizadas para fins decorativos. A principal família de “sempre vivas” de interesse comercial é a Eriocaulaceae, da qual faz parte a *S. elegans*, espécie procedente do cerrado. Em função da coleta extrativista muito intensa, considerada predatória, muitas das “sempre vivas” comercializadas aparecem na “Lista Oficial de Espécies Ameaçadas de Extinção”, sendo a *S. elegans* uma dessas espécies. O presente trabalho teve como objetivo analisar quantitativamente a taxa de germinação de sementes de *S. elegans*. As sementes da *S. elegans* são, praticamente, microscópicas e, por isso, de difícil manuseio. Sua germinação foi realizada in vitro utilizando os frutos da espécie. Os frutos por sua vez, permitem um melhor manejo e cada um possui em média três sementes. Após a destruição dos capítulos, os frutos foram separados com o auxílio do microscópio e submetidos a um tratamento de desinfestação. Eles foram imersos em uma solução de hipoclorito de sódio a 2% p/v com duas gotas de detergente por um período de 15 minutos dentro de uma seringa de injeção descartável. Os frutos foram, então, enxaguados três vezes, inserindo água na seringa e expelindo-a em seguida. Ao final do tratamento de desinfestação os frutos foram semeados em três placas de Petri contendo meio de cultura de Murashige e Skoog na metade de sua concentração. Em cada placa foram cultivados, aleatoriamente, 46, 84 e 41 frutos, somando um total de 171 frutos (ou 513 sementes). Após uma semana da semeadura já foi possível identificar sementes em início de germinação e ao final de 45 dias a germinação mostrou-se completa. De todos os frutos semeados, 12,9% das sementes germinaram. As plântulas obtidas foram individualizadas em tubos de ensaio para permitir um maior desenvolvimento.

¹ Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

² Assistente de Operação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

065 - USO DE *Ananas bracteatus* COMO CERCA VIVA (Utilization of *ananas bracteatus* as hedgerow).

Sacramento, E. R. S.¹, Ferreira, F. R.², Fávero, A. P.², Cabral, J. R. S.³

O ananás, ou abacaxi como é popularmente conhecido tem o nome originário do tupi-guarani, e significa fruta cheirosa. Na grandeza de sua família destaca-se o abacaxi (*Ananas comosus*) e outras espécies de importante valor ornamental e industrial (produtora de fibras), além do aspecto medicinal. A maioria das espécies desta família é originária da América, com poucas espécies de zonas temperadas. São espécies que ocorrem principalmente em regiões tropicais e subtropicais com clima quente e seco ou com chuvas irregulares, sendo o ananás uma planta resistente à seca, porém muito sensível ao frio, com temperatura média favorável entre 21° C e 27 ° C. Pode ser plantado em qualquer tipo de solo, desde que permeável e leve devido as suas raízes superficiais serem muito susceptíveis à água estagnada, e com pH preferencial entre 5,5 e 6. A utilização do abacaxi silvestre como cerca viva no meio rural e urbano promove a preservação do meio ambiente e o aumento da produtividade gerando, para o homem do campo, uma maior rentabilidade no cultivo de certas culturas e na criação de animais. Cercas vivas são manejos sustentáveis que podem apresentar a alternativa perfeita para a separação dos espaços de forma criativa e ao mesmo tempo produtiva. Consideradas esteticamente perfeitas, representam uma maneira natural de isolar áreas, disfarçar paredes ou muros e formar uma bonita impressão no ambiente. Possuem baixo custo de implantação, e têm reduzido custo de manutenção. A espécie *Ananas bracteatus*, além de fazer parte do “pool” gênico do abacaxi, é normalmente cultivada como cerca viva, principalmente na região sul do Brasil. A planta é vigorosa, com produção de muitas mudas. As folhas são verdes ou variegadas com faixas longitudinais de cor branco-amarela, com matrizes rosadas, largas e compridas armada com espinhos grossos, espaçados e ascendentes. Escapo grosso e vigoroso. Inflorescência rosa claro e vermelho, muito vistosa. Flores com brácteas conspícuas imbricadas cobrindo os ovários, grosseiramente serrilhadas, normalmente vermelhas ou cor-de-rosa. Fruto suculento, acima de 10 cm de comprimento, sustentado por um pedúnculo de tamanho médio, maior que 15 cm de comprimento. Floresce no início do verão e demora aproximadamente 18 meses para atingir a maturidade. Quando as plantas da cerca viva estão floridas e/ou em frutificação, apresentam um belo visual.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Mandioca e Fruticultura

Controle Biológico

066 - ALTERAÇÕES DO METABOLISMO DA SOJA BR-16 DEVIDO AOS DANOS CAUSADOS POR ALIMENTAÇÃO E OVIPOSIÇÃO DO PERCEVEJO-PRAGA DA SOJA *Euschistus heros* (Changes in the metabolism of the soybean variety B-R16 Induced by the feeding and oviposition behaviour of the soybean stink bug *Euschistus heros*)

Bortolini, C.F.B.¹, Oliveira, V. L.², Laumann, R.³, Moraes, M.C.B.⁴, Borges, M.⁵

Estudos vêm demonstrando que plantas percebem a presença de insetos herbívoros através dos danos que estes causam nas folhas e caule. Um deles é provocado pela alimentação, sejam insetos sugadores ou mastigadores, e o outro através de danos causados pela oviposição. Nos estudos com insetos sugadores, o percevejo praga da soja *Euschistus heros* e soja (*Glycine max* cv BR-16), mostraram que tanto a alimentação bem como a oviposição, realizada por este inseto, alteraram o sistema metabólico da planta. Plantas de soja da variedade BR-16 no estágio vegetativo V3 foram submetidas a diferentes tratamentos. Tratamento 1: fêmeas virgens com sugador, tratamento 2: fêmeas acasaladas sem sugador e tratamento 3: plantas de soja sadia. As plantas submetidas aos tratamentos 1 e 2 liberaram uma quantidade de voláteis, como hexenal e (E)-3 acetato de hexenila e (E)-2 acetato de hexenila, em maior quantidade do que a soja sadia, isto é, sem qualquer tipo de dano. No entanto, não se observaram diferenças qualitativas ou quantitativas significativas entre as plantas de soja tratadas com fêmeas virgens sugadoras (alimentação) e fêmeas acasaladas sem sugador (oviposição). As plantas foram mantidas em tratamento durante 10 dias, a quantidade de voláteis liberadas só foi significativamente diferente a partir do quarto dia de tratamento.

¹Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Química, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

³Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Química, Ph.D., Química Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

067 - ANÁLISE DA PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DOS FUNGOS *Beauveria bassiana* E *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* CONTRA O CARRUNCHO DE FEIJÃO DE CORDA (*Callosobruchus maculatus*) (Analysis of pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* against cowpea seed beetle (*Callosobruchus maculatus*))

Sarmento, R.B.C.¹, Pereira, M.², Lauman, R.³, Franco, O.L.⁴, Valadares-Inglis, M.C.⁵

O feijão de corda (*Vigna unguiculata*) é uma cultura de subsistência para grande parte dos pequenos agricultores da região Nordeste do Brasil. Essa cultura é severamente atacada pelo caruncho de feijão de corda (*Callosobruchus maculatus*) que causa perdas de até 40% da produção. Este bruquídeo penetra nas sementes em seu estágio larval, alimentando e nutrindo-se de seus tecidos. Uma das estratégias para o controle deste inseto é o uso de agentes de controle biológico. Os fungos entomopatogênicos são um dos principais agentes utilizados no controle microbiano de insetos, e a ocorrência desses fungos em condições naturais tem sido um fator importante na redução das populações de insetos-praga no Brasil. O objetivo desse trabalho foi avaliar o índice de mortalidade de *C. maculatus*, através do cálculo das CL50, em dois isolados de *Beauveria bassiana* (CG05 e CG07) e dois isolados de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (CG34 e CG100), previamente selecionados através de testes de patogenicidade. Foram feitos bioensaios utilizando a Torre de Potter (Potter Spray Tower), a uma pressão de 15PSI (libras/polegadas²), com 5 dosagens diferentes. Aplicaram-se 2 ml de solução para cada repetição das dosagens utilizada (n=3). Os insetos mortos foram transferidos para câmara úmida e mantidos a 28°C, para confirmação da infecção. Os índices de patogenicidade apresentaram os seguintes resultados: CG34 > CG100 > CG05 > CG07, contudo não apresentaram diferença estatística significativa ao comparar seus intervalos de confiança de 95%.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, UCB

⁴Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

⁵Bióloga, Ph.D. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

068 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DAS AMÉRICAS DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES (Genetic variability analysis of american *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae) populations using molecular markers)

Queiroz, P.R.¹, Martins, E. S.², Monnerat, R.G.³, Lima, L.H.C.⁴

A lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*, é uma espécie polífaga que ataca diversas culturas economicamente importantes em vários países das Américas, inclusive no Brasil, ocasionando perdas na produção que variam de 15% a 34%. Uma das estratégias para o controle das populações de *S. frugiperda* é o emprego de marcadores específicos para populações resistentes a determinados inseticidas ou potenciais transmissoras de doenças de plantas. Dessa forma, marcadores dominantes gerados por RAPD são úteis quando se necessita de informações genéticas a partir de polimorfismo de segmentos de DNA obtidos em curto espaço de tempo. O objetivo deste trabalho é o de analisar a variabilidade genética entre populações de *S. frugiperda* provenientes de quatro países do continente americano. O emprego de vários primers nas reações de RAPD produziram diferentes perfis eletroforéticos entre as populações analisadas. Esses perfis, quando foram usados no estabelecimento das relações filogenéticas entre as populações de *S. frugiperda*, indicaram variabilidade genética permitindo, com facilidade, diferenciar um grupo do Brasil e dois grupos provenientes do México. As populações da Costa Rica e Colômbia apresentaram maior similaridade genética podendo sugerir um fluxo de indivíduos entre estas duas localidades. Essa estratégia poderá ser utilizada para se estudar futuras modificações de marcadores moleculares quando novos indivíduos forem introduzidos nessas populações. Além disso, a técnica de extração de DNA desenvolvida permitiu detectar e analisar os marcadores moleculares em estágios iniciais do desenvolvimento desses insetos. Uma próxima etapa poderá ser o desenvolvimento de um banco de marcadores moleculares específicos para o monitoramento de cada uma dessas populações.

¹Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

²Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

069 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES RAPD (Genetic variability analysis of a population of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae) using molecular markers RAPD)

Queiroz, P.R.¹, Martins, E.S.², Monnerat, R.G.³, Lima, L.H.C.⁴

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma espécie polífaga que ataca diversas culturas economicamente importantes em vários países, inclusive no Brasil, ocasionando perdas na produção que variam de 15% a 34%. Uma das estratégias de se controlar populações de *S. frugiperda* é identificar marcadores que indiquem populações resistentes a determinados inseticidas, ou mesmo, buscando marcadores que apontem potenciais populações transmissoras de doenças de plantas. Uma alternativa é o uso dos marcadores dominantes gerados por RAPD. Os marcadores RAPD se baseiam na amplificação do DNA gerando simplicidade e rapidez a baixos custos. Assim, grande quantidade de polimorfismo e segmentos de DNA são obtidos em curto espaço de tempo. Os objetivos desse trabalho foram o de determinar perfis eletroforéticos e analisar a variabilidade genética entre indivíduos de uma população de *S. frugiperda*. Utilizando-se a metodologia de extração de DNA estabelecida, foi possível obter perfis eletroforéticos de *S. frugiperda* por meio de reações de RAPD. Nessas reações foram usados os primers OPA-03, OPA-04, OPA-10, OPA-11 e OPA-13 que produziram diferentes perfis eletroforéticos entre os indivíduos analisados. Esses perfis foram usados para o estabelecimento das relações filogenéticas entre os indivíduos de *S. frugiperda*. Por essa metodologia, observou-se variabilidade entre os indivíduos analisados. A técnica de extração forneceu DNA com qualidade para analisar a variabilidade genética de uma população de *S. frugiperda* por RAPD. Essa estratégia poderá ser utilizada para se estudar futuras modificações de marcadores moleculares quando novos indivíduos forem introduzidos na colônia. Além disso, com a técnica de extração de DNA foi possível obter DNA a partir de indivíduos de terceiro instar, permitindo analisar os marcadores moleculares em estágios iniciais do desenvolvimento desses insetos. Uma próxima etapa poderá ser o desenvolvimento de um banco de marcadores moleculares para o monitoramento dessa espécie em campo.

¹Biólogo, doutorando, Univesidade de Brasília-UnB

²Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

070 - ANÁLISE DE INFECÇÕES POR *Anticarsia gemmatalis* MNPV : PASSAGEM SERIADA DO VIRUS EM CULTURA DE CÉLULAS DE INSETOS (Analysis of infections by *Anticarsia gemmatalis* MNPV : serial virus passage in insect cell culture)

Sousa, N.O.M.¹, Ribeiro, Z.M.A.², Castro, M.E.B.³

O baculovirus *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus* (AgMNPV), família Baculoviridae, infecta a lagarta *Anticarsia gemmatalis*, uma importante praga encontrada em plantações de soja. Sistema de infecção com base em cultura de células de insetos é uma alternativa para a multiplicação de baculovirus. No entanto, limitações têm ocorrido durante a propagação desses vírus em cultura de células, pois passagens virais sucessivas podem interferir na sua infectividade resultando na produção de mutantes FP (“few polyhedra”) ou em partículas interferentes defectivas (DIPs), por exemplo. Neste estudo, foram observadas as características morfológicas de células infectadas com AgMNPV provenientes de altas e baixas passagens e analisadas as possíveis alterações no genoma do vírus, visando contribuir para estudos de cultivo de baculovirus em sistemas in vitro. As linhagens celulares UFL-AG-286, SF-21, Tn5B1-4 e SF-9 foram infectadas com sobrenadantes (BV – baixas e altas passagens) de células SF-9 infectadas por AgMNPV, provenientes do Instituto Butantan (SP). O DNA viral foi purificado a partir dessas células e posteriormente clivado pelas enzimas de restrição PstI e HindIII para análise. Somente as linhagens celulares UFL-AG-286 e Tn5B1-4 foram utilizadas para análise, por terem apresentado infecções mais produtivas. As infecções de baixas passagens propagaram-se mais rapidamente, apresentando efeitos citopáticos típicos de infecção produtiva, do que as de altas passagens, que mostraram alterações disformes. A análise comparativa dos DNAs de AgMNPV, clivados com as mesmas enzimas de restrição, mostrou diferenças entre os perfis de DNA de altas passagens e os de baixas passagens, e este foi similar ao do DNA de AgMNPV-2D, usado como padrão. Algumas bandas presentes tanto nos perfis de baixas passagens quanto nos de AgMNPV-2D não foram detectadas em perfis de DNA de altas passagens. Esses resultados sugerem a ocorrência de mutantes de deleção espontânea de partes do genoma viral (DIPs) que, de acordo com a literatura, replicam a expensas do vírus selvagem (“helper”), levando a diminuição de sua infectividade à medida que aumentam as passagens virais.

¹Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

²Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

071 - A TOXINA RECOMBINANTE Cry1Ia DE *Bacillus thuringiensis*, EXPRESSA EM CÉLULAS DE INSETO, POSSUI ALTA ATIVIDADE CONTRA O BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843) (The *Bacillus thuringiensis* Cry1Ia recombinant toxin, expressed in insect cells, has high activity against the bolweevil, *Anthonomus grandis* Boheman, 1843)

Martins, E.S.¹, Aguiar, R.W. de S.², Ribeiro, B.M.³, Monnerat, R.G.⁴

O algodão é uma das principais commodities comercializadas em nível mundial. Na indústria têxtil, sua fibra é reconhecida como a mais importante e de maior valor de mercado. O Brasil já foi um dos maiores produtores de fibras de algodão. O principal fator que contribuiu para o decréscimo da cotonicultura foi o estabelecimento definitivo do bicudo (*Anthonomus grandis*). O seu controle é feito através do uso massivo de inseticidas químicos. Em todo o mundo, pesquisadores vem tentando conseguir, através de melhoramento tradicional, cultivares resistentes ao bicudo, porém os resultados têm sido pouco satisfatórios. Uma alternativa é o uso da biotecnologia para construção de algodão transgênico, contendo gene ou genes de resistência ao bicudo. O *Bacillus thuringiensis* é um candidato natural como fonte de genes de resistência a insetos. Essa bactéria é utilizada como agente de controle biológico em vários países por produzir toxinas inseto-específicas. Essas toxinas possuem atividade entomopatogênica, dentre elas Cry3, Cry8 e Cry1 são descritas como ativas para insetos da ordem Coleoptera. O objetivo deste trabalho foi a clonagem e a expressão de um gene cry1I, de uma estirpe de *B. thuringiensis* tóxica para bicudo. Primeiramente, o gene foi amplificado por PCR, usando oligonucleotídeos específicos, a partir do DNA da estirpe S1451 e depois clonado. O clone foi seqüenciado e a análise de BLAST apontou 99% de homologia com seqüências do gene cry1Ia já depositadas no GenBank. O gene cry1Ia foi, então, inserido no genoma do vírus *Autographa californica nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV) e, este foi propagado em células de *Trichoplusia ni*. Após purificação viral, larvas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* foram infectadas com o vírus recombinante, a fim de que ocorresse a expressão do gene cry1Ia. O Extrato das lagartas, contendo a toxina, foi testado contra larvas neonatas de bicudo, apresentando alta atividade para este inseto, indicando que este é um gene bastante promissor para a construção de uma nova cultivar de algodão resistente ao bicudo.

¹ Biologia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

² Eng. Agr., Msc, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

³ Bióloga, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB.

⁴ Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

072 - ATRATIVIDADE DE VOLÁTEIS DA SOJA INDUZIDOS POR DANOS CAUSADOS POR ALIMENTAÇÃO E OVIPOSIÇÃO DO PERCEVEJO-PRAGA DA SOJA *Euschistus heros* SOBRE O PARASITÓIDE DE OVOS *Telenomus podisi* (Attraction of the soybean volatiles to the egg parasitoid *Telenomus podisi* induced by feeding and oviposition behaviour of the soybean stink bug *Euschistus heros*)

Bitencourt, O.C.¹, Laumann, R.², Moraes, M.C.B.³, Borges, M.⁴

Uma das formas de defesa das plantas a danos causados por herbívoros é a liberação de voláteis que atraem seus inimigos naturais (defesas induzidas). A liberação de voláteis quando as plantas são danificadas por insetos mastigadores foi estabelecida há 15 anos e é atualmente bem conhecida, porém as defesas induzidas por insetos sugadores são praticamente desconhecidas. Da mesma maneira nos últimos anos tem sido estudada a produção de defesas induzidas como consequência da oviposição de insetos herbívoros. O objetivo deste trabalho foi estudar as defesas induzidas em plantas de soja quando danificadas por alimentação ou oviposição do percevejo *Euschistus heros*. Plantas de soja da variedade BR-16 no estágio vegetativo V3 foram submetidas a diferentes tratamentos. Tratamento 1: fêmeas virgens de *E. heros* com sugador; tratamento 2: fêmeas acasaladas de *E. heros* sem sugador e tratamento 3: plantas de soja sadia. As plantas foram submetidas a estes tratamentos durante um período de 10 dias e mantidas sobre aeração forçada para coleta dos voláteis. Os voláteis foram coletados em adsorventes químicos (80 mg de Super Q da Alltech) e foram eluidos com solvente orgânico, hexano, pré-concentrados e usados em bioensaios em olfatômetro em Y com o parasitóides de ovos *T. Podisis*. Os parasitóides foram estimulados com os seguintes tratamentos: T1 versus T2, T1 versus T3 e T2 versus T3. Não se observou preferência significativa dos parasitóides na escolha entre T1 e T2 (c^2 , $p>0.05$) em extratos dos 10 dias de aeração. No entanto, *T. podisi* mostrou significativa preferência aos tratamentos 1 e 2 quando comparado ao tratamento 3 (c^2 , $p<0.01$) a partir do quarto dia.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

073 - AVALIAÇÃO DA COMUNIDADES DE ARTRÓPODOS PREDADORES EM SOLOS DE LAVOURA DE ALGODÃO NO DISTRITO FEDERAL (Community of predator arthropods evaluation on the ground of cotton crop in Federal District)

Portilho, T.C.¹, Schmidt, F.G.V.², Faria, M.R.², Fontes, E.M.G.³, Pires, C.S.S.³, Sujii, E.R.⁴

O efeito de dois sistemas de manejo do algodão (com e sem inseticida) na comunidade de artrópodes predadores foi avaliado visando determinar aqueles que poderão ser usados como indicadores do impacto de práticas agrícolas para avaliação de biossegurança. Armadilhas tipo Pitfall foram usadas no levantamento das morfo-espécies de artrópodos que freqüentam a superfície do solo em áreas com algodão. Os levantamentos foram realizados no Núcleo Rural de Tabatinga (DF), em lavoura de algodão conduzida de forma tradicional, e de uma área contígua onde inseticidas químicos não foram aplicados. Foram realizadas quatro coletas na safra 2002/03 e cinco na safra 2003/04 em épocas distintas do ciclo da cultura. Os resultados da safra 2002/03 apontaram a predominância de aranhas (31 morfo-espécies) e coleópteros (50 morfo-espécies), embora insetos das ordens Hemiptera, Hymenoptera e Dermaptera tenham sido coletados. Uma avaliação feita na entressafra (agosto de 2003) mostrou que a riqueza de espécies mantém o mesmo padrão observado durante a safra, tendo apresentado 15 morfo-espécies no cerrado, três na área sem inseticida e duas na área com inseticida. Os insetos coletados na safra 2003/04 encontram-se em fase de classificação e identificação. De maneira geral, tanto o número de morfo-espécies quanto o número de espécimes foi maior na área não tratada com inseticidas químicos. Uma morfo-espécie de aranha, *Lycosa* sp (Lycosidae) e duas de coleópteros, *Bembidiom* sp (Carabidae) e um Staphylinidae, ocorreram em quantidade significativamente maior na área sem inseticida, sugerindo que essas servem para avaliações do impacto de práticas culturais sobre a comunidade de predadores do solo em lavouras de algodão.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB, CNPq

²Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

074 - AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. (Assessment of the variability of *Trichoderma* spp. isolates)

Auler, A.C.V.¹, Ávila, Z.R.², Carvalho, S.S.³, Orioli, F.P.⁴, Falcão, J.V.⁴, Mello, S.C. M.²

Uma alternativa no controle de fitopatógenos é a utilização de agentes biológicos, pois estes apresentam potencial para limitarem a atividade do patógeno ou aumentarem a resistência do hospedeiro. Espécies do gênero *Trichoderma* spp. destacam-se dentre os agentes de biocontrole mais intensamente pesquisados. Este trabalho representa o início de uma série de estudos que estão sendo conduzidos com diversos isolados de *Trichoderma* spp. provenientes do bioma cerrado (Estado de Goiás), e teve como objetivo avaliar a variabilidade desses isolados quanto ao crescimento e esporulação, em meio BDA, bem como em relação ao efeito antagônico sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary e *Sclerotium rolfsii* Sacc. Discos de micélio de cada isolado de *Trichoderma* spp. foram colocados no centro da placa de Petri contendo meio BDA. Medidas do diâmetro do fungo foram feitas após 24 e 48 horas de cultivo. Com 72 horas, foram feitas as contagens de esporos com o auxílio de câmara de Neubauer. Para avaliar o antagonismo, utilizou-se a metodologia de cultivo pareado, de modo que os fitopatógenos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*, e cada um dos isolados de *Trichoderma* spp., foram cultivados em placas de Petri contendo meio BDA. Discos de micélio de ambos os fungos foram colocados opostamente nas margens da placa. Medida do diâmetro das colônias foram realizadas aos cinco dias de cultivo. Observou-se variabilidade quanto ao crescimento, esporulação e antagonismo. Os isolados CEN 143 e CEN 153 apresentaram crescimento mais rápido em relação aos demais, enquanto a esporulação foi maior com os isolados CEN 196 e CEN 167. Maiores valores para porcentagem de inibição no crescimento de *S. sclerotiorum* foram obtidos com os isolados CEN 193 e CEN 154. Em relação ao *S. rolfsii*, maior inibição do crescimento foi observada com os isolados CEN 197 e CEN 153. Pode-se inferir pelos resultados obtidos que a competição, provavelmente, é um dos mecanismos envolvidos no antagonismo desses isolados sobre *S. sclerotium* e *S. rolfsii*. Os isolados de *Trichoderma* spp. utilizados neste trabalho estão sendo estudados quanto à produção de metabólitos tóxicos e eficiência no controle dos patógenos, em casa de vegetação, e já foram incorporados à coleção de fungos para controle de fitopatógenos e plantas daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

¹Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Eng. Agr., Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Biotecnológica, graduando, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

⁴Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

075 - AVALIAÇÃO DE BIOINSETICIDAS A BASE DE *Bacillus thuringiensis* NA CULTURA DO REPOLHO PARA O CONTROLE DA TRAÇA DAS CRUCÍFERAS (Evaluation of biopesticides based on *Bacillus thuringiensis* for controlling diamondback moth)

Medeiros, P.T.¹, Dias, J.M.C.S.², Sone, E.H.³, Soares, C.M.⁴, Barreto, E.G.S.⁵, Monnerat, R.G.⁶

O presente trabalho foi conduzido durante os meses de outubro de 2003 à janeiro de 2004 em uma área experimental da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Foram testados quatro produtos biológicos a base de *Bacillus thuringiensis*, sendo eles os bioinseticidas comerciais Dipel[®] e Xentari[®] e duas estirpes a S845 e S1450, um produto químico Tracer e água como testemunha. A estirpe S1450 pertence ao sorotipo kurstaki e é a cepa padrão usada no Dipel. A S845 é uma das estirpes mais eficazes contra *Plutella xylostella* selecionada após um “screening” feito no Banco de Germoplasma de *Bacillus* sp. Essas estirpes foram produzidas com uma formulação desenvolvida pela empresa Bthek Biotecnologia, com a finalidade de avaliar a eficácia destes inseticidas biológicos para o controle da traça das crucíferas na cultura do repolho. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, com quatro repetições e seis tratamentos, sendo as parcelas formadas de duas linhas com sete plantas cada, totalizando quatorze plantas por parcela. A avaliação para a aplicação ou não dos tratamentos foi realizada através da contagem dos furos causados pela traça nas quatro folhas centrais do repolho através de um número amostral determinado. Resultando a média igual ou superior a seis aplicava-se o tratamento correspondente. Ao final do experimento pôde ser observado que os produtos biológicos comerciais, quanto os formulados, não diferiram entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e reduziram significativamente o ataque das larvas quando comparados à testemunha.

¹Eng. Agr., mestranda, Universidade Federal de Mato Grosso-UFMT

²Eng. Químico, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Florestal, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., graduando, Universidade Federal do Tocantins-UFT

⁵Eng. Agr., Bthek Biotecnologia Ltda.

⁶Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

076 - AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sclerotium rolfsii* NA CULTURA DA SOJA (Assessment of the biocontrol potential of *Trichoderma* spp. isolates against *Sclerotium rolfsii* in soybean)

Falcão, J.V.¹, Ávila, Z.R.², Orioli, F.P.¹, Auler, A.C.V.³, Silva, J.B.T.⁴, Mello, S.C.M.²

Sclerotium rolfsii Sacc. é um fitopatógeno de solo que ataca um grande número de plantas cultivadas, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais, onde as temperaturas são suficientemente altas para permitir o seu crescimento e sua sobrevivência. Este fitopatógeno é responsável pela morte de plântulas de soja tanto em pré quanto em pós-emergência, causando grande redução no “stand” final. Diversos testes, realizados em casa de vegetação e em campo, têm demonstrado o sucesso de seu controle com a aplicação de fungos antagonísticos diretamente no solo, tais como espécies do gênero *Trichoderma*. O objetivo deste trabalho foi avaliar e selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com potencial para serem utilizados no biocontrole de *S. rolfsii* em plantas de soja da cv. BRS-Milena. Para a realização de bioensaio, foram utilizados vasos plásticos (9 x 10,5 cm) e solo corrigido autoclavado. Os inóculos do patógeno e do antagonista foram produzidos em grãos de arroz parboilizado e autoclavado, sendo mantidos em BOD a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias. Após esse período realizou-se a inoculação simultânea do solo com o fitopatógeno e o antagonista. Foram utilizados 5 g de arroz colonizados por Kg de solo. Após 24 horas, procedeu-se a semeadura, utilizando quatro sementes de soja por vaso. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. As avaliações foram realizadas aos 14 dias após a semeadura, em termos de porcentagem de plantas vivas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. De acordo com os resultados, sete isolados se destacaram entre os demais, proporcionando 100% de controle, que corresponde a porcentagem de plantas vivas. Os outros isolados proporcionaram controle variando de 25 a 91,67%, dessa forma, não diferindo das testemunhas não inoculadas. Destacaram-se, ainda, 11 isolados que não diferiram significativamente dos melhores. As testemunhas inoculadas somente com o patógeno não apresentaram germinação das sementes, sendo isso, indicativo de morte de pré-emergência. Portanto, os isolados que estão aptos para serem testados em campo, visando o desenvolvimento de biofungicidas são: CEN211, CEN208, CEN209, CEN219, CEN206, CEN226 e CEN228.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

⁴Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

077 - BACULOVIRUS PATOGENICO À LAGARTA *Condylorrhiza vestigialis* (Pathogenic baculovirus to *Condylorrhiza vestigialis* caterpillar)

Santos, A.C.B.¹, Ribeiro, Z.M.A.², Souza, M.L.³, Sousa, N.J.⁴, Castro, M.E.B.³

A lagarta *Condylorrhiza vestigialis* é uma importante praga do álamo (família Salicaceae; gênero *Populus*), cuja madeira é utilizada na fabricação de móveis e, principalmente, de caixa e palitos de fósforo. A lagarta causa desfolhamento e reduz consideravelmente o crescimento da planta. Para seu controle, normalmente são aplicados produtos químicos, entretanto, devido a sensível condição do ambiente de várzea onde o álamo é cultivado, buscaram-se alternativas de menor impacto. Recentemente, lagartas encontradas no campo com sintomatologia característica de infecção por vírus foram coletadas e analisadas por técnicas de microscopia eletrônica, bioquímica e molecular. A análise ultraestrutural do patógeno mostrou tratar-se de um vírus da família Baculoviridae, gênero Nucleopolyhedrovirus (NPV), com variado número de nucleocapsídeos por envelope, sendo designado, portanto, de *Condylorrhiza vestigialis multiple nucleopolyhedrovirus* (CvMNPV). Partículas virais analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE-SDS) apresentaram uma forte banda, cerca de 33kDa, indicando a presença de poliedrina, a principal proteína dos baculovirus. O DNA viral clivado com diferentes enzimas de restrição e submetido à análise por eletroforese em gel de agarose gerou perfis com 8, 7, 9, 20 e 17 fragmentos para, respectivamente, BamHI, BglII, EcoRI, HindIII e PstI. Além dessas análises, a infectividade do baculovirus identificado, CvMNPV, foi testada em diferentes linhagens celulares de insetos: *Anticarsia gemmatalis* (UFL-AG-286), *Trichoplusia ni* (BTI-Tn5B1-4), *Spodoptera frugiperda* (IPLB-SF-21AE e SF9) e *Bombyx mori* (BM-5). As linhagens SF-21 e UFL-AG-286 foram permissivas ao vírus, exibindo arredondamento celular, hipertrofia nuclear e formação de poliedros no núcleo das células, sendo SF-21 a mais produtiva. No caso das células UFL-AG-286, Tn5B1-4 e BM-5, observou-se grande quantidade de lise. Células SF-9 não apresentaram alteração morfológica detectável ao microscópio de contraste de fase. Estes resultados contribuirão para continuidade dos estudos de caracterização do vírus CvMNPV a serem conduzidos no Laboratório de Virologia da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

¹Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴Eng. Florestal, Ph.D., Universidade Federal do Paraná-UFPR

078 - BIOCONTROLE DE TOMBAMENTO EM PLÂNTULAS DE FEIJOEIRO CAUSADO POR *Sclerotium rolfsii* (Biocontrol of damping-off in beans caused by *Sclerotium rolfsii*)

Carvalho, S.S.¹, Auler, A.C.V.², Orioli, F.P.³, Falcão, J.V.³, Braúna, L.M.⁴, Silva, M.C.F.⁵, Mello, S.C.M.⁶

O feijoeiro é uma cultura suscetível a vários fitopatógenos, como ao fungo *Sclerotium rolfsii*, que causa tombamento de plântulas, podridão do colo e murcha. Devido à produção de escleródios, é capaz de sobreviver no solo por anos e constituem fonte de inóculo. Uma das alternativas para o controle deste fungo é utilização de fungos antagonistas. O objetivo deste trabalho foi avaliar e selecionar isolados de *Trichoderma* spp., obtidos de área com cultivo do algodoeiro, de região do Distrito Federal, com potencial para o controle de *S. rolfsii* em plântulas de feijoeiro. Estudou-se o efeito antagônico destes isolados por cultivo pareado, que consistiu no cultivo do fitopatógeno e dos isolados de *Trichoderma* spp., em meio BDA, durante cinco dias. Cada placa de Petri recebeu um disco de micélio de *S. rolfsii* e um de micélio do antagonista, dispostos opostamente, a 1 cm das margens da placa. Medidas do diâmetro das colônias do fitopatógeno foram tomadas aos cinco dias após incubação em fotoperíodo de 12 hs, a 25 °C. Fez-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. A produção do inóculo para os experimentos em casa de vegetação ocorreu por meio de cultivo dos isolados de *Trichoderma* spp. e de *S. rolfsii* em frascos Erlenmeyer, utilizando arroz parboilizado como substrato. Discos de micélio retirados de colônias com cinco dias de idade, desenvolvidas em meio BDA, foram transferidas para o substrato, previamente umedecido em água destilada (60% p/v) e autoclavado. Os frascos foram mantidos em incubadora tipo BOD a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas, durante seis dias. Vasos com capacidade para 500g de solo foram contaminados com *S. rolfsii* e com os isolados de *Trichoderma* spp., simultaneamente, na proporção de 5 g de substrato colonizado por kg de solo. Após 24 horas da contaminação, realizou-se o semeio do feijoeiro. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento, sendo a repetição representada por um vaso com quatro plantas, em delineamento inteiramente casualizado. A avaliação do controle foi realizada pela determinação da porcentagem de plantas vivas, aos 20 dias após a inoculação. Todos os isolados de *Trichoderma* spp. mostraram potencial para inibirem o crescimento de *S. rolfsii*, in vitro. O isolado CEN234 apresentou maior porcentagem de inibição (42%). Relativamente ao controle de *S. rolfsii* em plantas de feijão, maiores porcentagens de plantas sobreviventes foram obtidas com os isolados CEN 219, CEN 235, CEN237, CEN238 e CEN 240 que não diferiram significativamente da testemunha.

¹Eng. Biotecnológica, graduanda, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

²Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁴Biólogo, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

079 - CLONAGEM DO GENE TRUNCADO cry1Ca DE *Bacillus thuringiensis* DENTRO DE GENOMA DO BACULOVÍRUS *Autographa californica nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV) (Cloning of the truncated gene cry1Ca of *Bacillus thuringiensis* into the genome of the baculovirus *Autographa californica nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV))

Aguiar, R.W. de S.¹, Martins, E.S.², Monnerat, R.G.³, Ribeiro, B.M.⁴

O baculovírus é o agente viral de controle biológico mais empregado em todo mundo, principalmente na cultura da soja, no controle da sua principal praga, a lagarta *Anticarsia gemmatalis* (Lepidóptera: Noctuidae). Atualmente, busca-se a incorporação de genes exógenos dentro do genoma do baculovírus para aumentar sua patogenicidade, tais como: genes de toxinas de aranhas, gene de hormônio juvenil e gene de bactéria *Bacillus thuringiensis*. O objetivo deste trabalho foi verificar a patogenicidade do baculovirus recombinante contendo o gene cry1Ca de *B. thuringiensis* (VsynCry1Ca) na mortalidade de larvas de terceiro ínstar de *A. gemmatalis*. O gene cry1Ca derivado de *B. thuringiensis*, na forma truncada de 2.8 kb, foi introduzido dentro do genoma AcMNPV, sob o controle do promotor do gene da poliedrina. A região truncada do gene cry1Ca foi obtida por PCR, com primer específico e posteriormente foi clonado no vetor pBluescript. Posteriormente, com enzima de restrição, o inserto foi transferido para o vetor de transferência PsynXIVVI+X3. Logo em seguida, foi utilizado para a incorporação dentro do genoma do baculovírus, por recombinação homóloga. Gerando assim, o vírus recombinante Psyncry1Ca. Através de microscopia de luz, observou-se a formação da proteína cristal no citoplasma das células dos insetos infectados com vírus recombinante. Análise da expressão da proteína do recombinante foi feita por SDS-PAGE e microscopia eletrônica. Os géis de SDS-PAGE mostraram peptídeos de aproximadamente 29 e 65 kDa, que corresponde o tamanho da proteína viral, a poliedrina, e da proteína do recombinante Cry1Aca respectivamente. Resultados de microscopia eletrônica mostraram a ultraestrutura da proteína expressa, que apresenta forma cubóide, similar às produzidas por linhagem de *B. thuringiensis* que expressam a proteína Cry1Ca. Por microscopia eletrônica de transmissão, verificou-se a formação da proteína do recombinante nos tecidos do inseto. Bioensaios usando a proteína do recombinante mostrou que esta é realmente tóxica para larvas de terceiro instar de *A. gemmatalis*.

¹ Eng. Agr., doutorando, Universidade de Brasília-UnB

² Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

³ Bióloga, Ph.D., Embrapara Recursos Genéticos Biotecnologia

⁴ Biólogo, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

080 - COMBINAÇÃO DE CULTIVO SUBMERSO E SUBSTRATOS SÓLIDOS PARA PRODUÇÃO DE INÓCULO DE *Dicyma pulvinata* (Combined submerged fermentation and solids substrates for inoculums production of *Dycima pulvinata*)

Catalão, G.L.¹, Silva, J.B.T.², Mello, S.C.M.³, Frazão, H.F.⁴

O fungo fitopatogênico, *Microcyclus ulei*, agente biológico responsável, pelo “mal-das-folhas”, em seringueira (*Hevea* spp.), demonstrou ser um agente de forte virulência, que ataca o início do desenvolvimento foliar, resultando em perda de até 100% das mudas de *Hevea* spp. Atualmente, o fungo *Dicyma pulvinata*, um micoparasita, vem sendo estudado quanto a capacidade de biocontrole do fitopatógeno. Porém, a grande dificuldade consiste no aperfeiçoamento das técnicas de produção e formulação de inóculo do micoparasita. Para a otimização da produção, procurou-se avaliar diferentes fontes de nutrientes, através de meios líquidos, para crescimento micelial, e de substratos sólidos, para crescimento e esporulação de *D. pulvinata*. O inóculo semente foi preparado a partir de placas com o isolado CEN 91 em meio BDA. Para a produção do micélio, foram analisados diferentes meios líquidos, todos com quantidades iguais de caldo de batata (B), variando-se apenas quanto às concentrações de sacarose (S), extrato de levedura (Y), peptona (P) e dextrose (D). Foram adicionados 50 ml (100) de cada meio em erlenmeyers (125 ml), inoculando-se em cada frasco 2,5 ml de suspensão de 10^6 esporos/ml. A incubação se deu a 28° C, com fotoperíodo de 12 horas, sob agitação de 150 RPM, durante sete dias. O conteúdo de todos os frascos foi filtrado, seco em estufa e pesado para determinação da quantidade do micélio produzido. Para a produção de esporos, foram avaliados: arroz parboilizado, arroz branco e milho de canjica. Foram utilizados 50g de substrato, depositados em erlenmeyer (500ml), contendo 30 ml (60%) de água destilada em cada uma das repetições. Três ensaios foram realizados avaliando-se a capacidade de esporulação do fungo nos três substratos. Nos ensaios com milho e canjica foram avaliados 25 dias de cultivo em intervalos de 48 horas. No ensaio com arroz branco, foram feitas contagens com 06, 09, 12, 15 e 18 dias de crescimento. Estes períodos de cultivo apresentaram maior número de esporos, após análise estatisticamente dos últimos dois ensaios. Com isso em cultivo submerso, os meios líquidos PDY (1% P, 4% D e 1% Y) e BSY (20% B, 3% S e 1% Y) foram os mais eficientes na produção do micélio. Quanto aos substratos sólidos, o arroz parboilizado apresentou maior rendimento de esporos para elaboração do formulado, embora o arroz branco possibilite a redução de variáveis nutritivas, permitindo técnicas de manejo apropriadas para o conhecimento da dieta que favoreça a otimização na produtividade dos esporos de *D. pulvinata*.

¹ Biologia, graduando, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

² Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Técnica de Nível Superior, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

081 - COMPARAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE TRÊS POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* AO *Bacillus thuringiensis israelensis* (Comparison of the susceptibility of three populations of *Aedes aegypti* to *Bacillus thuringiensis israelensis*)

Nunes, A.C.¹, Dumas, V.F.², Pimentel, L.W.³, Monnerat, R.G.⁴

Aedes aegypti é um inseto da ordem Diptera, vetor da dengue e da febre amarela urbana. As fêmeas necessitam se alimentar de sangue para o amadurecimento de seus ovos que são depositados em paredes internas de objetos que contenham água para a eclosão dos ovos. Estudos demonstram que a fêmea, uma vez infectada, poderá transmitir o vírus durante seu ciclo de vida, havendo a possibilidade de pelo menos parte de seus descendentes já nascerem portadores do vírus. Essas duas doenças constituem hoje, principalmente em países situados em regiões de clima tropical e subtropical, em um grave problema de saúde pública. Os mosquitos têm sido controlados através da utilização de produtos químicos, os quais são tóxicos, e podem causar sérios problemas ao homem e ao meio ambiente. O uso intenso desses produtos propicia também o desenvolvimento de populações de insetos resistentes, como acontece aqui no Brasil, com o produto Temephós. Na intenção de encontrar uma alternativa mais segura e economicamente viável para a redução da quantidade de químicos utilizados, o controle biológico surge como uma opção. Neste sentido, a Embrapa têm desenvolvido parcerias para o desenvolvimento de bioinseticidas e neste ano estará lançando um produto eficaz contra o *A. aegypti*. Este trabalho teve como objetivo comparar a susceptibilidade de uma população resistente de *A. aegypti* ao Temephos e de duas populações susceptíveis. Foram realizados bioensaios em triplicata com o isolado *B. thuringiensis israelensis*, utilizado como padrão para o controle de mosquitos. Foram utilizadas sete doses e feitas três repetições contendo 25 larvas em cada copo. A leitura dos bioensaios foi feita após 24 horas. Foi observado que tanto as populações resistentes quanto susceptíveis ao produto químico Temephós tiveram CL50 semelhantes quando submetidas ao Bti.

¹ Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

² Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

³ Biomedicina, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

⁴ Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

082 - CRESCIMENTO E ESPORULAÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. E SEUS EFEITOS ANTAGONISTAS SOBRE *Sclerotinia sclerotiorum* E *Sclerotium rolfsii* (Growth and sporulation of *Trichoderma* spp. isolates and their antagonistic effects on *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii*)

Auler, A.C.V.¹, Ávila, Z.R.², Carvalho, S.S.³, Orioli, F.P.⁴, Falcão, J.V.⁴, Braúna, L.M.⁵, Mello, S.C.M.⁶

Uma alternativa no controle de fitopatógenos é a utilização de agentes biológicos, pois estes apresentam potencial para limitarem a atividade do patógeno ou aumentarem a resistência do hospedeiro. Espécies do gênero *Trichoderma* spp. destacam-se dentre os agentes de biocontrole mais intensamente pesquisados. Este trabalho representa o início de uma série de estudos que estão sendo conduzidos com diversos isolados de *Trichoderma* spp. provenientes do bioma cerrado (Estado de Goiás), e teve como objetivo avaliar a variabilidade desses isolados quanto ao crescimento e esporulação, em meio BDA, bem como em relação ao efeito antagônico sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary e *Sclerotium rolfsii* Sacc. Discos de micélio de cada isolado de *Trichoderma* spp. foram colocados no centro da placa de Petri contendo meio BDA. Medidas do diâmetro do fungo foram feitas após 24 e 48 horas de cultivo. Com 72 horas, foram feitas as contagens de esporos com câmara de Neubauer. Para avaliar o antagonismo, utilizou-se a metodologia de cultivo pareado, de modo que os fitopatógenos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*, e cada um dos isolados de *Trichoderma* spp., foram cultivados em placas de Petri contendo meio BDA. Discos de micélio de ambos os fungos foram colocados opostamente nas margens da placa. Medida do diâmetro das colônias foram realizadas aos cinco dias de cultivo. Observou-se variabilidade quanto ao crescimento, esporulação e antagonismo. Os isolados CEN 143 e CEN 153 apresentaram crescimento mais rápido em relação aos demais, enquanto a esporulação foi maior com os isolados CEN 196 e CEN 167. Maiores valores para porcentagem de inibição no crescimento de *S. sclerotiorum* foram obtidos com os isolados CEN 193 e CEN 154. Em relação ao *S. rolfsii*, maior inibição do crescimento foi observada com os isolados CEN 197 e CEN 153. Pode-se inferir pelos resultados obtidos que a competição, provavelmente, é um dos mecanismos envolvidos no antagonismo desses isolados sobre *S. sclerotium* e *S. rolfsii*. Os isolados de *Trichoderma* spp. utilizados neste trabalho estão sendo estudados quanto à produção de metabólitos tóxicos e eficiência no controle dos patógenos, em casa de vegetação, e já foram incorporados à coleção de fungos para controle de fitopatógenos e plantas daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

¹Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

³Eng. Biotecnológica, graduanda, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

⁴Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁵Biólogo, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

083 - DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE BIOENSAIO DE DOSE CONTRA O BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843) UTILIZANDO ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* (Development of bioassays methodology against to bolweevil (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843) making strains of *Bacillus thuringiensis*)

Martins, E.S.¹, Praça, L.B.², Dumas, V.F.³, Monnerat, R.G.⁴

A cotonicultura é uma das principais cadeias produtivas do agronegócio brasileiro. Na maioria dos países onde o algodão é cultivado comercialmente, o maior problema se dá pela vulnerabilidade a pragas. Sem alternativas de controle eficazes, o agricultor acaba por utilizar produtos químicos. Em todo o mundo, se procuram alternativas para o combate de pragas, que sejam menos prejudiciais ao ser humano e ao ambiente e capazes de reduzir o tamanho das populações de pragas para níveis que não causem danos econômicos. Uma alternativa é o uso de agentes de controle biológico, que não causam malefícios ao meio ambiente e reduzem os gastos com químicos, como Bt, uma bactéria que produz inclusões protéicas entomopatogênicas. Uma das vantagens da utilização de Bt é sua especificidade aos insetos sensíveis a ação de suas toxinas, o efeito não poluente ao ambiente, a inocuidade a mamíferos e invertebrados. Um dos insetos de possível controle pela ação do Bt, é o bicudo do algodoeiro, uma praga de difícil controle, pois seu desenvolvimento larval se dá dentro das maçãs do algodoeiro, não sendo, portanto, passível de ser controlada por biopesticidas ou por métodos convencionais. Com base na literatura, algumas metodologias foram testadas. Porém, os resultados obtidos ainda não foram satisfatórios uma vez que os valores de mortalidade, apresentados entre diferentes diluições, se mostraram muito próximos, sendo que nenhuma metodologia atingia mortalidade de 100%, dificultando o cálculo estatístico da CL₅₀. A fim de se obter um resultado mais preciso, desenvolveu-se uma nova metodologia⁵⁰ de bioensaio adaptada de Praça et al, 2004 (PAB, Brasília, v.39, n.1, p 11-16, 2004). Foram utilizadas 06 estirpes que já haviam demonstrado eficácia contra o bicudo do algodoeiro, em bioensaios seletivos. Após repetidos ensaios e cálculo da CL₅₀ observou-se que duas estirpes a S601 e a S1806 possuíam uma alta atividade⁵⁰ contra o bicudo e, que a metodologia proposta foi mais eficiente por proporcionar resultados mais repetitivos.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

084 - DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE BIOENSAIO PARA SELECIONAR ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* EFICAZES NO COMBATE À MOSCA BRANCA (*Bemisia tabaci*, (BIÓTIPO B). (Development of Bioassay method to select *Bacillus thuringiensis* strains to control white fly)

Espindula, E.¹, Demo, C.², Berry, C.³, Monnerat, R.⁴

A mosca branca *Bemisia tabaci* Gennadius (biótipo B) é diretamente responsável por grandes perdas anuais na agricultura, alimentando-se da seiva da planta, ou indiretamente como vetor de diversas fitoviroses. Este inseto ataca diferentes culturas como algodão, soja, feijão, melancia, melão, abóbora e couve entre outras. O rápido desenvolvimento de resistência de populações deste inseto, aos produtos químicos empregados em seu controle, tem estimulado a realização de pesquisas buscando métodos alternativos de combate a esta praga. Uma das alternativas é a busca de bactérias entomopatogênicas, como o *Bacillus thuringiensis* (Bt). Esta bactéria tem sido utilizada em campo a mais de 50 anos, pois produz toxinas eficazes no controle de algumas espécies de coleópteros, lepidópteros e dípteros. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia dispõe de um banco de *Bacillus* ssp. entomopatogênicos, onde estão estocadas diversas estirpes de *B. thuringiensis*. Com o intuito de se selecionar estirpes que potencialmente poderão fornecer genes de interesse para o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas com ação sobre esta praga, foi desenvolvida uma metodologia para a realização de bioensaios. A metodologia consistiu em coletar folhas de couve e colocar suas hastes em água por duas semanas, período suficiente para o enraizamento das plantas. Em seguida, as plantas foram infestadas e assim que as ninfas de *B. tabaci* eclodiram as estirpes foram adicionadas à água. A avaliação foi feita semanalmente até a terceira semana. Para averiguar se esta metodologia funcionava foi realizado um experimento com uma estirpe de *B. thuringiensis kurstaki* com gene marcado com fluorescência e, assim, foi possível isolar esta bactéria das ninfas retiradas da parte inferior da folha. Depois de desenvolvida esta metodologia foi iniciado o teste das estirpes de Bt presentes no banco, porém, nenhuma das cepas testadas até o momento apresentou mortalidade significativa do inseto.

¹ Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB, CNPq./RHAIE-ITI

² Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

³ Biólogo, Ph.D., Universidade de Cardiff, England

⁴ Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

085 - EFEITO DE EXTRATOS DE SEMENTES DE PLANTAS ANTAGONISTAS SOBRE A MORTALIDADE DE JUVENIS DE SEGUNDO ESTÁGIO DE *Meloidogyne incognita* (Effects of antagonists plants seed extracts on second stage juvenile mortality of *Meloidogyne incognita*)

Almeida, C.D.S de,¹ Magalhães, J.C.C.², Franco, P.³, Salomão, D.⁴, Randig, O.⁵, Carneiro, R.M.D.G., Grossi-de-Sá, M.F.⁷, Rocha, T.L.⁸

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* causam grandes prejuízos a diversas culturas em todo o mundo. Devido ao alto custo e toxicidade ao meio ambiente, os nematicidas vêm sendo substituídos por métodos alternativos de controle, como a rotação de culturas, variedades resistentes e plantas antagonistas. Este trabalho objetivou testar o efeito de extratos aquosos de sementes de feijão de porco, crotalárias (júncea, paulínea e espectábilis), cravo de defunto e mucuna preta sobre juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita*. Extratos aquosos foram obtidos a partir da trituração de 20g de sementes, e mantidas em 500ml de água a 4° C durante 8 horas. O material foi coado em gaze, filtrado em membrana de 0,45 µm e centrifugado. Os sobrenadantes foram recolhidos e apresentaram concentrações protéicas entre 06 e 15 µg/µl segundo o método de Bradford e exibiram, ainda em géis de SDS-PAGE, proteínas com pesos moleculares variando de 5 a 200 kDa, respectivamente. Ovos de *M. incognita* foram extraídos de raízes de tomateiros infestados, com o uso de hipoclorito de sódio 0,5%. Os J2 foram obtidos com a técnica do funil de Baermann modificado e a contagem foi processada em lâmina de Peters. Os ensaios foram realizados em placas de Petri, em quadruplicata, tendo como controle água bi-distilada. Foi utilizado 1 ml de extrato sobre 200 J2 em um volume final de 5 ml completados com água bi-distilada. As placas foram mantidas a temperatura de 25-27 °C e, após 24hs, os J2 vivos e mortos foram contados em microscópio estereoscópico. As suspensões contendo J2/extratos foram inoculados em plantas de tomate e, após três meses, avaliou-se o número de galhas e ovos por tratamento. Os resultados obtidos mostraram uma atividade nematicida sobre J2 para todos os extratos analisados. Observou-se também uma redução significativa do número de galhas e do fator de reprodução, (população final/população inicial), para todos os tratamentos quando comparados ao tratamento controle. Das plantas estudadas, a que apresentou maior potencial nematicida foi o feijão de porco, seguida por crotalária *espectábilis*. Os resultados deste trabalho reforçam a necessidade do isolamento, identificação e purificação dos polipeptídeos/peptídeos ou fitocompostos que possam estar envolvidos no controle de *Meloidogyne* spp.

¹Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB, CNPq

²Técnico de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, M.Sc., Universidade de Brasília, CNPq

⁴Biologia, graduando, Faculdade Tecsona

⁵Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

⁶Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁸Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

086 - EFEITO INIBITÓRIO DE AGROTÓXICOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE *Dicyma pulvinata* (Inhibitory effects of chemical pesticide on *Dicyma pulvinata* development)

Melo, D.F.¹, Ávila, Z.R.², Mello, S.C.M.³

O fungo *Dicyma pulvinata* tem-se mostrado promissor para controle biológico do *Microcyclus ulei*, agente causador do mal-das-folhas, principal fator limitante da produção de látex e da expansão do cultivo da seringueira (*Hevea* spp.) no Brasil. Vários produtos químicos são utilizados para tratamento sanitário das diversas pragas e doenças dos seringais, podendo esses interferir ou não, na eficiência do agente de biocontrole. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito de agrotóxicos, comumente aplicados na cultura, sobre dois isolados de *D. pulvinata* (CEN91 e CEN93). Para tanto, foram testados cinco produtos: Benomyl, Derosal, Dithane, Tilt (fungicidas), e Malathion (inseticida/acaricida), nas concentrações correspondentes a 0 (Testemunha), 1, 1/2 e 1/3 da dose comercialmente recomendada. Discos de 8,0 mm de diâmetro, retirados de culturas com sete dias de idade, foram transferidos para o centro de placas de Petri, contendo o meio BDA, acrescido dos pesticidas nas referidas dosagens. Aos 15 e 21 dias de incubação em câmara BOD, à temperatura de 25° C, com fotoperíodo de 12 horas, foram avaliados: diâmetro das colônias, esporulação e germinação dos esporos produzidos. Exceto Malathion, os demais pesticidas, independentemente da concentração, inibiram totalmente o crescimento dos dois isolados de *D. pulvinata*. Com este produto, o maior índice de inibição do crescimento de colônias foi verificado na dose comercial, para ambos os isolados. Entretanto, não houve diferença significativa para as concentrações 1 e 1/2, quanto à redução da esporulação. No tocante à germinação dos esporos em meio BDA, o isolado CEN93 demonstrou ter sido mais afetado pela presença do agrotóxico do que CEN91. Os resultados obtidos com este último isolado, a partir das diferentes concentrações de Malathion, não diferiram entre si. O isolado CEN93 apresentou menor índice de germinação no caso em que os esporos foram produzidos em presença de Malathion, na concentração 1. Esses resultados obtidos indicam incompatibilidade do fungo *D. pulvinata* com os agrotóxicos testados.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq

²Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

087 - EFICÁCIA DE BIOINSETICIDAS BACTERIANOS UTILIZADOS NO CONTROLE DE LARVAS DE *Aedes aegypti* (Efficacy of bioinsecticides used for controlling *Aedes aegypti* larvae)

Pimentel, L.W.¹, Nunes, A.C.², Dumas, V.F.³, Monnerat, R.G.⁴

A dengue é uma doença cujo agente infeccioso é um arbovirus. Atualmente, é a mais importante arbovirose que afeta o homem, constitui-se em sério problema de saúde pública em áreas tropicais do mundo, onde as condições ambientais favorecem o desenvolvimento e a proliferação do mosquito transmissor, o *Aedes aegypti*. A transmissão ocorre através da picada do mosquito fêmea que, ataca no ambiente domiciliar ou em seus arredores. Não há tratamento específico contra a dengue, mas a garantia de não haver doença é utilizar métodos preventivos para o controle do mosquito. Dentre as atividades desenvolvidas em programas para o combate do mosquito, está incluso o uso de larvicidas nos criadouros dos mesmos, para reduzir sua população. Com a crescente procura de métodos mais seguros e eficientes no controle das larvas aquáticas, tem-se no mercado bioinseticidas formulados através de bactérias, sendo inócuos ao ser humano, animais domésticos e a fauna e flora benéfica. As vantagens da utilização de bactérias como *Bacillus thuringiensis* em formulados utilizados no controle do *A. aegypti*, incluem a produção de pró-toxinas durante o processo de esporulação, podendo o produto ser encontrado na forma de pó, emulsão, pastilhas, solução aquosa ou hidrooleosa e facilmente utilizados em equipamentos projetados para aplicação de inseticidas químicos. Entretanto, produzidos em larga escala, há a necessidade da padronização dos formulados, sempre visando o fato de que o patógeno deve ser mantido vivo e que a concentração letal (CL) do produto tem que ser a menor possível. O objetivo deste trabalho foi testar diferentes formulações de produtos da empresa Bthek que tem por meta a produção de bioinseticidas contra larvas do *Aedes aegypti*, realizando bioensaios que geram dados quantitativos e qualitativos, auxiliando a padronização do produto. Após serem testadas seis bateladas do produto em três triplicata, verificou-se que houve uma variação de cerca de 10% no valor da CL₅₀, indicando que as formulações são estáveis.

¹Biomedicina, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

088 - ESTABELECIMENTO DE METODOLOGIA PARA CONTAMINAÇÃO DE SOLO COM PROPÁGULOS DE *Sclerotinia sclerotiorum* E *Sclerotium rolfsii*, E EXPRESSÃO DE DOENÇA EM SOJA (Methodology for establishment of soil contamination with propagulos of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii* for disease symptom expression in soybean)

Falcão, J.V.¹, Avila, Z.R.², Orioli, F.P.¹, Auler, A.C.V.³, Silva, J.B.T.⁴, Mello, S.C.M.⁵

Os fitopatógenos *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e *Sclerotium rolfsii* Sacc, causadores, respectivamente, da podridão branca da haste e murcha de *Sclerotium* na soja, são de ocorrência generalizada em todo o mundo e têm um amplo espectro de hospedeiros. O presente trabalho objetivou ajustar a metodologia para contaminação do solo, visando à realização de bioensaios para avaliação da patogenicidade desses agentes à cultura da soja (cultivar BRS Milena), em casa de vegetação. Para a realização dos bioensaios, foram utilizados sacos plásticos com 450g de solo autoclavado. O cultivo dos fitopatógenos ocorreu em BOD a 25^o C, com fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias. A contaminação do solo foi feita 24 horas antes da semeadura da soja e ocorreu das seguintes maneiras: 1) cinco discos de BDA com micélio fúngico por saco plástico; 2) 10 mL de suspensão de micélio por saco plástico; 3) 5g de grãos de arroz colonizados com o fungo/Kg de solo; 4) 5g de grãos de milho colonizados com o fungo/Kg de solo. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. As avaliações foram realizadas aos 14 dias após a semeadura, em termos de porcentagem de plantas mortas em pré e pós-emergência. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Para *S. sclerotiorum*, maiores porcentagens de mortalidade foram obtidas quando a contaminação do solo ocorreu pela utilização de grãos de arroz (95%) e grãos de milho (55%). Os demais tratamentos não diferiram significativamente das testemunhas, onde não houve mortalidade. Para *S. rolfsii*, quando o solo foi contaminado com grãos de arroz e de milho colonizados, verificou-se 100% de mortalidade. Os métodos de disco de micélio e de suspensão fúngica proporcionaram 50% e 35% de mortalidade, respectivamente. Portanto, os métodos de contaminação de solo que se mostraram mais eficientes foram grãos de arroz e grãos de milho colonizados.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq/PD

³Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

⁴Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

089 - ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE ARTRÓPODES ASSOCIADA À CULTURA DO ALGODÃO NO DISTRITO FEDERAL (The arthropod community structure associated to cotton fields in the Federal District)

Ortiz, G.S.¹, Frizzas, M.R.², Pires, C.S.S.³, Sujii, E.R.², Pereira, F.F.O.⁴, Portilho, T.C.⁴, Pinheiro, E.M.L.⁴, Fontes, E.M.G.

Um grande volume de pesticidas é aplicado na cultura do algodão para o controle de diversas pragas. Para o desenvolvimento de métodos mais racionais de controle e avaliação dos riscos e benefícios de variedades transgênicas resistente a pragas é necessário determinar as categorias relevantes da fauna associada à cultura, de acordo com as funções ecológicas da biodiversidade e os papéis exercidos por cada espécie. A literatura sobre espécies que não são de interesse agrícola imediato e a respeito das diferenças regionais no perfil da fauna associada ainda é escassa. Um inventário para cobrir parte desta lacuna foi conduzido na Fazenda da Cooperbrás (Distrito Federal) no período de 12 de dezembro de 2002 a 16 de junho de 2003. Foram realizadas 24 coletas semanais em áreas com e sem a aplicação de inseticidas, através de uma varredura com observação direta das plantas e coleta ao acaso de 50 plantas para exame em laboratório. Todos os artrópodes coletados foram levados para o laboratório e identificados em nível de morfoespécies. Os imaturos foram criados até o estágio adulto para posterior identificação. Foram coletados 306 morfoespécies de insetos, distribuídos em 8 ordens e 51 famílias, e 84 morfoespécies de aranhas e 1 espécie de ácaro. Do total de espécies coletadas, 3 foram comuns, 40 ocasionais e 348 raras. As espécies foram classificadas em 6 grupos funcionais, segundo o hábito alimentar, sendo 59 espécies de mastigadores, 37 de visitantes florais, 110 de predadores (26 de insetos e 84 de aranhas), 12 de parasitóides, 21 de polinizadores, 21 de sugadores. Após a identificação taxonômica de todas as espécies, que ainda se encontra em andamento, será possível identificar as principais cadeias tróficas e selecionar espécies indicadoras.

¹Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB, CNPq

090 - ESTUDO DA ATIVIDADE DE UMA ESTIRPE DE *Bacillus thuringiensis israelensis* S1806, TÓXICA AO BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1843) (Study of activity of one strain of *Bacillus thuringiensis israelensis* S1806, toxic to the bolweevil (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843))

Dumas, V.F.¹, Martins, E.S.², Praça, L.B.³, Berry, C.⁴, Monnerat, R.G.⁵

No Brasil, a cultura do algodão é umas das práticas agrícolas mais importantes, possuindo alta participação na geração de divisas do País. Assim como em outros setores da agricultura, a cotonicultura está vulnerável a diversas pragas, sendo o bicudo (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843) considerado a mais séria, devido aos danos que causa e pelas dificuldades de seu controle. Uma alternativa viável para o controle do bicudo é a utilização de agentes de controle biológico, como o *Bacillus thuringiensis* (Bt). Essa bactéria produz cristais protéicos, que são ativados ao entrarem em contato com o pH intestinal alcalino, e proteases presentes no intestino dos insetos. As vantagens da utilização do Bt é a sua especificidade aos insetos, o efeito não poluente ao ambiente e sua inocuidade aos mamíferos e invertebrados não-alvo. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realiza trabalhos que tem por finalidade identificar novas estirpes de Bt ativas a coleópteros e descobrir quais possuem potencial para serem usadas no combate ao bicudo. Foi descrito que algumas estirpes mosquitocidas tinham atividade contra coleópteros. Com base neste trabalho, uma estirpe de *Bacillus thuringiensis israelensis* do banco de *Bacillus* spp. da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, a S1806, foi testada contra o bicudo, apresentando resultados bastante promissores. Uma vez que o perfil proteico e genético da S1806 já era conhecido e semelhante ao Bti padrão, foram construídas estirpes de Bt que expressam isoladamente algumas destas toxinas. Os resultados demonstram que a atividade da S1806 é mais significativo do que o apresentado pelo Bti padrão, e quando comparada as toxinas isoladas sua toxicidade foi cerca de duas vezes maior indicando que deve haver sinergismo na ação destas toxinas ou outro fator ainda não conhecido.

¹Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

³Eng. Agr., M.Sc. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Biólogo, Ph.D. University of Cardiff, England

⁵Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

091 - ESTUDO DO COMPORTAMENTO REPRODUTIVO DO PERCEVEJO DO COLMO DO ARROZ *Tibraca limbativentris* (Studies of the courtship behaviour of the rice stink bug, *Tibraca limbativentris*)

Cordeiro, D.M.¹, Moraes, M.C.B.², Laumann, R.³, Borges, M.⁴

Na busca do parceiro ideal para a cópula os pentatomídeos realizam um ritual de acasalamento, este ritual apresenta semelhanças entre os diferentes gêneros. O objetivo desse trabalho é conhecer o comportamento de acasalamento do percevejo do colmo do arroz *Tibraca limbativentris*, assim como a finalidade de cada movimento realizado durante o período que precede a cópula. Foram observados 21 casais com 20 dias na fase adulta. A fêmea era colocada sobre uma folha de papel filtro coberta com uma placa de Petri transparente, separada por uma pequena lâmina de papel criando um isolamento, do outro lado da lâmina era colocado o macho. O casal permanecia separado por 10 mm. Logo depois o isolamento foi retirado, permitindo com que o macho e a fêmea se encontrassem. Todos os casais apresentaram o mesmo comportamento. Inicialmente, ocorre a aproximação do macho antenando a fêmea e tocando-a na parte inferior do abdômem. Quando a fêmea esta receptiva ela mantém o abdômen erguido enquanto ele continua a seqüência de cópula. O macho realiza o pivoteamento realizando um giro de 180° consumando a cópula. Os machos, no geral, apresentaram dificuldades em conseguir copular na primeira tentativa. Em média, cada macho faz três repetições de todo o comportamento até alcançar a cópula.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB, PIBIC

²Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, UCB

⁴Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

092 - ESTUDOS DA BIOLOGIA MOLECULAR DA ANTENA DO PERCEVEJO-PRAGA DA SOJA *Euschistus heros* PARA IDENTIFICAÇÃO DAS PROTEÍNAS LIGANTES DE FEROMÔNIOS (PLF) (Studies of molecular biology of antennae of stink bug *Euschistus heros* for the identification of pheromone bind proteins [PBp])

Damacena, I.¹, Felix, G.C.S.², Moraes, M.C.B.³, Laumann, R.⁴, Borges, M.⁵, Mehta, A.⁶

Os insetos se comunicam através de pequenas moléculas hidrofóbicas, conhecidas como semioquímicos sendo os feromônios os mais conhecidos. Através deles, os insetos transmitem e recebem informações sobre acasalamento, fonte de alimento, hospedeiros para ovoposição, entre outras. A percepção das moléculas odoríficas nos insetos ocorre principalmente nas antenas através de proteínas específicas localizadas na linfa sensilar. Numa visão geral, o sistema de olfação ocorre quando o feromônio entra na linfa sensilar através dos poros presentes nas sensilas. Na linfa sensilar as moléculas de feromônio são transportadas por proteínas ligantes de feromônios (PLF) alcançando as proteínas da membrana dendrítica. A eletroforese bidimensional (2-DE) é uma técnica muito eficiente para estudos de expressão de proteínas, pois combina a separação pelo ponto isoelétrico com a separação pela massa molecular. Este trabalho teve como objetivo a extração de proteínas totais da antena do percevejo *Euschistus heros*. Foram testados os métodos desenvolvidos por De Mot & Vanderleyden (Can.J.Microbiol., 35, 906-67, 1989) e Dickens *et al.* (J.Insect Physiol., 10, 857-67, 1995), com modificações. Cem pares de antenas de machos, fêmeas e ninfas do quinto estágio foram cortados e estocados à 80°C. As proteínas foram extraídas seguindo as metodologias citadas e posteriormente submetidas à eletroforese bidimensional (2-DE) para análise das mesmas que foram diferencialmente expressas. Através dos resultados obtidos foi possível observar algumas proteínas diferenciais, na faixa de 10 a 20 kDa de massa, e no pH de 4-6, que corresponde as características das PLFs, quando os perfis de proteínas de antena de macho, fêmea e ninfa foram comparados.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

²Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília- FTB

³Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁶Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

093 - ESTUDOS DE MORFO-FISIOLOGIA DE LINHAGEM DE *Metarhizium anisopliae*, APRESENTANDO MICROCICLO DE CONIDIAÇÃO (Morpho-physiological studies of *Metarhizium anisopliae* presenting microcycle of conidiation)

Moreira, M.P.¹, Sarmiento, R.B.V.², Frazão, H.F.³, Inglis, P.W.⁴, Valadares-Inglis, M.C.⁵

Linhagem de *Metarhizium anisopliae*, geneticamente modificada, que apresenta microciclo de conidiação e produz esporos em meio líquido, foi patenteada pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Estudos de morfologia e fisiologia dessa linhagem foram conduzidos, comparando-a a uma linhagem selvagem e a outro transformante. Foram analisados o crescimento em diferentes meios sólidos e a produção de esporos em meios líquidos, contendo variadas concentrações de extrato de levedura. O crescimento foi avaliado pela medição do diâmetro da colônia em meio mínimo, meio completo, meio extrato de levedura e glucose e meio batata dextrose ágar, contendo ou não liberty, no caso de linhagens transformadas, tendo sido observadas as variações morfológicas das colônias. A produção de esporos foi avaliada nas linhagens transformadas, em meios contendo 0, 0.5, 1.0 e 2.0 $g\ l^{-1}$ de extrato de levedura, em presença e ausência de liberty. As variações morfológicas foram observadas por microscopia de fluorescência, tendo sido registradas as variações em núcleos e paredes celulares das linhagens crescidas em meio líquido.

¹Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

³Técnica de Nível Superior, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Biólogo, Ph.D., Pesquisador Visitante, CNPq

⁵Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

094 - FAUNA DE ABELHAS EM ESPÉCIES CULTIVADAS E NÃO CULTIVADAS DE ALGODÃO (*Gossypium* SPP.) NO CENTRO OESTE E NORDESTE DO BRASIL (The bee fauna on cultivated and non cultivated cotton (*Gossypium* spp.) in the Midwest and Northeast of Brazil)

Pereira, F.F.O.¹, Pires, C.S.S.², Silveira, F.A.³, Barroso, P.A.V.⁴, Sujji, E.R.⁵, Fontes, E.M.G.

O fluxo de genes das variedades comerciais de algodão para as espécies silvestres está sendo estudado pelo projeto “Avaliação de segurança ambiental de algodoeiro geneticamente modificado para a resistência de insetos”. Devido à importância das abelhas na transferência de pólen entre plantas de algodão, está sendo realizado um inventário dos visitantes florais em diferentes espécies e regiões de produção de algodão. Foram realizados levantamentos em Brasília, DF e em Campina Grande, PB. As coletas no DF, fevereiro-abril/2003, ocorreram em área de plantio comercial, com aproximadamente três hectares, cultivada com *Gossypium hirsutum* var. Delta Opal. Na Paraíba, as amostragens foram realizadas, setembro-outubro/2003, nas espécies silvestres: *G. barbadense* (1 ha), *G. mustelinum* (150 m²); e em *G. hirsutum* var. Maria Galante (1 ha). As coletas foram realizadas ao acaso, semanalmente, em um ou dois períodos do dia, totalizando cerca de 40 horas em cada área. No DF, as espécies mais abundantes foram *Apis mellifera*, *Paratrigona lineata* e *Trigona spinipes*. No Nordeste, as espécies mais abundantes em *G. barbadense* foram: *Ceratina* sp., *Ceratina chloris* e *Melitoma segmentaria*; em *G. hirsutum* var. Maria Galante foram *Ceratina* sp., *C. chloris* e *T. spinipes*; e na espécie *G. mustelinum* foram: *Ceratina* sp., *C. chloris* e *Augochlora* sp. Em Brasília, o número de espécies de abelhas coletadas foi 23 e na Paraíba, 21, havendo apenas quatro espécies comuns às duas áreas. Essas diferenças na fauna podem ser devido à preferência das abelhas por determinadas espécies de algodão, ou também às diferenças nas faunas locais de abelhas entre áreas pertencentes a biomas distintos, cerrado e caatinga. Isso enfatiza a necessidade de expansão dos estudos para outras áreas de produção na região Centro Oeste onde estão as maiores áreas cultivadas com algodão, 78% da área brasileira de produção, sendo responsável por 80% da produção de fibra do algodão.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Agr., Ph.D., Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Algodão.

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

095 - FLUTUAÇÃO POPULACIONAL E INCIDÊNCIA DE PARASITÓIDES EM LAGARTAS DO CURUQUERÊ DO ALGODÃO *Alabama argillacea* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM UMA ÁREA DE PRODUÇÃO DO DISTRITO FEDERAL (Population fluctuation and incidence of parasitoids in caterpillars of *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in a production area of Federal District)

Silva, P.V.¹, Aquino, M.F.S.², Laumann, R.A.³, Moraes, M.C.B.⁴, Borges, M.⁵, Sujii, E.R.⁶, Pires C.S.S.⁷, Fontes, E.M.G.⁷

O curuquerê do algodão é considerado uma das principais pragas na fase vegetativa do algodoeiro, devido ao elevado nível de desfolha que é capaz de produzir. O presente trabalho foi realizado na Fazenda Cooperbrás, situada no Núcleo Rural de Tabatinga, a cerca de 50 km de Brasília. O objetivo foi estudar a flutuação populacional desta espécie e a incidência de parasitóides. O estudo foi desenvolvido durante o período de crescimento vegetativo da cultura (dezembro de 2003 a março de 2004). Foram realizadas amostragens semanais em duas áreas, uma com manejo de pragas convencional utilizando inseticidas químicos e a outra com controle biológico (aplicação de Bt). As parcelas amostradas consistiram de um metro linear da cultura, onde todas as plantas eram vistoriadas e as lagartas presentes registradas. As parcelas (n=20/data/área) foram escolhidas a cada quatro fileiras da cultura e espaçadas cerca de 20 m entre elas, seguindo um padrão em zig-zag. Em cada data de amostragem foram coletadas lagartas (n e" 50) que foram criadas em laboratório até a eclosão dos adultos ou de parasitóides. Os resultados indicam que *A. argillacea* apresenta duas gerações durante o desenvolvimento vegetativo do algodão. Na área de manejo convencional a incidência média de parasitismo foi de $7,43 \pm 11,62$ % e na área com controle biológico foi de $3,54 \pm 6,03$ %. Foram registrados parasitóides de duas ordens: Hymenoptera e Diptera. Hymenoptera foi representada por três famílias (Ichneumonidae, Braconidae e Encyrtidae) com uma morfoespécie para cada uma. Já em Diptera encontrou-se apenas uma família (Phoridae) com duas morfoespécies. Uma morfoespécie de Diptera foi a dominante, 50% das lagartas parasitadas na área com manejo convencional e 100% das lagartas parasitadas na área de controle biológico foram atacadas por este parasitóide.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB, CNPq

²Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB, Bolsista PIC-UCB

³Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, UCB

⁴Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

096 - IDENTIFICAÇÃO DOS VOLÁTEIS DE *Lagenaria vulgaris* (SER.) (CUCURBITACEAE) E SEU POTENCIAL PARA O MANEJO DE *Diabrotica speciosa* (GERMAR, 1824) (COLEÓPTERA: CHRYSOMELIDAE) (Identification of Volatiles from *Lagenaria vulgaris* (Ser.) (Cucurbitaceae) and its Potential for the Management of *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae)

Santos, P. H. R.¹, Oliveira, V. L.², Borges, M.³, Moraes, M. C. B.⁴, E. R. Sujii.⁴, Laumann, R.⁵

Diabrotica speciosa é um herbívoro polífago considerado praga de várias espécies olerícolas e outras plantas cultivadas. É conhecida a associação desta e outras espécies de Chrysomelidae com plantas da família Cucurbitaceae, onde os insetos seqüestram cucurbitacinas presentes nos tecidos das plantas para sua proteção; estes compostos atuam, assim, como fagoestimulantes. Entre as espécies relatadas como fagoestimulantes de crisomelídeos sul-americanos encontra-se *L. vulgaris*. O objetivo deste trabalho foi estudar a liberação de voláteis por *L. vulgaris* e determinar se *D. speciosa* os utiliza para localização do hospedeiro, estas substâncias atraentes podem ter potencial para o manejo de esta e outras espécies de crisomelídeos. Inicialmente foi montado um experimento em condições de campo para analisar o poder de atração de extratos aquosos de frutos verdes de *L. vulgaris* para adultos de *D. speciosa*. Posteriormente foram montadas aerações para obter extratos destes frutos. O efeito biológico dos extratos foi analisado em bioensaios em olfatômetro e a sua composição química foi estudada através de cromatografia gasosa e espectrometria de massas. No experimento em campo foi comprovado que os extratos de *L. vulgaris* apresentam bom poder de atração para *D. speciosa* (82 % dos insetos foram coletados no tratamento com estes extratos). Nos bioensaios em olfatômetro os adultos de *D. speciosa* preferiram significativamente as áreas tratadas com extratos de aeração de *L. vulgaris* ($+2 = 6,98$; $P=0,008$). A análise química revelou que os principais componentes dos extratos de aeração são sesquiterpenos, entre eles dois isômeros do Farneseno, Cucurmeno e Bisaboleno, e um sesquiterpeno não identificado. Estes compostos foram separados por fracionamento e serão avaliados para determinar se a resposta de *D. speciosa* é específica para algum deles, selecionando, assim, os componentes potenciais para o manejo desta praga.

¹Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Química, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

³Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

097 - IDENTIFICAÇÃO E PURIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO SEXUAL DO PERCEVEJO-PRAGA DA SOJA *Piezodorus guildinii* (Identification of the sex pheromone of the soybean stink bug *Piezodorus guildinii*)

Oliveira, V.L.¹, Borges, M.², Laumann, R.³, Moraes, M.C.B.⁴

O principal componente do feromônio sexual do macho do percevejo-praga da soja *Piezodorus guildinii* é o sesquiterpeno sesquifelandreno. O sesquifelandreno apresenta isomeria no carbono 7 R ou S. A configuração absoluta do composto liberado por *P. guildinii* foi identificada com sendo a R, diferente do que é encontrado em uma série de plantas, como no gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe (Musales:Zingiberaceae), que produz o isômero S. Desta forma, não se pode obter o composto em grande quantidade de plantas e outras fontes naturais para realizar bioensaios. Assim sendo, para obter o isômero R puro foi feita uma série de fracionamentos em coluna cromatográfica com sílica gel, sílica gel impregnada com 10 % de nitrato de prata e florisil. As colunas foram confeccionadas com pipetas Pasteur com aproximadamente 850 mg do material adsorvente, e as extrações foram realizadas usando diferentes proporções de hexano:clorofórmio (100:0, 95:5, 90:10 e 0:100). Foram obtidas alíquotas de 1 mL de cada uma das proporções, que foram pré-concentradas e injetadas no cromatógrafo gasoso. O cromatograma do extrato total com os voláteis obtidos da aeração de machos de *P. guildinii* apresentou um conjunto de 13 picos no tempo de retenção variando entre 10 a 13 minutos com estrutura química muito semelhante, pertencentes a classe dos sesquiterpenos. A análise quantitativa mostrou que o macho de *P. guildinii* libera aproximadamente $8,43 \pm 10,34$ ng/mL do sesquifelandreno (n=8). Os fracionamentos do extrato total com sílica gel e florisil não apresentaram resultados satisfatórios. No entanto, conseguiu-se um excelente fracionamento usando a coluna de sílica gel-impregnado com 10 % de nitrato de prata. O sesquifelandreno isolado foi obtido na fração eluída com Hexano:CHCl₃ na proporção 90:10. A fração com somente o sesquifelandreno foi apresentada as fêmeas de *P. guildinii* em bioensaios usando olfatómetro em Y e estas apresentaram um resposta positiva ($c^2 = 6,41$, N=40, p=0.01).

¹Química, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

098 - INFLUÊNCIA DE *Trichoderma* spp. SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotinia sclerotiorum* E *Sclerotium rolfsii* (Influence of *Trichoderma* spp. on *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii* mycelial growth)

Orioli, F.P.¹, Ávila, Z.R.², Braúna, L.M.³, Falcão, J.V.¹, Auler, A.C.V.⁴, Silva, M.C.F.⁵, Mello, S.C.M.

Sclerotinia sclerotiorum (Lib) de Bary e *Sclerotium rolfsii* Sacc. estão amplamente distribuídos em várias regiões do mundo, infectando grande número de hospedeiros, em diversos gêneros de plantas cultivadas e silvestres, podendo sobreviver no solo por vários anos, em forma de escleródios. Várias alternativas estão sendo avaliadas, procurando reduzir os danos causados por esses fungos sobre as culturas. Dentre essas, têm sido estudadas práticas de controle biológico, especialmente com a utilização de *Trichoderma* spp. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antagonico de 17 isolados desse agente de biocontrole, provenientes das regiões do Distrito Federal e Tocantins, sobre o crescimento de *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii* in vitro. Para tanto, foram utilizadas as seguintes metodologias: 1) culturas pareadas, em que o fitopatógeno e o antagonista foram cultivados em meio BDA, durante cinco dias. Cada placa de Petri recebeu um disco de micélio do patógeno e do antagonista, que foram colocados opostamente à distância de 1,0 cm da margem da placa; 2) produção de metabólitos tóxicos pelo antagonista cultivado em meio BD por 12 dias. O filtrado estéril das colônias dos antagonistas, coletado através de membrana Millipore (0,45µm), foi adicionado ao meio BDA na proporção de 25% (v/v). Cada placa de Petri, contendo o meio com o filtrado das culturas, recebeu um disco de micélio dos fitopatógenos. Medidas do diâmetro das colônias foram tomadas aos três e aos cinco dias de cultivo. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Todos isolados reduziram o crescimento de *S. sclerotiorum*, e *S. rolfsii*, quando em culturas pareadas. Foi também observada inibição do crescimento dos fitopatógenos, pela maioria dos isolados de *Trichoderma* spp., no experimento relativo à produção de metabólitos tóxicos. Esses resultados indicam a utilização de pelo menos dois mecanismos de ação, competição e antibiose, pelos isolados de *Trichoderma* spp. sobre os patógenos *S. sclerotiorum* e *S. rolfsii*. Os isolados de *Trichoderma* spp. utilizados neste estudo estão sendo incorporados à coleção de fungos para o controle biológico de fitopatógenos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq/PD

³Biólogo, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

⁵Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

099 - INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E MOLECULAR DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS AO BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1983) (Investigation of activity and biochemical and molecular characterization of *Bacillus thuringiensis* strains toxic against bolweevil (*Anthonomus grandis* Boheman, 1983))

Martins, E.S.¹, Sone, E.H.², Praça, L.B.³, Dumas, V.F.⁴, Waga, I.C.⁵, Gomes, A.C.M.M.⁶, Monnerat, R.G.

No Nordeste, a cultura do algodão, foi e continua sendo uma das principais atividades do meio rural. Na região já chegou a ser plantado mais de um milhão de hectares de algodão, e, atualmente, há somente 188.000 ha plantados. Na maioria dos países onde o algodão é cultivado comercialmente, a vulnerabilidade às pragas representa o principal problema dessa cultura. Sem alternativas de controle eficazes, o agricultor acaba por utilizar inseticidas químicos. Em todo o mundo, se procuram formas alternativas para o combate de pragas que sejam menos prejudiciais ao ser humano e ao ambiente. Uma alternativa para o controle de pragas é o uso de *Bacillus thuringiensis*, uma bactéria entomopatogênica caracterizada pela produção de cristais protéicos. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia dispõe de um banco de *Bacillus* spp. onde estão armazenadas diferentes estirpes de Bt. O objetivo deste trabalho foi analisar estirpes patogênicas ao bicudo. A partir de ensaios realizados com 215 estirpes, foram selecionadas as cinco que apresentaram melhores resultados de patogenicidade. Foram usadas técnicas de SDS-Page e de PCR para identificação das proteínas e dos genes cry. A identificação morfológica dos cristais foi realizada através da microscopia eletrônica de varredura. Os perfis protéicos apresentaram variação em relação à estirpe padrão, evidenciando diferenças entre as estirpes. A estirpe que apresentou maior toxicidade foi a S601, que também possui um perfil protéico bastante diferenciado da estirpe padrão, com uma forte banda de 130 KDa e fragmentos de PCR para o gene cry1, indicando que genes da família cry1 possam estar envolvidos com a alta toxicidade ao bicudo do algodoeiro.

¹ Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

² Eng. Florestal, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁵ Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

⁶ Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁷ Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

100 - PARASITISMO DE *Sclerotinia sclerotiorum* E *Sclerotium rolfsii* POR *Trichoderma* SPP. (Parasitism of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp.)

Carvalho, S.S.¹, Auler, A.C.V.², Ávila, Z.R.³, Falcão, R.⁴, Capdeville, G. de⁵, Mello, S.C.M.⁵

A seleção de microrganismos antagonísticos constitui a base de todo programa de controle biológico de doenças de plantas. É importante conhecer os mecanismos de antagonismo, para que modelos racionais sejam desenvolvidos, tendo em vistas a introdução destes biocontroladores nos agroecossistemas. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o antagonismo de isolados de *Trichoderma* spp. sobre os fitopatógenos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, pela produção de metabólitos tóxicos não voláteis e observações em microscopia eletrônica de varredura, das hifas dos fitopatógenos, quando cultivados na presença dos antagonistas. A avaliação da inibição por metabólitos não voláteis foi realizada colocando-se sobre a superfície de meio BDA papel celofane esterilizado e sobre este, um disco de micélio do antagonista. Após cultivo por 48 hs a 25 °C e fotoperíodo de 12 hs, foram retirados o papel celofane e o antagonista. Em seguida, transferiu-se um disco de micélio do fitopatógeno sobre o BDA. Medições do diâmetro das colônias foram realizadas a fim de se determinar porcentagem de inibição do crescimento do fitopatógeno. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento e uma testemunha (fungo cultivado em BDA na ausência de metabólitos). Para observação do micoparasitismo em microscopia eletrônica de varredura, os fitopatógenos e os antagonistas foram submetidos ao cultivo pareado por quatro dias e, da região de interação entre os dois fungos, foram retirados três discos de micélio, sendo estes fixados com glutaraldeído durante 6 horas, à temperatura ambiente. Após este período, as amostras foram retiradas do fixador e lavadas com tampão fosfato, por três vezes. Em seguida, as amostras foram pós-fixadas em tetróxido de osmium a 4%, desidratadas em série alcoólica nas concentrações de 30, 50, 70, 90, e 100%, durante 30 minutos e, finalmente, em ponto crítico. Após a desidratação, as amostras foram montadas em “stubs” de alumínio, metalizadas com película de ouro e observadas utilizando o microscópio de varredura Zeiss 962. Através da análise dos resultados, observou-se que houve diferença significativa entre os isolados de *Trichoderma* quanto à inibição do crescimento dos fitopatógenos. Os isolados CEN 239, CEN 240 e CEN 219 proporcionaram maior inibição do crescimento de *S. rolfsii*, enquanto para *S. sclerotiorum*, além destes, também os isolados CEN 234 e CEN 241. Através da microscopia eletrônica de varredura foi possível visualizar o parasitismo dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre *S. rolfsii* e *S. sclerotiorum*.

¹Eng. Biotecnológica, graduanda, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

²Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq/PD

⁴Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

101 - SELEÇÃO IN VIVO E IN VITRO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sclerotium rolfsii* (In vivo and in vitro selection of *Trichoderma* spp. isolates for biological control of *Sclerotium rolfsii*)

Orioli, F. P.¹, Ávila, Z.R.², Carvalho, S.S.³, Braúna, L.M.³, Auler, A.C.V.⁴, Falcão, J.V.¹, Silva, M.C.F.⁵, Mello, S.C.M.⁶

Embora o Brasil seja um dos maiores produtores de grãos de soja (*Glycine max* L.) do mundo, existem ainda fatores a serem superados para aumentar a produtividade da cultura, dentre os quais destacando-se as doenças causadas por fungos. Dessas doenças que se manifestam como tombamento e murchas, as causadas por *Sclerotium rolfsii* têm sido importante alvo de pesquisa. Este patógeno está amplamente disseminado em solos brasileiros e causa problema em várias culturas economicamente importantes, além da soja. Desse modo, a pesquisa de microrganismos antagonísticos, incluindo espécies de *Trichoderma*, para o controle de *S.rolfsii* tem ampla aplicação. Neste trabalho avaliaram-se 20 isolados de *Trichoderma* ssp., quanto à inibição do desenvolvimento do patógeno, *in vitro* e *in vivo*. Esses isolados foram obtidos da rizosfera de plantas do cerrado procedentes das regiões de Goianira, Orizona e Rio Verde, no Estado de Goiás, e do Distrito Federal, e estão sendo incorporados à coleção de fungos da Embrapa Recursos Genéticos. Para o ensaio *in vitro*, foi utilizada metodologia baseada em cultivo simultâneo do fitopatógeno e do antagonista em placas de Petri, contendo meio BDA. A avaliação da inibição do crescimento foi realizada pela medição do diâmetro das colônias. O ensaio *in vivo*, consistiu na contaminação do solo com inóculo do fitopatógeno e do antagonista, cultivados em frascos contendo arroz parboilizado acrescido de água destilada (60% p/v) previamente autoclavado. Pelo método de cultivo pareado, observou-se que todos os isolados de *Trichoderma* apresentaram ação inibitória. Os valores de porcentagem de inibição variaram entre 17% e 51,6 %, de acordo com o isolado. Nos ensaios conduzidos em casa de vegetação, com a cultivar de soja BRS Milena, verificou-se diferença significativa entre os isolados em relação ao controle de *S. rolfsii*. As maiores porcentagens de plantas sobreviventes foram obtidas com os isolados CEN 230, CEN 232, CEN 198, CEN 223, CEN 151, CEN 242, CEN 168, cujos níveis de controle variaram de 91 a 95 %, com estes isolados.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq/PD

³Eng. Biotecnológica, graduanda, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal

⁴Biólogo, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

⁶Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

102 - TOXICIDADE DE DIFERENTES PROTEÍNAS Cry SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*) (Cry proteins toxicity against cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*) development)

Oliveira, G.R.¹, Figueira, E.L.Z.², Magalhães, M.T.Q.³, Monnerat, R.G.⁴, Brunetta, P.S.F.⁵, Grossi-de-Sá, M.F.⁴

Bacillus thuringiensis é uma bactéria Gram positiva, da família Bacillaceae que durante esporulação produz inclusões protéicas cristalinas, contendo proteínas denominadas δ -endotoxinas, que apresentam atividade inseticida. Elas compõem uma família com 137 membros, classificados em 46 grupos com diferentes especificidades sobre os insetos. As vantagens da aplicação de toxinas Cry na agricultura são: especificidade a grupos de insetos, não é poluente ao meio ambiente, inocuidade aos mamíferos e vertebrados e não possui toxicidade sobre as plantas. A mais de 50 anos os produtos obtidos desta bactéria são comercializados no controle de pragas de interesse econômico na agricultura, e apresenta um mercado anual de aproximadamente 100 milhões de dólares. Neste contexto, o bicudo do algodoeiro, uma das principais pragas da cotonicultura mundial, apresenta hábitos endofíticos desenvolvendo-se nos botões florais e maçãs do algodão, causando grandes prejuízos financeiros e inviabilização da cultura em algumas regiões produtoras. O controle dessa praga com inseticidas é oneroso e de baixa eficiência, portanto o desenvolvimento de algodoeiro expressando toxinas Cry é uma estratégia viável para o controle do bicudo e outras pragas, mantendo a competitividade do setor no mercado agrícola. Com o objetivo de identificar toxinas Cry com atividade sobre o desenvolvimento do bicudo do algodoeiro foi feito um rastreamento de diferentes toxinas sobre a praga-alvo. Os resultados de bioensaios contra o bicudo, empregando 100 μ g de toxina Cry/mL de dieta, foram negativos para todas as toxinas avaliadas (Cry1Aa, Cry1Ac, Cry1Ba, Cry3Aa obtidas no Bacillus Genetic Stock Center-USA), com exceção das toxinas Cry8Ea e Cry1I isoladas da linhagem 811 do banco de linhagens da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Diante dos resultados obtidos conclui-se que as toxinas Cry8Ea e Cry1I são promissoras e devem ser avaliadas para aplicação no desenvolvimento de algodão transgênico com resistência ao bicudo do algodoeiro.

¹Biologia, graduando, UNIVALE, FACUAL/CNPq

²Farmacêutico, Ph.D., CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³Eng. Agr., mestranda, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS, FIALGO

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Eng. Agr., mestranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

103 - UTILIZAÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS ATRAVÉS DE USO SISTÊMICO (Use of *Bacillus thuringiensis* in biological pest control through systemic utilization)

Demo, C.¹, Medeiros, P.T.², Batista, A.C.¹, Melatti, V.M.³, Praça, L. B.², Berry, C.⁴, Monnerat, R.⁵

O *Bacillus thuringiensis* (Bt) é uma bactéria entomopatogênica que atua contra insetos produzindo toxinas que por via oral causam infecção, seguida de septicemia e morte do inseto. Esta bactéria pode ser isolada a partir de ambientes como solo, água e insetos mortos. Estudos preliminares realizados na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia mostraram a presença de Bt nos tecidos da planta. A partir destes, foram iniciados estudos para avaliar a utilização sistêmica de Bt visando o controle de insetos. Para isso, foi utilizada a estirpe de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) marcado com gene de fluorescência (gfp). Plantas jovens de *Brassica oleraceae* (repolho) e *Gossypium hirsutum* (algodão) com 35 dias de plantio foram submetidas a dois tratamentos: doses semanais e única aplicação. Foi inoculado 1 ml da bactéria, crescida em meio NYSM por 48h. Duas plantas por tratamento foram coletadas e verificada a fluorescência em suas partes. Após plaqueamento em meio de cultura acrescido de penicilina, observou-se o crescimento e verificou-se a presença de Btk-gfp, através de microscopia de fluorescência. Testemunhas não tratadas, que apresentaram crescimento, não mostraram fluorescência. Ocorreu fluorescência em amostras de solo, raiz, caule, pedúnculo e folhas após um dia da aplicação. No tratamento com uma aplicação, verificou-se a persistência de Btk-gfp no solo por até cinco semanas. As folhas de repolho foram oferecidas em dieta natural para 10 lagartas de *Plutella xylostella* e as folhas de algodão para *Spodoptera frugiperda*. Em leitura após 48h e isolamento a partir dos insetos mortos, verificou-se a presença de Btk-gfp em todas as partes da planta e nos insetos mortos. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia vem aprimorando esta metodologia de ação inseticida do *B. thuringiensis* sendo uma importante alternativa para o controle biológico de pragas.

¹ Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

² Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Bióloga, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

⁴ Biólogo, Ph.D., Universidade de Cardiff

⁵ Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

104 - VARIABILIDADE GENÉTICA E FENOTÍPICA DE LINHAGEM DE *Dicyma pulvinata*, MANTIDA EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO (Genetic and phenotypic variability of *Dicyma pulvinata* strains maintained in different storage conditions)

Pinho, D.S.¹, Inglis, P.W.², Mello, S.C.M.³, Valadares-Inglis, M.C.⁴

O fungo *Dicyma pulvinata* é um importante agente de controle da doença mal-das-folhas da seringueira, causada pelo fungo *Microcyclus ulei*. Colônias únicas da linhagem monospórica CG774, mantida em óleo mineral e congelada à -80°C, foram cultivadas em meio BDA. Frequente setorização foi observada e os setores foram isolados, enquanto a região central da colônia foi inoculada em meio líquido, para produção de micélio a ser utilizado no preparo de amostras de DNA genômico. Este processo foi repetido por quatro gerações consecutivas, tendo as regiões centrais sido designadas, respectivamente, como setores procedentes da região central original e dos setores re-isolados. DNA genômico foi analisado por Southern blot, após digestão com as enzimas *EcoRI*, *PstI* e *HindIII* e hibridização com sonda telomérica. Variabilidade genética foi observada entre os setores produzidos a partir da linhagem monospórica e as regiões centrais, tendo também sido observada intensa variabilidade fenotípica, demonstrando a existência de instabilidade genética em linhagens mantidas sob diferentes condições de armazenamento.

¹Eng. Florestal, graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Biólogo, Ph.D., Pesquisador Visitante, CNPq

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

105 - VARIABILIDADE GENÉTICA E FENOTÍPICA DE LINHAGENS MONOSPÓRICAS DE *Metarhizium anisopliae* (Genetic and phenotypic variability of *Metarhizium anisopliae* monosporic strains)

Gavião, C.F.C.¹, Inglis, P.W.², Martins, I.³, Valadares-Inglis, M.C.⁴

O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* apresenta eficiência no controle de inúmeros insetos pragas de importância agrícola. O desenvolvimento de produtos e o sucesso no uso de fungos em campo dependem de uma formulação apropriada, que garanta a estabilidade e viabilidade do produto durante o processo de produção e estocagem. Transferências seriadas de fungos *in vitro* podem gerar instabilidade genética observada pela formação de setores, redução na esporulação e variação na morfologia e pigmentação. Degeneração fenotípica, via formação de setores, em linhagens do fungo *M. anisopliae*, é frequentemente acompanhada por mudanças na produção de metabólitos secundários e enzimas. A compreensão dos mecanismos relacionados a estabilidade genética de fungos, agentes de biocontrole, são essenciais para o desenvolvimento de produtos estáveis para uso em campo. Colônias monospóricas das linhagens CG34, que apresenta monomorfismo na região subtelomérica e CG100, que apresenta polimorfismo, foram produzidas a partir de isolados mantidos em nitrogênio líquido, liofilizados e re-isolados do inseto *Callosobruchus maculatos*. Dez colônias de cada linhagem, nas diferentes condições de tratamento, foram inoculadas em meio líquido para produção de micélio, o qual foi utilizado para extração de DNA genômico. Southern blots foram preparados por digestão do DNA com as enzimas *EcoRI*, *PstI*, *HindIII* e *BamHI*, e hibridizados com sonda telomérica. Observou-se variabilidade na região subtelomérica das linhagens obtidas dos mesmos isolados, mantidos na mesma condição de armazenamento, mostrando a existência de variações na região associada a telômeros, na linhagem CG34. A linhagem CG100 apresentou maior homogeneidade entre as colônias monospóricas o que sugere a existência de mecanismos específicos relacionados à estabilidade de linhagens. Observaram-se também variações morfológicas entre as colônias monospóricas obtidas a partir dos isolados, no entanto o nível de setorização das colônias foi pequeno, comparado com outros fungos.

¹Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Biólogo, Ph.D., Pesquisador Visitante, CNPq

³Bióloga, Técnica Nível Superior, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

106 - VARIABILIDADE SUB-TELOMÉRICA DE LINHAGENS DE *Dicyma* sp. E *Alternaria* sp. (Sub-telomeric variability among strains of *Dicyma* sp. and *Alternaria* sp.)

Jerônimo, M.A.G.¹, Gavião, C.F.C.², Inglis, P.W.³, Mello, S.C.M.⁴, Valadares-Inglis, M.C.⁵

O fungo *Dicyma* sp. tem se mostrado promissor no controle do mal-das-folhas, que é a principal doença da seringueira no Brasil. Vários estudos têm mostrado o elevado potencial de uso desse micoparasita em condições de campo. Já o fungo *Alternaria* sp. vem sendo utilizado no controle de *Senna obtusifolia* L., que é uma das principais plantas daninhas infestantes dos cultivos de soja. Linhagens de *Dicyma* sp. e *Alternaria* sp. pertencentes à coleção da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia foram analisadas quanto à variabilidade genética, utilizando-se DNA fingerprinting com sonda telomérica. Sessenta e uma linhagens de *Dicyma* sp. e 28 linhagens de *Alternaria* sp. foram cultivadas em meio líquido para produção de micélio e utilizados para extração de DNA. Southern blot das amostras foram preparados após digestão dos DNAs com as enzimas *Hind*III, *Eco*RI e *Pst*I. Utilizou-se sonda telomérica preparadas a partir de PCR com primers específicos, marcada com ³²aPdCTP. Os resultados mostraram intensa variabilidade entre as linhagens de *Dicyma*, ao contrário de publicações anteriores, que mostraram grande similaridade entre as linhagens, utilizando-se RAPD. No que se refere a *Alternaria* sp., observou-se baixa variabilidade entre as linhagens. Monomorfismo na região subteloamérica foi observado em algumas linhagens de *Dicyma* e *Alternaria*, sugerindo duplicações nestas regiões, semelhantemente ao descrito anteriormente para *Metarhizium* sp. Utilizando-se sonda telomérica, foi possível observar a variação no número de cromossomos de cada linhagem dos fungos utilizados neste estudo.

¹Eng. Biotecnológica, graduanda, Universidade Politécnica de Bragança, Portugal

²Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³Biólogo, Ph.D., Pesquisador Visitante, CNPq

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

107 - VARREDURA DAS ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* EFETIVAS PARA O CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* E *Anticarsia gemmatalis* (Screening of *Bacillus thuringiensis* toxic against *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda*)

Batista, A.C.¹, Silva, C.R.M.², Demo, C.³, Praça, L.B.⁴, Monnerat, R.G.⁵

A utilização de agentes de controle biológico é uma alternativa viável, e bioinseticidas formulados à base de *Bacillus thuringiensis* vêm apresentando resultados satisfatórios no controle de lepidópteros. Uma das vantagens do emprego desta bactéria é a sua ação restrita a insetos-alvo, não afetando o ser humano e não danificando o meio ambiente. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia conta com um Banco de Germoplasma de Bacilos Entomopatogênicos onde estão armazenadas 1375 estirpes de *B. thuringiensis* oriundas de diferentes regiões do Brasil. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia destas estirpes, através de testes de patogenicidade, contra *Anticarsia gemmatalis* (Lep.: Noctuidae) e *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) através de bioensaios, caracterização bioquímica, molecular e microscopia eletrônica de varredura. 1375 estirpes foram testadas em bioensaios seletivos, 31 estirpes causaram 100% de mortalidade e foram submetidas a bioensaios de dose para determinação da CL₅₀. Das que passaram por bioensaios de dose, cinco estirpes apresentaram CL₅₀ inferior ao padrão (Btk) contra *A. gemmatalis* e três estirpes contra *S. frugiperda*. As estirpes S845 e a S1905 foram as mais eficazes aos dois insetos, apresentando maior toxicidade que o padrão Btk. Em relação à caracterização molecular, nota-se ubiquidade dos grupos de genes cry1 e cry2 e presença de grande variedade de subgrupos cry1, naturalmente esperados em estirpes efetivas contra lepidópteros. A estirpe 1905 apresenta perfil genético e bioquímico idêntico ao da linhagem padrão *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk). Já a estirpe 845, o perfil protéico é composto por apenas uma banda de 130 kDa e seu material genético apresenta apenas três genes para proteínas Cry. As estirpes estudadas mostraram, por meio da microscopia eletrônica de varredura, que ambas possuem cristais bipiramidais, cubóides e esféricos. Através de testes realizados, pode-se afirmar o alto potencial patogênico destas estirpes, sendo alternativas viáveis para a nova formatação de um produto biológico à base de *B. thuringiensis*.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

²Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

³Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

⁴Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Intercâmbio e Quarentena

108 - BANCO DE DADOS DE FUNGOS EM MACIEIRA (*Malus domestica*) (Data base of fungi in apple (*Malus domestica*))

Castro, P.K.G. de¹, Melo, L.A.M.P. de², Mendes, M.A.S.³

Os pomares de macieira (*Malus domestica*) ocupam cerca de 24.500 hectares no Brasil. A maçã é, talvez, a fruta que engloba a maior quantidade de variedades conhecidas: estima-se algo entre 5 e 20 mil. Dessas, de 3 a 4 mil são cultivadas, em maior ou menor escala, em diferentes partes do mundo. O certo é que este número vem crescendo a cada dia que passa, com o aprimoramento e com o desenvolvimento de novas variedades em estações experimentais. No Brasil, os primeiros cultivares chegaram da Europa durante os anos 20, cujo objetivo foi o estabelecimento de plantações comerciais. As pragas que não ocorrem no Brasil, mas que causam grandes prejuízos financeiros nas regiões onde estão registradas, possuem características bioecológicas favoráveis para o seu estabelecimento no território brasileiro e devem ser incluídas na lista A1 (Instrução Normativa N° 38 de 14 de outubro de 1999) de pragas quarentenárias para o Brasil. O banco de dados de fungos em maçã tem como objetivo listar organismos quarentenários de expressão econômica e que porventura possam acompanhar commodities importadas. Esse banco de dados contém informações sobre todos os gêneros/espécies de fungos relatados em macieira no mundo, sinônimos, distribuição geográfica e referências bibliográficas. Foram catalogados 214 fungos, sendo que destes, 121 são exóticos e 68 estão relatados no Brasil. Na segunda etapa deste trabalho, serão levantados os dados complementares sobre as condições edafoclimáticas, expressão econômica, parte(s) da planta afetada(s) para cada fungo, entre outros, necessários para a sua inclusão na lista A1 de pragas quarentenárias.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

109 - BANCO DE DADOS DE FUNGOS EM MELOEIRO (*Cucumis melo*) (Data base of fungi in melon (*Cucumis melo*))

Castro, P.K.G. de¹, Felix, A.A.A.², Melo, L.A.M.P. de³, Mendes, M.A.S.⁴

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é uma planta de origem asiática de grande interesse comercial no Brasil e no mundo. A região Nordeste destaca-se na produção desta fruta devido a sua condição climática ser similar à sua região de origem, sendo responsável por mais de 90% da produção de melão do Brasil. Devida à significativa expressão econômica dessa fruta no Brasil, a identificação das pragas quarentenárias que afetam o melão é de extrema importância para a adoção de medidas fitossanitárias adequadas, com o intuito de diminuir os riscos de introdução de pragas exóticas. As pragas que não ocorrem no país, mas que causam grandes prejuízos financeiros nas regiões onde estão registradas, possuem características bioecológicas favoráveis para o seu estabelecimento no território brasileiro e devem ser incluídas na lista A1 (Instrução Normativa Nº 38 de 14 de outubro de 1999) de pragas quarentenárias para o Brasil. O banco de dados de fungos que ocorrem em melão tem como objetivo identificar organismos quarentenários de expressão econômica e que porventura possam acompanhar commodities importadas. Essa base de dados contém informações sobre todos os gêneros/espécies de fungos relatados em meloeiro no mundo, sinônimos, distribuição geográfica e referências bibliográficas. Foram catalogados 110 fungos, sendo que destes 28 são exóticos e 82 estão relatados no Brasil. Na segunda etapa deste trabalho, serão levantados os dados complementares sobre as condições edafoclimáticas, expressão econômica, parte(s) da planta afetada(s) para cada fungo, entre outros, necessários para a sua inclusão na lista A1 de pragas quarentenárias.

¹Biologia, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

³Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

110 - BANCO DE DADOS DE OCORRÊNCIA DE NEMATÓIDES NO BRASIL (Databases of geographic distribution of nematodes in Brazil)

Ogibowski, A.R.G.¹, Tenente, R.C.V.², Melo, L.A.M.P.³

Pesquisas sobre nematóides no Brasil são comuns desde a primeira confirmação relatada por Goeldi (1887) do nematóide *Meloidogyne* encontrado em cafeeiro brasileiro. Durante vários anos de pesquisa foram relatadas diferentes ocorrências de nematóides no País, publicadas em referências bibliográficas diversas. Profissionais da área de nematologia e afins apresentam uma necessidade freqüente de realizar consultas a esta vasta fonte bibliográfica, de modo a obter resultados sintéticos sobre ocorrência de nematóides, o que motiva a construção de um banco de dados que registre tais ocorrências citadas nas referências bibliográficas. O Laboratório de Nematologia da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia iniciou um trabalho de levantamento de dados referente a ocorrência de fitonematóides no Brasil, para tanto, projetou e implementou um sistema computacional de armazenamento de dados de ocorrência de nematóides em ambiente de banco de dados. A arquitetura do sistema é baseada no paradigma cliente-servidor. Na máquina servidora ficam armazenados os dados no software de banco de dados Oracle. Nas máquinas cliente foi instalado um programa de manutenção (inclusão, alteração, exclusão) dos dados escrito em linguagem de programação Visual Basic. O banco de dados foi organizado de modo a registrar as informações obtidas nas referências bibliográficas onde indicavam a ocorrência de fitonematóides, a planta hospedeira parasitada e a ocorrência na Unidade Federativa do Brasil. Para usuários interessados em acessar o banco de dados, foi disponibilizado um serviço (via programação HTML/ASP) na internet para consultas. As consultas podem ser acessadas através do site <http://www.cenargen.embrapa.br>, na seção referente a bases de dados ou na seção segurança biológica. As consultas disponibilizadas pela web permitem ao usuário listar dados tais como: “quais plantas hospedeiras são parasitadas pelo nematóide do gênero *Meloidogyne*?”, “em quais unidades federativas foram registradas a ocorrência do nematóide do gênero *Aorolaimus*?”, “quais nematóides parasitam a planta hospedeira *Oryza sativa*?”, “quais nematóides são citados ocorrendo no Distrito Federal e em São Paulo?”, “quais as referências bibliográficas que citam a ocorrência de nematóides do gênero *Helycottilenchus*?”, dentre outras.

¹Ciência da Computação, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

111 - BUSCA DE GENES DE RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE *Meloidogyne incognita* ENTRE DIFERENTES CLONES DE BANANEIRA (*Musa* spp.) (Searching of resistant genes to nematode *Meloidogyne incognita* among different clones of banana (*Musa* spp.))

Pinto, A.C.B.V.¹, Borzuk, M.¹, Sousa, A.I. de M.², Tenente, R.C.V.² Silva Neto, S.P.da S.³, Carrijo O.A.⁴

As plantas de banana cultivadas, em sua maioria, são triplóides, evoluídas das espécies selvagens *Musa acuminata* (AA) e *Musa balbisiana* (BB) Colla, sendo selecionadas durante longo processo de domesticação, com bases genéticas estreitas e diversidade dependente do surgimento de mutações somáticas. Com isso, a baixa variabilidade genética de um cultivo agrícola representa riscos de prejuízos ou dizimação da cultura por doenças. O melhoramento genético de plantas contribui expressivamente na resolução de problemas na agricultura e consiste na produção de híbridos com maior resistência a diferentes doenças. Os nematóides pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, formadores de galhas nas raízes, destacam-se pelos seus efeitos deletérios na produção de banana e por estarem amplamente disseminados no Brasil. Na experimentação conduzida, objetivou-se encontrar variedades com genes de resistência à *M. incognita*, onde foram testadas as variedades Caipira, Grande Naine, Maçã, Nanicão, Prata Anã e Prata Zulu (triplóides) e FHIA-18 (tetraplóide), com quatro repetições cada, inoculadas com 15.000 ovos do nematóide. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com irrigação diária de 204mL por planta durante 120 dias. Observando a resistência avaliada, nos 28 plantas de bananeira, de acordo com o número de ovos e juvenis de *M. incognita* recuperados no solo e na raiz e a classificação quanto ao grau de cada planta, obteve-se 60,7% das plantas com moderada resistência (MR), 25% pouco resistentes (PR) e, aproximadamente, 7,15% suscetíveis (S) e 7,15% altamente suscetíveis (AS). Todas as plantas de Prata Anã apresentaram moderada resistência ao nematóide, enquanto que Caipira e FHIA-18 atingiram os menores índices de inibição. A variedade FHIA-18 foi considerada padrão de suscetibilidade (AS) por apresentar maior índice de reprodução. A cultivar Prata Anã foi avaliada como moderadamente resistente (MR) obtendo o maior índice de inibição do nematóide, superior a 82%. As demais variedades foram consideradas pouco resistentes (PR) a *M. incognita* de acordo com critérios estabelecidos por Moura & Régis. Não foi mostrada a reação de resistência a *M. incognita* em nenhuma das variedades, sendo a variedade FHIA-18 um híbrido tetraplóide (AAAB) de Prata Anã (MR) que apresenta resistência à Sigatoka-negra, principal doença da bananeira, porém não imune a *M. incognita*.

¹Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB, bolsista CNPq

²Secret. Executivo, graduanda, Faculdade Cecap-CECAP, bolsista CNPq

³Eng. Agr., Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., Ph.D., CAMPO Biotecnologia Vegetal LTDA

⁵Eng. Agr., Ph.D, Embrapa Hortaliças

112 - CONTROLE DE *Meloidogyne javanica* EM BANANEIRA UTILIZANDO ADUBAÇÕES ORGÂNICAS, EM MICROPARCELAS, SOB CONDIÇÕES DE CAMPO (Control of *Meloidogyne javanica* in banana clones, using organic manures, in microplots, under field conditions)

Boas, L.C.V.¹, Cares, J.E.², Tenente, R.C.V.³, Silva Neto, S.P.⁴

A banana é uma das frutas mais populares, sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial, com produção de 6.369.447 t e área plantada de 508.524 ha (IBGE, 2002). Os problemas fitossanitários da bananeira são responsáveis pelo decréscimo na produtividade e na qualidade dos frutos produzidos no mundo. Os fitonematóides são os principais patógenos do sistema radicular da bananeira e dentre estes encontram-se os formadores de galhas do gênero *Meloidogyne* Goeldi 1887, destacando-se as espécies *M. incognita* e *M. javanica* como as de maior ocorrência. Devido a crescente demanda da população por alimentos mais saudáveis e considerando os problemas associados ao controle químico de nematóides, vem-se buscando métodos alternativos de controle. Nesse sentido, procurou-se verificar o efeito da matéria orgânica no controle do nematóide das galhas da bananeira. O trabalho foi conduzido nas dependências da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, em microparcelas no campo. Os clones testados foram Grande Naine e Prata Anã, inoculando-se 10.000 ovos/juvenis de *M. javanica* por planta e utilizou-se como adubação orgânica para tentar controlar o nematóide os esterços bovino e de galinha, Bokashi-MOA®, farelo de mamona, composto orgânico-MOA e substrato de fibra de coco GOLDEN MIX®. As plantas foram mantidas no campo por um período de 60 dias. O efeito da matéria orgânica foi avaliado sobre os parâmetros altura e peso da parte aérea das plantas, peso do sistema radicular, número de ovos/juvenis de *M. javanica* recuperados no solo e nas raízes e o índice de reprodução do nematóide. Dentre os tratamentos utilizados, o esterco de galinha, o composto orgânico – MOA e o farelo de mamona foram os que obtiveram os melhores resultados com relação ao peso da parte aérea e ao peso do sistema radicular das cultivares. Com relação ao número e o índice de reprodução do nematóide, não foi encontrada diferença estatística entre os tratamentos e a testemunha, mas o tratamento com a fibra de coco foi o que apresentou o maior número e conseqüentemente, a maior taxa de reprodução, verificando-se a baixa eficiência no controle do nematóide. Neste trabalho ficou evidenciado que há necessidade da adubação orgânica em clones de bananeira para um melhor desenvolvimento das plantas. Por ter apresentado baixos índices de reprodução dos nematóides pode-se inferir que a população de nematóides utilizada pode não apresentar elevada virulência às cultivares de bananeira, visto que até as testemunhas apresentaram baixa multiplicação dos nematóides.

¹Eng. Agr., mestrando, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., Ph.D., CAMPO Biotecnologia Vegetal LTDA

113 - EFEITO DE MATERIAIS ORGÂNICOS NO CONTROLE DO NEMATÓIDE DAS GALHAS *Meloidogyne incognita* EM BANANEIRA, SOB CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO (Effect of organic manures to control the root knot nematodes *Meloidogyne incognita* in banana clones, under greenhouse conditions)

Boas, L.C.V.¹, Cares, J.E.², Tenente, R.C.V.³, Silva Neto, S.P.⁴

A banana, por ser uma das frutas mais populares, e sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial, vem crescendo nos últimos anos a preocupação em relação aos problemas fitossanitários da bananeira, que são responsáveis pelo decréscimo na produtividade e na qualidade dos frutos produzidos no mundo. Dentro do aspecto fitossanitário, destacam-se os fitonematóides como os principais patógenos do sistema radicular da bananeira, onde encontram-se os formadores de galhas do gênero *Meloidogyne* Goeldi 1887, sendo as espécies *M. incognita* e *M. javanica* as de maior ocorrência. Devido a crescente demanda da população por alimentos mais saudáveis e considerando os problemas associados ao controle químico de nematóides, vem-se buscando métodos alternativos de controle. Nesse sentido, procurou-se verificar o efeito da matéria orgânica no controle do nematóide das galhas da bananeira. O trabalho foi conduzido nas dependências da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, em casa de vegetação. Os clones testados foram Grande Naine e Prata Anã, com a inoculação de 10.000 ovos/juvenis de *M. incognita* por planta. Foi utilizado, como adubação orgânica para tentar controlar o nematóide, os esterco bovino e de galinha, Bokashi–MOA® e o composto orgânico–MOA. Foram consideradas duas testemunhas: com e sem nematóide. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por um período de 100 dias. O efeito da matéria orgânica foi avaliado sobre os parâmetros: altura e peso da parte aérea das plantas, peso do sistema radicular, número de ovos/juvenis de *M. javanica* recuperados no solo e nas raízes e o índice de reprodução do nematóide. Dentre os tratamentos utilizados, o composto orgânico MOA e o esterco bovino foram os melhores, com relação à altura e peso de parte aérea de ambas cultivares. O tratamento que obteve o maior peso do sistema radicular das plantas foi o Bokashi®, porém, não diferiu estatisticamente dos tratamentos e nem das testemunhas. Com relação ao número de ovos e juvenis recuperados de *M. incognita* e o índice de reprodução do nematóide, o tratamento com esterco de galinha foi o que obteve a maior número de nematóides, e o maior índice de reprodução, diferindo estatisticamente de todos os tratamentos, inclusive das testemunhas. Apesar de ter apresentado baixos índices de reprodução do nematóide, indicando baixa virulência desta população em clones de bananeira, mostrou-se a necessidade da adubação orgânica na cultura da banana, para um melhor desenvolvimento fisiológico das plantas e possivelmente uma maior tolerância ao parasitismo por este nematóide.

¹Eng. Agr., mestrando, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., Ph.D., CAMPO Biotecnologia Vegetal LTDA

114 - EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO SECO NA SANIDADE DE SEMENTES DE ALGODÃO (Effect of dry thermic treatment on seed-borne fungi of cotton)

Rodrigues Jr., A.J.G.¹, Mendes, P.D.², Oliveira, A.S.³, Fonseca, J.N.L.⁴, Mendes, M.A.S.⁵

Tratamentos alternativos, como o uso do calor seco ou úmido, têm sido utilizados com sucesso no controle e erradicação de fitopatógenos em sementes. O presente trabalho teve por objetivo verificar o efeito do calor seco no controle de fungos de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum*). Sementes infectadas naturalmente foram submetidas ao pré-tratamento, durante 24 horas, a 60°C, seguido de tratamentos a 93°C durante 2, 3, 4, 8, 10, 12 horas e testemunha (sem tratamento). Utilizou-se o método de "Blotter test" para detecção de fungos e o poder germinativo (PG) das sementes foi avaliado segundo regras de análises de sementes (Handbook of Vigour Test Methods, ISTA, 1981). As sementes de algodão apresentaram contaminação com 21 espécies/gêneros de fungos diferentes, destacando-se *Fusarium sambucinum* e *Curvularia* spp. com maiores percentagens de contaminação. Os tratamentos realizados comparados com as respectivas testemunhas não afetaram significativamente o PG das sementes, avaliado pelo teste Tukey a 5% de significância. Nenhum dos tratamentos foram efetivos para a erradicação dos fungos, e os que apresentaram melhor resultado controlando em 44 e 46% *F. sambucinum* e *Curvularia* spp., foram aqueles nos quais as sementes foram submetidas ao pré-tratamento por 24 horas a 60°C seguido de tratamentos a 93°C por 8 e 10 horas, respectivamente.

¹Eng. Agr, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

²Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

³Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

115 - FORMAÇÃO DE UM BANCO DE DADOS SOBRE PRAGAS EM BORBULHAS DE FRUTEIRAS, BASE PARA ELABORAÇÃO DE ARP-NQR (Development of a database about pests in buds base for ARPQNR elaboration)

Barros, T.O.¹, Mendes, M.A.S.², Melo, L.A.M.P.³, Fonseca, J.N.L.⁴, Felix, A.A.A.⁵

Esta base de dados dá início a um mapeamento de pragas, o que é fundamental para a definição de pragas de ocorrência localizada. Pragas não quarentenárias regulamentadas (PNQR) são organismos que podem causar a perda de qualidade e conseqüente perda de mercado de produtos agrícolas de exportação. O trânsito de material vegetal e de outros organismos vivos de uma região para outra pode acarretar uma série de impactos para a agricultura nacional. Este trabalho tem por objetivo facilitar e auxiliar a identificação das pragas ocorrentes em borbulhas de fruteiras, e com isso, a conseqüente tomada de decisão sobre o seu controle. Como base para elaboração de Análise de Risco de Pragas não Quarentenárias Regulamentadas (ARP-NQR), foram selecionadas 23 pragas nas seguintes culturas: ameixa (01 praga), pêssigo (02 pragas), atemóia (01 praga), guaraná (01 praga), abacate (02 pragas), caju (01 praga), manga (03 pragas), nêspira (01 praga), uva (01 praga), goiaba (01 praga), maçã (04 pragas), pêra (01 praga) e caqui (01 praga). Os dados desse levantamento foram armazenados no software de bancos de dados Access. Posteriormente esses dados serão migrados para o banco de dados Oracle (banco de dados corporativo da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia) para disponibilização, via internet. As pragas ocorrentes nestas culturas possuem grande expressão econômica, podendo causar grandes prejuízos ao agronegócio brasileiro se ocorrerem sob condições favoráveis ao patógeno e em cultivares suscetíveis. Podemos salientar algumas pragas de relevância como as bactérias *Xylella fastidiosa* em citros, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em ameixa e *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* em citros, o vírus costerovirus (tristeza) em citros e o fungo *Botryosphaeria ribis* em pêra. É importante mencionar que estas informações contribuirão na atualização da lista de Pragas Quarentenárias Regulamentadas fiscalizadas pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento.

¹Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

116 - FUNGOS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA EM *Olea Europaea* PARA O BRASIL OCORRENTES NA ESPANHA (Fungi of quarantine expression in *Olea europaea* for Brazil that occurs in Spain)

Felix, A.A.A.¹, Mendes, M.A.S.², Santos, M.F.²

A oliveira (*Olea europaea* L.) é originária do Oriente Médio e é de grande interesse comercial em todo o mundo. Desde a antiguidade seus frutos são utilizados para diversos fins como a alimentação e a iluminação. No início de 2004, visando o estabelecimento de plantios comerciais, foi solicitada ao governo brasileiro a permissão de importação de mudas de oliveira, provenientes da Espanha. A Instrução Normativa Nº 59 de 21 de novembro de 2002, estabelece que as importações de produtos vegetais obedecerão aos requisitos fitossanitários estabelecidos por Análise de Risco de Pragas (ARP). O presente trabalho teve por finalidade compilar e disponibilizar informações preliminares para a realização dessa ARP, permitindo a adoção de medidas fitossanitárias adequadas, para que a importação das referidas mudas fosse feita com maior segurança, evitando, desse modo, a disseminação de pragas exóticas, que podem causar impacto econômico, social e ambiental, como também causar restrições às exportações do produto. Os fungos apontados como pragas exóticas foram: *Cylindrocarpon destructans*, *Dichomitus campestris*, *Hyphoderma praetermissum*, *Hysterium pulicare*, *Laeticorticium meridioroseum*, *Melanomma minervae*, *Peniophora boidinii*, *Peniophora versicolor*, *Pezicula alba*, *Spilocaea oleagina*, *Teichospora oleicola*, *Tomentella bresadolae*, *Trematosphaeria olearum*, *Tubulicrinis gracillimus* e *Ustilago cynodontis*. Os dados levantados sobre esses fungos incluem informações sobre a taxonomia, plantas hospedeiras, bioecologia, formas de transmissão, sintomas, métodos de detecção, inspeção, distribuição geográfica e controle.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

117 - FUNGOS DE IMPORTÂNCIA QUARENTENÁRIA EM TAMAREIRA (*Phoenix dactylifera*) NO BRASIL (Fungi of quarantine importance on date palm (*Phoenix dactylifera*) to Brazil)

Felix, A.A.A.¹, Medeiro, S.A.², Mendes, M.A.S.²

A tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) é uma palmeira originária do Oriente Médio, tendo no Brasil pouca importância como cultivo comercial. Para a internação de mudas de tamareira procedentes da Arábia Saudita é necessária a realização da Análise de Risco Quarentenária (ARP) de acordo com a Instrução Normativa Nº 59 de 21 de novembro de 2002, que estabelece os requisitos fitossanitários para a importação de produtos vegetais. O presente trabalho teve por finalidade compilar e disponibilizar informações sobre fungos de importância quarentenária para o cultivo de *P. dactylifera* (Tamareira) no Brasil. Os fungos identificados como pragas exóticas neste produto foram: *Coniothyrium palmarum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, *Fusarium proliferatum*, *Hyphodontia sambuci*, *Mauginiella scaettae*, *Montagnula palmacea*, *Phialophora parasitica* e *Xylohypha nigrescens*. Os dados compilados sobre as pragas quarentenárias incluíram informações sobre a taxonomia, plantas hospedeiras, bioecologia, formas de transmissão, sintomas, métodos de detecção, inspeção, distribuição geográfica e controle, que devem ser sistematicamente atualizadas e disponibilizadas para dar suporte à comercialização desses produtos dentre os fungos exóticos pesquisados. *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*, o agente causal do Bayoud, foi considerado como o patógeno mais importante não relatada no Brasil. Este fungo causa murcha e dessecamento progressivo das árvores a partir das extremidades dos ramos de tamareira e foi relatado na Algéria e Marrocos. Este patógeno é facilmente disseminado por material contaminado e, até o presente, poucos critérios fitossanitários são aplicados para impedir a entrada desta praga em países em desenvolvimento, que ainda são livres desta doença.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

118 - FUNGOS TRANSMITIDOS POR SEMENTES DE *Brachiaria* PROVENIENTES DE CAMPO GRANDE, MATO GROSSO DO SUL (Seed-borne fungi of *Brachiaria* from Campo Grande, Mato Grosso do Sul)

Mendes, P.D.¹, Rodrigues Jr., A.J.G.², Mendes, M.A.S.³, Oliveira, A.S. de⁴

A sanidade das sementes de *Brachiaria*, uma das forrageiras mais utilizadas no Brasil, tem prejudicado consideravelmente o seu rendimento. Para realizar tratamentos de controle destas pragas é necessário identificar corretamente os agentes etiológicos. Este trabalho teve por objetivo detectar e identificar os fungos fitopatogênicos que ocorrem em sementes de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens*. Foi utilizado o método de plaqueamento e papel de filtro, como segue: as sementes foram colocadas em caixas plásticas tipo “gerbox” contendo duas folhas de papel de filtro umedecidas em solução de hipoclorito de sódio a 0,2%. As sementes foram incubadas em câmara com fotoperíodo de 12 horas de luz NUV (“Near Ultra Violet”) e 12 horas de escuro, durante 15 dias. Após este período, as sementes foram examinadas sob microscópio estereoscópio e de luz para identificação dos fungos. Para cada espécie de *Brachiaria* foram utilizadas 200 sementes, 25 sementes por gerbox. Os fungos detectados nas duas espécies, *B. decumbens* e *B. brizantha*, foram: *Bipolaris* sp., *Fusarium equiseti*, *Diplodia* sp., *Phoma* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Exserohilum rostratum*, *Septoria* sp. Os fungos ocorrentes apenas em *B. decumbens* foram: *Torula* sp., *Alternaria dianthicola*, *Lepthosphaeria* sp., *Nigrospora* sp. Os fungos detectados somente em *B. brizantha* foram: *Drechslera* sp., *Curvularia trifolii*, *C.pallescens*, *Acremonium* sp. Foram realizados testes de patogenicidade utilizando mudas sadias de *B. decumbens* e *B. brizantha*, onde foram inoculados os fungos: *E. rostratum*, *Diplodia* sp., *Phoma* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. desenvolvidos em meio de cultura BDA. Os resultados obtidos revelaram que os fungos, *E. rostratum*, *Diplodia* sp., *Phoma* sp. e *Curvularia* sp. causaram lesões foliares nestas culturas. Esta foi a primeira vez que a espécie *E. rostratum* foi identificada em *Brachiaria*, sendo provavelmente relatada como *Drechslera* sp. em muitos trabalhos em várias partes do mundo. A incidência de fungos em *B. brizantha* foi de 59% e em *B. decumbens* 53%, indicando a necessidade de se realizar tratamento para controle/erradicação destes patógenos.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Eng. Agr, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

³Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

119 - IDENTIFICAÇÃO DE INSETOS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA PARA A VITICULTURA NO BRASIL (Identification of insects of quarantine important to wine crop in Brazil)

Aquino, Y.M.¹, Vilarinho, K.R.², Silva, S.F.³, Oliveira, M.R.V.⁴

A produção de uvas no Brasil se concentra principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, constituindo uma atividade de importância sócio-econômica para alguns estados brasileiros. Na Serra Gaúcha a produção de vinho atingiu, em 2004, 578 milhões de quilos de uvas usadas na fabricação de vinhos e espumantes, no total de 462,4 milhões de litros, o que representa crescimento em comparação ao ano passado, quando foram produzidos 384 milhões de quilos de uva. A necessidade de aumentar a variabilidade genética vegetal através dos programas de melhoramento, a extensão e rapidez dos transportes internacionais e a constituição de zonas de livre intercâmbio econômico, são fatores que tem contribuído para dispersão de pragas originalmente restritas às suas respectivas áreas de origem. A introdução de organismos potencialmente nocivos em áreas do sistema produtivo pode ter conseqüências diversas, como danos e perdas de cultivos, aumento dos gastos com controle de pragas, danos ambientais pelo uso freqüente de agrotóxicos, entre outros. Esse fato ressalta a importância de se conhecer as pragas que afetam a viticultura. Neste contexto, este trabalho teve por finalidade identificar os insetos pragas da cultura de *Vitis vinifera* (Vitaceae), disponibilizando um banco de dados para posteriores análises fitossanitárias. Os dados coletados sobre as pragas, foram organizados em uma planilha contendo informações sobre a taxonomia; existência de raças; distribuição geográfica; plantas hospedeiras; vias de ingresso; agentes fitopatológicos; doenças relacionadas; registros de interceptações no mundo e presença ou ausência no Brasil. Foram identificados 90 insetos (e.g. Cicadellidae, Tortricidae, Pseudococcidae), incluindo vetores que contribuem para a dispersão de vírus e bactérias causadoras de diversas doenças de importância econômica. As informações obtidas sobre essas pragas poderá beneficiar o controle das mesmas, na cultura da videira.

¹Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

²Bióloga, B.Sc., Bolsista consultora CNPq, convênio MMA/PROBIO

³Eng. Ambiental, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

⁴Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

120 - IDENTIFICAÇÃO NUTRICIONAL E SOROLÓGICA DE *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Nutritional and serological identification of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*)

Melo, L.A.¹, Santos, J.P.², Marques, A.S.A.³

A identificação de bactérias fitopatogênicas, isoladas de hospedeiros com sintomas, é feita com base em características tintoriais, culturais, bioquímicas e nutricionais, entre outras. Alguns testes como a reação de hipersensibilidade e o teste de podridão mole em batata podem ser usados na diagnose precoce de fitobacterioses. A bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* [*Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* (Schaad *et al.* 1978) é um patógeno limitado a Curcubitáceas relatado infectando desde plantas cultivadas como melancia (*Citrullus lanatus* L.), melão (*Cucumis melo* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), abóbora (*Curcubita pepo* L.) até espécies ditas espontâneas, usadas para fins forrageiros [*Citrullus lanatus* var. *citroides* (Bailey) Mansf.]. Em 1997 foi relatada no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, como causadora da mancha-aquosa em frutos de melão com o potencial de causar perdas totais à produção. O objetivo deste trabalho foi caracterizar, com base em identificação nutricional, bioquímica, fisiológica e sorológica, isolados bacterianos de *A. avenae* subsp. *citrulli*. Foram utilizados oito isolados provenientes da cultura do melão, Emb.A11-19; Emb.A11-21; Emb.A11-22; Emb.A11-23; Emb.C586; Emb.C587; Emb.D348; Emb.D349 e quatro provenientes da cultura da melancia, Emb.E114; Emb.E115; Emb.E116 e Emb.E117. Ainda, para efeito comparativo, utilizou-se um isolado de *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Emb. A 265), conhecidamente uma bactéria fluorescente. Em primeiro momento realizou-se o teste de hipersensibilidade em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) visando comprovar a patogenicidade dos isolados, visto que, bactérias saprófitas não induzem resposta hipersensível em plantas. Os testes nutricionais, bioquímicos e fisiológicos foram realizados de acordo com protocolos descritos na literatura sendo, produção de levan, oxidase, podridão mole em batata, arginina dehidrolase, metabolismo de glucose (O/F), reação de Gram pelo método de KOH, urease, crescimento a 40 °C, produção de pigmento fluorescente em meio King-B, redução de nitrato e hidrólise de amido. A identificação sorológica dos isolados foi feita através do teste DAS ELISA com o uso do AGDIA-PathoScreen Kit. Os isolados bacterianos analisados apresentaram os resultados característicos do patovar, com exceção do teste de redução de nitrato. Relata-se que *A. avenae* subsp. *citrulli* apresenta redução de nitrato negativa, mas os isolados testados apresentaram redução de nitrato positiva, enquanto o isolado Emb. A 265 foi negativo. O processo de identificação por técnicas moleculares será executado na continuação do trabalho, objetivando averiguar possíveis variações genéticas entre os isolados e em relação ao isolado tipo.

¹Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Agr., Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

121 - INSPEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO ENTOMOLÓGICA NA QUARENTENA DE GERMOPLASMA VEGETAL (Inspection and entomological identification on plant germplasm quarantine)

Silva, S.F.¹, Vilarinho, K.R.², Aquino, Y.M.³, Oliveira, M.R.V.⁴

A maior parte do intercâmbio de germoplasma vegetal do Laboratório de Quarentena Vegetal é realizada por meio de sementes, bem como através de mudas, estacas, rizomas, bulbos, tubérculos, pólen e material *in vitro*. A Entomologia, de outubro de 1989 a dezembro de 2003, inspecionou mais de 270.000 acessos de importação, exportação e trânsito interno de germoplasma vegetal. Os produtos vegetais mais solicitados pelas instituições de pesquisa no país, em ordem decrescente de grandeza, foram: trigo, milho, soja, feijão, arroz, triticale e algodão. Outros produtos importados foram: girassol, diversas espécies de forrageiras, palmeiras, fruteiras de clima tropical e temperado, flores, espécies florestais, hortaliças, leguminosas e plantas inseticidas. Das 3.624 introduções, cerca de 25%, estavam infestadas com insetos. Foram identificadas 9 ordens, pertencentes a 52 famílias, 39 gêneros e 38 espécies de insetos. A maioria destes eram coleópteros, pertencentes a 21 famílias. Entre os insetos detectados no germoplasma, vários pertencem às famílias Bruchidae, Cucujidae, Curculionidae, Dermestidae, Anobiidae, Bostrichidae, Lophocateridae e Tenebrionidae da Ordem Coleoptera e Gelechiidae e Pyralidae da Ordem Lepidoptera. Devido à diversidade de insetos detectados no germoplasma vegetal intercambiado e os danos que estes podem causar ao germoplasma, à agricultura nacional e à dos países com os quais se mantêm acordos internacionais, ressalta-se a importância da aplicação de medidas quarentenárias para evitar a introdução/disseminação de espécies e/ou biótipos destes organismos juntamente com o germoplasma vegetal de interesse. Estas medidas contribuirão para fortalecer o Sistema de Quarentena Vegetal no Brasil e, conseqüentemente, ao desenvolvimento econômico e agrícola do país.

¹Eng. Ambiental, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Bióloga, B.Sc., Bolsista consultora CNPq, convênio MMA/PROBIO

³Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

122 - INTERCEPTAÇÃO DE *Phoma exigua* var. *foveata*, PRAGA QUARENTENÁRIA A1 PARA O BRASIL, EM GERMOPLASMA PROCEDENTE DA FRANÇA (Interception of *Phoma exigua* var. *foveata*, a1 quarantine pest to Brazil in germoplasm from France)

Mendes, P.D.¹, Oliveira, A.S.², Mendes, M.A.S.³, Marinho, V.L.A.⁴, Urben, A.F.⁴

Em 2003, o Laboratório de Quarentena da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realizou análises fitossanitárias em 40 acessos de germoplasma de batata procedentes da França. Em exame direto, sob microscópio estereoscópio, seis acessos apresentaram lesões deprimidas, de aspecto encharcado, coloração marrom-arroxeadas, casca amolecida, com picnídios negros sobre as lesões, sendo que o interior estava totalmente apodrecido com cavidades cobertas por micélio cinza e pontos negros com picnídios. Em lâminas, sob microscópio de luz, foram observadas características morfológicas do fungo *Phoma exigua* var. *foveata* (Foister) Boerema, praga quarentenária da lista A1 para o Brasil. Foi realizado teste de patogenicidade utilizando-se tubérculos sadios onde se inoculou fragmentos de tecidos lesionados do tubérculo importado infectado, submetidos a assepsia superficial com álcool a 50 % por 1 minuto, seguido de hipoclorito de sódio a 0,02 % por 2 minutos e duas lavagens com água destilada estéril, em meio de cultura BDA (batata-dextrose-agar) e incubação por 15 dias sob luz fluorescente contínua, a $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Discos de BDA contendo estruturas do fungo foram inoculados em tubérculos sadios e colocados dentro de caixas tipo “gerbox”, envolvidas com sacos plásticos para formar câmara úmida. Os sintomas de apodrecimento dos tubérculos foram observados após 3 dias da inoculação, evoluindo até o 8º dia. O fungo foi reisolado das lesões, em BDA, confirmando a identificação da praga. Os tubérculos apresentando sintomas foram incinerados e os tubérculos aparentemente sadios foram tratados com fungicida sistêmico e plantados em quarentenário por três gerações. Tubérculos comprovadamente sadios foram enviados ao melhorista requisitante. Com essas medidas, evitou-se a entrada de uma praga exótica que, se estabelecida, poderia causar severos danos à cultura da batata do país.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

123 - MOSCA-BRANCA DA MANDIOCA *Bemisia tuberculata* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) NO VALE DO IVINHEMA (Cassava whitefly *Bemisia tuberculata* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Ivinhema Valley)

Vilarinho, K.R.¹, Queiroz, P.R.², Simões, K.C.C.³, Lima, L.H.C.⁴, Oliveira, M.R.V.⁴

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), um dos principais alimentos do mundo, é cultivada em praticamente todas as regiões tropicais. Estima-se que mais de 500 milhões de pessoas nos continentes Africano, Asiático e Americano dependem do seu cultivo e, dessa forma, desempenha um importante papel sócio-econômico nas regiões consideradas em desenvolvimento. Quando comparada a outros alimentos, ela ocupa a quarta posição como fonte de calorias, logo após o arroz, cana-de-açúcar e milho. Esse rendimento poderia ser maior se não houvesse a interferência de várias pragas nas áreas de produção da mandioca. Uma das pragas que vem causando perdas e danos nessa cultura, nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste é *Bemisia tuberculata* Bondar. Até recentemente, essa espécie era relatada ocorrendo apenas no estado da Bahia, sobre plantas de *Manihot aipi* (Euphorbiaceae), contudo, a dispersão de ramas infestadas para outras regiões produtoras de mandioca fez com que essa mosca-branca se estabelecesse nas diversas áreas do sistema produtivo dessa cultura. A ausência de inimigos naturais e o cultivo intensivo e extensivo da mandioca (monocultura) favoreceram o aparecimento de nuvens dessa praga, conforme relatado por produtores do Vale do Ivinhema, MS. Coletas de *B. tuberculata* realizadas no ano de 2000 em três municípios visitados no Vale de Ivinhema, MS - Ivinhema,² Glória dos Dourados e Deodápolis, apresentaram uma média de $13,6 \pm 16,0$ ovos/cm² e $30,8 \pm 19,2$ ninfas/cm². No ano de 2004, após sucessivos surtos populacionais da mosca-branca da mandioca nessa região, novas coletas foram realizadas e o índice da população determinado. Uma média de $44,77 (\pm 17,9)$ ovos/cm² e $69,09 (\pm 30,0)$ ninfas/cm² da mosca-branca sobre plantas de *Manihot esculenta* var. Amarelinha foi obtida. A identificação molecular utilizando-se a técnica de RAPD confirmou a identificação morfológica dos adultos da mosca-branca da mandioca, *B. tuberculata*, como sendo a mesma espécie ocorrendo na região. Uma comparação entre as populações coletadas em 2000 e 2004 foi realizada. A variação genética da população apresentou similaridade em torno de 67%), indicando dificuldade de controle dessa espécie.

¹Bióloga, B.Sc., Bolsista CNPq, Convênio MMA/ PROBIO

²Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

³Eng. Agr., graduanda, Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

124 - MOSCAS-BRANCAS DE EXPRESSÃO ECONÔMICA COM REFERÊNCIA AO BRASIL (Whiteflies of economic importance to Brazil)

Vilarinho, K.R.¹, Silva, S.F.², Aquino, Y.M.³, Lima, L.H.C.⁴, Oliveira, M.R.V.⁴

Devido a grande importância econômica da mosca-branca (*Bemisia tabaci*) como praga no mundo, ao recente aumento na densidade das suas populações, a diversidade de seus hospedeiros e as infestações severas detectadas no Brasil, faz-se necessário o conhecimento da biologia dessa espécie complexa. A mosca-branca pertence a Ordem Hemiptera, superfamília Aleyrodoidea. Essa superfamília apresenta aproximadamente 1.450 espécies descritas em 140 diferentes gêneros e estão mundialmente. Deste total de espécies, menos de 10% são consideradas pragas. A grande maioria parasita plantas lenhosas, porém as espécies dos gêneros *Bemisia* e *Trialeurodes*, alimentam-se de um grande número de plantas herbáceas. A expressão econômica da mosca branca na agricultura tem ganho um espaço cada vez maior e vem aumentando gradativamente. Muitas das espécies que compõem essa família vêm se dispersando rapidamente e isto provavelmente foi favorecido pelo transporte internacional de *commodities* (produtos comercializados) e a movimentação de turistas. O presente trabalho teve como objetivo identificar as moscas-brancas de expressão econômica que ocorrem nos agrossistemas brasileiros. Os resultados classificaram aproximadamente 100 espécies associadas a planta hospedeira e sua distribuição geográfica no país. Entre as espécies de maior expressão econômica no Brasil identificou-se: *Bemisia tabaci*, *Bemisia tuberculata*, *Aleurothrixus floccosus*, *Aleurodicus cocois*, *Dialeurodes citrifolii* e *Paraleyrodes bondari*.

¹Bióloga, B.Sc., consultora CNPq, convênio MMA/PROBIO

²Eng. Ambiental, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

³Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

125 - MOSCAS-BRANCAS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (Whiteflies of quarantine importance to Brazil)

Vilarinho, K.R.¹, Silva, S.F.², Aquino, Y.M.³, Lima, L.H.C.⁴, Oliveira, M.R.V.⁴

Fatores ecológicos, como alimento (planta hospedeira) e físicos (solo, clima, temperatura, dentre outros), influenciam na migração do inseto para a sua reprodução e criação. Um exemplo de sucesso quanto à adaptação a diferentes fatores ecológicos para sobrevivência é o de *Bemisia tabaci*. A grande mobilidade e adaptabilidade dos indivíduos dessa espécie a diferentes temperaturas e seu potencial reprodutivo associado a polifagia têm contribuído para as mudanças fenotípicas e genotípicas nas populações de *B. tabaci* favorecendo sua dispersão e colonização de diferentes habitats. O impacto da alimentação direta e da excreção da substância açucarada em todos os estágios do inseto levam a redução de qualidade e produtividade. Dentro desse contexto, nos últimos trinta anos, as moscas-brancas chamaram a atenção de cientistas e agricultores pelos surtos populacionais de diversas espécies e pelos expressivos impactos econômicos por elas provocados. Nas últimas décadas várias mudanças ocorreram em decorrência do surgimento de novas tecnologias e do aumento e aceleração da economia global. A bioglobalização de pragas apresentou ser um problema sério em decorrência desses fatores. Um dos problemas mais sérios enfrentados hoje pela agricultura em nível mundial é a entrada inadvertida de pragas exóticas (aquelas não existentes no país). O presente trabalho teve por finalidade a identificação de moscas-brancas exóticas, que podem ser introduzidas no país juntamente com material vegetal, por meio de uma Análise de Riscos de Pragas (ARP). Através dos resultados constatou-se que 112 espécies podem ser introduzidas, caso não sejam identificadas nos diferentes pontos de entrada do país. Para todas as moscas-brancas exóticas, recomenda-se que plantas hospedeiras, partes de plantas, frutas frescas ou outro tipo de material de propagação, sejam provenientes de locais livres da praga, estejam acompanhados de Certificado Fitossanitário e sejam fumigados antes do envio.

¹Bióloga, B.Sc., Bolsista CNPq, convênio MMA/PROBIO

²Eng. Ambiental, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

³Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

126 - NEMATÓIDES DAS GALHAS, *Meloidogyne incognita*, UM IMPORTANTE PARASITA AFETANDO A RESISTÊNCIA DE CLONES DE BANANEIRA (Root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, an important parasite affecting the resistance of banana clones)

Pinto, A.C.B.V.¹, Borzuk, M.¹, Sousa, A.I. de M.², Tenente, R.C.V.³, Carrijo, O.A.⁴, Silva Neto, S.P. da.⁵

Os nematóides formadores de galhas (*Meloidogyne spp.*) têm causado severos danos às diferentes culturas. Informações são ainda insuficientes a respeito do parasitismo deste nematóide à cultura da banana. O método mais usado para controlar fitonematóides tem sido o uso de nematicidas que, além de aumentar muito o custo de produção, são prejudiciais ao ambiente e ao homem. A rotação de culturas é uma boa medida de controle que não é muito usada para o *Meloidogyne*, por possuírem ampla gama de hospedeiros. O uso de variedades resistentes, uma maneira natural e altamente recomendável de controlar doenças e pragas, deve ser usada no controle de nematóides. Portanto, buscando estudar a reação de clones de bananeira a *M. incognita* raça 4, foram testadas diferentes variedades de *Musa spp.*: Caipira, Grande Naine, FHIA-18, Maçã, Nanicão, Prata Anã e Prata Zulu. Foram testadas oito plantas de cada variedade, sendo quatro inoculadas e quatro não inoculadas (testemunhas). Os clones de bananeira foram inoculados com 15.000 ovos de *M. incognita* raça 4 e mantidos em casa de vegetação por 120 dias, com irrigação diária de 68mL de água por planta. Os parâmetros avaliados foram altura e peso das partes aéreas e peso das raízes. Os nematóides extraídos das plantas, através de trituração (raízes) e peneiramento (solo), seguido da centrifugação, deram origem as amostras que foram analisadas sob microscópio óptico, para quantificação de ovos e juvenis, utilizando o índice de reprodução (IR) e percentual de reprodução segundo Moura & Régis, para cada combinação genótipo-nematóide. Através dos resultados encontrados, o IR e porcentagem de inibição da população de nematóides, pode-se verificar diferentes reações nos clones. Os clones das variedades Caipira, Grande Naine e FHIA-18 (padrão de suscetibilidade) mostraram-se altamente suscetíveis (AS); Nanicão e Prata Zulu, suscetíveis (S) e Maça e Prata Anã, pouco resistente (PR) ao nematóide. Porém, nenhum dos clones testados indicaram reação de imunidade (I), resistência (R) ou moderada resistência (MR) à espécie de nematóide estudada, sugerindo que essa raça é muito virulenta a bananeira.

¹ Biólogo, Bolsista CNPq

² Secret. Executivo, graduanda, Faculdade Cecap-CECAP, CNPq

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia .

⁴ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

⁵ Eng. Agr., Ph.D., CAMPO Biotecnologia Vegetal LTDA

127 - OCORRÊNCIA DA MOSCA NEGRA DOS CITROS, *Aleurocanthus woglumi* ASHBY (HEMIPTERA, ALEYRODIDAE), NA REGIÃO NORTE DO BRASIL (Occurrence of citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera, Aleyrodidae), in the North Region of Brazil)

Queiroz, P.R.¹, Vilarinho, K.R.², Simões, K.C.C.³, Lima, L.H.C.⁴, Oliveira, M.R.V.⁴

A mosca negra dos citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, é originária da Ásia, com ocorrência na África e nas Américas. Na América do Sul está presente na Colômbia, Equador, Peru, Suriname e Venezuela. No Brasil, é considerada uma praga quarentenária de alerta máximo, representando uma grande ameaça à citricultura das regiões tropicais, com potencial de dano econômico para o mercado interno e externo de frutas. Em meados de julho de 2001, esta praga foi detectada na região metropolitana de Belém, no Estado do Pará e hoje se encontra em 13 municípios vizinhos. Apesar das plantas cítricas serem as mais favoráveis para o desenvolvimento populacional da praga, ela pode se hospedar em mais de 300 espécies de plantas, como videiras, cafeeiros, mangueiras, mamoeiros, pereiras, entre outras. A disseminação da praga pode ocorrer por transporte de material vegetal, principalmente de plantas ornamentais, realizadas pelo homem e/ou carregada pelo vento. Este trabalho teve como objetivo confirmar a suspeita da presença de *A. woglumi* em citros e manga na região urbana de Manaus. Sete populações foram identificadas morfológicamente e analisadas quanto à variabilidade genética, utilizando-se a metodologia de RAPD-PCR. Os resultados foram comparados aos analisados anteriormente, confirmando-se ser da mesma espécie encontrada no Estado do Pará.

¹Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

²Bióloga, B.Sc., Bolsista CNPq, Convênio MMA/ PROBIO

³Eng. Agr., graduanda, Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

128 - PATOGENICIDADE DE *Meloidogyne javanica* A DUAS ESPÉCIES DE *Pfaffia* (Pathogenicity of *Meloidogyne javanica* on two species of *Pfaffia*).

Mesquita, L.F.G.¹, Ciroto, P.A.S.², Silva, D.B.³, Carneiro, R.M.D.G.⁴

Mais conhecidas como “ginseng brasileiro”, as espécies *Pfaffia glomerata* e *P. paniculata* são plantas que possuem várias propriedades medicinais, sobretudo tônicas e anti-cancerígenas, respectivamente. Responsáveis por sérias perdas de produtividade, os nematóides de galhas, *Meloidogyne* spp., parasitam diversas plantas cultivadas, causando severos danos ao sistema radicular e à parte aérea. O objetivo deste trabalho foi avaliar a patogenicidade de *Meloidogyne javanica* a *P. glomerata* e *P. paniculata*. Plantas com seis meses de idade foram inoculadas com aproximadamente 30.000 ovos de *M. javanica*, sendo que algumas das plantas serviram como testemunhas (plantas não inoculadas). Oito meses após a inoculação, a altura da parte aérea das plantas foi medida e as raízes foram lavadas e pesadas. As raízes inoculadas foram coradas com floxina B para a visualização e contagem das massas de ovos e galhas e determinação do índice de Hartman & Sasser (1985). Posteriormente, os ovos foram extraídos de cada raiz infectada, pelo método de Hussey & Barker (1973), quantificados em lâminas de Peters, sendo calculado o fator de reprodução (FR) do nematóide, que é o coeficiente entre a população final e inicial. Para *P. glomerata*, o FR foi de 7,9 e para *P. paniculata* de 10,0. Dessa maneira, pode-se verificar que as duas plantas foram altamente susceptíveis. Entretanto, quanto ao aspecto da parte aérea, as duas espécies foram altamente tolerantes, ou seja, não apresentaram redução de porte e nenhum sintoma de meloidogynose, embora as raízes estivessem altamente infectadas. Quanto ao parasitismo do sistema radicular, as duas espécies apresentaram reações diferentes, enquanto *P. glomerata* evidenciou a formação de galhas características, *P. paniculata* apresentou raízes muito necrosadas. Outra diferença interessante foi a variação do peso fresco das raízes infectadas, ocorrendo redução em *P. glomerata* e aumento em *P. paniculata*, quando comparadas as raízes das testemunhas. Mais estudos são necessários para avaliar o efeito da infecção causada por *M. javanica* na concentração dos princípios ativos das duas plantas medicinais.

¹Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

²Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

⁴Eng. Agr. Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

129 - PRAGAS DE EXPRESSÃO ECONÔMICA E QUARENTENÁRIA EM CRAVO ORNAMENTAL (*Dianthus caryophyllus*) (Important economic and quarantine pests in ornamental carnation (*Dianthus caryophyllus*))

Silva, S.F.¹, Vilarinho, K.R.², Aquino, Y.M.³, Lima, L.H.C.⁴, Oliveira, M.R.V.⁴

O cravo (*Dianthus caryophyllus*) é uma ornamental pertencente à família Caryophyllaceae e se constitui numa das principais flores para corte produzidas no país. As importações brasileiras de plantas ornamentais são concentradas sobre a compra de material genético básico de propagação que podem introduzir pragas quarentenárias ou de expressão econômica no país. As exportações brasileiras de flores e plantas ornamentais nos primeiros oito meses do ano de 2004 já somam US\$ 16,597 milhões. O segmento das flores frescas de corte ocupa a terceira posição nas exportações deste setor, atingindo US\$ 2, 843 milhões no período, um crescimento de 146,4% sobre o mesmo período de 2003. O principal mercado importador são os Estados Unidos (US\$ 1,916 milhão), representando 67,39% do total das exportações desta *commodity*, seguido pela Holanda, Portugal, Itália, entre outros países da Europa, do Mercosul e os Emirados Árabes Unidos (Instituto Brasileiro de Floricultura - IBRAFLO). No comércio internacional é exigida a certificação de fitossanidade, impedindo assim que pragas quarentenárias possam ser introduzidas no país importador, garantindo qualidade do produto. A finalidade deste trabalho foi identificar os insetos pragas da cultura de *Dianthus caryophyllus* e disponibilizar um banco de dados com informações que possam auxiliar na emissão de certificado fitossanitário. Na análise de risco de pragas para o cravo, os dados coletados sobre as pragas foram organizados em uma planilha contendo informações sobre taxonomia, existência de raças, distribuição geográfica, plantas hospedeiras, vias de ingresso, registros de interceptações no mundo e presença ou ausência no Brasil. Constatou – se que esta espécie é hospedeira de um total de 95 pragas, sendo que 30 são insetos (15 estão presentes no Brasil) pertencentes a 5 ordens, 10 famílias, 25 gêneros e 30 espécies, que podem causar sérios problemas em culturas de expressão econômica.

¹Eng. Ambiental, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Bióloga, B.Sc., Bolsista consultora, CNPq, convênio MMA/PROBIO

³Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

⁴Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

130 - PRAGAS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA NA CULTURA DA SOJA (*Glycine max* (L.) MERRILL (Important quarantine pests to soybean crops (*Glycine max* (L.) Merrill)

Vilarinho, K.R.¹, Silva, S.F.², Aquino, Y.M.³, Lima, L.H.C.⁴, Oliveira, M.R.V.⁴

A soja chegou ao Brasil em 1882, mas foi a partir de 1960 que se estabeleceu como cultura economicamente importante para o Brasil. Em 2003, o País produziu 52 milhões de toneladas e participou com quase 27% da safra mundial, em 2004, o Brasil figura como o segundo produtor mundial, produzindo 50 milhões de toneladas ou 25% da safra mundial. Estima-se que, aproximadamente 10 milhões de toneladas ou 20% da safra brasileira de 2004 tenha sido perdida. Na Região Sul a perda ocorreu pela estiagem e na Região Centro-Oeste pelo excesso de chuvas e falta de controle da ferrugem asiática. Diante dessas considerações o controle de insetos-praga de importância econômica é fundamental, pois essa cultura pode servir como hospedeira de um número elevado de espécies de insetos. Alguns desses insetos causam sérios prejuízos à cultura e são considerados como pragas principais. O objetivo deste trabalho foi realizar uma Análise de Riscos de pragas (ARP) para identificação de pragas exóticas que podem ser introduzidas no país junto com material vegetal importado. Buscas destas pragas foram realizadas em banco de dados de pragas, “sites” na Internet e revisão bibliográfica. Foram consideradas as espécies que causam perdas e danos econômicos à essa cultura, mesmo se não incluídas na lista de pragas quarentenárias para o Brasil. Foram detectados 58 espécies diferentes de insetos encontrados em todos os continente do mundo, com risco variando de médio a alto para o Brasil. Enfatiza-se a importância de medidas fitossanitárias para prevenir a introdução de espécies ou biótipos juntamente com esta *commodity*.

¹Bióloga, B.Sc., Bolsista CNPq, convênio MMA/PROBIO

²Eng. Ambiental, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

³Biologia, graduanda, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

⁴Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

131 - QUALIDADE SANITÁRIA DE GERMOPLASMA DE FEIJÃO E SOJA EM CONDIÇÕES DE PRÉ E PÓS ARMAZENAMENTO A LONGO PRAZO, AVALIADA POR MÉTODOS CONVENCIONAIS E BIO-PCR (Sanitary quality of bean and soybean germplasm at the beginning of the storage and under long-term storage conditions, evaluated by conventional methodology and Bio-PCR)

Batista, C.A.¹, Ramos, V.R.², Melo, L.A.³, Santos, J.P.⁴, Wetzel, M.M.V.S.⁴, Marques, A.S.A.⁵

Entre os métodos usados para a conservação dos recursos genéticos vegetais encontram-se a conservação *ex situ*, onde as plantas são conservadas fora do seu *habitat* natural e a conservação *in situ*, dentro dos *habitats* naturais. Uma das formas para a conservação *ex situ* é o estabelecimento de bancos de sementes. No entanto, as sementes são a mais efetiva fonte de inóculo primário de doenças. A contaminação de germoplasma por fitopatógenos pode mascarar a expressão de suas características e comprometer sua integridade. Os objetivos deste trabalho foram: analisar sementes de feijão em fase inicial de preparo para armazenamento na Coleção de Base da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, para verificar a presença de bactérias e fungos fitopatogênicos, por métodos convencionais e moleculares (Bio-PCR); analisar sementes de soja, após 20 anos de armazenamento utilizando-se a mesma metodologia. Para a análise bacteriológica, as sementes foram maceradas em tampão salino (2ml/g de semente) por aproximadamente 18 h e, após esse período, o líquido resultante foi diluído e plaqueado em meio sólido. A análise fúngica foi realizada pelo método de incubação em papel filtro e a avaliação realizada após oito dias de incubação. Os isolados bacterianos obtidos foram identificados por testes nutricionais e de patogenicidade e os isolados fúngicos identificados por caracteres morfológicos. Foram detectadas bactérias do gênero *Xanthomonas* e *Pseudomonas* em acessos de feijão. Não foi detectada contaminação bacteriana nos acessos analisados de soja. Foi detectada uma expressiva quantidade de fungos saprófitas de armazenamento, como *Penicillium* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Rhizopus* sp., que, apesar de não serem patogênicos podem comprometer a qualidade da semente. Nos acessos de soja armazenados por 22 anos, observou-se a sobrevivência de *Dreschlera* sp., *Alternaria* sp., *Cercospora kikuchii*, *Phomopsis* sp., e *Colletotrichum* sp. Medidas de erradicação dos patógenos serão adotadas no processo de manejo da coleção de germoplasma durante as etapas de regeneração, evitando que o material se deteriore pelo ataque desses organismos.

¹Eng. Agr., graduanda, Universidade de Brasília-UnB

²Eng. Agr., doutoranda, Universidade Estadual Paulistas-UNESP/ Botucatu

³Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

⁴Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

132 - 30 ANOS DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA E AS INTERCEPTAÇÕES DE VÍRUS EM GERMOPLASMA VEGETAL PELO LABORATÓRIO DE QUARENTENA (30 years of Embrapa Genetic Resources and Biotechnology and the interceptions of viruses in plant germplasm by the Quarantine Laboratory)

Silva, R.D.C.¹, Marinho, V.L.A.², Batista, M. de F.³

Dentre o amplo universo das pragas de plantas, os vírus fitopatogênicos constituem um grupo bastante importante, sendo causadores de doenças extremamente danosas como o “bunchy top” da bananeira, a “sharka” do pessegueiro e outras rosáceas e o “mosaico africano” da mandioca. Os vírus de plantas podem estar associados às sementes e aos materiais de propagação vegetativa introduzidos no país sendo um risco potencial a agricultura brasileira. A dificuldade de detecção, identificação e posterior erradicação desses organismos torna o princípio da prevenção da doença, através da exclusão do patógeno, extremamente importante. Para tal, é necessário garantir a integridade do germoplasma vegetal introduzido no país, o que é realizado pelo laboratório de Quarentena da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Unidade de virologia. Este laboratório analisa todo o germoplasma introduzido para pesquisa utilizando diversas técnicas para a detecção e identificação de vírus nestes materiais. Nos últimos 30 anos foram analisados, pela Unidade de virologia, 304.368 acessos de germoplasma vegetal introduzidos no país. Nesse período foram detectados, identificados e interceptados, os seguintes vírus exóticos ao país: *Banana bunchy top virus* em mudas de bananeira da Indonésia, *Hop mosaic virus* em estacas de lúpulo dos Estados Unidos, *Sweet potato latent virus*, *Sweet potato chlorotic fleck virus* e *Sweet potato mild mottle virus* em batata doce do Japão, *Banana bract mosaic virus* em mudas micropropagadas de bananeira da Costa Rica e os seguintes vírus que já ocorrem mas que causam sérios danos a agricultura: *Sweet potato feathery mottle virus* em batata-doce, *Bean common mosaic virus* e *Southern bean mosaic virus* em feijão, *Cowpea aphid-born mosaic virus* em caupi, *Leek yellow strip virus* e *Onion yellow dwarf virus* em alho, *Potato leaf roll virus*, *Potato vírus S*, *Potato vírus X*, *Potato vírus Y* em batata, *Soybean mosaic virus* em soja, *Banana Streak virus* em mudas micropropagadas de bananeira. Essas interceptações, ao longo desses 30 anos, contribuíram para evitar a introdução de vírus exóticos no Brasil, assim como daqueles já presentes no país mas que causam grandes perdas nas culturas a eles associadas.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

133 - USO DA TÉCNICA DE CRIOPRESERVAÇÃO PARA ESPÉCIES DE NEMATÓIDES DO GÊNERO *Ditylenchus* (Use of the cryopreservation technique of nematode species of the genus *Ditylenchus*)

Neiva, L. de F.¹, Prates, M.², Martins, I.³, Tenente, R.C.V.⁴

As espécies de nematóide do gênero *Ditylenchus* são conhecidas como nematóides dos bulbos e dos caules. Algumas apresentam grande importância econômica no Brasil, como *D. dipsaci*, que parasita o alho e a cebola. Os nematóides *D. destructor* e *D. Africanus* são exóticos ao Brasil e parasitam batata e amendoim, respectivamente. A maioria das espécies de *Ditylenchus* é considerada parasitas obrigatórias, embora algumas espécies possam se nutrir de fungos. Essa estratégia garante sua sobrevivência na ausência do hospedeiro dificultando o seu controle. A identificação desses nematóides à nível de espécie é de vital importância, principalmente para aqueles exóticos ao país ou que possuam raças que atacam outras culturas. Neste contexto, faz-se necessário conhecer características específicas dessas espécies, no âmbito preventivo e quarentenário, visto que tais espécies podem causar significativa destruição nas culturas. A criopreservação de nematóides garante a manutenção das estruturas, após a multiplicação maciça de espécimes, para serem usadas em estudos que envolvam a identificação específica. Nesse experimento, utilizou-se *D. Africanus*. A técnica consistiu no resfriamento dos nematóides utilizando etileno glicol como crioprotetor e em seguida, o armazenamento em nitrogênio líquido. Para tal, os nematóides foram incubados em etileno glicol 10 e 15% a 27°C, por duas horas e a seguir, colocados em etileno glicol 35% por 45 minutos. Os nematóides, em número de 2.000 indivíduos, foram colocados em tiras de papel de cromatografia e essas submersas em nitrogênio líquido (-196°C). Cada tratamento foi repetido três vezes. O descongelamento deu-se após 52 dias, por imersão imediata das tiras de papel (com nematóides) em recipientes com água, mantidos em banho maria (35°C). Os nematóides sobreviventes após descongelamento foram contados e inoculados em cenouras para verificação da capacidade de reprodução. A quantificação dos nematóides após o descongelamento resultou em uma média, 89,5% de sobrevivência para etileno glicol 10% e de 87,15% para etileno glicol a 15%, nos tratamentos com 2hs no crioprotetor. A reprodução em cenouras *in vitro* está em fase de avaliação, aguardando um período de incubação de 6 a 8 semanas.

¹Eng. Agr., graduanda, Universidade de Brasília-UnB

²Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

134 - VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Aleurodicus dispersus* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) (RUSSELL, 1965) EM CABO VERDE (Genetic variability of *Aleurodicus dispersus* (Hemíptera, Aleyrodidae) (Russell, 1965) in Cape Verde)

Monteiro, A.H.R.R.¹, Queiroz, P.R.², Simões, K.C.C.³, Vilarinho, K.R.⁴, Lima, L.H.C.⁵, Oliveira, M.R.V.⁵

A mosca-branca espiralada, *Aleurodicus dispersus* (Hemíptera, Aleyrodidae), é considerada atualmente uma das principais pragas de fruteiras, hortaliças e ornamentais em todo mundo. Nas ilhas de Cabo Verde, noroeste da África, essa praga foi introduzida recentemente, no início do ano 2000. Sua presença está sendo alvo de preocupação junto aos órgãos governamentais de defesa fitossanitária devido ao impacto que vem causando em espécies de plantas nativas e cultivadas. Populações coletadas nas ilhas de Santiago e Santo Antão foram identificadas morfológicamente e analisadas quanto à variabilidade genética, utilizando-se a metodologia de RAPD-PCR. As variações genéticas encontradas nos ensaios realizados estão provavelmente relacionadas à existência de diferentes condições bióticas e abióticas entre as ilhas do arquipélago. Os resultados obtidos mostraram a necessidade de acompanhamento das populações de *A. dispersus* de forma a dar subsídios aos programas de controle integrado da praga e auxiliar na implantação de barreiras e de planos de contingência entre as ilhas de Cabo Verde.

¹Bióloga M.Sc., Instituto Nacional de Investigação e Desenvolvimento Agrário – INIDA, Cabo Verde

²Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

³Eng. Agr., graduanda, Universidade de Brasília-UnB

⁴Bióloga, B.Sc., Bolsista CNPq, Convênio MMA/ PROBIO

⁵Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Reprodução Animal

135 - AVALIAÇÃO DA BIPARTIÇÃO COMO ALTERNATIVA PARA MELHORAR OS ÍNDICES DE GESTAÇÃO NA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EQUÍNOS (Evaluation of embryo splitting as an alternative to improve gestation indices from embryo transfer in horses)

Silveira, L.L.¹, Souza, R.V.², Melo, N.S.S.¹, Pezzini, T.G.¹, Pimentel, C.M.³, Rumpf, R.⁴

A transferência de embriões (TE) já vem sendo utilizada em eqüinos há pelo menos duas décadas, sempre a partir de ovulação simples. Com a falta de eficiência das técnicas de superovulação em eqüinos, a produção de potros tende a ser baixa. A bipartição de embriões eqüinos surge como uma excelente ferramenta alternativa nesta linha de raciocínio, proporcionando também, a produção de gêmeos monozigóticos (idênticos), o que não tem sido reportado em equídeos. Para aumentar a eficiência reprodutiva este estudo avaliou a bipartição embrionária como uma alternativa para melhorar os índices de gestação na transferência de embriões em eqüinos. Foram utilizadas 21 éguas de diferentes padrões raciais, com idade variando entre 4 e 15 anos, pesando entre 270 a 480 kg. A partir da identificação do cio, os animais foram acompanhados através de exames ultrassonográficos trans-retais até o momento da ovulação, sendo as receptoras, 1 vez ao dia e as doadoras 3 vezes ao dia. As receptoras utilizadas ovularam um dia antes ou até três dias depois das doadoras. As doadoras foram coletadas entre 144 e 156 horas após a ovulação (D0). Foram recuperados 20 embriões (mórulas) em 29 coletas (68,96%), sendo que 10 embriões foram transferidos inteiros (T1), e 10 embriões foram bipartidos (T2), originando 20 hemi-embriões e transferidos para 20 receptoras sincronizadas. Não houve diferença na taxa de prenhez entre os grupos, T1, 70% (7/10), e T2, 50% (10/20) ($p > 0,05$). Em relação ao número inicial de embriões em cada grupo (10), houve diferença na taxa de prenhez entre os grupos, T1, 70% (7/10) e T2, 100% (10/10) ($p < 0,05$). Estes resultados indicam um incremento no número de gestações obtidas quando é utilizada a técnica de bipartição embrionária na transferência de embriões eqüinos em função do número inicial de embriões coletados.

¹Méd. Vet., mestrando, Universidade de Brasília - UNB

²Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³Méd. Vet., Ph.D., Universidade de Brasília

⁴Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

136 - CONGELAMENTO E ESTOQUE DE MEIOS PRONTOS PARA USO: A ROTINA SIMPLIFICADA DA PIV DE EMBRÕES BOVINOS (Freezing and stock of ready to use medium: the simplified ivp routine of bovine embryos)

Corrêa, G.A.¹, Brandão, D.O.², Pereira, D.C.³, Dode, M.A.N.⁴, Rumpf, R.⁴

A rotina da produção *in vitro* (PIV) de embriões exige uma crescente racionalização de trabalho, tempo e constância de resultados, aliados a redução de custos para maior eficiência da técnica. Neste sentido, uma possibilidade interessante seria o estoque das soluções prontas para uso, já incluindo hormônios e soro bovino. Entretanto, este procedimento foi até o momento desencorajado por diminuir a eficiência dos componentes dos meios por hipoteticamente desnaturar proteínas e/ou precipitar minerais, levando a uma menor produção de embriões *in vitro*. Para confirmar esta hipótese, foram comparadas as taxas de blastocisto produzidos *in vitro* com meios frescos (feitos na semana de uso) ou meios prontos congelados e estocados. No congelamento, os meios de maturação (MIV) e cultivo (SOF) foram aliquotados (2 ml), acondicionados em tubos plásticos de 15 ml e estocados em freezer a -80°C . O descongelamento foi realizado *overnight* em geladeira de $4-5^{\circ}\text{C}$ e o meio estabilizado em estufa até 4 horas antes do uso. Ovócitos de vacas mestiças de abatedouro foram então coletados e distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: Grupo 1 (MIV fresco, SOF fresco), Grupo 2 (MIV congelado, SOF fresco), Grupo 3 (MIV fresco, SOF congelado) e Grupo 4 (MIV congelado, SOF congelado). Os meios e procedimentos de maturação, fecundação e cultivo foram realizadas de acordo com a rotina do laboratório e as taxas de blastocisto (%) no dia 7 foram comparadas. Os dados de 5 réplicas foram analisados pelo método por Genmod-procedure (SAS Institute Inc.). As taxas de blastocisto foram similares no Grupo 1 (50 ± 5 ; 87/169), Grupo 2 (50 ± 12 ; 83/167), Grupo 3 (48 ± 9 ; 83/168) e Grupo 4 (46 ± 10 ; 77/168). Não foram observados nos meios congelados qualquer sinal de alteração de cor, pH ou precipitação, bem como o aspecto morfológico dos embriões não diferiu entre os grupos. Os resultados encontrados mostram que o congelamento dos meios, quando processados segundo o protocolo previamente descrito, não prejudicam a qualidade e as taxas de blastocisto. Em conclusão, o uso de meios congelados deve ser considerado como uma nova alternativa para racionalização e uniformidade do trabalho, contribuindo para a redução de custos e maior eficiência na produção *in vitro* de embriões bovinos.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

²Méd. Vet., doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

³Méd. Vet., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

137 - DETECÇÃO DA EXPRESSÃO DE RNA MENSAGEIRO (mRNA) *IMPRINTED* EM CÉLULAS DO CUMULUS, FIBROBLASTOS, PLACENTA E EMBRIÕES BOVINOS (Detection of *imprinted* mRNA expression in cumulus cells, fibroblasts, placenta and bovine embryos)

Avila, F.F.¹, Melo, E.O.², Mundim, T.C.D.³, Pereira, D.C.⁴, Iguma, L.T.⁵, Rumpf, R.⁶, Franco, M.M.⁶

As tecnologias reprodutivas são importantes para a multiplicação de animais de alto mérito genético e para otimizar o uso da fêmea bovina. Embora a transferência de embriões, a produção *in vitro* de embriões e, principalmente, a clonagem apresentem baixa eficiência, elas são importantes para assistir o melhoramento animal. O *imprint* é uma modificação epigenética estabelecida durante a gametogênese de forma sexo específica, transmitida para o zigoto e mantida no embrião, mas apagada na linhagem germinativa para ser novamente reestabelecida. A metilação no DNA está envolvida no processo de *imprinting* controlando a expressão de genes dentre eles o IGF2 e IGF2R, que são importantes para o ovócito e o desenvolvimento embrionário. O cultivo *in vitro* pode alterar os padrões de metilação no DNA, alterando a expressão destes genes. Estudos de expressão de genes *imprinted* podem contribuir para o incremento da eficiência da TE, PIV e clonagem. O objetivo deste estudo foi detectar a expressão dos genes IGF2 e IGF2R em células do cumulus, fibroblastos, placenta e embriões. RNA total foi isolado de células do cumulus retiradas de 50 e 70 complexos cumulus-ovócitos não maturados e maturados *in vitro*, respectivamente, de 10⁶ fibroblastos de pele cultivados *in vitro*, de 700 mg de placenta de um animal clone (Vitoriosa da Embrapa) e de 43 blastocistos PIV; a transcrição reversa foi feita a partir de 1-2 mg de RNA total. O gene da b-actina foi usado como controle constitutivo e as reações de PCR foram feitas em um termociclador. A b-actina foi detectada em todas as amostras, IGF2 em células de cumulus maturadas, fibroblastos e placenta e IGF2R em todas as amostras exceto em células do cumulus não maturadas. Estes resultados são muito importantes, pois pouco é conhecido sobre expressão de mRNA *imprinted* em bovinos, sendo que apenas o gene IGF2R está descrito até o momento. Além disso, estudos de detecção de expressão gênica são a base para qualquer experimento quantitativo e/ou comparativo.

¹Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

²Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Méd. Vet., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Méd. Vet., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Méd. Vet., doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

⁶Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

138 - EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE FSH EM VACAS DOADORAS DE OVÓCITOS PARA A TRANSFERÊNCIA NUCLEAR USANDO FIBROBLASTOS DA ORELHA DE BOVINO JUNQUEIRA (Effects of FSH administration in oocyte donor cows for nuclear transfer using ear Skin fibroblasts of Brazilian creole's breed)

Iguma, L.T.¹, Pivato, I.², Câmara, J.U.³, Damato, J.⁴, Ramiro, E.⁴, Antônio, T.⁴, Pereira, D.C.⁵, Corrêa, G.A.⁶, Sousa, R.V.³, Franco, M.M.⁷, Rumpf, R.

A importância da Transferência Nuclear (TN), biotécnica conhecida como clonagem animal, está vinculada ao grande interesse nas suas aplicações potenciais em áreas estratégicas (biomedicina, conservação e produção animal, ciência básica) e ao impacto destas junto à sociedade. Este trabalho objetivou avaliar os efeitos da administração de FSH em vacas punccionadas para coleta de ovócitos usados na TN de células de um bovino adulto da raça Junqueira, pertencente ao Banco Brasileiro de Germoplasma Animal (BBGA). No tratamento 1 (T1) um grupo de 16 vacas mestiças teve os ovários aspirados pela técnica de *ovum pick up* (OPU) a cada 4 dias. No T2 foram separadas 8 das 16 vacas do T1 para OPU a intervalos de 4 dias, sendo que neste grupo foram administradas 180 UI do hormônio FSH (Pluset[®]), S.C., 72h antes de cada punção, em aplicação única. Os ovócitos de ambos os tratamentos foram maturados *in vitro* por 19 a 21h e utilizados como citoplasmas receptores na TN de fibroblastos da orelha da vaca Junqueira 203, da 6^a a 11^a passagens no cultivo *in vitro*. A análise estatística dos dados foi realizada usando-se o teste de qui-quadrado e $P < 0,05$ foi significativamente diferente. Para efeito de controle dos processos de ativação artificial e cultivo *in vitro* de embriões, uma parte dos ovócitos de cada manipulação foi ativada partenogeneticamente e não foi observada diferença significativa nas taxas de clivagem (70,33% vs 78,31%) e blastocisto (53,38% vs 54,24%) entre T1 e T2, respectivamente. Com relação aos índices na TN, não se observou diferença significativa entre T1 e T2 nas taxas de fusão (84,40% vs 89,08%) e blastocisto (46,36% vs 37,66%), enquanto a taxa de clivagem foi maior em T1 (70,90%) do que em T2 (57,14%), significativamente. Do T1, 46 embriões foram inovulados em 34 receptoras e do T2, 36 embriões em 29 receptoras. Avaliações ultrassonográficas revelaram que não houve diferença significativa entre T1 e T2 nos índices de prenhez inicial (61,76% vs 41,38%), prenhez aos 60 dias (26,47% vs 17,24%) e prenhez aos 90 dias (11,77% vs 10,35%). Os resultados deste experimento sugerem, até então, que a administração do FSH em doadoras de ovócitos não influenciou nos parâmetros de TN avaliados.

¹Méd. Vet., doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

²Méd. Vet., Ph.D., CIDASC, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Méd. Vet., Pesquisador Visitante, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵Méd. Vet., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Biólogo, Visitante, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

139 - PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS POR INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZÓIDE LIOFILIZADO. RESULTADOS PRELIMINARES (Bovine embryo production by intracytoplasmic lyophilized sperm injection. Preliminary results)

Martins, C.F.¹, Dode, M.A.N.², Pereira, D.C.³, Correa, G.A.⁴, Rumpf, R.²

O processo de liofilização ainda é agressivo, provocando grandes perdas estruturais nos espermatozoides, mas eles podem gerar embriões se utilizados pela técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI). O objetivo deste trabalho foi comparar dois tratamentos de liofilização na produção de embriões bovinos por ICSI. Para isso, espermatozoides frescos bovinos foram diluídos em dois meios de liofilização: T1 (TCM 199 Hanks + 10% de SFB) e T2 (TCM 199 + 10% de soro fetal + 0.2 M de Threalose). As amostras foram tratadas como em um congelamento convencional, e em seguida estas amostras permaneceram 12 horas a baixa temperatura e alto vácuo no liofilizador, até a sublimação do gelo. As amostras foram avaliadas e armazenadas em temperatura ambiente até seu uso. Antes das ICSI, os ovócitos foram maturados por 22 horas, desnudos e selecionados de acordo com a presença do primeiro corpúsculo polar. A ICSI foi realizada com espermatozoides do Tratamento 1, 2, congelado (T3=controle) e sem célula (T4=controle). Após 1 hora da ICSI, os ovócitos foram incubados em ionomicina por 5 minutos, cultivados em SOF por 3 horas e finalmente incubados em 6-DMAP por 4 horas. O cultivo definitivo foi realizado em SOF com cocultura de células do cúmulus por 7 dias. Alguns ovócitos de cada tratamento foram fixados *overnight* em metanol e ácido acético e corados com lacmóide 1% para avaliação de descondensação de cabeça e formação pró-nuclear. Os resultados relacionados com a estrutura espermática após liofilização foram semelhantes aos encontrados por outros autores, porém, em média 95% dos espermatozoides nos dois tratamentos tiveram sua estrutura acrossomal preservada. Em todos tratamentos foram observadas descondensação e formação pró-nuclear, indicando participação do gameta masculino. As taxas de clivagem foram 36,70 %; 48,12%; 51,23% e 40%, respectivamente para ICSI de T1, T2, T3 e T4. A produção de blastocistos foram 9,49%, 15,62%, 17,28% e 10,8%, respectivamente para ICSI de T1, T2, T3 e T4. O destaque destes resultados foi que a ICSI T2 não apresentou diferença significativa, utilizando o teste do Quiquadrado pelo Programa "Origin" 4.1 e $P < 0.05$, em relação a ICSI com espermatozóide congelado (controle). Os resultados sugerem que os espermatozoides bovinos liofilizados podem gerar desenvolvimento embrionário e a threalose parece apresentar efeito benéfico neste processo.

¹Méd. Vet., doutorando, Universidade de Brasília-UnB

²Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e biotecnologia.

³Méd. Vet., M.Sc., Embrapa recursos genéticos e biotecnologia.

⁴Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

140 - VITORIOSA DA EMBRAPA – PRIMEIRO CLONE DO CLONE DA AMÉRICA LATINA (Vitoriosa da Embrapa – The first clone of the clone of Latin America)

Iguma, L.T.¹, Pivato, I.², Melo, L.F.³, Pereira, D.C.³, Machado, G.M.⁴, Moscardine,⁵ A.R.C.⁴, Grattapaglia, D.⁵, Ferreira, M.E.⁶, Paludo, G.R.⁷, Reis Jr., J.L.⁸, Franco, M.M.⁹, Borges, J.R.J.⁹, Rumpf, R.

A produção de clones animais pela Transferência Nuclear de Células Somáticas (TN) tem uma história recente, tendo como marco inicial o anúncio do nascimento da ovelha Dolly, em 1997. Este estudo objetivou relatar dados da concepção à morte precoce da bezerra Vitoriosa da Embrapa, obtida de células da orelha da novilha Vitória da Embrapa. Neste estudo, do grupo não-transfectado (FCE) foram transferidos 35 embriões para 17 receptoras sincronizadas, enquanto que do grupo transfectado (TFCE) foram 37 embriões para 17 vacas receptoras sincronizadas. Apenas do grupo FCE foram obtidos desenvolvimento a termo de dois animais, sendo que uma bezerra morreu durante o parto e a outra sobreviveu: a Vitoriosa. Após 293 dias de gestação, no dia 5/02/04, aproximadamente à 13:00 horas nasceu por intervenção cesariana a bezerra clonada, pesando 60 Kg. A placenta apresentava grau leve a moderado de hidroalantóide, bem como de espessamento do cordão umbilical. A bezerra foi alimentada com colostro nas primeiras horas após seu nascimento e a mãe de aluguel expressou toda sua habilidade materna, em seguida da cirurgia. Teste de paternidade comprovou que Vitoriosa era geneticamente idêntica a Vitória. O monitoramento constante da bezerra revelou normalidade no que se refere a parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos, exceto que durante os primeiros dias de vida ela apresentou episódios de temperatura corporal levemente elevada. Também foi observada a persistência do úraco, que foi removido cirurgicamente. Estes achados são relatados em recém-nascidos clones. A bezerra apresentava desenvolvimento compatível com o padrão da raça Simental, ganhando de 1,2 a 1,3 Kg/dia, até que pouco antes de completar 4 meses de idade, no dia 30/05/04, veio a óbito, um quadro de morte súbita. Foi realizada a necrópsia e coletado material para exames histopatológicos. Análises de 3 laboratórios apontaram como causa *mortis* um choque cardiogênico causado por hipertensão arterial.

¹Méd. Vet., doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

²Méd. Vet., Ph.D., CIDASC, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Méd. Vet., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴Méd. Vet., Universidade de Brasília-UnB

⁵Eng. Florestal., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷Méd. Vet., M.Sc., doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

⁸Méd. Vet., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁹Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

141 - USO DE LOCI MICROSSATÉLITES NA CONSERVAÇÃO DOS RECURSOS GENÉTICOS DE *Ovis aries* NO BRASIL (Molecular characterization of *Ovis aries* genetics resources in Brazil by microsatellite markers)

Silvério, V.C.¹, Paiva, S.R.², Faria, D.A.³, Paixão, D.M.⁴, Sollero, B.P.⁵, McManus, C.⁶, Egito, A.A.⁷, Dergam, J.A.⁸, Guimarães, S.E.F.⁹, Castro, S.R.⁷, Albuquerque, M.S.M.¹⁰, Mariante, A.S.¹¹

A espécie ovina foi introduzida no Brasil há 500 anos atrás e se adaptou aos ecossistemas brasileiros de forma que muito desses animais são hoje consideradas raças naturalizadas brasileiras. Com o objetivo de reconhecer a variabilidade genética existente entre e dentro destas raças, foi realizada a caracterização molecular de oito raças de ovinos a partir do uso de *loci* de microsatélites. Foram utilizados 18 *loci* em 297 indivíduos das raças naturalizadas Santa Inês, Rabo Largo, Morada Nova, Somalis e Bergamácia (lanada), além das lanadas exóticas Hampshire, Ile de France e Corriedale. Os resultados obtidos pela análise de variância molecular mostraram que 12,87% da variação total ($p < 0,001$) foram em razão de diferenças inter-raças. O dendrograma obtido pela distância de Nei e algoritmo Neighbor-joining separaram as raças em dois grupos principais. O primeiro formado por todas as raças brasileiras, onde Santa Inês ficou mais próxima da Bergamácia (87% *bootstrap*) e as mesmas ficaram mais próximas da Rabo Largo do que da Morada Nova (72% *bootstrap*), apesar da Morada Nova ter apresentado uma grande similaridade com a Santa Inês. O segundo grupo foi composto pelas raças lanadas exóticas. A análise da variabilidade intra-raacial demonstrou que a Santa Inês apresentou maiores valores de heterozigosidade e alelos médios por *locus* (0,7580 e 8,39), enquanto que a Somalis e Corriedale apresentaram os menores valores (0,5752 e 4,22). Com exceção da Hampshire, todas as raças apresentaram valores de consangüinidade (F_{IS}) < 10%. Os resultados inter-raçiais sugerem uma baixa diferenciação genética entre as raças, já os resultados intra-raçiais permitiram ver a qualidade genética dos rebanhos e fazer recomendações sobre seu manejo.

¹Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

²Biólogo, doutorando, UFV, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³Zootecnista, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa-UFV

⁴Zootecnista, Universidade Federal de Viçosa-UFV

⁵Zootecnista, graduanda, Universidade Federal de Viçosa-UFV

⁶Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁷Méd. Vet. M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁸Biólogo, Ph.D., Universidade Federal de Viçosa-UFV

⁹Méd. Vet., PhD, Universidade Federal de Viçosa-UFV

¹⁰Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia;

¹¹Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia;

ÍNDICE DE AUTORES

(A numeração corresponde ao resumo)

Agostini-Costa, T.S.	050
Aguiar, R.W. de S.	071, 079
Albino, M.M.C.	003
Albuquerque, M.S.M.	141
Almeida, C.D.S.	036, 085
Almeida, T.N.	053
Alves, E.R.	008
Alves, R.B.N.	050
Amaral, A. C.	061
Amaral, Z.P.S.....	052, 055, 057
Amorim, J.C.....	055, 056, 057
Andrade, A.C.	015, 029, 034
Andrade, A.E.	026
Antônio, T.	138
Aquino, M.F.S.	095
Aquino, Y.M.	119, 121, 124, 125, 129,130
Aragão, F.J.L.....	003, 024, 029, 031, 032, 039, 043
Araújo, A.C.G.	001, 002
Arrais, L.	027
Arrial, R.T.	038
Auler, A.C.V.	074, 076, 078, 082, 088, 098, 100, 101
Avila, F.F.	137
Ávila, Z.R.	074, 076, 082, 086, 088, 098, 100, 101
Azevedo, V.C.R.	052, 053
Barbosa, E.A.	015, 034
Barreto, E.G.S.....	075
Barros, E.V.S.A.....	026, 036
Barros, L.M.G.....	038
Barros, T.O.	115
Barroso, P.A.V.....	047, 094
Batista, A.C.....	103, 107
Batista, C.A.....	131
Batista, J.A.N.....	010, 017, 033
Batista, M. de F.....	132
Berçot, M.A.....	036
Berry, C.	084, 090, 103
Bertioli, D.J.....	020, 025, 049
Bisol, T.B.	037
Bitencourt, O.C.	072
Bizzo, H.R.	050, 051
Bloch Jr., C.	015, 034

Boas, L.C.V.	112, 113
Bonfim, K.	024, 039
Borges, J.R.J.	140
Borges, M.	066, 072, 091, 092, 095, 096, 097
Borges Neto, C.R.	007, 018, 037
Bortolini, C.F.B.	066
Borzuk, M.	111, 126
Brandão, D.O.	136
Braúna, L.M.	076, 078, 082, 098, 101
Brígido, M.M.	040, 044
Brito, K.M.	015, 034
Brunetta, P.S.F.	042, 102
Buso, G.S.C.	052, 055, 056, 057
Buso, J.A.	055, 056
Cabral, J. R. S.	065
Caetano, A.R.	037
Câmara, J.U.	138
Capdeville, G. de.	100
Cardoso, L.D.	064
Cares, J.E.	112, 113
Carlini, C.R.	035
Carneiro, M.	023, 028, 030, 038
Carneiro, R.M.D.G.	026, 085, 128
Carneiro, V.T.C.	001, 006, 008, 027
Carrijo, O.A.	111, 126
Carvalho, D.M.	029
Carvalho, S.S.	074, 078, 082, 100, 101
Carvalho-Silva, M.	051
Castro, A.S.	007, 018, 037
Castro, M.E.B.	009, 022, 071, 077
Castro, P.K.G. de.	108, 109
Castro, S.R.	141
Catalão, G.L.	080
Catelan, R.C.	054
Cavalcante, K. L.	042
Cavalcanti, T. B.	061
Cerqueira, A. A.	052, 055
Ciampi, A.Y.	045, 046, 047, 053, 054
Cirotto, P.A.S.	128
Coelho, P.J.A.	057
Cordeiro, D.M.	091
Corrêa, G.A.	136, 138, 139
Costa, A.F.	051
Costa, J.N.	047

Costa, M.F.da.	041
Costa, N.R.	009
Cruz, D.R.O.	002
Cunha, W.G.	032
Custodio, A.R.	048, 058
Daffre, S.	029
Damacena, I.	092
Damato, J.	138
Del Sarto, R.P.	041
Demo, C.	084, 103, 107
Dergam, J.A.	141
Dias, B.B.A.	032
Dias, J.G.O.	049
Dias, J.M.C.S.	075
Dias, S. C.	019
Dode, M.A.N.	136, 139
Dumas, V.F.	081, 083, 087, 090, 099
Dusi, A.N.	055
Dusi, D.M.A.	002, 008
Egito, A.A.	141
Espindula, E.	084
Falcão, J. V.	074, 076, 078, 082, 088, 098, 101
Falcão, R.	002, 100
Faria, D.A.	141
Faria, J.C.	039
Faria, M.R.	073
Fávero, A. P.	005, 048, 049, 059, 065
Felix, A.A.A.	109, 115, 116, 117
Felix, G.C.S.	092
Ferreira, B.C.	009, 030
Ferreira, F. R.	063, 065
Ferreira, M.A.	057
Ferreira, M.A.J. da F.	059
Ferreira, M.E.	140
Figueira, E.L.Z.	033, 041, 042, 044, 102
Figueiredo, G.S.F.	037
Fonseca, J.N.L.	114, 115
Fontes, E.M.G.	073, 089, 094, 095
Fontes, E.P.B.	043
Fragoso, R.R.	010, 033
Franco, M.M.	137, 138, 140
Franco, O.L.	067
Franco, P.	085
Frazão, H.F.	080, 093

Frizzas, M.R.	089
Gander, E.S.	016, 021
Gavião, C.F.C.	105, 106
Gomes, A.C.M.M.	099
Gracindo, L.A.M.B.	050
Grattapaglia, D.	140
Grisi, M.C.M.	050
Grossi-de-Sá, M.F.	010, 017, 026, 033, 035, 036, 040, 041, 042, 044, 085, 102
Guimarães, L.A.	006
Guimarães, L.L.	011, 014
Guimarães, L.M.	010
Guimarães, P.M.	020, 025
Guimarães, S.E.F.	141
Holanda, I.L. de	011, 014
Iguma, L.T.	137, 138, 140
Inglis, P.W.	093, 104, 105, 106
Irala, L.H.	059
Jerônimo, M.A.G.	106
José Jr., G.	059
José, A.C.F.V.	020
Junqueira, C.S.	004
Kanashiro, M.	053
Labuto, L.B.D.	007, 018, 037
Lacerda, A.L.M.	045, 046
Lacerda, T.S.	011, 012
Lacorte, C.	038
Laumann, R.	066, 067, 072, 091, 092, 095, 096, 097
Leal-Bertioli, S.C.	020, 025
Leite, A.P.F.	029
Leonardecz Neto, E.	049
Lima, L.H.C.	068, 069, 123, 124, 125, 127, 129, 130, 134
Lima, L.M.	040
Macedo, R.G.	039
Machado, F.R.B.	036
Machado, G.M.	140
Madeira, L.M.	029, 039
Magalhães, J.C.C.	085
Magalhães, M.T.Q.	033, 102
Mamão, L de S.	060
Maranhão, A.Q.	040, 044
Marcellino, L.H.	016, 021
Mariante, A.S.	141
Marinho, V.L.A.	122, 132
Marques, A.S.A.	120, 131

Marques, J.M.	056, 057
Martins, A.G.G.M.	019
Martins, C.F.	139
Martins, E.S.	068, 069, 071, 079, 083, 090, 099
Martins, I.	105, 133
Martins, N.F.	016
Martins-Costa, L.F.M.	060, 063
McManus, C.	141
Medeiro, S.A.	117
Medeiros, P. T.	075, 103
Mehta, A.	026, 092
Melati, V. M.	103
Mello, S. C. M.	074, 076, 078, 080, 082, 086, 088, 098, 100, 101, 104, 106
Melo, D.F.	086
Melo, E.O.	137
Melo, L.A.	120, 131
Melo, L.A.M.P. de.	108, 109, 110, 115
Melo, L.F.	140
Melo, N.S.S.	135
Melo, R.I.S.	004
Mendes, M.A.S.	108, 109, 114, 115, 116, 117, 118, 122
Mendes, P.D.	114, 118, 122
Mendes, R.A.	064
Menezes, C.C.	043
Mesquita, L.F.G.	128
Monnerat, R.G.	033, 068, 069, 071, 075, 079, 081, 083, 084, 087, 090, 099, 102, 103, 107
Monteiro, A.H.R.R.	134
Moraes, M. C. B.	066, 072, 091, 092, 095, 096, 097
Morais, A.T.	043
Morais, L.S.	032
Moreira, M.P.	093
Moscardine, A.R.C.	140
Mulinari, F.	035
Mundim, D. A.	004
Mundim, T.C.D.	137
Nakasu, E.Y.T.	054
Nardelli-Costa, J.	037
Nass, L.L.	059
Neiva, L. de F.	133
Nóbrega, J.M.	001
Noronha, S.E.	058
Nunes, A.C.	081, 087
Nunes, A.C.S.	031
Ogibowski, A.R.G.	110

Oliveira, A.S. de	114, 118, 122
Oliveira, E.M.	007, 018
Oliveira, G.R.	033, 042, 102
Oliveira, L.D.	011, 013
Oliveira, M.R.V.....	119, 121, 123, 124, 125, 127, 129, 130, 134
Oliveira, V. L.	066, 096, 097
Oliveira-Neto, O.B.	017, 033
Orioli, F. P.	074, 076, 078, 082, 088, 098, 101
Ortis, G.S.....	089
Paes, N.S.	010, 036
Paiva, G. R. de	011, 012, 013, 014
Paiva, M.R.	055
Paiva, S.R.	141
Paixão, D. M.	141
Palácio, T. C.	036
Palma, F.R.	049
Paludo, G.R.	140
Pereira, A.J.P.	004
Pereira, D.C.....	136, 137, 138, 139, 140
Pereira, F.F.O.	089, 094
Pereira, M.	067
Pereira, R.A.....	017
Pereira Neto, L.G.	060
Pezzini, T.G.	135
Pimentel, C.M.	135
Pimentel, L.W.	081, 087
Pinheiro, E.M. L.	089
Pinho, D.S.	104
Pinto, A.C.B.V.	111, 126
Pires, C.S.S.	073, 089, 094, 095
Pires, M.V.....	021
Pivato, I.....	138, 140
Portilho, T.C.....	073, 089
Potzernheim, M.L.	050, 051
Póvoa, A.M.	039
Póvoa, J.S.R.	045, 046
Praça, L.B.	083, 090, 099, 103, 107
Prates, M.....	133
Prates, M.V.	015, 034
Proite, K.	025
Queiroz, P.R.	068, 069, 123, 127, 134
Ramiro, E.	138
Ramos, A.R.	016, 021
Ramos, V.R.	048, 062, 131

Randig, O.	085
Rech, E.	029, 031
Reis, A.C.M.	037
Reis Jr., J.L.	140
Resende, F.V.	055
Ribeiro, B.M.	022, 071, 079
Ribeiro, V.S.	048, 062
Ribeiro, Z.M.A.	070, 077
Rocha, J.A.	002
Rocha, S.M.	007, 018
Rocha, T.L.	085
Rodrigues, J.C.A.	047
Rodrigues Jr., A.J.G.	114, 118
Rumpf, R.	135, 136, 137, 138, 139, 140
Sacramento, E. R. S.	063, 065
Salomão, D.	085
Santos, A.C.B.	077
Santos, D.B.M.	023
Santos, I. R. I.	061
Santos, J.P.	120, 131
Santos, L.L.S.	017
Santos, M.F.	116
Santos, M.O.	024
Santos, P.H.R.	096
Santos, R.F.	005, 049, 059
Sarmento, R.B.C.	067, 093
Schmidt, F.G.V.	073
Sihler, W.	019
Silva, A.P.D.	004
Silva, C.R.M.	107
Silva, D.B.	050, 128
Silva, F.R. da	029
Silva, J.B.T.	076, 080, 088
Silva, M.C.F.	078, 098, 101
Silva, M.C.M.	017, 041, 042, 044
Silva, P.V.	095
Silva, R.D.C.	132
Silva, S.F.	119, 121, 124, 125, 129, 130
Silva, S.M.B.	033
Silva, V.P.	053
Silva Filho, J.G.	005
Silva Jr., P.I.	029
Silva Neto, S.P.	111, 112, 113, 126
Silveira, E.D.	006, 027

Silveira, F.A.	094
Silveira, L.L.	135
Silvério, V.C.	141
Simões, K.C.C.	123, 127, 134
Soares, C. M.	075
Soares, E. F.	022
Sollero, B.P.	141
Sone, E.H.	075, 099
Sousa, A.I. de M.	111, 126
Sousa, N.J.	077
Sousa, N.O.M.	070
Sousa, Z.A.R.	007, 018
Souto, B.M.	029
Souza, G.A.B.	064
Souza, M.L.	009, 019, 030, 077
Souza, R.V.	135, 138
Souza, Z.P.	056
Stanisçuaski, F.	035
Sujii, E.R.	073, 089, 094, 095, 096
Teixeira, F.R.	041, 044
Teixeira, J. B.	004
Tenente, R.C.V.	110, 111, 112, 113, 126, 133
Thees, M.F.R.S.	028
Togawa, R.	016
Torres, A.C.	005, 055, 057
Urban, A.F.	122
Vaez, J.R.	043
Valadares-Inglis, M.C.	067, 093, 104, 105, 106
Valença, A.	017
Valls, J.F.M.	005, 048, 049, 058
Viana, A.A.B.	010
Vianna, G.R.	003, 029, 031, 036, 043
Vieira, P.M.M.M.	040
Vieira, R. F.	050, 051
Vilarinho, K.R.	119, 121, 123, 124, 125, 127, 129, 130, 134
Vinecky, F.	015, 029, 034
Vinson, C.C.	053
Waga, I.C.	099
Wetzel, M.M.V. da S.	062, 063, 131
Zimbres, B.Q.C.	024

ÍNDICE DE ORIENTADORES

(A numeração corresponde ao resumo)

Abi Soares dos Anjos Marques	120, 131
Alan Carvalho Andrade	015, 029, 034
Alexandre Rodrigues Caetano	037
Ana Cláudia Guerra Araújo	001
Ana Yamagushi Ciampi	045, 046, 047, 053, 054
Ângela Mehta	026
Carlos Rodrigues Borges Neto	007, 018
Carmen Sílvia Soares Pires	094
Diva Maria de Alencar Dusi	002
Edison Ryoiti Sujii	073, 096
Eliana Maria Gouveia Fontes	089, 095
Érika Valéria Saliba Albuquerque de Barros	036
Francisco José Lima Aragão	003, 024, 031, 032, 039, 043
Francisco Ricardo Ferreira	063, 065
Genaro Ribeiro de Paiva	011, 012, 013, 014
Gláucia Salles Cortopassi Buso	052, 055, 056, 057
João Batista Tavares da Silva	080
João Batista Teixeira	004
José Francisco Montenegro Valls	005, 048, 049, 058
Leila Maria Gomes Barros	038
Leonel Gonçalves Pereira Neto	060
Luciano Lourenço Nass	059
Lucília Helena Marcellino	016, 021
Luzia Helena Correa Lima	068, 069, 127
Maria Carolina Blassioli Moraes	091, 092, 097
Maria Cléria Cordeiro Valadares-Inglis	067, 093, 104, 105, 106
Maria Cristina Mattar da Silva	044
Maria Elita Batista de Castro	022, 070, 077
Maria Fátima Grossi de Sá	010, 017, 033, 035, 040, 041, 042, 102
Maria Magaly Veloso da Silva Wetzel	062
Maria Regina Vilarinho de Oliveira	119, 121, 123, 124, 125, 129, 130, 134
Marlinda Lobo de Souza	009, 019, 030
Marta Aguiar Sabo Mendes	108, 109, 114, 115, 116, 117, 118, 122
Maurício Machaim Franco	137
Mauro Carneiro	023, 028
Miguel Borges	066, 072
Patrícia Messemberg Guimarães	020, 025
Regina Maria D. G. Carneiro	128
Renata Cesar Vilardi Tenente	110, 111, 112, 113, 126, 133
Roberto Fontes Vieira	050, 051
Rodolfo Rumpf	135, 136, 138, 139, 140

Rose Monnerat	071, 075, 079, 081, 083, 084, 087, 090, 099, 103, 107
Rui Américo Mendes	064
Samuel Rezende Paiva	141
Sueli Corrêa M. de Mello	074, 076, 078, 082, 086, 088, 098, 100, 101
Taciana Barbosa Cavalcanti	061
Thales Lima Rocha	085
Vera Lúcia de Almeida Marinho	132
Vera Tavares Campos Carneiro	006, 008, 027