

X TALENTO ESTUDANTIL

RESUMOS DOS TRABALHOS



ANAIS  
2005



## **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 Dimázio*  
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

**X ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA  
EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E  
BIOTECNOLOGIA  
2005**

**Anais**

**Resumos dos Trabalhos**

**Brasília, DF  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
2005**

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) 3448-4700, Fax: (61) 3340-3624

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

e-mail: [sac@cenargen.embrapa.br](mailto:sac@cenargen.embrapa.br)

### **Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Maria Isabel de Oliveira Penteadó

Secretária Executiva: Maria da Graça Simões Pires Negrão

Membros: Arthur da Silva Mariante

Maria da Graça Simões Pires Negrão

Maria de Fátima Batista

Maria Isabel de Oliveira Penteadó

Maurício Machaim Franco

Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro

Sueli Corrêa Marques de Mello

VeraTavares de Campos Carneiro

Revisor de Texto: Responsabilidade dos autores

Normalização Bibliográfica: Maria Iara Pereira Machado

Tratamento de Ilustrações da Capa: Raul César Pedroso da Silva

Confecção de Pôsteres: Raul César Pedroso da Silva e Gustavo Coelho de Souza

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

Editoração Eletrônica: Fabrício Lopes dos Reis Rodrigues

### **1ª edição**

1ª impressão (2005): 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 (10. : 2005 : Brasília, DF)

Anais: resumos dos trabalhos : X Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 227 p.

ISBN 85-87697-37-4

Corpo editorial: João Batista Tavares da Silva, José Eustáquio Menêzes e Zilda Maria de Araújo Ribeiro

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

---

CDD 575.1

©Embrapa 2005

**X ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS  
GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA - 2005**

**COMISSÃO ORGANIZADORA**

**PRESIDENTE:** João Batista Tavares da Silva  
José Eustáquio Menêzes  
Maria Abadia Fernandes Solino  
Maria da Graça Simões Pires Negrão  
Mônica Athayde Ferreira  
Raul César Pedroso da Silva  
Zilda Maria de Araújo Ribeiro

**COMISSÃO DE SELEÇÃO DOS TRABALHOS**

**COORDENADOR:** João Batista Tavares da Silva  
Diva Maria de Alencar Dusi  
Gerson Renan de Luces Fortes  
Gláucia Salles Cortopassi Buso  
Maria de Fátima Batista  
Maurício Machaim Franco  
Vera Tavares de Campos Carneiro

**COMISSÃO JULGADORA**

Carlos Antonio Inácio (UnB)  
Carlos Roberto Felix (UnB)  
Charles Martins de Oliveira (Embrapa Cerrados)  
Janice Lisboa De Marco (UnB)  
Juvenil Enrique Cares (UnB)  
Kumiko Mizuta (UnB)  
Marcos Roberto Bertozo (ANVISA)  
Sabrina Izabel Costa de Carvalho (Embrapa Hortaliças)

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



## APRESENTAÇÃO

Desde 1996 a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia vem promovendo o “Encontro do Talento Estudantil”, destinado ao conagraçamento e valorização da atividade estudantil, com incentivo à exposição dos resultados de pesquisa realizados por estagiários, bolsistas e estudantes de graduação e pós-graduação, orientados pelos pesquisadores e técnicos especializados do Centro. A partir do 1º Encontro, quando foram apresentados 29 trabalhos, o interesse em participar tem sido crescente, principalmente entre os estudantes de iniciação científica.

Esses Encontros são organizados por uma comissão que estabelece os procedimentos e regras para realização de cada evento. Os estudantes fazem suas inscrições acompanhadas do resumo do trabalho que são avaliados e selecionados por um comitê de seleção, formado por pesquisadores da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Já a apresentação do conteúdo 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 DF. Os estudantes que demonstram melhor desempenho recebem uma premiação a título de incentivo. É através da participação nesses eventos que o estudante pode complementar as suas atividades científicas que iniciaram com a integração em um grupo de trabalho e orientação no seu desenvolvimento teórico-prático em pesquisa. Por outro lado, a presença de estudantes vinculados ao grupo de pesquisa possibilita o aumento da capacidade de produção científica do Centro.

Em 2005, comemorando a 10ª edição, com o apoio e estímulo de seus orientadores, pesquisadores e técnicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, mais uma vez os estudantes fizeram sua parte participando deste Encontro. Neste evento, a inovação foi a presença na comissão julgadora de profissionais que já tinham participado, em sua fase estudantil, de outras edições do Talento Estudantil.

Foram inscritos 153 resumos, sendo 101 (66,0%) elaborados por estudantes de iniciação científica e 52 (34,0%) por estudantes graduados, compreendendo 25 (16,5%) de mestrados, 7 (4,5%) de mestrados e 20 (13,0 %) de doutorandos. Os resultados de pesquisa dos trabalhos inscritos, cujos resumos estão incluídos nestes anais, foram apresentados, durante o Encontro, sob forma de pôsteres, para apreciação da comissão julgadora e do público interessado.

Parabenizamos e agradecemos, antecipadamente, a todos que participaram da organização do evento, 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, à Universidade de Brasília - UnB pela cessão de painéis para fixação de pôsteres, bem como ao Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, às Faculdades Integradas da Terra de Brasília – FTB e à União Pioneira de Integração Social – UPIS pelo patrocínio do Encontro. Enfatizamos a grande contribuição que todos estão prestando ao desenvolvimento científico e tecnológico e à formação de profissionais nas importantes áreas de Recursos Genéticos e Biotecnologia e a expectativa da Embrapa realizar eventos como esse a nível regional ou mesmo nacional, motivando ainda mais a participação e integração da comunidade científica e acadêmica.

João Batista Tavares da Silva  
Presidente do Comitê Organizador

## SUMÁRIO

<b>BIOTECNOLOGIA</b> .....	35
<b>BIOLOGIA CELULAR</b> .....	37
<b>001 - ANÁLISE DE BIBLIOTECAS DE cDNA DE OVÁRIOS DE <i>Brachiaria brizantha</i> APOMÍTICA E SEXUAL EM MEGASPOROGÊNESE E MEGAGAMETOGÊNESE (Analysis of cDNA libraries of ovaries from apomictic and sexual <i>Brachiaria brizantha</i> in megasporogenesis and megagametogenesis)</b> Guimarães, L.A., Silveira, E.D., Silva, F.R., Carneiro, V.T.C. ....	39
<b>002 - ANÁLISES PROTÉICAS EM CALLI DE CACAU DESAFIADOS COM ESPOROS DE <i>Crinipellis pernicioso</i> (Analyses of the protein pattern of cocoa calli infected with <i>Crinipellis pernicioso</i>)</b> Ramos, A.R., Teixeira, J.B., Marcellino, L.H., Gander, E.S. ....	40
<b>003 - CARIOGRAMAS DO ACESSO DIPLÓIDE SEXUAL E DE UM TETRAPLÓIDE APOMÍTICO (CV. MARANDU) DE <i>Brachiaria brizantha</i> POACEAE (Karyograms of the diploid sexual access and of one tetraploid apomictic access (cv. Marandu) of <i>Brachiaria brizantha</i> (Poaceae))</b> Almeida, L.M., Nóbrega, J.M., Carneiro, V.T.C., Araújo, A.C.G. ....	41
<b>004 - DESENVOLVIMENTO DE CALOS DE <i>Gossypium hirsutum</i> (Development of <i>Gossypium hirsutum</i> callus by embryogenic somatic)</b> Borba, T.C.B., Paes, N.S., Oliveira, R.S., Evangelista, I.B.R., Cavalcante, K.L., Grossi-de-Sá, M.F. ....	42
<b>005 - INDUÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS EM EXPLANTES FOLIARES DE <i>Coffea canephora</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES TRATAMENTOS COM 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) (Embryogenic calli induction in <i>Coffea canephora</i> leaf explants with different treatments of 2,4-D)</b> Palácio, T.C., Barros, E.V.S.A., Grossi-de-Sá, M.F., Teixeira, J.B. ....	43

**006 - ANÁLISE COMPARATIVA DE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DE *Meloidogyne incognita* VIA ELETROFORESE BIDIMENSIONAL (Comparative analysis of different *Meloidogyne incognita* development phases by two-dimensional eletrophoresis)**

Casado-Filho, E., Rocha, T.L., Evaristo, R.G.S., Noronha, E.F., Grossi-de-Sá, M.F., Franco, O.L. ....47

**007 - ANÁLISE DA INTERAÇÃO DA TOXINA CRY1Ia COM AS MEMBRANAS DO INTESTINO MÉDIO (BBMVS) DOS INSETOS *Anthonomus grandis* E *Spodoptera frugiperda* (Interaction analysis of Cry1Ia toxin with brush border membrane vesicles from *Anthonomus grandis* and *Spodoptera frugiperda*)**

Magalhães, M.T.Q., Brand, G.D., Bloch Jr., C., Grossi-de-Sá, M.F. ....48

**008 - ANÁLISE DE DEFENSINAS PRESENTES NO TRANSCRIPTOMA DO CAFÉ (*Coffea arabica*) [Analysis of defensins present in coffee (*Coffea arabica*) transcriptome]**

Barbosa, A.E.A.D., Souza, D.S.L., Grossi-de-Sá, M.F. ....49

**009 - ANÁLISE “IN SILICO” DA EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL DE *Arachis stenosperma* INOCULADO COM NEMATÓIDE DAS GALHAS (*In silico* analysis of differential expression of genes of *Arachis stenosperma* inoculated with root-knot nematode)**

Proite, K., Leal-Bertioli, S.C.M., Bertioli, D.J., Guimarães, P.M. ....50

**010 - ANÁLISE PROTEÔMICA DE CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* DURANTE O CRESCIMENTO E O PROCESSO DE ESPORULAÇÃO (Comparative proteomic analysis of *Bacillus thuringiensis* strains during growth phase and sporulation process)**

Silva, T.S., Vasconcelos, E.A.R., Magalhães, M.T.Q., Rocha, T.L., Grossi-de-Sá, M.F. ....51

**011-CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS DE ESTs DE RAÍZES DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum*) INFECTADAS COM O NEMATÓIDE DE GALHA DE RAIZ (*Meloidogyne incognita*) [Construction of ESTs library from root cotton (*Gossypium hirsutum*) infected with the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)]**

Paes, N.S., Viana, A.A.B., Lima, L.M., Batista, J.A.N., Guimarães, L.M., Barbosa, A.E.A.D., Souza, D.S.L., Oliveira Neto, O.B., Carneiro, R.M.D.G., Togawa, R.C., Martins, N.F., Grossi-de-Sá, M.F. ....52

**012 - CONSTRUÇÃO E ANÁLISE DE UMA BIBLIOTECA SUBTRATIVA DE cDNAs DE PLANTAS *Coffea arabica* INOCULADA E NÃO INOCULADA COM O NEMATÓIDE DA GALHA *Meloidogyne paranaensis* (Construction and analysis of a subtractive cDNA library of inoculated and non inoculated *Coffea arabica* with root knot nematode *Meloidogyne paranaensis*)**

Barros, E.V.S.A., Lecouls, A.C., Oliveira, P.E.F., Silva, F.R., Carneiro, R.M.D.G., Fernandez, D., Grossi-de-Sá, M.F. ....53

**013 - DESENVOLVIMENTO DE CHIPS DE cDNA EM MACRO-ARRANJOS PARA IDENTIFICAR GENES REGULATÓRIOS EM MANDIOCA (*Manihot esculenta* CRANZ.) (Development of a macro array cDNA chip to identify regulatory genes in cassava (*Manihot esculenta* Cranz.))**

Agostini, M.A.V., Souza, C.R.B., Carvalho, L.J.C.B. ....54

**014 - DESENVOLVIMENTO DE FERRAMENTA WEB PARA ANÁLISE DE DADOS DE PROJETOS GENOMA DO TIPO EST (Development of Web tool for EST genome projects data analysis)**

Sales, R.M.O.B., Silva, F.R. ....55

**015 - DETERMINAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DE FRAGMENTOS DO GENOMA DE *Arabidopsis thaliana* COM AFINIDADE PELA PROTEÍNA RoIA DE *Agrobacterium rhizogenes* (Functional properties determination of the *Arabidopsis thaliana* genome sequences with affinity to the RoIA protein of *Agrobacterium rhizogenes*)**

Santos, D.B.M., Barros, L.M.G., Almeida, J.D., Carneiro, M. ....56

**016 - ESTUDO PROTEÔMICO PRELIMINAR DAS PROTEÍNAS RELACIONADAS À RESISTÊNCIA AO *Meloidogyne incognita* EM RAÍZES DE ALGODÃO (Preliminar proteomic study of cotton root proteins related to *Meloidogyne incognita* resistance)**

Costa, P.H.A., Evaristo, R.G.S., Magalhães, J.C.C., Vasconcelos, E.A.R., Grossi-de-Sá, M.F., Rocha, T.L. ....57

**017 - ESTUDOS DO PROMOTOR DO GENE “OPAQUE-2-LIKE” DE MILHETO (*Pennisetum glaucum*) (Studies of the promotor of an opaque-2-like gene from pearl millet)**

Pires, M.V.V., Falcão, L.L., Cabral, G.B., Gomes, C.S., Pereira, J.M.N., Meireles Jr., H.J., Gander, E.S., Marcellino, L.H. ....58

**018 - EVOLUÇÃO MOLECULAR IN VITRO: SELEÇÃO DE GENES PARA TOXINAS CRY MELHORADAS COM POTENCIAL USO NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (Molecular evolution *in vitro*: selection of genes for improved Cry toxins with potential use in control of *Spodoptera frugiperda*)**

Oliveira, G.R., Ramos, H.B., Barbosa, A.E.A.D., Figueira, E.L.Z., Silva, M.C.M., Grossi-de-Sá, M.F. ....59

**019 - HIBRIDIZAÇÃO IN SITU DE DUAS SEQÜÊNCIAS DE mRNA RELACIONADAS COM O DESENVOLVIMENTO DE OVÁRIOS DE *Brachiaria brizantha* SEXUAL E APOMÍTICA (*In situ* hibridization of two mrna sequences associated to ovary development in sexual and apomictic *Brachiaria brizantha*)**

Alves, E.R., Dusi, D.M.A., Gomes, A.C.M.M., Carneiro, V.T.C. ....60

**020 - IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS GENES DE RESISTÊNCIA A FITONEMATÓIDES PRESENTES NO GENOMA DO CAFÉ (Identification of potential nematode resistance genes present in the coffee genome)**

Souza, D.S.L., Barbosa, A.E.A.D., Grossi-de-Sá, M., Cavalcante, W.S., Barros, E.V.S.A., Grossi-de-Sá, M.F. ....61

**021 - IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE GENES ENVOLVIDOS NA RESPOSTA AOS ESTRESSES ABIÓTICOS, A PARTIR DE ANÁLISES *IN SILICO* DA BASE DE DADOS DO GENOMA CAFÉ (Identification and functional characterization of genes involved in abiotic stress responses, identified by *in silico* analysis of the coffee-est database)**

Vinecky, F., Brito, K.M., Sales, R.M.O.B., Silva, F.R., Andrade, A.C. ....62

**022 - IDENTIFICAÇÃO PARCIAL DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS DE PALMA FORRAGEIRA (*Opuntia ficus-indica* MIL) EXPRESSADAS SOB CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO (Partial identification of soluble proteins of *Opuntia ficus-indica* Mil over expressed under hidric stress conditions)**

Reis, M.B.A., Souza, D.S.L., Franco, O.L., Rocha, T.L., Grossi-de-Sá, M.F., Romano, E. ....63

**023 - INIBIDORES DE ENZIMAS DE *Enterolobium contortisiliquum* (TIMBAÚBA) ATIVOS CONTRA AMILASES E PROTEINASES DE *Spodoptera frugiperda* (Inhibitors from *Enterolobium contortisiliquum* (Timbaúba) activies against amilases and proteinases from *Spodoptera frugiperda*)**

Daga, C.J., Barbosa, T., Vitalino, R.C., Ferreira, C.H., Grossi-de-Sá, M.F., Bloch Jr., C., Melo, F.R. ....64

**024 - INTERAÇÃO ENTRE *Meloidogyne arenaria* RAÇA 1 E DUAS ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis*: OBSERVAÇÕES PRELIMINARES (Interaction between *Meloidogyne arenaria* race 1 and two wild species of *Arachis*: preliminary observations)**

Proite, K., Carneiro, R.M.D.G., Gomes, A.C.M.M., Leal-Bertioli, S.C.M., Bertioli, D.J., Guimarães, P.M. ....65

**025 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SEQÜÊNCIAS REPETITIVAS EM ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* (Isolation and characterization of repetitive sequences in wild *Arachis* species)**

Fonseca, F.C.A., Nielen, S., Leal-Bertioli, S.C.M., Guimarães, P.M., Bertioli, D.J. ....66

<b>026 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO PROMOTOR DO GENE <i>waxy</i> DE MILHETO (<i>Pennisetum glaucum</i>) [Cloning and characterization of the promotor region of the gene <i>waxy</i> from pearl millet (<i>Pennisetum glaucum</i>)]</b>	
Pereira, J.M.N., Falcão, L.L., Gander, E.S., Marcellino, L.H.....	67
<b>027 - MAPEAMENTO DE RGAS (ANÁLOGOS DE GENES DE RESISTÊNCIA) EM UM MAPA GENÉTICO DE AMENDOIM SILVESTRE <i>Arachis</i> SPP. [Mapping of RGAs (resistance gene analogues) in a genetic map of wild <i>Arachis</i>]</b>	
José, A.C.V.F., Guimarães, P.M., Leal-Bertioli, S.C.M., Bertioli, D.J. ....	68
<b>028 - METODOLOGIA PARA PROSPECÇÃO DE BIOMOLÉCULAS EM LARGA ESCALA, COM BASE NA ASSOCIAÇÃO DE ANÁLISES DE TRANSCRIPTOMA E PROTEOMA (Large scale methodology for prospecting bio-molecules based on associated transcriptome and proteome analyses)</b>	
Barbosa, E.A., Vinecky, F., Brito, K.M., Prates, M.V., Andrade, A.C., Bloch Jr., C. ....	69
<b>029 - OBTENÇÃO DE PLANTAS GENETICAMENTE MODIFICADAS DE <i>Brachiaria brizantha</i> CV. MARANDU (Obtention of genetically modified plants of <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu)</b>	
Cabral, G.B., Santana, C.G., Carneiro, V.T.C., Dusi, D.M.A. ....	70
<b>030 - O N-TERMINAL DA PROTEÍNA RoIA GUARDA SUA ATIVIDADE BIOLÓGICA (The RoIA protein N-terminal retains its biological activity)</b>	
Arrial, R.T., Acauã, T., Barros, L.M.G., Carneiro, M. ....	71
<b>031 - OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA DE TRANSFORMAÇÃO DE PLANTAS DE ALGODOEIRO CV. BRS CEDRO VIA TUBO POLÍNICO (Optimization of the pollen-tube pathway technique plant transformation in cotton var. BRS Cedro)</b>	
Oliveira, R.S., Oliveira Neto, O.B., Evangelista, I.B.R., Viana, A.A.B., Paes, N. S., Grossi-de-Sá, M.F. ....	72

**032 - POTENCIAL UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS VISANDO O CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* (Potential utilization of aqueous extracts from plants targeting the *Meloidogyne incognita* control)**

Evaristo, R.G.S., Magalhães, J.C.C., Cruz, C.C.M., Souza, D.S.L., Grossi-de-Sá, M.F., Rocha, T.L. ....73

**033 - PROPRIEDADES ANTIFÚNGICAS E ANTIBACTERIANAS DE PROTEÍNAS DE FOLHA DE SERIGUELA *Spondias mombin* L. (Antifungal and antibacterial properties of *Spondias mombin* L. leaf proteins)**

Daga, C.J., Barbosa, T., Vitalino, R.C., Marques, G.M., Bloch Jr., C., Melo, F. R. ....74

**034 - PROSPECÇÃO DE VARIANTES DE TOXINAS CRY COM ALTA ESPECIFICIDADE E TOXICIDADE CONTRA O BICUDO-DO-ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*) E A LAGARTA-DO-CARTUCHO DO-MILHO (*Spodoptera frugiperda*) [Screening of mutants Cry toxins with toxicity against cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*) and fallworm (*Spodoptera frugiperda*)**

Brunetta, P.S.F., Oliveira, G.R., Figueira, E.L.Z., Ramos, H.B., Silva, M.C.M., Cavalcanti, K.L., Grossi-de-Sá, M.F. ....75

**035 - PROTEOMA DE *Xanthomonas campestris* PV. *campestris* NA INTERAÇÃO COM A PLANTA HOSPEDEIRA (Proteome analysis of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in the interaction with the host plant)**

Andrade, A.E., Felix, G.C., Oliveira, A.C., Noronha, E.F., Pereira, J.L., Lima, L. H.C., Rosato, Y.B., Vidal, M.C., Melo, J.A.T., Bloch Jr., C., Mehta, A. ....76

**036 - PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ANTIBACTERIANAS DE SEMENTES DE JABOTICABA (*Myrciaria jaboticaba*) (Purification of antibacterial proteins from jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) seeds)**

Barbosa, T., Daga, C.J., Vitalino, R.C., Santos, K.C.A., Ferreira, C.H., Bloch Jr., C., Melo, F.R. ....77

<b>037 - PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FOLHAS DE PITANGUEIRA (<i>Eugenia uniflora</i> L.) COM ATIVIDADES ANTIBACTERIANAS E ANTIFÚNGICAS (Purification of proteins from pitangueira leaf (<i>Eugenia uniflora</i> L.) with antibacterial and antifungal activities)</b>	
Barbosa, T., Daga, C.J., Vitalino, R.C., Santos, K.C.A., Ferreira, C.H., Bloch Jr., C., Melo, F.R. ....	78
<b>038 - REGENERAÇÃO DE PLANTAS DE <i>Brachiaria brizantha</i> APOMÍTICA E SEXUAL VIA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE SEMENTES E SEGMENTOS BASAIS (Plant regeneration of <i>Brachiaria brizantha</i> apomictic and sexual plants via somatic embryogenesis and basal segments)</b>	
Cabral, G.B., Santana, C.G., Dusi, D.M.A., Carneiro, V.T.C. ....	79
<b>039 - UTILIZAÇÃO DE “PERFILAMENTO DE NBSS” PARA GENOTIPAGEM DE RGAS EM UM MAPA GENÉTICO DE <i>Arachis</i> SILVESTRE DO GENOMA AA (Use of NGS profiling for the targeting of RGAs in a genetic map of wild <i>Arachis</i> genome AA)</b>	
José, A.C.V.F., Bertoli, D.J., Guimarães, P.M., Leal-Bertoli, S.C.M. ....	80
<b>REPRODUÇÃO ANIMAL</b> .....	81
<b>040 - ASPECTOS LABORATORIAIS DE BEZERRAS CLONES DA RAÇA JUNQUEIRA (Laboratorial aspects of Junqueira breed clones calves)</b>	
Machado, G.M., Iguma, L.T., Pivato, I., Reis Jr.J.L, Moscardini, A.R.C., Coelho, M.M.S., Borges, J.R.J., Rumpf, R. ....	83
<b>041 - AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E STATUS ACROSSOMAS DO SÊMEN DE OVINO DESCONGELADO E INCUBADO COM PLASMA SEMINAL (Evaluation of the viability and status acrossome of ovine semen thawing and incubated with seminal plasma)</b>	
Silva, T.A.S.N., Neves, J.P., Guimarães Neto, A.G., Guimarães, A.P., Rumpf, R., Sartori, R. ....	84

**042 - AVALIAÇÃO ULTRA-ESTRUTURAL E DA FRAGMENTAÇÃO DO DNA DE ESPERMATOZÓIDES BOVINOS CONSERVADOS POR DIFERENTES TRATAMENTOS DE LIOFILIZAÇÃO (Ultrastructural and DNA fragmentation evaluation of bovine spermatozoa conserved by different freeze-drying treatments)**

Martins, C.F., Bão, S.N., Dode, M.N., Rumpf, R. ....85

**043 - CARACTERIZAÇÃO DE SNPs NO GENE GDF9 EM OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS E SUA RELAÇÃO COM O AUMENTO DE PROLIFICIDADE (Characterization of SNPs in the GDF9 gene in sheeps of the race Santa Ines and its relationship with the increase of prolificity)**

Avila, F.F., Franco, M.M., Paiva, S.R., Souza, C.J.H., Martins, N.F., Oliveira, A.A., Rumpf, R., Melo, E.O. ....86

**044 - CLONAGEM E EXPRESSÃO DAS REGIÕES GÊNICAS CODIFICADORAS DO PEPTÍDIO MADURO DOS HORMÔNIOS BMP15 E GDF9 DE CLONES BOVINOS (Cloning and expression of the mature petide coding region of BMP15 and GDF9 in cattle)**

Lopez, I.M.R., Souza, C.J.H., Franco, M.M., Rumpf, R., Melo, E.O. ....87

**045 - PRODUÇÃO DE BEZERRAS CLONES DE VACA JUNQUEIRA – RAÇA CRIOLA BRASILEIRA EM VIAS DE EXTINÇÃO - DADOS DA CONCEPÇÃO AO PERINATAL (Production of calves cloned from a Junqueira cow – an endangered Brazilian Creole breed - Data from conception to perinatal)**

Iguma, L.T., Pivato, I., Machado, G.M., Câmara, J.U., Ramos, A.F., Guimarães Neto, A.G., Gouvêia, L.V., Meirelles, F.C., Franco, M.M., Ferreira, M.E., Grattapaglia, D., Reis Jr., J.L., Borges, J.R.J., Rumpf, R. ....88

**046 - USO DO PLASMA SEMINAL NO DESCONGELAMENTO DO SÊMEN OVINO PARA INSEMINAÇÃO TRANSCERVICAL EM OVELHAS COM ESTRO SINCRONIZADO (Use of seminal plasma to thaw ram semen for trans-cervical artificial insemination (ai) in ewe with synchronized estrus)**

Silva, T.A.S.N., Neves, J.P., Bragança, J.M., Gonçalves, P.B.D., Rumpf, R. ....89

<i>CONTROLE BIOLÓGICO</i> .....	91
<b>047 - ABELHAS CARREADORAS DE PÓLEN DO ALGODÃO, <i>Gossypium hirsutum</i>: ANÁLISE PRELIMINAR (Bees carrying cotton pollen, <i>Gossypium hirsutum</i>: preliminary analysis)</b>	
Cardoso, C.F., Oliveira, G., Nakasu, E., Sujii, E.R., Fontes, E.M.G., Silveira, F.A., Pires, C.S.S. ....	93
<b>048 - AÇÃO DE <i>Trichoderma</i> SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE <i>Sclerotium rolfsii</i> (Effect of <i>Trichoderma</i> on the development of <i>Sclerotium rolfsii</i>)</b>	
Gomes, D.M.P.A., Ávila, Z.R., Pádua, R.R., Alvarenga, D.O., Carvalho Filho, M.R., Mello, S.C.M., Silva, J.B.T. ....	94
<b>049 - ANÁLISE DE DNA DE INFECÇÕES POR SfMNPV EM CÉLULAS HOSPEDEIRAS (Sf9) DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (DNA analysis of SfMNPV infection of cultured host <i>Spodoptera frugiperda</i> (Sf9) cells)</b>	
Almeida, G.F., Almeida, A.F., Ribeiro, Z.M.A., Pedrini, M.R.S., Castro, M.E.B. ....	95
<b>050 - ANÁLISE MOLECULAR DAS ANTENAS DE <i>Euschistus heros</i> (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) PERCEVEJO-MARROM PRAGA DA SOJA PARA DETECÇÃO DE PROTEÍNAS LIGANTES DE ODORES (PLO) [Molecular analysis of the antennae of <i>Euschistus heros</i> (Heteroptera: Pentatomidae) brown stink bug soybean for the detection of odorant bind proteins (PBO)]</b>	
Damacena, I., Moraes, M.C.B., Laumann, R.A., Lozzi, S.P., Borges, M. ....	96
<b>051 - ATIVIDADE LARVICIDA E PERSISTÊNCIA DE PRODUTOS COMERCIAIS À BASE DE <i>Bacillus thuringiensis</i> SUBESP. <i>israelensis</i> PARA O CONTROLE DE <i>Aedes aegypti</i> (Larvicidal activity and persistence of <i>Bacillus thuringiensis</i> subesp. <i>israelensis</i> commercial products to control <i>Aedes aegypti</i>)</b>	
Santos, R.B., Lopes, J., Santos, W.J., Monnerat, R.G. ....	97
<b>052 - AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E PERSISTÊNCIA DOS BIOINSETICIDAS BT-HORUS E VECTOBAC EM UMA POPULAÇÃO DE <i>Aedes aegypti</i> (Efficiency and persistence evaluation of two bioinsecticides used against <i>Aedes aegypti</i> population)</b>	
Dumas, V.F., Pimentel, L.W., Nunes, A.C., Vilarinhos, P., Monnerat, R.G. ....	98

**053 - AVALIAÇÃO DA ESPORULAÇÃO DE *Trichoderma* SPP. EM SUBSTRATOS SÓLIDOS (Sporulation of *Trichoderma* spp. on solid substrate)**

Gomes, D.M.P.A., Ávila, Z.R., Pádua, R.R., Carvalho Filho, M.R., Alvarenga, D.O., Mello, S.C.M. ....99

**054 - AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE DUAS POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* A PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS (Susceptibility evaluation of two *Aedes aegypti* populations to chemical and biological products)**

Dumas, V.F., Pimentel, L.W., Nunes, A.C., Vilarinhos, P., Monnerat, R.G. ..100

**055 - AVALIAÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* PARA O CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) (Evaluation of *Bacillus thuringiensis* strains to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae))**

Melatti, V.M., Batista, A.C., Demo, C., Praça, L.B., Martins, E.S., Siqueira, C.B., Monnerat, R.G. ....101

**056 - AVALIAÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. NO CONTROLE DE *Sclerotium rolfsii* EM FEIJOEIRO (*Trichoderma* spp. isolates to control *Sclerotium rolfsii* on *Phaseolus vulgares*)**

Pádua, R.R., Gomes, D.M.P.A., Ávila, Z.R., Carvalho Filho, M.R., Alvarenga, D.O., Mello, S.C.M. ....102

**057 - AVALIAÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO A BASE DO FEROMÔNIO SEXUAL SINTÉTICO DE *Euschistus heros* PARA USO EM PROGRAMAS DE MONITORAMENTO DE PERCEVEJOS-PRAGA (Evaluation of a formulation based in synthetic sexual pheromone of *Euschistus heros* for use in monitoring programs of stink-bugs pests)**

Vieira, P.H.M., Oliveira, V.L., Laumann, R.A., Pires, C.S.S., Sujii, E.R., Moraes, M.C.B., Borges, M. ....103

**058 - AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Bacillus thuringiensis* NO MEIO DE CULTIVO BTHEK-2 COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNA DE SOJA (Evaluation of the growth of *Bacillus thuringiensis* in the Bthek-2 synthetic media based on different concentrations of soybean protein)**

Melatti, V.M., Batista, A.C., Demo, C., Roberg, R.A.P., Silva, S.F., Soares, C.M.S., Siqueira, C.B., Monnerat, R.G. ....104

**059 - BIOLOGIA FLORAL DE *Gossypium hirsutum latifolium* (MALVACEAE) (Floral biology of *Gossypium hirsutum latifolium* (Malvaceae))**

Cardoso, C.F., Silveira, F.A., Oliveira, G., Nakasu, E., Sujii, E.R., Fontes, E.M.G., Pires, C.S.S. .... 105

**060 - CARACTERIZAÇÃO DOS VOLÁTEIS INDUZIDOS POR HERBÍVOROS EM DIFERENTES VARIEDADES DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum* L.) INFESTADO POR LAGARTAS DE *Spodoptera frugiperda* [Characterization of the induced herbivores volatiles in different cotton varieties (*Gossypium hirsutum* L.) infested by caterpillars of *Spodoptera frugiperda*]**

Oliveira, V.L., Aquino, M.F.S., Laumann, R.A., Moraes, M.C.B., Cia, E., Borges, M. .... 106

**061 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS AO BICUDO-DO-ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1843) (Molecular characterization of *Bacillus thuringiensis* strains toxic against boll weevil)**

Dumas, V.F., Martins, E.S., Ramos, F.R., Praça, L.B., Monnerat, R.G. .... 107

**062 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS DE TRÊS GÊNEROS DE FUNGOS USANDO MARCADORES RAPD (Molecular characterization of three fungus isolates by rapd markers)**

Lima, A.A., Tutunji, V.L., Lima, L.H.C., Queiroz, P.R. .... 108

**063 - CLONAGEM DO GENE 25KFP DE *Anticarsia gemmatalis* MNPV PARA TRANSFORMAÇÃO ESTÁVEL DE CÉLULAS DE INSETOS (Clonning of the *Anticarsia gemmatalis* MNPV 25KFP gene to stable transformation of insect cells)**

Dalmolin, C.C., Maia, E.A., Ribeiro, B.M., Souza, M.L., Castro, M.E.B. .... 109

**064 - CONTROLE DE CULICÍDEOS E SIMULÍDEOS UTILIZANDO BIOINSETICIDAS A BASE DE *Bacillus sphaericus* E *Bacillus thuringiensis* NA GRANJA DO TORTO, BRASÍLIA-DF (Control of Culicidae and Simuliidae using biological product based on *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* in Granja do Torto, Brasília-DF)**

Paganella, M.B., Boas, L.C.V., Oliveira, E.C.A., Ramos, F.R., Santoro, F.A., Sone, E.H., Carvalho, H.R., Soares, C.M.S., Monnerat, R.G. .... 110

**065 - CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* ATRAVÉS DE USO SISTÊMICO DE *Bacillus thuringiensis* NA CULTURA DO ALGODÃO (Control of *Spodoptera frugiperda* through systemic use of *Bacillus thuringiensis* in cotton)**

Demo, C., Medeiros, P.T., Batista, A.C., Melatti, V.M., Praça, L.B., Berry, C., Monnerat, R.G. .... 111

**066 - CRY1Ia, UMA PROTEÍNA PROMISSORA PARA O CONTROLE DE *Anthonomus grandis* (BICUDO-DO-ALGODOEIRO) E *Spodoptera frugiperda* (LAGARTA-DO-CARTUCHO-DO-MILHO) [Cry1Ia, a promising protein for the control of *Anthonomus grandis* (boll weevil) and *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm)]**

Martins, E.S., Aguiar, R.W.S., Martins, N.F., Batista, A.C., Melatti, V.M., Gomes, A.C.M.M., Falcão, R., Ribeiro, B.M., Monnerat, R.G. .... 112

**067 - DETERMINAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* (DIPTERA:CULICIDAE) UTILIZANDO MARCADORES DE RAPD (Genetic variability analysis of *Aedes aegypti* populations by rapd markers)**

Hiragi, C.O., Simões, K.C.C., Martins, E.S., Queiroz, P.R., Lima, L.H.C., Monnerat, R.G. .... 113

**068 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA, CONSERVAÇÃO E USO DE VARIEDADES SILVESTRES DE *Gossypium* SPP. NO DISTRITO FEDERAL E NOROESTE DE MINAS GERAIS (Geographic distribution, conservation and utilization of *Gossypium* spp. in Distrito Federal and northwest of Minas Gerais)**

Souza, V.V., Noronha, S., Fontes, E.M.G., Sujii, E.R., Barroso, P., Pais, J.S.O., Cardoso, C.F., Ciampi, A., Pires, C.S.S. .... 114

**069 - EFEITO DA GLICOPROTEÍNA GP64 NA INFECÇÃO DE CÉLULAS DE INSETO COM *Anticarsia gemmatilis* NUCLEOPOLYHEDROVÍRUS (Effect of the GP64 Glycoprotein on insect cell infection with *Anticarsia gemmatilis* nucleopolyhedrovirus)**

Mendes, D.N., Souza, M.L. .... 115

**070 - EFEITO DE DIFERENTES MÉTODOS DE CONTROLE PRAGAS EM PREDADORES DO PULGÃO DO ALGODOEIRO (Effect of different methods of pest control on predators of the cotton aphid)**

Santos, P.H.R., Beserra, V.A., Silva-Santos, P.V., Macedo, T.R., Silva, K.F.A. S., Fontes, E.M.G., Pires, C.S.S., Laumann, R.A., Schmidt, F.G.V., Sujii, E.R.

..... 116

**071 - EFEITO DE ESTIRPES SELECIONADAS DE *Bacillus thuringiensis* SOBRE *Spodoptera* SPP. (Effect of selected *Bacillus thuringiensis* strains over *Spodoptera* spp.)**

Santos, K.B., Neves, P.J., Vilas-Bôas, G.F.T., Monnerat, R.G. .... 117

**072 - EFEITO DE MEIOS LÍQUIDOS NA PRODUÇÃO DE MASSA FÚNGICA E ESPORULAÇÃO DE *Colletotrichum gloeosporioides* (Effect of liquid medium on the growth and esporulation of *Colletotrichum gloeosporioides*)**

Martins, I., Ávila, Z.R., Mello, S.C.M., Pádua, R.R., Gavião, C.F.C., Peixoto, J.R. .... 118

**073 - EFEITO DE METABÓLITOS PRODUZIDOS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. SOBRE O CRESCIMENTO DE *Colletotrichum gloeosporioides* (Effect of *Trichoderma* spp. metabolites on the growth of *Colletotrichum gloeosporioides*)**

Martins, I., Ávila, Z.R., Mello, S.C.M., Pádua, R.R., Silva, M.C.F., Peixoto, J.R. ... 119

**074 - FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO PARA O CRESCIMENTO DE *Dicyma pulvinata* (Sources of carbon and nitrogen for the growth of *Dicyma pulvinata*)**

Almeida, A.M., Melo, D.F., Bernardes, V.C.D., Ávila, Z.R., Mello, S.C.M., Silva, J.B.T. .... 120

**075 - IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES PARA POPULAÇÕES DE INSETOS-PRAGA (Identification of molecular markers of insects pests population)**

Queiroz, P.R., Martins, E.S., Lima, L.H.C., Monnerat, R.G. .... 121

**076 - INFESTAÇÃO DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO, *Anthonomus grandis*, EM PLANTIO DE ALGODÃO NO CERRADO DO BRASIL CENTRAL (Boll weevil (*Anthonomus grandis*) infestation in cotton fields of central Brazil)**

Ribeiro, P.A., Diniz, I.R., Sujii, E.R., Fontes, E.M.G. .... 122

**077 - INFLUÊNCIA DAS CORES DO SUBSTRATO E DO HOSPEDEIRO NOS COMPORTAMENTOS DE BUSCA E SELEÇÃO DE HOSPEDEIROS DE PARASITÓIDES DE OVOS DE PERCEVEJOS (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) (Substrate and host color influence in searching and selection behaviors of parasitoids of stink-bugs eggs (Hymenoptera: Scelionidae))**

Vieira, A.R.A., Laumann, R.A., Moraes, M.C.B., Borges, M. .... 123

**078 - INFLUÊNCIA DO ALIMENTO NO DESEMPENHO DE *Cycloneda sanguinea* (COLEOPTERA:COCCINELIDAE) (Influence of food type on the performance of *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae))**

Silva, K.F.A.S., Macedo, T.R., Togni, P.H.B., Sujii, E.R., Pires, C.S.S., Schmidt, F.G.V., Fontes, E.M.G. .... 124

**079 - INFLUÊNCIA DO FOTOPERÍODO NO CRESCIMENTO E ESPORULAÇÃO DE *Dicyma pulvinata* (Influence of photoperiod on growth and sporulation of *Dicyma pulvinata*)**

Melo, D.F., Almeida, A.M., Mello, S.C.M., Ávila, Z.R., Alvarenga, D.O., Silva, J.B.T. .... 125

**080 - INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE MANEJO DE PRAGAS NA FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE LAGARTAS DO CURUQUERÊ-DO-ALGODÃO *Alabama argillacea* (HÜBNER) E NA INCIDÊNCIA DE PARASITÓIDES (Influence of pest management system in population fluctuation of caterpillars of *Alabama argillacea* (Hübner) and in parasitoids incidence)**

Silva-Santos, P.V., Santos, P.H.R., Macedo T.R., Laumann, R.A., Pires, C.S.S., Fontes, E.M.G., Sujii, E.R. .... 126

**081 - INIBIÇÃO DE *Sclerotinia sclerotiorum* POR MEIO DA COMPETIÇÃO E PELA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS FUNGITÓXICOS POR *Trichoderma* SPP. (Inhibitor effects of *Trichoderma* spp. isolates against *Sclerotinia sclerotiorum* by competition and secondary metabolites)**

Gomes, D.M.P.A., Ávila, Z.R., Pádua, R.R., Carvalho Filho, M.R., Alvarenga, D.O., Mello, S.C.M., Silva, M.C.F. .... 127

**082 - ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. PERTENCENTES AO BANCO DE FUNGOS DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA E AVALIAÇÃO DE SEU POTENCIAL ANTAGÔNICO (*Trichoderma* spp. isolates from the Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia culture collection and assesment of their antagonistic potential)**

Pádua, R.R., Ávila, Z.R., Gomes, D.M.P.A., Alvarenga, D.O., Carvalho Filho, M.R., Silva, M.C.F., Mello, S.C.M., Silva, J.B.T. .... 128

**083 - MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE GENÉTICA DO BIOINSETICIDA *Erinnyis ello* GRANULOVÍRUS APLICADO EM SANTA CATARINA NO PERÍODO DE 1986 A 2000 (Monitoring of the genetic stability of the *Erinnyis ello* granulovirus biopesticide applied in Santa Catarina State from 1986 to 2000)**

Costa, N.R., Castro, M.E.B., Souza, M.L. .... 129

**084 - MONITORAMENTO DE PRAGAS NO ALGODOEIRO COMO METODOLOGIA PARA AVALIAR O IMPACTO DE PLANTAS GENETICAMENTE MODIFICADAS SOBRE O PULGÃO DO ALGODOEIRO (Pest monitoring on cotton crop as methodology to assess the impact of genetically modified plants on cotton aphid)**

Beserra, V.A., Santos, P.H.R., Silva-Santos, P.V., Macedo, T.R., Silva, K.F.A.S., Fontes, E.M.G., Pires, C.S.S., Laumann, R.A., Schmidt, F.G.V., Sujii, E.R. .... 130

**085 - ORIENTAÇÃO DO PARASITÓIDE *Telenomus podisi* (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) MEDIADA PELOS SINAIS VIBRACIONAIS DE FÊMEAS DO PERCEVEJO-MARROM, *Euschistus heros* (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) (Orientation of the parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) mediated by female's vibratory signals of brown-stink bug *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae))**

Lopes, A.P.S., Laumann, R.A., Moraes, M.C.B., Cokl, A., Borges, M. .... 131

**086 - POTENCIAL DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. PARA O CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides* PATOGÊNICO AO MARACUJAZEIRO (Potential of *Trichoderma* spp. isolates to control *Colletotrichum gloeosporioides* on passion fruit)**

Martins, I., Mello, S.C.M., Ávila, Z.R., Pádua, R.R., Peixoto, J.R. .... 132

**087 - RELAÇÕES TRÓFICAS DA CULTURA DO ALGODÃO QUE INFLUENCIAM A DINÂMICA DE HERBÍVOROS-PRAGA (Trophic relationships in cotton crops that influence the dynamic of pest herbivores))**

Silva-Santos, P.V., Santos, P.H.R., Sujii, E.R., Pires, C.S.S., Laumann, R.A., Silva, K.F.A.S., Fontes, E.M.G. .... 133

**088 - SELEÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS AO BICUDO-DO-ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1843) (Screening of *Bacillus thuringiensis* strains toxic against boll weevil (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843))**

Ramos, F.R., Dumas, V.F., Martins, E.S., Praça, L.B., Monnerat, R.G. .... 134

**089 - SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. NO CONTROLE DE *Sclerotium rolfsii* EM SOJA 'BRS MILENA' (Selection of *Trichoderma* spp. isolates to control *Sclerotium rolfsii* in soybean 'BRS Milena')**

Carvalho Filho, M.R., Ávila, Z.R., Alvarenga, D.O., Pádua, R.R., Gomes, D.M.P.A., Almeida, A.M., Mello, S.C.M. .... 135

**090 - SELEÇÃO IN VITRO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sclerotinia sclerotiorum* (In vitro selection of *Trichoderma* spp. isolates to control *Sclerotinia sclerotiorum*)**

Orioli, F.P., Ávila, Z.R., Auler, A.C.V., Falcão, J.L., Mello, S.C.M. .... 136

**091 - TESTE DE BIOINSETICIDA À BASE DE *Bacillus sphaericus* PARA O CONTROLE DE LARVAS DE *Culex quinquefasciatus* EM LAGOA DE DECANTAÇÃO EM UMA FAZENDA DE LATICÍNIOS (Test of a bioinsecticide based on *Bacillus sphaericus* for the control of *Culex quinquefasciatus* larvae in a decantation lake in a milk farm)**

Sone, E.H., Ramos, F.R., Carvalho, H.R., Boas, L.C.V., Paganella, M.B., Oliveira, E.C.A., Santoro, F.A., Soares, C.M.S., Monnerat, R.G. .... 137

**092 - UTILIZAÇÃO DO *Bacillus sphaericus* NO CONTROLE DO *Culex quinquefasciatus* TRANSMISSOR DE FILARIOSE NO BRASIL (Utilization of *Bacillus sphaericus* to control of *Culex quinquefasciatus* vector of filarioses in Brazil)**

Ramiro, C.A., Dumas, V.F., Monnerat, R.G. .... 138

**093 - VARIABILIDADE ENTRE ISOLADOS DE *Dicyma pulvinata* QUANTO AO CRESCIMENTO E À ESPORULAÇÃO EM MEIO BDA (Growth and sporulation variability among *Dicyma pulvinata* isolates)**

Alvarenga, D.O., Silva, M.C.F., Almeida, A.M., Melo, D.F., Pádua, R.R., Carvalho Filho, M.R., Gomes, D.M.P.A., Ávila, Z.R., Mello, S.C.M. .... 139

**094 - VARIABILIDADE ENTRE ISOLADOS DE *Trichoderma harzianum* QUANTO À CAPACIDADE DE INIBIR O CRESCIMENTO DE *Rhizoctonia solani* (Capability of *Trichoderma harzianum* to inhibit colonial growth of *Rhizoctonia solani*)**

Carvalho Filho, M.R., Alvarenga, D.O., Ávila, Z.R., Gomes, D.M.P.A., Pádua, R.R., Almeida, A.M., Mello, S.C.M. .... 140

**095 - VARIAÇÃO NA RESPOSTA DE *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) A VOLÁTEIS INDUZIDOS POR HERBÍVOROS EM DUAS VARIEDADES DE ALGODÃO [Response variation of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to herbivore induced volatiles of two cotton varieties]**

Aquino, M.F.S., Oliveira, V.L., Laumann, R.A., Moraes, M.C.B., Cia, E., Borges, M. .... 141

**096 - VISITANTES FLORAIS DO ALGODÃO, *Gossypium hirsutum*, EM DIFERENTES REGIÕES DE PRODUÇÃO DO BRASIL (Flower visitors of cotton, *Gossypium hirsutum*, in different production areas of Brazil)**

Oliveira, G., Cardoso, C.F., Nakasu, E., Scomparini, A.L., Teles, E., Rodrigues, S., Santos, J.B., Miranda, J., Sujii, E.R., Fontes, E.M.G., Silveira, F.A., Pires, C.S.S. .... 142

**RECURSOS GENÉTICOS** ..... 143

**CARACTERIZAÇÃO** ..... 145

**097 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE DIFERENTES LINHAGENS DE MELÃO UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES (Genetic variability analysis of melon lines using molecular markers)**  
Gontijo, S.L., Paiva, W.O., Amorim, J.C., Amaral, Z.P., Buso, J.A., Buso, G.S.C. 147

**098 - ANÁLISE GENÉTICA DE FAMÍLIAS DE *Gossypium barbadense* COM USO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES (Genetic analysis of *Gossypium barbadense* families using microsatellite markers)**  
Castilho, Y.G., Contini, L.R., Barroso, P.V., Ciampi, A.Y. .... 148

**099 - AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO IN VITRO DE SEMENTES DE ARNICA (*Lychnophora ericoides* MART.) EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO (*In vitro* germination of *Lychnophora ericoides* Mart. in different media)**  
Silva, A.A., Cardoso, L.D., Mendes, R.A. .... 149

**100 - BUSCA DE PRIMERS MICROSSATÉLITES, *IN SILICO*, DE GENES-CHAVE PARA CARACTERÍSTICAS BIÓTICAS E ABIÓTICAS DE FEIJÃO, MILHO E MANDIOCA (Search for microsatellite primers, *in silico*, for bean, corn and cassava for key genes biotic and abiotic characteristics)**  
Paiva, M.R., Miranda, H.A., Ciampi, A.Y., Dalmolin, C.C., Alegria, M.R.M., Buso, G.S.C. .... 150

**101 - CARACTERIZAÇÃO DE NOVOS PRIMERS SSR E ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE FEIJÃO COM MARCADORES MICROSSATÉLITES (Characterization of new SSR primers and genetic variability analysis of bean accessions with microsatellite markers)**  
Lamas, N.S., Junqueira, L.P., Ohse, B.J.G., Cerqueira, A.A., Amaral, Z.P.S., Ferreira, M.A., Buso, G.S.C. .... 151

**102 - CARACTERIZAÇÃO FITOPATOLÓGICA DE HÍBRIDOS ENTRE ANFIDIPLÓIDES SINTÉTICOS DE OITO ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* E *Arachis hypogaea* (Phytopathological characterization of hybrids between synthetic amphidiploids of eight wild *Arachis* species and *Arachis hypogaea*)**  
Santos, R.F., Fávero, A.P., Valls, J.F.M. .... 152

**103 - CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA MOLECULAR DE MAÇARANDUBA - *Manilkara huberi* (DUCKE) A.CHEV. (SAPOTACEAE): POTENCIAL IMPLICAÇÃO NA DEFINIÇÃO DE UM PROGRAMA DE MANEJO SUSTENTÁVEL [Molecular genetic characterization of maçaranduba – *Manilkara huberi* (Ducke) A.Chev. (Sapotaceae): potencial implication in the definition of a sustainable management program]**

Azevedo, V.C.R., Kanashiro, M., Grattapaglia, D., Ciampi, A.Y. .... 153

**104 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALFAVACA (*Ocimum gratissimum* L.) (Chemical characterization of Alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) essential oil)**

Mendes, J.H.M., Gracindo, L.A.M.B., Adjuto, E.N.P., Vianna, J.S., Vieira, R.F., Dantas, M.S.F. .... 154

**105 - CONSTRUÇÃO DE UM MAPA GENÉTICO DE UMA POPULAÇÃO DE *Capsicum annum* UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES (Construction of a *Capsicum annum* population genetic map using microsatellites markers)**

Marques, J.M., Ferreira, M. A., Moretzsohn, M.C., Ribeiro, C.S.C., Buso, G.S.C. .... 155

**106 - DESCRITORES PARA ABACAXI ORNAMENTAL (Descriptors for ornamental pineapple)**

Martins, V.A., Ferreira, F.R., Fávero, A.P. .... 156

**107 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA A ANÁLISE GENÉTICA DE FEIJÃO (Development of microsatellites markers for bean genetic analysis)**

Ohse, B.J.G., Cerqueira, A.A., Junqueira, L.P., Lamas, N.S., Ferreira M.A., Ciampi, A.Y., Buso, G.S.C. .... 157

**108 - DESENVOLVIMENTO E UTILIZAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPLEX DE MARCADORES SSR PARA FEIJÃO (Development and utilization of SSR markers multiplex systems for bean)**

Junqueira, L.P., Lamas, N.S., Ohse, B.J.G., Cerqueira, A.A., Amaral, Z.P.S., Ferreira, M.A., Buso, G.S.C. .... 158

**109 - ESTUDO DA VARIABILIDADE ENTRE ESPÉCIES SILVESTRES E CULTIVADAS DE *Anthurium* (Study of variability among wild and cultivate species of *Anthurium*)**

Oliveira, D.S., Paiva, W.O., Ferreira, M.A., Marques, J.M., Campestrini, A.H., Amaral, Z.P.S., Buso, G.S.C. .... 159

**110 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE PLANTAS ORIUNDAS DA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE GENÓTIPOS DE BATATA-DOCE UTILIZANDO MARCADORES RAPD (Study of genetic variability of plants derived from somatic embryogenesis of sweet potato genotypes using RAPD markers)**

Marouelli, L.P., Buso, G.S.C., Magalhães, J.S., Torres, A.C. .... 160

**111 - LEVANTAMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS DISPONÍVEIS NO HERBÁRIO DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA – (CEN), BRASÍLIA, DISTRITO FEDERAL [Medicinal plants available at the Embrapa Genetic Resources and Biotechnology Herbarium (CEN), Brasília, DF, Brazil]**

Silva, A.A., Skorupa, L.A., Vieira, R.F. .... 161

**112 - MÉTODO DE OBTENÇÃO DE PLÂNTULAS DE *Sinningia lineata* (HJELMQ.) CHAUTEMS (GESNERIACEAE) IN VITRO (Method for plant obtainment of *Sinningia lineata*)**

Viana, C.R.B., Cardoso, L.D., Mendes, R.A. .... 162

**113 - MORFOLOGIA DO CROMOSSOMO SATELITADO EM ACESSOS DE GERMOPLASMA DE *Arachis stenosperma* KRAPOV. & W. C. GREGORY DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL (Satellited chromosome morphology of germplasm accessions of *Arachis stenosperma* Krapov. & W.C.Gregory from central Brazil)**

Silva, G.S., Peñaloza, A.P.S., Valls, J.F.M. .... 163

**114 - OCORRÊNCIA DE ESPÉCIES DE *Manihot* NO CERRADO (Ocurrences of *Manihot* species in Brazilian Savannah areas)**

Andrade, A.P.A., Mendes, R. A. .... 164

**115 - OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO DE *Vasconcella* E *Jacaratia*, PARENTES SILVESTRES DE MAMÃO, NO SUL E CENTRO-OESTE DO BRASIL (Occurrence and distribution of *Vasconcella* and *Jacaratia*, wild relatives of papaya, in the South and Midwest of Brazil)**

Martins, V.A., Ferreira, F.R., Dantas, J.L.L., Noronha, S.E. .... 165

**116 - REVISÃO CITOTAXONÔMICA DE ESPÉCIES BRASILEIRAS DE *Paspalum* (GRUPO NOTATA) A PARTIR DE MATERIAL CONSERVADO EX SITU EM BANCOS DE GERMOPLASMA (Cytotaxonomic review of brazilian *Paspalum* species (Notata group) based on genebank materials)**

Côrtes, A.L.A., Valls, J.F.M., Peñaloza, A.P.S., Santos, S. .... 166

**117 - VARIABILIDADE GENÉTICA DE ESPÉCIES BRASILEIRAS NATIVAS DO SEMI-ÁRIDO UTILIZANDO MARCADOR MOLECULAR RAPD (Genetic variability of a brazilian native semi-arid species using RAPD marker)**

Lacerda, A.L.M., Póvoa, J.S.R., Ciampi, A.Y. .... 167

**CONSERVAÇÃO** ..... 169

**118 - APLICAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES EM *Amburana cearensis* E *Cedrella fissilis* NA DEFINIÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE CONSERVAÇÃO (Conservation strategies for endangered tree species in central Brazil)**

Nakasu, E.T., Ciampi, A.Y., Salomão, A.N., Sevilha, A.C., Vieira, D., Scariot, A. .... 171

**119 - CONSERVAÇÃO IN SITU SOB CULTIVO DE MILHO: REINTRODUÇÃO E DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE OS KRAHÔ (Conservation on-farm of *Zea mays*: reintroduction and genetic diversity among the Krahô Indians)**

Souza, G.C., Zarur, S.B., Dias, T.A.B., Krahô, M. .... 172

**120 - MARCADORES MICROSSATÉLITES COMO INDICADORES DE DIVERSIDADE PARA CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE *Araucaria angustifolia* (BERT.) O. KUNTZE (Microsatellites as indicators of diversity for genetic conservation of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze)**

Schmidt, A.B., Ciampi, A.Y., Guerra, M.P., Nodari, R.O. .... 173

<b>121 - MONITORAÇÃO DE ACESSOS DE FUMO (<i>Nicotina tabacum</i> L.) CONSERVADOS A LONGO PRAZO NA EMBRAPA (Monitoring of tobacco (<i>Nicotiana tabacum</i> L.) accessions in a long-term storage at Embrapa)</b> Mamão, L.S., Pereira Neto, L.G., Wetzel, M.M.V.S., Pais, V.O. ....	174
<b>122 - MULTIPLICAÇÃO DE SEMENTES DE ACESSOS DE BUCHA (<i>Luffa cylindrica</i> (L.) Roema) CONSERVADOS A LONGO PRAZO NA EMBRAPA (Seed multiplication of loofah (<i>Luffa cylindrica</i>) accessions in a long-term storage at Embrapa)</b> Couto, C.S., Pereira Neto, L.G., Wetzel, M.M.V.S., Costa, L.F.M.M., Mamão, J.B. ....	175
<b>123 - QUALIDADE DE SEMENTES DE <i>Coffea arabica</i> CV. CATUAÍ EM CONDIÇÕES DE BANCO DE GERMOPLASMA (<i>Coffea arabica</i> cv. Catuaí seed quality under genebank conditions)</b> Ribeiro, F.N.S., Ribeiro, V.S., Eira, M.T.S., Bartholo, G.F. ....	176
<b>SEGURANÇA BIOLÓGICA</b> .....	177
<b>INTERCÂMBIO E QUARENTENA</b> .....	179
<b>124 - ÁCAROS DO GÊNERO <i>Brevipalpus</i> SP. (PROSTIGMATA: TENUIPALPIDAE) ASSOCIADOS A PLANTAS ORNAMENTAIS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL (Mites of <i>Brevipalpus</i> sp. genus ((Prostigmata: Tenuipalpidae) associated with ornamental plants in Distrito Federal, Brazil)</b> Calvoso-Miranda, L., Návia, D. ....	181
<b>125 - ÁCAROS FITÓFAGOS ASSOCIADOS À CULTURA DO CAFÉ – ESPÉCIES QUE OCORREM NO BRASIL E INVASORAS POTENCIAIS (Phytophagous mites associated with coffee crop - species occurring in Brazil and potential invasive)</b> Gonçalves, G.C.P., Návia, D. ....	182

**126 - AVALIAÇÃO DA COLEÇÃO DE *Mentha* QUANTO À PRESENÇA DE *Oidium* (*Erysiphe biocellata* EHRENB) (Evaluation of *Mentha* collection regarding to the presence of *Oidium*)**

Piazzarollo, T.L.D.R., Nepomuceno, A.K., Castro, P.K.G., Oliveira, A.S., Silva, D.B., Mendes, M.A.S. .... 183

**127 - AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Mentha* QUANTO À FERRUGEM CAUSADA POR *Puccinia menthae* (Evaluation of *Mentha* genotypes regarding to the rust caused by *Puccinia menthae*)**

Nepomuceno, A.K., Piazzarollo, T.L.D.R., Castro, P.K.G., Oliveira, A.S., Silva, D.B., Mendes, M.A.S. .... 184

**128 - AVALIAÇÃO DE TRÊS SUBSTRATOS PARA O CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* VAR. H1 (The assessment of three substrates to the *Pleurotus ostreatus* var. H1 cultivation)**

Piazzarollo, T.L.D.R., Urben, A.F. .... 185

**129 - BANCO DE DADOS DE FUNGOS EM VIDEIRA (Data base of fungi in grapevine)**

Castro, P.K.G., Melo, L.A.M.P., Mendes, M.A.S. .... 186

**130 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS DE TRÊS GÊNEROS DE FUNGOS USANDO MARCADORES RAPD (Molecular characterization of three fungus isolates by rapd markers)**

Lima, A.A., Tutunji, V.L., Lima, L.H.C., Queiroz, P.R. .... 187

**131 - COMPARAÇÃO DOS PERFIS DE MARCADORES MOLECULARES DE *Bemisia tabaci* ENTRE ESPÉCIES DE ALEIRODÍDEOS (Comparison of *Bemisia tabaci* molecular markers patterns among Aleyrodidae species)**

Queiroz, P.R., Oliveira, M.R.V., Lima, L.H.C. .... 188

**132 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES ESPECÍFICOS PARA BIÓTIPOS DE *Bemisia tabaci* DE OCORRÊNCIA NO BRASIL (Development of a specific molecular marker to specific biotypes of *Bemisia tabaci* occurring in Brazil)**

Queiroz, P.R., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V. .... 189

**133 - DIFERENCIAÇÃO DE BIÓTIPOS DE *Bemisia tabaci* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) UTILIZANDO PCR-RFLP E SEQUENCIAMENTO DA REGIÃO ITS1 rDNA [Differentiation of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotypes using PCR-RFLP and sequencing of the spacer region ITS1 rDNA]**

Rabello, A.R., Queiroz, P.R., Simões, K.C.C., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V., Mehta, A. .... 190

**134 - EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO DE SEMENTES DE *Gossypium hirsutum* NA ERRADICAÇÃO DO NEMATÓIDE *Aphelenchoides abyssinicus* (Effect of thermal treatment of *Gossypium hirsutum* seeds in eradication of *Aphelenchoides abyssinicus* nematode)**

Sousa, A.I.M., Rodrigues Junior, A.J.G., Pereira, J.C., Silva, H.A.N.S., Tenente, R.C.V. .... 191

**135 - ERRADICAÇÃO DE PRAGA EXÓTICA EM GERMOPLASMA DE MILHETO (Eradication of exotic pest in millet germplasm)**

Ferreira, R.A.F., Piazzarollo, T.L.D.R., Oliveira, A.S., Fonseca, J.N.L., Camargo, C. P., Mendes, M.A.S. .... 192

**136 - ESTABELECIMENTO DE UMA COLEÇÃO CRIOPRESERVADA DE *Meloidogyne* SPP. (Establishment of a cryopreserved collection of *Meloidogyne* spp.)**

Mota, F.C., Carneiro, R.M.D.G., Martins, I., Randig, O. .... 193

**137 - INSPEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO ENTOMOLÓGICA NA ESTAÇÃO QUARENTENÁRIA DE GERMOPLASMA VEGETAL (Inspection and entomological identification on plant germplasm quarantine station)**

Gonçalves, G.C.P., Silva, S.F., Oliveira, M.R.V. .... 294

**138 - INTERCEPTAÇÃO DE FUNGOS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA EM *Olea europaea* PROCEDENTES DE ISRAEL (Interception of fungi quarantine expression in *Olea europaea* from Israel)**

Nepomuceno, A.K., Piazzarollo, T.L.D.R., Castro, P.K.G., Oliveira, A.S., Mendes, A. P., Mendes, M.A.S., Urben, A. F., Camargo, C. P., Fonseca, J.N.L. 195

**139 - INTERCEPTAÇÃO DE *Palpita unionalis* (HÜBNER) EM PLANTAS DE OLIVEIRA (*Olea europaea*) (*Palpita unionalis* (Hübner) intercepted on olive tree, *Olea europaea*)**

Silva, S.F., Vilarinho, K.R., Gonçalves, G.C.P., Oliveira, M.R.V. .... 196

**140 - INTERCEPTAÇÃO DO ÁCARO *Oxycenus maxwelli* (KEIFER) (PROSTIGMATA: ERIOPHYIDAE) EM MUDAS DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L.) (*Oxycenus maxwelli* (Keifer) (Prostigmata: Eriophyidae) intercepted on olive tree (*Olea europaea* L.))**

Reis, M.T., Gonçalves G.C.P., Miranda L. C., Návia, D. .... 197

**141 - NEMATÓIDES DETECTADOS EM MATERIAL DE INTERCÂMBIO E SUA ERRADICAÇÃO (Detected nematodes in exchanged material and their eradication technique)**

Silva, E.G., Sousa, A.I.M., Prates, M., Tenente, R.C.V. .... 198

**142 - PATOGENICIDADE DE *Meloidogyne javanica* EM *Pffafia glomerata* E *Pffafia paniculata* (Pathogenecity of *Meloidogyne javanica* on *Pffafia glomerata* and *Pffafia paniculata*)**

Cirotto, P.A.S., Mesquita, L.F.G., Almeida, M.R.A., Carneiro, R.M.D.G. .... 199

**143 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA A PRAGA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL, *Agrotis segetum* (RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Agrotis segetum*)**

Almeida, D.C., Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Queiroz, P.R., Hiragi, C.O., Simões, K.C.C., Monnerat, R.G., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V. .... 200

**144 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA A PRAGA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL, *Chilo partellus* (RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Chilo partellus*)**

Silva, S.F., Vilarinho, K.R., Almeida, D.C., Queiroz, P.R., Hiragi, C. O., Simões, K.C.C., Monnerat, R.G., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V. .... 201

**145 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA A PRAGA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL, *Cydia pomonella* (RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Cydia pomonella*)**

Simões, K.C.C., Hiragi, C.O., Queiroz, P.R., Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Almeida, D.C., Monnerat, R.G., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V. .... 202

**146 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA A PRAGA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL, *Helicoverpa armigera* (RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Helicoverpa armigera*)**  
Hiragi, C.O., Queiroz, P.R., Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Simões, K.C.C., Almeida, D.C., Monnerat, R.G., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V. ....203

**147 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA AS PRAGAS DE EXPRESSÃO ECONÔMICA, *Grapholita molesta* E QUARENTENÁRIA, *Grapholita prunivora*, PARA O BRASIL (RAPD-PCR fingerprinting of the pests of economic, *Grapholita molesta* and quarantine, *Grapholita prunivora*, importance to Brazil)**  
Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Queiroz, P.R., Simões, K.C.C., Hiragi, C.O., Almeida, D.C., Monnerat, R.G., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V. ....204

**148 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA A PRAGA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL, *Hyphantria cunea* (DRURY, 1773) (LEPIDOPTERA, ARCTIIDAE ARCTIINAE) (RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Hyphantria cunea* (Drury, 1773) (Lepidoptera, Arctiidae Arctiinae))**  
Queiroz, P.R., Silva, S.F., Vilarinho, K.R., Hiragi, C.O., Simões, K.C.C., Almeida, D.C., Monnerat, R.G., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V. ....205

**149 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO BRASIL VIA WEB, DESENVOLVIDA POR MEIO DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA COM A COOPERAÇÃO DA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA (Bibliographical references of Brazil by Web, developed by Embrapa Genetic Resources and Biotechnology with cooperation of Catholic University of Brasília)**  
Passos, A.P., Rissoli, V.R.V., Tenente, R.C.V. ....206

**150 - REVISÃO NO BANCO DE DADOS DE DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE NEMATÓIDES NO BRASIL, DISPONIBILIZADO NA INTERNET (Update in the database of geographic distribution of nematodes in Brazil, available by internet)**  
Timo, R.T., Ogibowski, A.R.G., Melo, L.A.M.P., Tenente, R.C.V. ....207

**151 - SITUAÇÃO ATUAL DO SISTEMA COMPUTACIONAL DAS ANÁLISES NEMATOLÓGICAS DE DIFERENTES ACESSOS DE GERMOPLAMA IMPORTADOS PELO BRASIL, NO LABORATÓRIO DE QUARENTENA DA EMBRAPA (Update of computational system of nematological analysis in different accessions of imported germplasm by Brazil, at Quarantine Laboratory of Embrapa)**

Nascimento, H.I., Rissoli, V.R.V., Tenente, R.C.V., Cares, J.E. ....208

**152 - SUBSÍDIOS AO PROCESSO DE ELABORAÇÃO DE PLANO DE CONTINGÊNCIA: *Trogoderma granarium* (Subsidies to contingency planning elaboration process: *Trogoderma granarium*)**

Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Oliveira, M.R.V. ....209

**153 - USO DE MARCADORES SCAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* E *M. arenaria* (Application of scar markers to identify *M. incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria*)**

Santos, M.F.A., Randig, O., Carneiro, R.M.D.G. ....210

**ÍNDICE DE AUTORES** .....211

**ÍNDICE DE ORIENTADORES** .....220

**OBSERVAÇÃO: A REDAÇÃO DOS RESUMOS É DE INTEIRA RESPONSABILIDADE DOS AUTORES**

# BIOTECNOLOGIA



# **Biologia Celular**



## **001 - ANÁLISE DE BIBLIOTECAS DE cDNA DE OVÁRIOS DE *Brachiaria brizantha* APOMÍTICA E SEXUAL EM MEGASPOROGÊNESE E MEGAGAMETOGÊNESE (Analysis of cDNA libraries of ovaries from apomictic and sexual *Brachiaria brizantha* in megasporogenesis and megagametogenesis)**

Guimarães, L.A.<sup>1</sup>, Silveira, E.D.<sup>2</sup>, Silva, F.R.<sup>3</sup>, Carneiro, V.T.C.<sup>4</sup>

A apomixia é o modo de reprodução assexuada de plantas por meio de sementes. Ela é encontrada em mais de 300 espécies de plantas, entre elas, *Brachiaria brizantha*. Essa espécie de forrageira é amplamente utilizada como pastagem no Brasil e apresenta tanto o modo de reprodução apomítico, quanto o modo de reprodução sexual. O padrão de expressão gênica observado no desenvolvimento do saco embrionário pode estar relacionado com a apomixia, pois nas plantas apomíticas este apresenta diferenças em relação a uma planta sexual. O saco embrionário é formado de uma célula não reduzida e o desenvolvimento do embrião ocorre sem fertilização. Este trabalho teve como objetivo analisar e comparar a expressão de genes durante o desenvolvimento de ovários de *B. brizantha* apomítica e sexual, em megasporogênese e megagametogênese. RNA total de ovários de *B. brizantha* foi extraído utilizando TRIZOL<sup>®</sup> e mRNA foi isolado com o kit Dynabeads (Dyna<sup>®</sup>). Foram construídas quatro bibliotecas de cDNA com o kit *SMART cDNA Library Construction Kit* (Clontech). Os cDNAs foram clonados em pTriplex2 e transformados em células de *Escherichia coli* XL1Blue. As bibliotecas geradas foram seqüenciadas em aparelho automático ABI 3700. Os cromatogramas foram analisados com o software PHRED e, após o processamento das seqüências (*trimming*), estas foram agrupadas com o programa CAP3, e comparadas por BLAST contra o banco não redundante, para verificar similaridade dos EST's gerados. Em seguida, as seqüências foram anotadas utilizando dados fornecidos no Interpro e Gene Ontology. As bibliotecas mostraram um elevado grau de representatividade. Dos 1536 EST's seqüenciados até o momento, 82% apresentaram qualidade mínima para análise. Dentre elas, 76% não foram agrupadas (*singlets*) e as demais geraram *contigs* compostos por 1 a 5 *reads*, apresentando, assim, baixa redundância. Apenas 18% das seqüências foram descartadas devido à qualidade do seqüenciamento e a contaminações, sendo menos de 0,1% com seqüências de RNA ribossomal de planta. 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 envolvimento dessas seqüências na expressão da apomixia é discutido neste trabalho e 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*.

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, CNPq

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 002 - ANÁLISES PROTÉICAS EM CALLI DE CACAU DESAFIADOS COM ESPOROS DE *Crinipellis perniciosa* (Analyses of the protein pattern of cocoa calli infected with *Crinipellis perniciosa*)

Ramos, A.R.<sup>1</sup>, Teixeira, J.B.<sup>2</sup>, Marcellino, L.H.<sup>3</sup>, Gander, E.S.<sup>4</sup>

A vassoura-de-bruxa é uma doença que ataca as plantações de cacau e é causada por um fungo basidiomiceto, hemibiotrófico, chamado *Crinipellis perniciosa*. Esta endemia é responsável pelas maiores perdas na cacauicultura nacional e, em virtude da grande importância desta cultura para as indústrias de chocolate, várias pesquisas são desenvolvidas visando esclarecer e identificar mecanismos para minimizar os danos provocados por este patógeno. Neste sentido, uma abordagem proteômica, utilizando géis bidimensionais, foi adotada para comparar perfis protéicos de cacau que foram expostos ao fungo. *Calli* de cacau (variedade suscetível) foram inoculados com ca. 2000 esporos e proteínas foram extraídas após 12, 72 e 120 horas. As análises dos géis permitiram identificar quatro regiões distintas que demonstraram modificações quantitativas e qualitativas durante a infecção. Em particular destaca-se uma região, composta de proteínas básicas com PM's em torno de 30 kDa, que desaparecem após 120 horas de infecção. Em outra região, contendo proteínas ácidas com PM's entre 25 a 30 kDa, observa-se o aparecimento de uma proteína específica após 72 horas de infecção. Estes resultados são os primeiros mapas de proteínas que indicam alterações na expressão gênica de cacau na fase inicial e após cinco dias de infecção com *C. perniciosa*. As análises mostraram que esta técnica é capaz de distinguir diferenças no perfil protéico de *calli* de cacau em situações de estresses causadas pela infecção de um patógeno, além de evidenciar o alto grau de dinamismo deste patossistema ao nível protéico.

Apoio: CNPq e Embrapa(Footnotes)

---

<sup>1</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade Federal do Pará-UFGPA

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 003 - CARIOGRAMAS DO ACESSO DIPLÓIDE SEXUAL E DE UM TETRAPLÓIDE APOMÍTICO (CV. MARANDU) DE *Brachiaria brizantha* (POACEAE) (Karyograms of the diploid sexual access and of one tetraploid apomitic access (cv. Marandu) of *Brachiaria brizantha* (Poaceae))

Almeida, L.M.<sup>1</sup>, Nóbrega, J.M.<sup>2</sup>, Carneiro, V.T.C.<sup>3</sup>, Araujo, A.C.G.<sup>4</sup>

Muitas espécies do gênero *Brachiaria* apresentam ocorrência de apomixia e sexualidade dentro de uma mesma espécie. Apomixia é um modo de reprodução assexual com produção de sementes viáveis. Entre os 274 acessos estudados de *B. brizantha*, um foi identificado como diplóide ( $2n = 2x = 18$ ) sexual (BRA002747) e os demais, como tetraplóides ( $2n = 4x = 36$ ) apomíticos. Estudos vêm sendo conduzidos com alguns acessos dessa espécie visando compreender e dominar a apomixia bem como desenvolver ferramentas para assistir o programa de melhoramento genético. A citogenética pode contribuir significativamente para tais estudos. Análises cariomorfológicas de BRA002747 e de um acesso tetraplóide, apomítico (cultivar Marandu) de *B. brizantha* vêm sendo realizadas para se caracterizar a origem desse tetraplóide e identificar marcadores citogenéticos relacionados ao modo de reprodução. Cariogramas e ideogramas foram elaborados baseados na análise de nove células mitóticas coradas pelo método de Feulgen para cada acesso. BRA002747 possui 9 pares de cromossomos com comprimento médio entre 2,40 e 5,15  $\mu\text{m}$ , do tipo submedianos (5), medianos (3) e subterminal (1). Os outros acessos diplóides têm cromossomos com 1,62 a 2,47  $\mu\text{m}$  e são medianos. O cultivar Marandu mostrou cromossomos com 2,10 a 5,60  $\mu\text{m}$  e medianos (17), como os demais acessos poliplóides do gênero. Entretanto, estes têm entre 1,17 e 3,86  $\mu\text{m}$ . Esses dados foram comparados com 12 acessos do gênero e a posição centromérica dos cromossomos de cv. Marandu foi semelhante àquela dos outros acessos tetraplóides descritos de *B. brizantha*. Apesar do comprimento médio de dois pares consecutivos de cv. Marandu e um par de BRA002747 mostrarem-se similares, o que poderia ser um indicativo de autopoliploidia, o tipo do cromossomo difere bastante, sugerindo então que cv. Marandu seja alopóliploide. Técnicas de bandeamento com outros corantes como Giemsa, 4'-6-Diamidino-2phenylindole (DAPI) e cromomicina A (CMA) estão sendo realizadas para se determinar diferenças entre esses cariótipos.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB, PIBIC/CNPq

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília - FTB, PIBIC/CNPq

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 004 - DESENVOLVIMENTO DE CALOS DE *Gossypium hirsutum* (Development of *Gossypium hirsutum* callus by embryogenic somatic)

Borba, T.C.B.<sup>1</sup>, Paes, N.S.<sup>2</sup>, Oliveira, R.S.<sup>3</sup>, Evangelista, I.B.R.<sup>4</sup>, Cavalcante, K.L.<sup>5</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>6</sup>

Mundialmente, o algodão é uma das culturas agrícolas mais importantes e, no Brasil, vem assumindo cada vez mais destacado papel econômico e social. O aparecimento de doenças e pragas, como o bicudo-do-algodoeiro, nas lavouras de algodão, aliado à crescente demanda pelo aumento da produtividade e a melhoria da qualidade da fibra impõem a necessidade contínua de melhoramento genético desta cultura. O estabelecimento de um método de transformação para o algodoeiro é condição essencial para a efetiva introdução de genes de interesse nesta cultura. Entretanto, os métodos tradicionais de transformação (mediado por *Agrobacterium tumefaciens* e biobalística) estão vinculados ao uso de sistemas eficientes de regeneração. A regeneração do algodoeiro baseia-se principalmente nos sistemas de organogênese e embriogênese somática. Este último tem sido considerado um dos mais eficazes, apesar de ser genótipo-dependente. Consiste na formação de embriões a partir de células somáticas de diferentes tecidos da planta. Neste trabalho comparou-se a obtenção de calos de *Gossypium hirsutum*, da cultivar nacional BRS Cedro, em três protocolos de regeneração via embriogênese somática. Dois deles (Kumria 2003 e Mishra 2004) apresentaram resultados bastante semelhantes quanto a capacidade de indução de calos a partir de hipocótilo e quanto à sua aparência (cor e textura). Em ambos houve boa formação de calos friáveis verde-claros com aspecto granulado. Já o protocolo descrito por Sakhanokho (2001) resultou na formação de calos verde-escuros, rígidos e com raízes. Assim, para a produção de calos embriogênicos é essencial que na etapa inicial (indução de calos) se utilize uma combinação de auxinas e citocininas adequada para a ocorrência de calos com alta capacidade de crescimento, apresentando células do tipo arredondadas e com citoplasma denso. Comparamos, então, três combinações de auxina e citocinina e verificamos que a cv. BRS Cedro, assim como a Coker 312 (americana) apresentou boa formação de calos friáveis na presença de 0,1 mg/l 2,4-D e 0,5 mg/l cinetina.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, mestranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>4</sup>Eng. Agr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **005 - INDUÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS EM EXPLANTES FOLIARES DE *Coffea canephora* SUBMETIDOS A DIFERENTES TRATAMENTOS COM 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D) (Embryogenic calli induction in *Coffea canephora* leaf explants with different treatments of 2,4-D)**

Palácio, T.C.<sup>1</sup>, Barros, E.V.S.A.<sup>2</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>3</sup>, Teixeira, J.B.<sup>4</sup>

A cultura de tecidos é uma técnica importante para o estudo *in vitro* e a propagação de várias espécies lenhosas. Este trabalho objetivou verificar a capacidade de indução de embriogênese indireta para obtenção de calos embriogênicos friáveis de 3 clones da variedade Robustão Capixaba. Explantes foliares foram inoculados em meio de cultura C modificado contendo 2% de sacarose e com diferentes concentrações de ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D). Segmentos foliares de aproximadamente 0,49 a 0,81 cm<sup>2</sup> foram incubados em meio C modificado e 2,4-D (0; 5; 10; ou 20 iM). Todos os explantes foram cultivados em placas de Petri contendo 25ml de meio mantidas no escuro em sala de crescimento à temperatura de 26 ÚC±2. Depois de 30 dias da inoculação, os explantes foram transferidos para meios frescos mantendo-se as mesmas concentrações originais. Após 5 meses de inoculação, foram obtidos setores de calos embriogênicos friáveis na maioria dos explantes inoculados. Observou-se que os explantes provenientes do clone 02 resultaram em um volume maior de calos embriogênicos. A análise comparativa entre as diferentes concentrações do 2,4-D indicaram que a maior quantidade de calos embriogênicos foi obtida nos meios de cultura suplementados com 5 e 10iM. Explantes dos clones 03 e 23 formaram muito calos secundários com aspecto esponjoso, não friáveis. No meio sem 2,4-D, houve o surgimento de embriões somáticos, indicando ter ocorrido embriogênese direta. Não houve formação de calos na concentração de 2,4-D 20iM. Os calos embriogênicos friáveis serão utilizados em experimentos de transformação genética.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB, Facual

<sup>2</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



# **Biologia Molecular**



## 006 - ANÁLISE COMPARATIVA DE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DE *Meloidogyne incognita* VIA ELETROFORESE BIDIMENSIONAL (Comparative analysis of different *Meloidogyne incognita* development phases by two-dimensional eletrophoresis)

Casado-Filho, E.<sup>1</sup>, Rocha, T.L.<sup>2</sup>, Evaristo, R.G.S.<sup>3</sup>, Noronha, E.F.<sup>4</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>, Franco, O.L.<sup>6</sup>

Nematóides fitopatogênicos infestam diversas lavouras de importância comercial, acarretando perdas anuais ao redor de US\$125 bilhões em todo o mundo. Este patógeno se instala nas raízes, sendo notado quando já causou severos danos à lavoura. Existem muitas estratégias descritas para o controle desse patógeno, porém esbarram na efetividade ou na toxicidade ao meio ambiente. Visando desenvolver tratamentos mais efetivos contra *M. incognita*, foram realizadas análises das proteínas de ovos, juvenis de segundo estágio (J) e fêmeas usando proteômica comparativa. Para obtenção das proteínas totais,<sup>2</sup> os materiais biológicos foram macerados individualmente e centrifugados. Os sobrenadantes foram quantificados pelo método de Bradford (0,5µg/µL), precipitados com ácido tricloroacético para a concentração final de 25µg e analisados em SDS-PAGE 15%. Proteínas com pesos moleculares entre 10 e 200kDa foram observadas para todas as amostras analisadas. Adicionalmente, na faixa entre 20 e 30kDa foram visualizadas proteínas de pesos moleculares semelhantes. Para a eletroforese bidimensional, foram aplicados 100µg de proteínas para cada amostra, em tiras de 18 cm de comprimento e pH variando linearmente de 3 a 10. Na segunda dimensão, as proteínas foram separadas em SDS-PAGE linear 12%, usando o sistema ISO-Dalt SIX. Após a eletroforese, géis foram corados com nitrato de prata. As análises foram realizadas em duplicata. Os resultados obtidos demonstraram uma grande variação entre as amostras com relação à distribuição das moléculas no gel. As proteínas dos ovos se concentraram na região central do gel (pH próximo a 6), as do J se distribuíram de forma regular pelo gel e as das fêmeas se concentraram em regiões mais ácidas do gel (pH próximo a 4). A análise eletroforética mostrou diferenças significativas na composição protéica desses estágios de desenvolvimento. Com a identificação dessas proteínas, será possível desenvolver métodos de controle direcionados a elas, aumentando a especificidade e a efetividade.

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB, CNPq

<sup>2</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

## **007-ANÁLISE DA INTERAÇÃO DA TOXINA CRY1Ia COM AS MEMBRANAS DO INTESTINO MÉDIO (BBMVs) DOS INSETOS *Anthonomus grandis* E *Spodoptera frugiperda* (Interaction analysis of Cry1Ia toxin with brush border membrane vesicles from *Anthonomus grandis* and *Spodoptera frugiperda*)**

Magalhães, M.T.Q.<sup>1</sup>, Brand, G.D.<sup>2</sup>, Bloch Jr., C.<sup>3</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>4</sup>

Toxinas Cry provenientes de *Bacillus thuringiensis*, também denominadas de  $\delta$ -endotoxinas, possuem ampla atividade inseticida, específicas para insetos de diferentes ordens. Esta característica vem sendo utilizada no desenvolvimento de plantas transgênicas visando o controle de insetos-praga de culturas de importância econômica. Dentre estas, destaca-se o algodão que tem como principais pragas o bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*) e a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), ambas causadoras de grandes prejuízos econômicos. Quando as toxinas Cry são ingeridas pelos insetos, estas são solubilizadas devido ao pH alcalino do fluido intestinal e ativadas por proteases específicas. A toxina ativada interage com moléculas-alvo presentes na membrana celular, causando formação de poros e desbalanço iônico. O influxo de íons aumenta para dentro da célula, juntamente com a entrada de água, levando a célula à turgescência, lise e morte do inseto. Diferentes estudos vêm sendo realizados buscando a elucidação do mecanismo molecular de ação e da interação das toxinas Cry com seus receptores de membrana. Visando identificar o mecanismo de ação da toxina Cry1Ia12 (já caracterizada em bioensaios seletivos contra as pragas do algodoeiro, *A.grandis* e *S. frugiperda*), estudos foram realizados utilizando um biosensor baseado no fenômeno de Ressonância Plasmônica de Superfície (Biacore 3000). A toxina foi imobilizada em um *chip* com cadeias de dextran carboxi-metilado e as vesículas obtidas a partir do intestino médio dos insetos (BBMVs) foram injetadas nas superfícies protéicas. A complexação entre a proteína Cry e as BBMVs foi monitorada em tempo real, sendo os analitos micro-recuperados, identificados e parcialmente sequenciados por espectrometria de massa em tandem (MS/MS). A próxima etapa deste trabalho envolve a determinação das constantes cinéticas da interação da toxina pelas BBMVs. Estes estudos contribuirão para a elucidação da dinâmica molecular de interação e a geração de novas moléculas de maior toxicidade e especificidade contra os insetos-alvo.

---

<sup>1</sup>Eng. Agr., mestranda, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

<sup>2</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 008 - ANÁLISE DE DEFENSINAS PRESENTES NO TRANSCRIPTOMA DO CAFÉ (*Coffea arabica*) (Analysis of defensins present in coffee (*Coffea arabica*) transcriptome)

Barbosa, A.E.A.D.<sup>1</sup>, Souza, D.S.L.<sup>2</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>3</sup>

As defensinas pertencem a uma classe de peptídeos que fazem parte da resposta imune inata e são presentes em plantas, invertebrados e vertebrados. Nas plantas esses peptídeos são pequenos (45-54 aminoácidos), altamente básicos, ricos em cisteínas e, aparentemente, estão difundidos por todo reino vegetal. Estruturalmente as defensinas possuem 8 cisteínas conservadas que formam 4 pontes dissulfeto. Diversos estudos utilizando difração de raio-x e NMR mostraram que esses peptídeos apresentam uma folha-b com 3 fitas e uma a-hélice paralela. Esses pequenos peptídeos têm mostrado atividade antifúngica e bactericida, o que os torna promissores para o desenvolvimento de plantas transgênicas resistentes a patógenos. Portanto, este trabalho teve como objetivo a identificação e análise de clones de defensinas presentes no transcriptoma do café, para que num futuro possam ser analisados experimentalmente e utilizados no desenvolvimento de plantas resistentes a patógenos. Os clones com similaridade a defensinas foram encontrados através de diversos “tBLASTn” contra o banco de dados do café, nessas buscas foram utilizadas as 15 defensinas de *Arabidopsis thaliana* como “query”. Um total de 7 clones foram encontrados, sendo 4 contigs e 3 singlets. Esses clones foram alinhados com a defensina PDF2.1 de *A. thaliana* para a visualização das cisteínas conservadas. As seqüências protéicas deduzidas foram submetidas a um BLASTp contra o GENBANK para a identificação de domínios conservados e proteínas semelhantes. Em apenas 3 clones foram identificados domínios relacionados à defensinas. No entanto, todos obtiveram hits com defensinas de outras plantas. Uma análise filogenética entre as defensinas do café e as de *Arabidopsis* mostrou que 4 delas são bastante divergentes, e as 3 restantes são mais próximas a defensina PDF2.5 de *A. thaliana*. As seqüências protéicas foram submetidas ao site SwissModel para a predição de estrutura tridimensional. Essa predição mostrou que todos os clones analisados possuem as folhas-b e a-hélice característicos das defensinas. Todas as análises realizadas asseguram que os clones identificados são potencias defensinas do café.

---

<sup>1</sup>Biólogo, doutorando, Universidade Católica de Brasília-UCB, CAPES

<sup>2</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB, CNPq

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 009 - ANÁLISE “IN SILICO” DA EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL DE *Arachis stenosperma* INOCULADO COM NEMATÓIDE DAS GALHAS (*In silico* analysis of differential expression of genes of *Arachis stenosperma* inoculated with root-knot nematode)

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

O amendoim cultivado, *Arachis hypogaea*, é altamente suscetível ao nematóide das galhas *Meloidogyne arenaria*, *javanica* e *incognita*. Já o amendoim silvestre, *A. stenosperma*, apresenta resistência à maioria das espécies deste nematóide. O mecanismo de resistência de *A. stenosperma* foi recentemente estudado, tendo demonstrado que o mesmo é decorrente da baixa penetração dos juvenis de segundo estágio e da ocorrência de reação de hipersensibilidade. Visando a identificação de genes potencialmente envolvidos nestes mecanismos de defesa, realizou-se a análise do perfil de expressão diferencial de genes de plantas submetidas a este stress biótico. Para tal, foram construídas duas bibliotecas de cDNA, a partir de mRNAs de raízes de plantas de *A. stenosperma* inoculadas com 10 000 J2 e de raízes não inoculadas. Até o momento, foram produzidas cerca de 8750 *ESTs* (*expressed sequenced tags*) das duas bibliotecas. Na análise preliminar das seqüências geradas, já foi possível a identificação de genes envolvidos com resistência e a geração de mais de 200 marcadores genéticos do tipo *SSRs* (*microsatélites*) que estão sendo utilizados na construção de um mapa de referência de *Arachis*. Os *ESTs* gerados a partir das bibliotecas serão comparados entre si e subtraídos, *in silico*, para a identificação dos genes diferencialmente expressos quando do ataque dos nematóides. A geração de *ESTs* é a estratégia utilizada na construção do primeiro banco de seqüências de *Arachis* silvestre, que também conta com seqüências oriundas de bancos de cDNA de plantas desafiadas com fungos foliares e *Rhizobium*.

---

<sup>1</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 010 - ANÁLISE PROTEÔMICA DE CEPAS DE *Bacillus thuringiensis* DURANTE O CRESCIMENTO E O PROCESSO DE ESPORULAÇÃO (Comparative proteomic analysis of *Bacillus thuringiensis* strains during growth phase and sporulation process)

Silva, T.S.<sup>1</sup>, Vasconcelos, E.A.R.<sup>2</sup>, Magalhães, M.T.Q.<sup>3</sup>, Rocha, T.L.<sup>4</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>

Bactérias entomopatogênicas esporulantes gram-positivas utilizam uma grande variedade de proteínas que as auxiliam a invadir, infectar e matar seus hospedeiros. Muitas destas proteínas são produzidas durante a esporulação e caracteristicamente se encontram em cristais paraesporais. A mais estudada destas bactérias é o *Bacillus thuringiensis* (B.t.), cujas variedades já identificadas possuem infectividade específica para diversas ordens de insetos (Lepidóptera, Díptera, Coleoptera, Hymenoptera, dentre outras). As proteínas entomopatogênicas de *B.t.* há muito tempo vêm sendo utilizadas para o controle de insetos-praga, inicialmente como bioinseticidas, e a partir 1996, também através da obtenção de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas Cry (de cristal) de *B.t.* Além das bem caracterizadas proteínas Cry, são também conhecidas proteínas entomopatogênicas solúveis produzidas durante a fase de crescimento vegetativo denominadas “Vips” (Vegetative Insecticidal Proteins), sendo estas últimas ainda pouco exploradas biotecnologicamente. Tendo isso em vista, objetiva-se neste trabalho caracterizar proteômica a cepa S811 de *B. thuringiensis*, a qual possui conhecida atividade contra coleópteros, lepdópteros e dípteros, durante as diferentes fases do processo de esporulação. Para tanto, estabeleceu-se uma curva de crescimento para a cultura na qual relacionamos a densidade ótica do inoculo com a quantidade de proteínas citosólicas que se pode extrair em diferentes intervalos de tempo, após a inoculação. Os intervalos de tempo foram: 8 horas após a inoculação (HAI), estágio vegetativo e início da fase de crescimento exponencial; 16 HAI, quando tem início a formação dos esporos; 24 HAI, quando é possível observar esporos e cristal no interior das células; e 32 HAI, quando tem início o processo de esporulação, sendo possível observar esporos e cristais livres no meio. O aspecto das células em cada um destes estágios foi avaliado por Microscopia de Contraste de Fase e os extratos protéicos obtidos foram utilizados para o estabelecimento de mapas de referência bidimensionais. Baseado nos mapas de referências, spots serão excisados e analisados por espectrometria de massa e sequenciamento de proteínas. As seqüências das proteínas identificadas poderão ser utilizadas para o isolamento e clonagem de seus genes, As proteínas recombinantes para esses genes serão validadas em sistemas heterólogos.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biólogo-bioquímico, M.Sc., Bolsista de DTI, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., mestranda, PPGBCM, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 011 - CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS DE ESTs DE RAÍZES DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum*) INFECTADAS COM O NEMATÓIDE DE GALHA DE RAIZ (*Meloidogyne incognita*) (Construction of ESTs library from root cotton (*Gossypium hirsutum*) infected with the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*))

Paes, N.S.<sup>1</sup>, Viana, A.A.B.<sup>2</sup>, Lima, L.M.<sup>3</sup>, Batista, J.A.N.<sup>4</sup>, Guimarães, L.M.<sup>5</sup>, Barbosa, A.E.A.D.<sup>6</sup>, Souza, D.S.L.<sup>7</sup>, Oliveira Neto, O.B.<sup>8</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>8</sup>, Togawa, R.C.<sup>2</sup>, Martins, N.F.<sup>3</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>3</sup>

O agronegócio é um dos mais importantes setores da economia nacional, onde se destaca a produção de algodão (*Gossypium hirsutum*). No entanto, a produção de algodão sofre perdas significativas devido ao ataque de fitonematóides, especialmente o *Meloidogyne incognita*. A meloidoginose é a patologia resultante da interação nematóide/raiz vegetal que provoca diferenciação de focos celulares, levando à formação de galhas radiculares, que podem reduzir dramaticamente a produção vegetal e provocar a morte das plantas nos estágios mais crônicos da infecção. Uma das maneiras mais eficientes de controle consiste na utilização de variedades resistentes, que vêm sendo desenvolvidas por meio de melhoramento convencional. Visando estudar os mecanismos envolvidos na resistência, foram construídas duas bibliotecas de ESTs de raiz de algodão, resistente e susceptível a esse nematóide, utilizando o kit *Superscript Plasmid System with Gateway Technology for cDNAs synthesis and Cloning*. Os cDNAs foram então seqüenciados, e a montagem das seqüências das duas bibliotecas foi realizada em conjunto, de forma a se buscar genes que estejam sendo diferencialmente expressos. Os dados gerados resultaram em 2.262 seqüências para as bibliotecas de raiz de algodão resistente e susceptível. A montagem resultou em 1.827 grupos sendo 234 *contigs* e 1.593 *singlets*. Dentre os genes que foram identificados encontram-se genes de resistência a estresse biótico e abiótico e genes de resistência a pragas e patógenos. As seqüências gênicas com potencial de expressão diferencial e com potencial de fator de resistência estão sendo analisadas e serão amplificadas para utilização em experimentos de *Northern blotting*. Posteriormente, essas seqüências poderão ser utilizadas na transformação de plantas com o intuito de produzir variedades de interesse agrônômico resistentes ao nematóide.

---

<sup>1</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup>Biólogo, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biomédica, graduada, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Biólogo, doutorando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>7</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>8</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **012 - CONSTRUÇÃO E ANÁLISE DE UMA BIBLIOTECA SUBTRATIVA DE cDNAs DE PLANTAS *Coffea arabica* INOCULADA E NÃO INOCULADA COM O NEMATÓIDE DA GALHA *Meloidogyne paranaensis* (Construction and analysis of a subtractive cdna library of inoculated and non inoculated *Coffea arabica* with root knot nematode *Meloidogyne paranaensis*)**

Barros, E.V.S.A.<sup>1</sup>, Lecouls, A.C.<sup>2</sup>, Oliveira, P.E.F.<sup>3</sup>, Silva, F.R.<sup>4</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>5</sup>, Fernandez, D.<sup>2</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>

O café é uma das principais *commodities* no mercado mundial, perdendo em importância apenas para o petróleo e seus derivados. O Brasil responde por cerca de 27% da atual produção mundial, que é superior a 105 milhões de sacas de café e é o segundo consumidor mundial, atrás apenas dos Estados Unidos. A agricultura cafeeira sofre enormes prejuízos, pois a espécie *Coffea arabica*, que corresponde a 82% da produção de grãos, é altamente susceptível a várias pragas e doenças. Grande parte dos danos nos cafeeiros são causados por fitonematóides que parasitam predominantemente as raízes das plantas e são considerados como uma das mais importantes moléstias de muitas culturas, causando danos desde a diminuição de produção até a morte das plantas. Para o cafeeiro, um dos gêneros mais danosos de nematóides é o *Meloidogyne spp.* (Nematóide das Galhas) que vêm afetando as plantações e inviabilizando o sistema de produção em áreas infestadas, sendo *M. paranaensis* uma das espécies mais agressivas. O objetivo do trabalho foi realizar uma análise molecular da interação planta-hospedeiro (cafeeiro e nematóide). Foram realizados estudos utilizando a genômica funcional para identificação e isolamento de sequências gênicas relacionadas à infecção por nematóides fitosedentários *Meloidogyne spp.*, visando a expressão diferencial de genes em plantas suscetíveis de *Coffea arabica* submetidas ao inóculo de *M. paranaensis*. A partir dos RNAs isolados nas condições contrastantes do estresse biótico causado pelo nematóide, foram sintetizadas fitas de cDNA, das quais posteriormente foi construída uma biblioteca subtrativa. Uma análise preliminar de 96 clones da biblioteca mostrou a presença de genes relacionados à resposta a patógenos, assim como alta porcentagem de sequências sem homólogos conhecidos.

---

<sup>1</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., IRD - Montpellier

<sup>3</sup>Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB, Facual

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**013 - DESENVOLVIMENTO DE CHIPS DE cDNA EM MACRO-ARRANJOS PARA IDENTIFICAR GENES REGULATÓRIOS EM MANDIOCA (*Manihot esculenta* Cranz.) (Development of a macro array cDNA chip to identify regulatory genes in cassava (*Manihot esculenta* Cranz.))**

Agostini, M.A.V.<sup>1</sup>, Souza, C.R.B.<sup>2</sup>, Carvalho, L.J.C.B.<sup>3</sup>

Landraces de mandioca com fenótipos diferenciados de raízes de reserva foram coletadas na Amazônia para estudos das relações fenótipo-genótipo em populações naturais com variantes na rota metabólica de amidos e carotenóides. Ferramentas de biológica molecular foram geradas através desta diversidade, incluindo estoque genético com mutantes espontâneos, bibliotecas de cDNA, banco de seqüências de EST, banco de dados de EST, banco de dados de proteínas do cromoplasto de raízes, além de ajustes das técnicas de macro arranjo. O presente trabalho dá continuidade a estas pesquisas, e tem como objetivo desenvolver chips especializados com cDNA para diagnosticar a expressão de genes regulatórios envolvidos nos mecanismos genéticos e de desenvolvimento de raiz de reserva nos variantes da síntese e acúmulo de amidos raros e carotenóides. Das 6 bibliotecas subtrativas de plantas açucaradas e coloridas foram seqüenciados 2880 clones e gerado um banco de 1137 seqüências de alta qualidade (Phred >20). Estas foram submetidas à análise de homologia em bancos de seqüências públicas para identificação da possível função do gene correspondente aos ESTs. As funções biológicas foram classificadas de acordo com o banco de dados KEGG e redundâncias de seqüências foram identificadas através de análises de identidade da seqüência de gene específico e agrupamentos de seqüências utilizando-se a página AliBee - Multiple Alignment na formação de grupos idênticos e subgrupos redundantes. Um representante de cada subgrupo de seqüência de gene idêntico que codifica para fatores de transcrição, tradução e seqüências sem função conhecida (Non Hit, Proteínas Desconhecidas e Proteínas Putativas) foram selecionados para composição dos chips totalizando 590 ESTs. Macro-arranjos foram montados em membranas utilizando-se um carimbo de 96 pinos e um suporte com quatro posições diferentes totalizando 384 spots. As análises de expressão estão em andamento no laboratório de bioquímica e biofísica onde se almeja hibridizar as membranas com mRNA extraído de raízes de reserva das mandiocas com os fenótipos açucaradas e as coloridas buscando novos genes e genes reguladores envolvidos em tais características como também genes específicos de raiz de reserva e envolvidos no desenvolvimento do órgão de reserva.

---

<sup>1</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Universidade Federal do Pará-UFPA

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 014 - DESENVOLVIMENTO DE FERRAMENTA WEB PARA ANÁLISE DE DADOS DE PROJETOS GENOMA DO TIPO EST (Development of Web tool for EST genome projects data analysis)

Sales, R.M.O.B.<sup>1</sup>, Silva, F.R.<sup>2</sup>

Projetos genoma com estratégia do tipo EST trazem grandes vantagens em relação àqueles com estratégia de seqüenciamento completo. Além do custo menor, os clones obtidos apresentam seqüências codificadoras, não contendo DNA intergênico ou íntrons. Entretanto, trabalhar com o volume de dados gerados por um projeto do tipo EST manualmente é inviável. Projetos Genoma em desenvolvimento na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, como o Café ou Banana, por exemplo, têm, respectivamente, 145.507 e 13.297 seqüências distintas. As ferramentas de análise de seqüências disponíveis atualmente são de difícil uso. A maior parte delas são desenvolvidas para operar em sistemas Unix, e poucas apresentam uma interface amigável, o que limita ainda mais que elas sejam usadas por usuários com pouco conhecimento de computação. Nesse trabalho criamos uma ferramenta que automatiza esse processo, permitindo que um pesquisador faça suas análises de maneira rápida, fácil e precisa, podendo focar apenas nos resultados e como eles se relacionam. A ferramenta é composta de vários sistemas de busca interligados. Cada sistema abrange um tipo de informação desejada. Eles mostram os resultados procurados e todas as informações correlacionadas na tela. Com isso, o pesquisador só precisa visualizar e interpretar os resultados. Dessa forma, mesmo uma pessoa leiga em relação a computadores pode trabalhar em pouco tempo e de maneira muito mais eficiente. Como todo o processamento da informação ocorre no servidor, o usuário não precisa de um computador com grande poder de processamento. Acesso à internet e um navegador (*browser*) é todo o equipamento necessário para trabalhar com os dados. Além disso, a ferramenta conta com mecanismos de segurança equivalentes aos sistemas de *home-banking*, evitando que as informações sejam acessadas por pessoas não autorizadas.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 015 - DETERMINAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DE FRAGMENTOS DO GENOMA DE *Arabidopsis thaliana* COM AFINIDADE PELA PROTEÍNA ROLA DE *Agrobacterium rhizogenes* (Functional properties determination of the *Arabidopsis thaliana* genome sequences with affinity to the RolA protein of *Agrobacterium rhizogenes*)

Santos, D.B.M.<sup>1</sup>, Barros, L.M.G.<sup>2</sup>, Almeida J.D.<sup>2</sup>, Carneiro, M.<sup>3</sup>

A *Agrobacterium rhizogenes* é uma bactéria fitopatogênica que, em contato com um ferimento na planta, adere à parede celular e transfere um segmento de DNA (T-DNA) para o núcleo da célula. Este T-DNA, proveniente do plasmídeo pRi contém genes responsáveis por induzir a síntese de auxinas nas células vegetais, induzindo a formação de raízes adventícias no local da infecção (síndrome de raiz em cabeleira). Dos genes que compõem o T-DNA, o chamado *rolA*, é suficiente para induzir sintomas como formação de raízes, enrugamento foliar, atraso na floração e senescência, inflorescências condensadas, encurtamento de entrenós e crescimento radicular deficiente. Ensaio *in vitro* demonstraram que a proteína RolA possui afinidade por seqüências do DNA de *Arabidopsis thaliana*, sugerindo que distúrbios provocados por RolA podem ser resultado de sua interação com promotores celulares e da ativação ou repressão de genes a eles associados. Este trabalho teve como objetivo identificar a capacidade promotora, espacial e temporal, de três destes fragmentos do genoma de *A. thaliana*, utilizando a região codificadora da enzima GUS (â-glucuronidase) como gene repórter. Os genes quiméricos foram clonados, independentemente, em plasmídeos binários pBIN19, que foram introduzidos em plantas de *Nicotiana tabacum*. Uma vez obtidas, as plantas transformadas foram analisadas quanto à expressão de *gus*, porém essa expressão não ocorreu em nenhum tecido dessas plantas. Isso pode ter ocorrido devido à ausência da proteína RolA na planta, já que a interação de RolA com essas seqüências é que regularia a sua capacidade promotora. Argumentou-se então que, na presença dessa proteína, a expressão ocorreria. Desta forma, as plantas transgênicas obtidas foram cruzadas com plantas já transformadas com *rolA*, sendo a segunda a doadora de pólen. As sementes resultantes foram semeadas e após 90 dias foi realizado o teste de expressão de GUS em folha, raiz e caule das plantas desenvolvidas, porém, novamente, nenhuma expressão foi detectada. Concluiu-se que, os fragmentos aqui utilizados como promotores putativos não são capazes de promover a expressão do gene repórter nos tecidos testados. Novos testes histoquímicos serão realizados na inflorescência das plantas para a detecção de GUS nos órgãos reprodutivos.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **016 - ESTUDO PROTEÔMICO PRELIMINAR DAS PROTEÍNAS RELACIONADAS À RESISTÊNCIA AO *Meloidogyne incognita* EM RAÍZES DE ALGODÃO (Preliminar proteomic study of cotton root proteins related to *Meloidogyne incognita* resistance)**

Costa, P.H.A.<sup>1</sup>, Evaristo, R.G.S.<sup>2</sup>, Magalhães, J.C.C.<sup>3</sup>, Vasconcelos, E.A.R.<sup>4</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>, Rocha, T.L.<sup>6</sup>

Nas últimas décadas o consumo mundial de algodão vem crescendo acentuadamente. Entretanto, a produção desta cultura no Brasil é afetada por grandes perdas, ocasionadas principalmente pelo ataque de pragas. Neste contexto, o Brasil deixou de ser um dos grandes exportadores para um dos maiores importadores de algodão. Entre as diversas pragas que atacam o algodoeiro, destaca-se o nematóide *Meloidogyne incognita*. Há um esforço global para controlar o avanço desta praga. Uma abordagem bastante promissora é o estudo proteômico, o qual envolve a análise sistemática das proteínas expressas em um determinado órgão ou tecido. Com o objetivo de identificar proteínas que estejam relacionadas à resistência do algodoeiro ao ataque de nematóides foram feitos estudos comparativos dos padrões eletroforéticos bidimensionais de raízes de algodoeiro susceptível e resistente ao nematóide. Como controle foram usados os padrões eletroforéticos bidimensionais obtidos de nematóides na fase de desenvolvimento J2. Resultados preliminares demonstram diversas proteínas que são expressas diferencialmente nas plantas susceptíveis e resistentes. Além disso, é possível visualizar também proteínas que são expressas nas plantas resistentes após seis dias de infecção com os nematóides. As proteínas estão sendo isoladas e analisadas. Os resultados demonstram o potencial da tecnologia proteômica na prospecção de proteínas e/ou genes de interesse. As perspectivas futuras incluem a melhoria do método de extração das proteínas, a otimização das eletroforeses bidimensionais e a identificação das proteínas por espectrometria de massa.

---

<sup>1</sup>Bioquímica, doutorando, Universidade Federal do Ceará-UFC

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB, CNPq

<sup>3</sup>Técnico de laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, M.Sc., Bolsista CNPq/ RHAE – DTI

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 017 - ESTUDOS DO PROMOTOR DO GENE “OPAQUE-2-LIKE” DE MILHETO (*Pennisetum glaucum*) (Studies of the promotor of an opaque-2-like gene from pearl millet)

Pires, M.V.V.<sup>1</sup>, Falcão, L.L.<sup>2</sup>, Cabral, G.B.<sup>2</sup>, Gomes, C.S.<sup>3</sup>, Pereira, J.M.N.<sup>4</sup>, Meireles Jr., H.J.<sup>5</sup>, Gander, E.S.<sup>6</sup>, Marcellino, L.H.<sup>7</sup>

Recentemente isolamos de milho um gene semelhante a *opaque-2* de milho (*o2mt*). *Opaque-2* é um fator de transcrição que controla a expressão de proteínas de reserva em sementes. Dentro do âmbito do nosso projeto de prospecção de promotores utilizáveis em programas de melhoramento de gramíneas, via transgenia, iniciamos a caracterização funcional do promotor deste gene. Até o momento temos a disposição 550pb da região promotora e análises *in silico* mostram a presença de 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 é suficiente para promover a transcrição de um gene repórter em gramíneas. O presente trabalho descreve a construção de um vetor contendo o promotor do gene *o2mt* controlando a expressão do gene repórter *gus* e a avaliação da expressão transiente em semente de milho e braquiária, via biobalística. Para tal, amplificou-se o fragmento do referido promotor utilizando-se primers específicos 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 GUS). O plasmídeo resultante foi seqüenciado e utilizado para avaliação da expressão transiente em gramíneas. Os resultados mostraram a expressão do repórter *gus* revelando a funcionalidade do fragmento do promotor testado. Tanto em milho quanto em braquiária a expressão foi observada em sementes. 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

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Faculdade da Terra de Brasília-FTB

<sup>4</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>5</sup>Ensino Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 018 - EVOLUÇÃO MOLECULAR IN VITRO: SELEÇÃO DE GENES PARA TOXINAS CRY MELHORADAS COM POTENCIAL USO NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (Molecular evolution *in vitro*: selection of genes for improved Cry toxins with potential use in control of *Spodoptera frugiperda*)

Oliveira, G.R.<sup>1</sup>, Ramos, H.B.<sup>2</sup>, Barbosa, A.E.A.D.<sup>3</sup>, Figueira, E.L.Z.<sup>4</sup>, Silva, M.C.M.<sup>5</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>

*Bacillus thuringiensis* é uma bactéria gram-positiva que produz d-endotoxinas ativas contra diversas espécies de insetos-praga de importância na agricultura. Os genes *cry* obtidos de *B. thuringiensis* têm sido largamente utilizados no desenvolvimento de plantas transgênicas resistentes a insetos-praga. A técnica de evolução molecular *in vitro* tem sido empregada com o objetivo de gerar novos genes recombinantes com propriedades melhoradas. O presente trabalho descreve o desenvolvimento de novas proteínas Cry, ativas contra a lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*), uma das principais pragas do milho e do algodão. Utilizando as técnicas de *DNA Shuffling* e *Phage Display*, uma biblioteca foi construída através da recombinação do gene *cry8Ga*, recentemente isolado pelo nosso grupo. Este gene foi inicialmente amplificado por PCR usando primers específicos contendo o sítio de restrição para a enzima *Sfi* I. Após amplificação, o gene foi submetido à fragmentação pela enzima *DNase* I e o produto desta reação (fragmentos de 30 – 50 pares de base) foi submetido a novas reações de PCR na ausência de primers para obtenção de novos genes recombinantes. O produto do gene recombinado foi digerido com *Sfi* I, introduzido no fagomídeo pCOMB 3xss e usado para transformar *Escherichia coli* (XL1 Blue), resultando em uma biblioteca contendo 10<sup>7</sup> variantes para o gene *cry8Ga*. Os clones obtidos foram selecionados por *Phage Display*, usando como ligante as proteínas de membrana do intestino (BBMV) da *S. frugiperda*. A análise dos mutantes, por meio de bioensaio, demonstrou que a técnica de *DNA shuffling* em combinação com *Phage Display* foi eficiente na geração de novos genes. Desta biblioteca, 7 genes *cry8Ga* recombinantes expressaram toxinas com expressiva atividade melhorada. O potencial dessas novas toxinas Cry no controle de *S. frugiperda* está sendo avaliado para posterior utilização dos genes em programas de melhoramento da planta do algodão.

---

<sup>1</sup> Biólogo, mestrando, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS, CNPq

<sup>2</sup> Química, graduando, Universidade de Brasília-UnB, Faccual

<sup>3</sup> Biólogo, doutorando, Universidade Católica de Brasília-UCB, CAPES

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

<sup>5</sup> Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 019 - HIBRIDIZAÇÃO IN SITU DE DUAS SEQÜÊNCIAS DE mRNA RELACIONADAS COM O DESENVOLVIMENTO DE OVÁRIOS DE *Brachiaria brizantha* SEXUAL E APOMÍTICA (*In situ* hybridization of two mrna sequences associated to ovary development in sexual and apomictic *Brachiaria brizantha*)

Alves, E.R.<sup>1</sup>, Dusi, D.M.A.<sup>2</sup>, Gomes, A.C.M.M.<sup>3</sup>, Carneiro, V.T.C.<sup>4</sup>

*Brachiaria* apresenta modos de reprodução sexual e apomítico, distinguidos pela morfologia dos sacos embrionários (SE). Plantas sexuais apresentam SE do tipo Polygonum, enquanto nas apomíticas o SE é do tipo Panicum. Seqüências de cDNA foram isoladas de ovários de plantas sexuais e apomíticas de *B. brizantha*, clonadas e, por “reverse northern blot” selecionadas algumas específicas da megasporogênese e megagametogênese. A expressão temporal e espacial destas seqüências está sendo localizada por hibridização in situ. Neste trabalho, descreve-se o padrão de expressão de duas destas seqüências, durante o desenvolvimento do ovário de plantas sexuais e apomíticas. Para sintetizar as sondas senso(S) e anti-senso(AS) de mRNA, o plasmídeo contendo as seqüências 29 e 38 foram linearizados com *NcoI* e *Sall*. As sondas, marcadas com digoxigenina, foram sintetizadas com SP6 e T7 RNA polimerase respectivamente, utilizando o “DIG mRNA Labeling kit” (Roche). Paralelamente, pistilos em diferentes estágios de desenvolvimento foram fixados, incluídos e seccionados. As secções foram hibridizadas por 15 horas a 42°C e incubadas com anti-dig AP. As lâminas foram montadas e fotodocumentadas. Para verificar a qualidade do RNA nos tecidos, testes com “acridine orange” foram realizados. A sonda 29 AS hibridizou em ovários de plantas apomíticas tanto na esporogênese quanto na gametogênese, porém, em ovários de plantas sexuais a expressão foi tênue e apenas em algumas células durante a gametogênese, confirmando o padrão encontrado no “reverse northern”. A hibridização com a sonda 29 S não apresentou marcação alguma. Nas hibridizações realizadas com a sonda 38 AS, uma marcação foi detectada na região do óvulo próxima à micrópila, tecidos ovarianos e SE nos estágios de desenvolvimento cenocítico e celularizado das plantas apomítica e sexual. Na hibridização com a sonda S em planta apomítica, não foi observada marcação enquanto na planta sexual a marcação seguiu o mesmo padrão da realizada com a AS. A diferença de expressão e de localização dos transcritos nos ovários das plantas sexual e apomítica sugere o envolvimento da seqüência 29 na diferenciação entre os dois modos de reprodução. Enquanto o padrão de localização do clone 38 indica seu envolvimento na regulação da expressão de genes envolvidos na nutrição dos SE através da micrópila. Outros ensaios de hibridização in situ bem como clonagem das seqüências completas estão sendo efetuados para elucidar o papel destas seqüências no desenvolvimento do ovário.

---

<sup>1</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 020 - IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS GÊNES DE RESISTÊNCIA A FITONEMATÓIDES PRESENTES NO GENOMA DO CAFÉ (Identification of potential nematode resistance genes present in the coffee genome)

Souza, D.S.L.<sup>1</sup>, Barbosa, A.E.A.D.<sup>2</sup>, Grossi-de-Sá, M.<sup>3</sup>, Cavalcante, W.S.<sup>4</sup>, Barros, E.V.S.A.<sup>5</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>6</sup>

Uma das alternativas mais promissoras para o controle de fitonematóides consiste na seleção de genes de resistência para uso na produção de plantas transgênicas. Estudos mostram que a maioria dos genes de resistência encontrados nas plantas codificam para proteínas possuidoras de domínios LRR- NBS. Estes domínios podem apresentar homologia com o receptor de interleucina 1 de mamíferos (TIR), com a estrutura *coiled coil* (CC), com o domínio transmembrana (TM) e com o domínio de serina/treonina proteína quinase (PK). Estes são combinados dentro de algumas classes básicas de genes de resistência: TIR-NBS-LRR, CC-NBS-LLRR, NBS-LRR, PK, TM-CC, LRR-TM, LRR-TM-PK. Desta maneira vias de defesa são ativadas pela interação de elicitores, produzidos por patógenos, com os produtos específicos destes genes. Neste trabalho foi realizado um estudo comparativo *in silico*, utilizando vários genes de resistência a nematóides, amplamente reportados, com homólogos dos genes R existentes no banco-genoma do café. As buscas foram realizadas utilizando a ferramenta tBlastn, que compara uma seqüência de proteína alvo contra a tradução, nos seis quadros, das seqüências nucleotídicas. O número de seqüências ESTs do genoma café que apresentaram similaridade com cada gene de resistência a nematóide utilizado são: Hero (100 seqüências), Hs1pro-1(2 seqüências), Mi-1; Mi-1.1; Mi- 1.2 (100 seqüências), Gpa2 (100 seqüências), Gro1, Gro1.2 (31 seqüências), Gro1-5(32 seqüências), Gro1-4 (24 seqüências), Vrga1 (100 seqüências). Análises filogenéticas realizadas com o pacote Phylip revelaram as relações evolutivas e distâncias genéticas entre os genes identificados no transcriptoma do café e diversas seqüências obtidas no NCBI relacionadas com defesa a nematóides. Baseados nos dados obtidos, potenciais genes para o desenvolvimento de plantas transgênicas resistentes a fitonematóides, serão selecionados e validados para determinação da função.

---

<sup>1</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Biólogo, doutorando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>5</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **021 - IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE GENES ENVOLVIDOS NA RESPOSTA AOS ESTRESSES ABIÓTICOS, A PARTIR DE ANÁLISES *IN SILICO* DA BASE DE DADOS DO GENOMA CAFÉ (Identification and functional characterization of genes involved in abiotic stress responses, identified by *in silico* analysis of the coffee-est database)**

Vinecky, F.<sup>1</sup>, Brito, K.M.<sup>2</sup>, Sales, R.M.O.B.<sup>3</sup>, Silva, F.R.<sup>4</sup>, Andrade, A.C.<sup>5</sup>

As constantes alterações climáticas observadas nas últimas décadas, tem causado danos a cultura de café. Desta forma, a ampliação do conhecimento científico acerca dos fatores genéticos envolvidos na tolerância a seca, salinidade e temperaturas extremas, com vistas ao melhoramento genético destas características, é prioritário. Foi concluído, com o apoio do Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café (CBP&D-Café), o projeto Genoma Café. Este projeto consistiu no seqüenciamento em larga escala de genes expressos (ESTs) de café e teve como meta, identificar e anotar de 20 a 30.000 genes de *Coffea* spp. a partir do seqüenciamento de 200.000 clones de ESTs obtidos de diversas bibliotecas de cDNA, inclusive aquelas oriundas de material vegetal submetido a estresses abióticos. Com a conclusão do projeto, está disponível para pesquisa um banco de dados contendo uma parcela significativa dos genes expressos em café (transcriptoma), associados às diversas condições de estresse submetidas ou tecidos utilizados para a construção das bibliotecas. O objetivo do presente trabalho, foi realizar uma análise prospectiva dos fatores genéticos potencialmente associados à resposta aos estresses abióticos, presentes na Base de Dados do Genoma Café. Essa análise baseou-se na identificação de genes de café com alta similaridade aos previamente descritos, caracterizados como genes envolvidos na resposta aos estresses abióticos (EREA), em outras espécies vegetais. Através das análises de tBlastn, genes de café com alto nível de similaridade (e-value  $d \approx 10^{-20}$ ) aos 355 genes EREA pesquisados, foram identificados, em mais de 91% dos casos. Apenas 5% dos genes EREA pesquisados, não resultaram em genes análogos de café, com nível significativo de similaridade (e-value  $e \approx 10^{-5}$ ). A observação de que a maioria desses genes não encontrados na base de dados do café, são genes relacionados às respostas ao frio, pode ser justificada pela ausência de ESTs provenientes de bibliotecas de cDNA, com esse tipo de estresse. Por outro lado, essas diferenças poderiam estar relacionadas às diferenças fisiológicas marcantes entre *arabidopsis* e *cafeeiro*, com relação à tolerância ao frio, uma vez que grande parte dos genes EREA utilizados nesta pesquisa, são provenientes de *arabidopsis*. Concluiu-se que a utilização da Base de Dados do Genoma Café é uma ferramenta poderosa na rápida identificação e seleção de potenciais genes de interesse agrônômico de café, para a realização de ensaios experimentais de caracterização funcional.

<sup>1</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Técnica de laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **022 - IDENTIFICAÇÃO PARCIAL DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS DE PALMA FORRAGEIRA (*Opuntia ficus-indica* MIL) EXPRESSADAS SOB CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO (Partial identification of soluble proteins of *Opuntia ficus-indica* Mil over expressed under hidric stress conditions)**

Reis, M.B.A.<sup>1</sup>, Souza, D.S.L.<sup>2</sup>, Franco, O.L.<sup>3</sup>, Rocha, T.L.<sup>4</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>, Romano, E.

A busca de alternativas para solucionar os problemas causados por estresses ambientais é considerada um dos grandes desafios do agronegócio nacional. Atualmente, os efeitos provocados por déficit hídrico, baixas temperaturas e alta concentração salina nos solos vêm sendo amplamente estudados e vários genes relacionados a estas características já foram isolados, caracterizados e utilizados no melhoramento genético de plantas. A palma *Opuntia ficus-indica*, uma forrageira da família Cactaceae, apresenta relevantes características genéticas relacionadas à elevada resistência a condições de alta temperatura e baixa umidade, sendo capaz de sobreviver por longos períodos de seca. Devido a estas características, foi proposta a investigação proteômica desta planta sob condições de estresse hídrico. Para a realização desse trabalho, foram comparados extratos protéicos das estruturas foliares modificadas (raquetes basal, intermediária e superior) da palma em condições normais e sob estresse hídrico, utilizando eletroforese uni e bi-dimensional. A análise eletroforética em SDS-PAGE 12% exibiu perfis com pesos moleculares entre 10 e 200 kDa para todas as amostras. Adicionalmente, nas plantas estressadas, sobretudo para as raquetes superiores, foram detectadas bandas distintas de baixo peso molecular. Por essa razão, os extratos das raquetes superiores das plantas estressadas e em condição normal foram escolhidas para a análise comparativa via eletroforese bidimensional. A comparação dos géis possibilitou a identificação de spots comuns, assim como spots exclusivos para cada amostra analisada. Os spots diferenciais estão em fase de seqüenciamento via Q-TOF. As seqüências geradas serão analisadas em banco de dados visando a possível identificação de genes relacionados a resistência ao estresse hídrico que serão disponibilizados para estudos envolvendo melhoramento genético.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**023 - INIBIDORES DE ENZIMAS DE *Enterolobium contortisiliquum* (TIMBAÚBA) ATIVOS CONTRA AMILASES E PROTEINASES DE *Spodoptera frugiperda* (Inhibitors from *Enterolobium contortisiliquum* (Timbaúba) activies against amilases and proteinases from *Spodoptera frugiperda*)**

Daga, C.J.<sup>1</sup>, Barbosa, T.<sup>1</sup>, Vitalino, R.C.<sup>2</sup>, Ferreira, C.H.<sup>3</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>4</sup>, Bloch Jr., C.<sup>5</sup>, Melo, F.R.<sup>6</sup>

Inibidores de proteinases e de amilases ocorrem em diversas espécies de plantas. Estas proteínas podem funcionar como reguladores de atividade endógenas nas sementes durante o processo de germinação e como defesa contra o ataque de pragas e patógenos. Foi preparado um extrato bruto das sementes de timbaúba usando 0,1M NaCl, 0.01M HCl numa proporção de 1:5 (p/v). O material foi centrifugado a 10.000 rpm, a 4°C por 20 minutos e o sobrenadante foi utilizado para preparar a fração protéica com sulfato de amônio (0-60%). Esta fração foi usada para testes de atividade de inibição de amilase in vitro de acordo com Bernefeld (1965), e inibição de proteinase de acordo com Solomon et al. 1999 e Kunitz (1997). Os testes de inibição foram realizados com a fração protéica (0-60%), resultando em uma inibição da atividade amilásica de 16% para *Anthonomus grandis* (bicudo do algodoeiro) e de 45 % para *Spodoptera frugiperda*, já para proteinase observou-se uma inibição de 17% e 65% , para os respectivos insetos. Para a purificação dos inibidores foi usada inicialmente cromatografia de afinidade em coluna de Red- Sepharose CL-6B. Seguindo o processo, estão sendo realizadas cromatografias em HPLC (Akta) em coluna Surphedex 75 10/30. Para a visualização das proteínas usou-se eletrofore em gel de poliacrilamida, SDS-PAGE conforme Laemmli (1970), sendo determinadas as massas moleculares por espectrometria de massa (MALDI TOF). Proteínas com 12,85 kDa, 13,47 kDa e 15,50 kDa foram observadas no pico retido em Red-Sepharose. Após purificação dos inibidores de amilase e de proteinase, pretende-se fazer testes biológicos contra larvas dos insetos-alvo objetivando gerar opções para a produção de plantas transgênicas resistentes a pragas.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>2</sup>Agronomia, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>3</sup>Zootecnista, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., União Pioneira de Integração Social-UPIS

## 024 - INTERAÇÃO ENTRE *Meloidogyne arenaria* RAÇA 1 E DUAS ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis*: OBSERVAÇÕES PRELIMINARES (Interaction between *Meloidogyne arenaria* race 1 and two wild species of *Arachis*: preliminary observations)

Proite, K.<sup>1</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>2</sup>, Gomes, A.C.M.M.<sup>3</sup>, Leal-Bertioli, S.C.M.<sup>4</sup>, Bertioli, D.J.<sup>5</sup>, Guimarães, P.M.<sup>6</sup>

Espécies silvestres de *Arachis* são importantes fontes de resistência a vários patógenos. A descrição das resistências de duas espécies silvestres, *Arachis cardenasii* e *A. batizocoi* a *Meloidogyne arenaria* raça 1 e *M. hapla* é dada de forma evasiva e sem detalhes na literatura. *A. stenosperma* e *A. duranensis* são outras duas espécies silvestres que se apresentaram resistente e suscetível, respectivamente, a *M. arenaria* raça 1 (Bertioli *et al.*, informação pessoal). Este trabalho teve como objetivo estudar e avaliar a interação planta-patógeno para determinar como e quando a resistência e a susceptibilidade são expressas. Foi utilizada como controle positivo do experimento, *A. hypogaea* var. tatu, que é uma planta hospedeira. Cada espécie de amendoim foi inoculada com 10 000 juvenis de segundo estágio (J2)/planta. As raízes foram coletadas aos 3, 9, 16, 32, 48 e 63 dias após inoculação. Algumas pontas das raízes foram coletadas e fixadas em glutaraldeído 2% e tetróxido de ósmio 1%, dissolvidos em cacodilato de sódio e impregnados com resina spurr e os cortes de 1µm foram analisados em microscopia óptica. O restante das raízes foi corado com fucsina ácida para observação direta dos nematóides nas raízes de amendoim. Em *A. hypogaea* e *A. duranensis* ocorreu evolução normal do ciclo de *M. arenaria* raça 1, em torno de 48 dias para a primeira e 63 dias para a segunda espécie de amendoim, mostrando assim que em *A. duranensis* o ciclo do nematóide foi um pouco mais longo que em *A. hypogaea*. Na espécie resistente, *A. stenosperma*, poucos J2 penetraram, não ocorrendo desenvolvimento para os estágios mais avançados. Os cortes finos de microscopia óptica confirmaram esses resultados.

---

<sup>1</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>6</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 025 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SEQÜÊNCIAS REPETITIVAS EM ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* (Isolation and characterization of repetitive sequences in wild *Arachis* species)

Fonseca, F.C.A.<sup>1</sup>, Nielen, S.<sup>2</sup>, Leal-Bertioli, S.C.M.<sup>3</sup>, Guimarães, P.M.<sup>4</sup>, Bertioli, D.J.<sup>5</sup>

O conhecimento da organização física e genética do genoma de espécies silvestres de *Arachis*, sobretudo na análise de genes e seqüências repetitivas e suas posições nos cromossomos, é possível entender as características que diferenciam duas espécies entre si e auxiliar o mapeamento de elementos desejáveis visando o melhoramento do cultivo de amendoim (*Arachis hypogaea*) por meio de cruzamentos interespecíficos. Sabendo que as seqüências gênicas são bastante conservadas entre várias espécies vegetais e que o restante do genoma sofre constantes mudanças por pressões seletivas, a análise de elementos repetitivos pode ser ferramenta importante para discriminação de espécies silvestres que apresentem um genoma mais compatível com o da espécie cultivada, facilitando o cruzamento e a introgressão dos genes de interesse. O objetivo desse trabalho foi o de isolar e caracterizar elementos repetitivos em espécies silvestres de *Arachis*. Dessa forma, foram utilizadas enzimas de restrição para digerir DNA genômico de diferentes espécies de *Arachis* (silvestres e cultivada) seguidos de Southern Blot para estudo de metilação no DNA. Foi feita clonagem de fragmentos de DNA genômico de *A. hypogaea* cortados com HindIII e os clones utilizados em Dot Blots para hibridização com DNA de *A. hypogaea* e futuro seqüenciamento. Fragmentos em tandem de DNA *A. duranensis* e *A. ipaensis* coletados de um gel de poliácridamida e clones obtidos anteriormente em outros trabalhos foram seqüenciados utilizando-se primers específicos para tentar fechar a seqüência de um elemento que aparenta ser repetitivo. Resultados preliminares do Southern blot indicam não haver metilação no DNA de diferentes espécies de *Arachis*. O sequenciamento permitiu ampliar a seqüência conhecida para o elemento repetitivo tendo esse sido utilizado em Dot Blot para avaliação do número de cópias no genoma de *A. duranensis* e em hibridização *in situ* com fluorescência (FISH). O FISH mostrou uma dispersão ampla desse elemento nos cromossomos de *A. duranensis* mas, não sendo notada nas regiões centroméricas e teloméricas. Serão realizadas mais clonagens de fragmentos de DNA de espécies silvestres, novos sequenciamentos serão montados para determinar as seqüências repetitivas e esses elementos utilizados em FISH.

---

<sup>1</sup>Biólogo, mestrando, Universidade de Brasília-UnB, CAPES

<sup>2</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

## **026 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO PROMOTOR DO GENE *waxy* DE MILHETO (*Pennisetum glaucum*) [Cloning and characterization of the promotor region of the gene *waxy* from pearl millet (*Pennisetum glaucum*)]**

Pereira, J.M.N.<sup>1</sup>, Falcão, L.L.<sup>2</sup>, Gander, E.S.<sup>3</sup>, Marcellino, L.H.<sup>4</sup>

As gramíneas, em especial o milho, são de grande importância para a agricultura e têm sido alvo de melhoramento genético via transgenia. Para expressão adequada de genes se faz necessário ter a disposição promotores que controlem, de forma eficiente, a expressão de genes de interesse tais como: genes que confirmam resistência a pragas e patógenos. Na busca de um promotor adequado para gramíneas, optamos por isolar e caracterizar a região 5' a montante do gene *waxy* de milho (*P. glaucum*). Este gene codifica para uma proteína participante da síntese de amido (UDPG glucosyl transferase) e é expresso em sementes. Por isto pode conter um promotor específico de grande interesse para expressão de genes em grãos de gramíneas. Para a clonagem deste promotor, amplificou-se por PCR, a partir do DNA genômico de milho, um fragmento correspondente a região de interesse, usando primers similares à região 5' do gene depositado no banco de dados EMBL. A amplificação foi feita em duas etapas. Na primeira utilizou-se primers externos (F1: 5'GCTGCCAAAGCGTTAGGTG 3' e R1: 5'CCATGTCGGTGATCAGCGT3') e na segunda primers internos (F2: 5'GGTCAGCAGCTTCCAGCCTA3' e R2: 5'CGTGGAAGGAAGGTGGAT3'). Desta forma gerou-se um fragmento de 800 pb que foi clonado no vetor de clonagem de produtos de PCR - pGEM-T easy. O fragmento foi seqüenciado e a análise da seqüência de nucleotídeos revelou similaridade ao clone de genômico BAC 311G2 de milho (número de acesso AF488414). A região de similaridade encontra-se em uma região intergênica a montante do gene *waxy*. A busca por elementos regulatórios em *cis* revelou, entre outros, a presença da "ACGTC-box", envolvido na ligação com fatores de transcrição do tipo b-Zip e da "CCAAT-box", elemento comumente encontrado em promotores de eucariotos. Para a avaliação da funcionalidade do fragmento clonado, este será sub-clonado a montante ao gene *gus* e a expressão transiente deste gene repórter será avaliada em plântulas de milho.

Apoio: CNPq e Embrapa

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **027 - MAPEAMENTO DE RGAS (ANÁLOGOS DE GENES DE RESISTÊNCIA) EM UM MAPA GENÉTICO DE AMENDOIM SILVESTRE *Arachis* SPP. (Mapping of RGAs (resistance gene analogues) in a genetic map of wild *Arachis*)**

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

O amendoim é uma das leguminosas mais cultivadas no mundo. Sua baixa diversidade genética e diferença de ploidia dificulta a introgressão de resistências de parentes silvestres. A produção de um mapa de ligação baseado em SSRs e bioensaios para mapeamento de resistências é uma ferramenta produzida para auxiliar no melhoramento com seleção assistida por marcadores moleculares. A eficiência de seleção assistida depende do uso de marcadores fortemente ligados à característica de interesse. O uso de marcadores ligados a genes que codificam para proteínas envolvidas na reação de resistência já foi estabelecido. Neste contexto, 79 regiões análogas a genes de resistência (RGAs) foram previamente isoladas através de PCR. Para utilizar RGAs como marcadores, foi utilizado Southern Blot com as sondas RGA marcadas com P<sup>32</sup>. 18 RGAs de *A. stenosperma*, *A. hypogaea* e *A. cardenasii* foram genotipadas em parte de uma população segregante derivada de parentais contrastantes quanto à resistência a três espécies de fungos foliares e a *Meloidogyne arenaria* raça 1 e 2, *M. javanica* raça 4 e *M. hapla*. Será testada a resistência dos indivíduos F3 para associá-las a locus de RGAs. Assim, os RGAs relacionados poderão ser utilizados em seleção assistida. Uma nova técnica, semelhante a AFLP foi recentemente descrita e vem sendo utilizada para genotipagem de RGAs na população de mapeamento.

---

<sup>1</sup>Eng. Florestal, mestranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

## **028 - METODOLOGIA PARA PROSPECÇÃO DE BIOMOLÉCULAS EM LARGA ESCALA, COM BASE NA ASSOCIAÇÃO DE ANÁLISES DE TRANSCRIPTOMA E PROTEOMA (Large scale methodology for prospecting bio-molecules based on associated transcriptome and proteome analyses)**

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

O presente trabalho usa como modelo de aplicação experimental o novo conceito "industrial" de prospecção de biomoléculas presentes em secreções da pele de anfíbios, a qual tem se mostrado uma importante fonte de peptídeos bioativos com ação antimicrobiana. Esses peptídeos têm potencial farmacológico e terapêutico, além de possível aplicação na agropecuária. Em geral, os peptídeos antimicrobianos, já isolados e caracterizados da pele de anfíbios, são produzidos a partir da clivagem de precursores (prépró-proteínas), resultando em pequenas cadeias polipeptídicas de 10-50 resíduos de aminoácidos, classificados em pelo menos 13 famílias peptídicas. Estima-se que cada anfíbio produza, em sua pele, de 10 a 20 peptídeos antimicrobianos. Postula-se que a produção de peptídeos antimicrobianos, esteja diretamente envolvida na proteção contra diversos microrganismos que normalmente são encontrados nos ambientes úmidos. Esses peptídeos podem apresentar alta especificidade a determinados patógenos. Análises *in silico* das seqüências nucleotídicas que codificam essas 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 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. Até o momento, cerca de 1500 seqüências de cDNA foram produzidas a partir de RNA isolado da pele de dez espécies de anuros dos gêneros *Phyllomedusa*, *Hyla* e *Physalaemus*. Todas as seqüências estão depositadas numa base de dados específica na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Os resultados obtidos indicam a presença de peptídeos com similaridade àqueles de famílias protéicas já descritas (Filoseptinas, Dermaseptinas e Hylaseptinas), e ainda, dezenas de outros que não apresentam similaridade alguma, sendo, portanto, novos peptídeos com ação ainda desconhecida.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Técnico de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **029 - OBTENÇÃO DE PLANTAS GENETICAMENTE MODIFICADAS DE *Brachiaria brizantha* CV. MARANDU (Obtention of genetically modified plants of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu)**

Cabral, G.B.<sup>1</sup>, Santana, C.G.<sup>2</sup>, Carneiro, V.T.C.<sup>3</sup>, Dusi, D.M.A.<sup>4</sup>

A braquiária é uma gramínea forrageira introduzida da África que apresenta modo de reprodução assexual denominado apomixia, o embrião se desenvolve sem que haja fertilização, ocorrendo desta forma, uma clonagem por semente. A transformação genética de plantas é uma ferramenta para o melhoramento que amplia as possibilidades de introdução de novas características. Em plantas apomíticas a tecnologia de transformação pode viabilizar o aporte de qualidades específicas, de difícil obtenção por técnicas convencionais de hibridação. Isto porque embora cruzamentos com plantas apomíticas sejam possíveis, estas só podem atuar como progenitores masculinos, ou fornecedores de pólen para fertilização de plantas sexuais de mesma ploidia. Visando a obtenção de plantas geneticamente modificadas de braquiária por biobalística, foi testado o bombardeamento de calos embriogênicos e de calos friáveis de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Os calos foram obtidos de sementes maduras em meio de indução de embriogênese somática (MSCLind), e após 15 ou 30 dias, foram bombardeados. Para o bombardeamento foi utilizado o plasmídeo pAHUG que carrega o gene *gus* sob controle do promotor da actina de arroz (Act1) e o gene de seleção *hptII* dirigido pelo promotor de ubiquitina de milho (ubi1). As condições físicas usadas no bombardeador foram 900 ou 1200 psi, para a pressão de gás hélio, e a distância da placa contendo os explantes em relação à membrana carreadora foi de 6 cm. Os calos bombardeados foram cultivados na presença de higromicina, em dosagens crescentes, em meios de indução (MSCLind 5mg/L), regeneração (MSCLreg 10mg/L), manutenção (MMP 20 mg/L) e enraizamento (meio B 20 mg/L). Foram obtidas plântulas que foram aclimatadas em vermiculita e transferidas para casa de vegetação. Análises de PCR e Southern blot foram realizadas para verificar a natureza transgênica das plantas.

---

<sup>1</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### **030 - O N-TERMINAL DA PROTEÍNA RoIA GUARDA SUA ATIVIDADE BIOLÓGICA (The RoIA protein N-terminal retains its biological activity)**

Arrial, R.T.<sup>1</sup>, Acauã, T.<sup>2</sup>, Barros, L.M.G.<sup>3</sup>, Carneiro, M.<sup>4</sup>

A proteína RoIA é originalmente codificada pela *Agrobacterium rhizogenes*, uma bactéria de solo, patógeno natural de dicotiledôneas. Quando infectada por *A. rhizogenes*, a planta desenvolve raízes no sítio de infecção que podem regenerar plantas cujo fenótipo é alterado. Os genes responsáveis pela indução das raízes e alteração morfológica nas plantas, denominados *roIA*, *roIB*, *roIC* e *roID*, estão localizados no plasmídeo agrobacteriano Ri na região conhecida como T-DNA. O gene *roIA*, quando isolado e expresso em plantas transgênicas, induz alterações como: nanismo, enrugamento foliar, atraso no florescimento e na senescência e redução do conteúdo de giberelina e poliaminas. Embora a proteína RoIA interfira drasticamente no programa de desenvolvimento das plantas, sua função biológica é desconhecida e não foi encontrada similaridade com nenhuma proteína conhecida. O objetivo deste trabalho é identificar em RoIA uma região determinante de sua função biológica. Para tanto, foram feitos estudos *in silico* do padrão de hidrofobicidade e, com base nos resultados, foram feitas deleções seqüenciais em sua região codante e fusão com a região codante da proteína repórter GUS, para possibilitar sua identificação, gerando várias proteínas quiméricas RoIA::Gus. As construções foram expressas em fumo e submetidas à análises fenotípicas e de expressão dos genes exógenos. Os resultados do Northern blot mostram os mRNAs das diferentes fusões do tamanho esperado. A b-glucuronidase é ativa em todas as fusões e quando a proteína RoIA completa está presente, as plantas apresentam fenótipo típico *roIA*, evidenciando a bifuncionalidade da proteína de fusão. Foi observado que o N-terminal da RoIA é imprescindível para sua atividade e que os 60 primeiros aminoácidos induzem alterações morfológicas típicas do gene *roIA* mas com menor intensidade, quando comparado à proteína intacta.

---

<sup>1</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup>Eng. Agr., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 031 - OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA DE TRANSFORMAÇÃO DE PLANTAS DE ALGODOEIRO CV. BRS CEDRO VIA TUBO POLÍNICO (Optimization of the pollen-tube pathway technique plant transformation in cotton var. BRS Cedro)

Oliveira, R.S.<sup>1</sup>, Oliveira Neto, O.B.<sup>2</sup>, Evangelista, I.B.R.<sup>3</sup>, Viana, A.A.B.<sup>4</sup>, Paes, N. S.<sup>5</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>6</sup>

Visando o controle dos insetos-praga, *Anthonomus grandis* e *Spodoptera frugiperda*, o presente trabalho foi elaborado para otimizar a técnica de transformação via tubo polínico na obtenção de uma cultivar brasileira geneticamente modificada resistente a estes importantes insetos da cotonicultura. A introdução de um DNA exógeno em um embrião de algodoeiro via tubo polínico após a polinização foi divulgada pela primeira vez por Zhou e colaboradores em 1983. A teoria desta técnica pode ser descrita como a seguinte: após a polinização, as células da nucela formam um canal para permitirem a passagem do tubo polínico até o saco embrionário. Sendo assim, com a remoção do estilete e a aplicação de uma solução de DNA na parte superior da jovem maçã após a polinização, o DNA exógeno pode alcançar o ovário através da passagem deixada pelo tubo polínico e integrar as células zigóticas já fertilizadas, mas não divididas. O experimento foi realizado com 240 plantas, divididas em 6 tratamentos e com 10 microinjeções por planta. Os tratamentos utilizados no experimento foram os seguintes: Controle; (DNAM) plantas microinjetadas no período da manhã; (DNAN) grupo microinjetado no horário de 18 as 19:00 h; (DNAV) plantas que tinham o orifício deixado pela microinjeção selados com vaselina; (DNAA) plantas microinjetadas com água e (DNAS) plantas que tiveram as maçãs submetidas apenas a perfuração com a agulha da microseringa. A construção utilizada nas microinjeções tinha o gene codificador do inibidor BTCl (inibidor de tripsina Bowman-Birk e inibidor de quimotripsina) e da Tarina (Tar1), devido às suas atividades contra coleópteros e lepidópteros, respectivamente. Verificou-se que o horário da microinjeção influencia no abortamento das maçãs. O índice de abortamento maior é observado quando as microinjeções são feitas no período matutino. O tratamento que apresentou menor índice de abortamento foi aquele no qual o orifício deixado pela agulha era selado com vaselina. Foram colhidas 21 mil sementes que estão sendo submetidas a teste de seleção com canamicina. Após essa seleção inicial, as plantas que se mostraram positivas serão submetidas a testes de PCR com primers específicos nas construções gênicas utilizadas. A frequência de transformação esperada é de 0,1%, sendo assim, até 21 plantas transgênicas podem ser obtidas a partir desse trabalho.

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 032 - POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS AQUOSOS DE PLANTAS VISANDO O CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* (Potential utilization of aqueous extracts from plants targeting the *Meloidogyne incognita* control)

Evaristo, R.G.S.<sup>1</sup>, Magalhães, J.C.C.<sup>2</sup>, Cruz, C.C.M.<sup>1</sup>, Souza, D.S.L.<sup>3</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>4</sup>, Rocha, T.L.<sup>5</sup>

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, uso de variedades resistentes e de plantas antagonistas. Sendo uma das linha de pesquisa desenvolvida no Laboratório de Interação Molecular Planta-praga do Cenargen voltada à prospecção de biomoléculas efetivas no controle de pragas, este trabalho visou testar o efeito de extratos aquosos de sementes de Fava branca, Favecas preta e vermelha, Lobeira, Luetzelburgea e Feijão Preto contra juvenis de segundo estágio (J<sub>2</sub>) de *M. incognita*. Os extratos aquosos foram obtidos por trituração de sementes, que foram mantidas em água bidestilada (dH<sub>2</sub>O) sob lenta agitação a 4° C por 24hs. Os materiais foram centrifugados e os sobrenadantes filtrados em membrana de 0,22µm. Todos apresentaram concentrações protéicas entre 6 e 15µg/µL, pelo método de Bradford, e exibiram em SDS-PAGE proteínas cujos pesos moleculares variaram de 5 a 200kDa. Os J<sub>2</sub> de *M. incognita* foram extraídos de raízes de tomateiros pela técnica do funil de Baermann modificado e a contagem foi efetuada em lâmina de Peters. Os ensaios foram realizados em placas de Petri, em triplicata, tendo como controle dH<sub>2</sub>O. Foram utilizados 500µg de cada extrato sobre 100 J<sub>2</sub> em um volume final de 3mL. As placas foram mantidas a temperatura ambiente e após 24hs os J<sub>2</sub> vivos e mortos foram contados em microscópio estereoscópico. Os resultados obtidos relativos aos extratos mostraram uma atividade nematicida de 68,5% para Fava branca, 28,6% para Faveca preta, 62% para Faveca vermelha, >90% para Lobeira e Luetzelburgea e 16,4% para Feijão preto. Os resultados gerados neste trabalho não só ampliam as fontes de biomoléculas com potencial nematicida, mas também reforçam a necessidade do isolamento, identificação e purificação dos polipeptídeos/peptídeos ou metabólitos secundários que possam estar envolvidos no controle dessa praga.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Auxiliar de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 033 - PROPRIEDADES ANTIFÚNGICAS E ANTIBACTERIANAS DE PROTEÍNAS DE FOLHA DE SERIGUELA *Spondias mombin* L. (Antifungal and antibacterial properties of *Spondias mombin* L. leaf proteins)

Daga, C.J.<sup>1</sup>, Barbosa, T.<sup>1</sup>, Vitalino, R.C.<sup>2</sup>, Marques, G.M.<sup>2</sup>, Bloch Jr., C.<sup>3</sup>, Melo, F. R.<sup>4</sup>

Folhas de *Spondias mombin* são usadas na medicina popular brasileira no tratamento de doenças fúngicas e bacterianas. Flavanóides, taninos e saponinas são os princípios ativos mais indicados para esta atividade. Até agora não foram identificadas nenhuma proteína com atividade antifúngica e antibacteriana desta planta. A maioria dos estudos realizados com proteínas antimicrobianas vegetais incluem defesinas ou inibidores de enzimas. Nesse trabalho foram feitos testes que mostram a inibição de fungos e bactérias causados por proteínas de folhas de *S. mombin*. O extrato bruto de folhas foi preparado usando uma solução de extração de 0,1M NaCl, 0,01M HCl numa proporção de 1:1 (p/v). O material foi centrifugado a 10.000 rpm, a 4°C por 20 minutos e o sobrenadante foi utilizado para preparar a fração protéica com sulfato de amônio (0-90%). Esta fração foi usada para testes contra bactérias usando meio de cultura sólido em Agar Mueller Hinton, 37°C por 48 h. Para isso foram usadas as seguintes bactérias: *E. coli*, *S. aureus*, *R. equi*, *P. Aeruginosa* e *Salmonella* spp. Para os testes contra fungos fitopatogênicos foi utilizado também meio de cultura sólido nutritivo a 37°C, 48 h. Foi observado halo de inibição ao redor de *S. aureus* e *R. equi*, e para o fungo *Phytophythora*. Estes resultados mostram pela primeira vez, que proteínas de folhas de *S. mombin* possuem atividades antibióticas. As proteínas foram visualizadas em gel de poliacrilamida, SDS-PAGE conforme descrito por Laemmli (1970), foram observadas bandas de 30 e 40 kDa. No momento os extratos de folhas estão sendo purificados através de cromatografias utilizando colunas de CM-Cellulose, e HPLC (Akta) coluna Surphedex 75 10/30. Para o futuro, após a purificação e caracterização destas proteínas, elas poderão representar uma boa opção para a produção de antibióticos podendo ser usados na medicina veterinária e humana.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>2</sup>Agronomia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., União Pioneira de Integração Social-UPIS

### **034 - PROSPECÇÃO DE VARIANTES DE TOXINAS CRY COM ALTA ESPECIFICIDADE E TOXICIDADE CONTRA O BICUDO-DO-ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*) E A LAGARTA-DO-CARTUCHO-DO-MILHO (*Spodoptera frugiperda*) [Screening of mutants Cry toxins with toxicity against cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*) and fallworm (*Spodoptera frugiperda*)]**

Brunetta, P.S.F.<sup>1</sup>, Oliveira, G.R.<sup>2</sup>, Figueira, E.L.Z.<sup>3</sup>, Ramos, H.B.<sup>4</sup>, Silva, M.C.M.<sup>5</sup>, Cavalcanti, K.L.<sup>6</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.

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 através do uso de modernas tecnologias de produção, o que contribuiu para o restabelecimento do suprimento de fibra no mercado interno e da participação do setor nas exportações agrícolas nacional. No entanto, o cultivo intensivo em grandes extensões por vários anos consecutivos tem gerado altos índices de infestação por pragas, como o bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*) e a lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*), demandando grandes volumes de inseticidas, que além de dispendiosos, apresentam eficiência de controle variável, devido ao hábito de crescimento endofítico das larvas destes insetos. O *Bacillus thuringiensis* (Bt) é uma bactéria de solos, amplamente conhecida e empregada na agricultura para a produção de biopesticidas e nos últimos anos também como fonte de genes codantes de proteínas inseticidas a serem introduzidos em plantas de interesse através da engenharia genética, para a obtenção de plantas geneticamente modificadas com resistência a insetos. Dentre as classes de entomotoxinas produzidas pelos Bt, destacam-se as proteínas Cry, expressas no período de esporulação das bactérias e organizadas na forma de cristais. O presente trabalho tem por objetivo o melhoramento de genes *cry* que codificam proteínas tóxicas contra as pragas do algodoeiro, através do uso da técnica de evolução molecular *in vitro* (*DNA Shuffling*) e da construção de uma biblioteca combinatória tipo *Phage Display*. A metodologia consistiu na amplificação do gene original (Cry 3 Aa) seguida da fragmentação deste gene com *DNAse*I, recombinação dos fragmentos em reação de PCR sem a utilização de oligonucleotídeos iniciadores e amplificação dos mutantes selecionados através da especificidade por ligantes presentes no intestino do bicudo e da lagarta do cartucho. Os genes mutantes selecionados (21 para o bicudo e 16 para a lagarta do cartucho) foram expressos na superfície de fagos, seqüenciados e avaliados em bioensaios. Os mutantes apresentaram variabilidade na taxa de mortalidade das larvas dos insetos.

---

<sup>1</sup>Eng. Agr., doutoranda, Universidade Católica de Brasília-UCB, FIALGO

<sup>2</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, FIALGO

<sup>3</sup>Farmacêutico, Ph.D., Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia, CNPq

<sup>4</sup>Química, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### **035 - PROTEOMA DE *Xanthomonas campestris* PV. *campestris* NA INTERAÇÃO COM A PLANTA HOSPEDEIRA (Proteome analysis of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in the interaction with the host plant)**

Andrade, A.E.<sup>1</sup>, Felix, G.C.<sup>1</sup>, Oliveira, A.C.<sup>2</sup>, Noronha, E.F.<sup>3</sup>, Pereira, J.L.<sup>4</sup>, Lima, L.H.C.<sup>5</sup>, Rosato, Y.B.<sup>6</sup>, Vidal, M.C.<sup>7</sup>, Melo, J.A.T.<sup>8</sup>, Bloch Jr., C.<sup>9</sup>, Mehta, A.

O gênero *Xanthomonas* possui várias espécies que causam grandes prejuízos para a agricultura em todo o mundo. No Brasil, uma das espécies de maior relevância é a *X. campestris* pv. *campestris* responsável pela podridão negra em crucíferas. Este patógeno é responsável por perdas substanciais em várias culturas incluindo repolho, couve, brócolis, entre outras. Embora a seqüência do genoma dessa bactéria tenha sido revelada, há pouca informação sobre a expressão de proteínas/genes deste patógeno em condições controladas e/ou na interação com a planta hospedeira. O objetivo do presente trabalho foi analisar as proteínas de *X. campestris* pv. *campestris* expressas durante a interação com a planta hospedeira *Brassica oleracea*. A bactéria foi infiltrada nas folhas da planta suscetível e posteriormente recuperada para análise. As células recuperadas foram utilizadas para extração de proteínas e separadas através de eletroforese bidimensional. Os perfis obtidos foram comparados ao da bactéria cultivada em meio complexo NYG. Algumas proteínas diferenciais observadas foram analisadas através de espectrometria de massa e identificadas utilizando o Programa Mascot. Foi realizada também detecção e dosagem de algumas enzimas extracelulares de *X. campestris* pv. *campestris* *in vivo*, envolvidas no processo de infecção, incluindo xilanase, poligalacturonase, arabinosidase e celulase.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>4</sup>Bióloga, M.Sc., Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., Universidade Estadual de Campinas-Unicamp

<sup>7</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Hortaliças

<sup>8</sup>Química, graduando, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>9</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 036 - PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ANTIBACTERIANAS DE SEMENTES DE JABOTICABA (*Myrciaria jaboticaba*) [Purification of antibacterial proteins from jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) seeds]

Barbosa, T.<sup>1</sup>, Daga, C.J.<sup>1</sup>, Vitalino, R.C.<sup>2</sup>, Santos, K.C.A.<sup>1</sup>, Ferreira, C.H.<sup>3</sup>, Bloch, Jr., C.<sup>4</sup>, Melo, F.R.<sup>5</sup>

Frutos de Jaboticabeira (*Myrciaria jaboticaba*) têm sido usados pela medicina popular brasileira no tratamento de doenças como antibióticos e antifúngicos, o que sugere a presença de proteínas como defensinas e inibidores de enzimas com atividades inibitórias a micróbios. No presente estudo, foi preparado extrato bruto de sementes delipidadas de jaboticaba, usando para a extração das proteínas, a solução de 0,1 M NaCl, 0,01 M HCl, na concentração de 1:5 (p/v). O material foi centrifugado (12.000 rpm, 20 min, 4 °C), o sobrenadante foi precipitado com sulfato de amônio para a obtenção de fração protéica (0-90%). A fração protéica (0-90%) foi usada em ensaio biológico com bactérias, utilizando meio de cultura agar Muellev Hinton, 37°C por 48 h. As células usadas foram: *E. coli*, *S. aureus*, *R. equi*, *P. aeruginosa* e *Salmonella* spp. As inibições do crescimento ao redor dos halos foram observadas somente em bactérias gram (+), como: *R. equi* e *S. aureus*. Em seguida, foi feita uma cromatografia de troca iônica, CM-celulose, utilizando fração protéica (0-90%) de sementes de jaboticaba, resultando em um pico não retido e em um retido. As proteínas foram visualizadas em SDS-PAGE (Laemmli, 1970), indicando proteínas no pico não retido de massa molecular de 25 kDa e entre 50 e 60 kDa. O pico não retido foi aplicado em HPLC (Akta), em cromatografia de exclusão molecular (Superdex 75), indicando a presença de um pico majoritário. Pretende-se agora acumular esse pico, caracterizar as proteínas contidas no mesmo e testá-las contra diversas bactérias patogênicas, para que futuramente estas, possam ser candidatas à produção de produtos antibióticos para aplicações na medicina humana e/ou veterinária.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>2</sup>Agronomia, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>3</sup>Zootecnia, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., União Pioneira de Integração Social-UPIS

### 037 - PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS DE FOLHAS DE PITANGUEIRA (*Eugenia uniflora* L.) COM ATIVIDADES ANTIBACTERIANAS E ANTIFÚNGICAS [Purification of proteins from pitangueira leaf (*Eugenia uniflora* L.) with antibacterial and antifungal activities]

Barbosa, T.<sup>1</sup>, Daga, C.J.<sup>1</sup>, Vitalino, R.C.<sup>2</sup>, Santos, K.C.A.<sup>1</sup>, Ferreira, C.H.<sup>3</sup>, Bloch Jr., C.<sup>4</sup>, Melo, F.R.<sup>5</sup>

Estudos prévios têm relatado a presença de proteínas de defesa de plantas contra organismos fitopatogênicos, como bactérias e fungos. Dentre estas proteínas encontra-se as defensinas, quitinases e glucanases, entre outras. O presente estudo, visa isolar proteínas de defesa presentes nas folhas de pitangueira. Para isso, foram feitos extratos brutos de folha de pitangueira (*Eugenia uniflora* L) usando a solução de 0,1 M NaCl, 0,01 M HCl, na concentração 1:3 (p/v). Em seguida, o extrato foi centrifugado (12.000 rpm, 20 min, 4 °C) e o sobrenadante, precipitado com sulfato de amônio para a obtenção de fração protéica (0-90%). O teste de inibição contra bactérias foi feito *in vitro* com meio de cultura agar Muellev Hinton, 37°C por 48 h. As células usadas foram: *E. coli*, *S. aureus*, *R. equi*, *P. aeruginosa* e *Salmonella* spp. No ensaio contra fungos, foi utilizado um meio de cultura sólido nutritivo, 37°C por 48 h. As inibições do crescimento ao redor dos halos (bactérias) foram observadas em: *S. aureus*, *R. equi*, *P. aeruginosa* e *E. coli*. Foi observada também inibição de crescimento do fungo *Phytophythora*. Após os resultados positivos dos testes biológicos, foi feita uma cromatografia de troca iônica, CM- celulose, utilizando a fração protéica (0-90%) de folhas de pitangueira, resultando em um pico retido e um não retido. As proteínas foram visualizadas em SDS-PAGE (Laemmli, 1970), indicando proteínas no pico retido de massa molecular de 60, 70 e 75 kDa. Este mesmo pico retido, foi aplicado em HPLC (Akta), em cromatografia de exclusão molecular (Superdex 75), indicando a presença de 5 picos. Serão feitos outros testes contra bactérias fitopatogênicas e outros fungos, bem como cromatografias a fim de purificar e caracterizar estas proteínas, para que futuramente estas, possam ser candidatas à produção de antibióticos e de produtos como defensivos agrícolas.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>2</sup>Agronomia, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>3</sup>Zootecnia, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., União Pioneira de Integração Social-UPIS

### **038 - REGENERAÇÃO DE PLANTAS DE *Brachiaria brizantha* APOMÍTICA E SEXUAL VIA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE SEMENTES E SEGMENTOS BASAIS (Plant regeneration of *Brachiaria brizantha* apomictic and sexual plants via somatic embryogenesis and basal segments)**

Cabral, G.B.<sup>1</sup>, Santana, C.G.<sup>2</sup>, Dusi, D.M.A.<sup>3</sup>, Carneiro, V.T.C.<sup>4</sup>

O gênero *Brachiaria* compreende espécies forrageiras, nativas da África, que apresentam uma enorme adaptabilidade às condições edafo-climáticas do Brasil, ocupando atualmente uma extensa área de pastagem, principalmente em regiões de solo ácidos e pobres. As espécies, *Brachiaria brizantha* e *B. decumbens*, apresentam modo de reprodução sexual e assexual, por apomixia, que gera plantas idênticas à planta-mãe, acarretando numa baixa variabilidade genética. Os cultivares mais plantados no Brasil são apomíticos, cv. Marandu *B.brizantha* e cv. Basilisk de *B. decumbens*. Uma demanda do programa de melhoramento desta forrageira é a introdução de variabilidade por técnicas de transformação genética, outra demanda é a quebra da apomixia, liberando o pool de genes das plantas apomíticas. Para contribuir com o melhoramento genético, usando técnicas de biotecnologia, desenvolvemos metodologias de regeneração in vitro de plantas de *B. brizantha* apomítica (BRA 000591) e sexual (BRA 00274). As plantas foram introduzidas in vitro a partir de gemas axilares de plantas cultivadas no campo. As gemas foram desinfestadas e cultivadas em meio LS suplementado com ANA 1mg/L e KIN 3 mg/L para induzir multibrotação. As plântulas derivadas das multibrotações foram cultivadas em meio sem regulador de crescimento e serviram de fonte de explantes, segmentos de 0.5 cm da base estolonífera, logo acima das raízes (chamados aqui segmento basal). Segmentos basais de plantas sexuais e apomíticas e sementes maduras de apomíticas foram cultivados em meios suplementados com 2,4-D (M1, M1.2 ou MSCLind) para indução de embriogênese somática. Calos brancos compactos e calos friáveis oriundos dos diferentes explantes foram transferidos para meios de regeneração contendo ANA, KIN em diferentes concentrações (MS1, MS2 ou MSCLreg). Plântulas de *B. brizantha* sexual e apomítica foram obtidas a partir de calos embriogênicos de segmentos basais. No caso das plantas sexuais, de produção limitada de sementes, esta técnica viabiliza sua introdução em programas de biotecnologia. O sistema de embriogênese indireta da planta apomítica partindo de sementes maduras foi otimizado, atingindo 80% de regeneração de plantas no total de sementes inoculadas.

---

<sup>1</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 039 - UTILIZAÇÃO DE “PERFILAMENTO DE NBSS” PARA GENOTIPAGEM DE RGAS EM UM MAPA GENÉTICO DE *Arachis* SILVESTRE DO GENOMA AA. (Use of NGS profiling for the targeting of RGAs in a genetic map of wild *Arachis* genome AA)

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

A maioria dos genes de resistência identificados até o momento pertence à classe NBS-LRR, ou seja, são possuidoras de regiões de ligação de nucleotídeo e de regiões ricas em leucina. Sequências conservadas dos NBSs têm sido utilizadas para o isolamento de genes de resistência por PCR. A análise destas sequências, chamadas regiões análogas a genes de resistência (RGAs) permite o desenvolvimento de marcadores moleculares para utilização em populações de mapeamento. As estratégias mais utilizadas são: 1. utilização de RGAs como sondas em Southern Blots 2. utilização de primers específicos para sequências únicas (no caso de espécies em que o genoma já tenha sido sequenciado ou que um banco de RGAs tenha sido montado). Recentemente, uma técnica foi descrita, que combina a versatilidade de AFLP com a utilização de primers específicos para NBSs. Esta técnica foi denominada RGA-profiling, ou perfilamento de RGAs. No presente trabalho, DNA genômico foi digerido com as enzimas *Pst*I e *Mse*I, e adaptadores foram ligados aos produtos de digestão. 15 *primers* desenhados para o domínio NBS foram testados em combinação com primers específicos para os adaptadores, totalizando 60 combinações de primers. Após amplificação, os produtos são analisados em gel de poliacrilamida 5% corado com prata. Este procedimento foi feito inicialmente com os parentais de uma população de mapeamento do genoma AA, *Arachis stenosperma* (V10309) e *A. duranensis* (K7988). Quando testadas nos parentais, várias combinações de primers se mostraram monomórficas. Até o momento, 60 bandas polimórficas foram isoladas e reamplificadas 30 bandas foram sequenciadas e 14 tiveram forte homologia com RGAs no banco de dados do NCBI. Isto significa uma taxa de cerca de 50% de marcadores, demonstrando o enriquecimento de bandas do tipo RGA através da utilização dos primers específicos. Esses marcadores estão sendo adicionados a um mapa genético recém construído, o que permitirá sua correlação com resistências a patógenos para os quais os parentais contrastam. Isto é um passo importante para encontrar marcadores associados a resistências para sua utilização em programas de melhoramento assistido de amendoim.

---

<sup>1</sup>Eng. Florestal, mestranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

# REPRODUÇÃO ANIMAL



## **040 - ASPECTOS LABORATORIAIS DE BEZERRAS CLONES DA RAÇA JUNQUEIRA (Laboratorial aspects of Junqueira breed clones calves)**

Machado, G.M.<sup>1</sup>, Iguma, L.T.<sup>2</sup>, Pivato, I.<sup>3</sup>, Reis Júnior, J.L.<sup>4</sup>, Moscardini, A.R.C.<sup>5</sup>, Coelho, M.M.S.<sup>6</sup>, Borges, J.R.J.<sup>7</sup>, Rumpf, R.<sup>8</sup>

São poucos trabalhos na literatura internacional que discutem os parâmetros clínicos e laboratoriais de bezerros neonatos, apesar da alta mortalidade de bezerros nos primeiros meses de vida. Por isso, existe a necessidade de buscar conhecimento das variáveis fisiológicas. Em se tratando de clones os parâmetros fisiológicos tornam-se ainda mais importantes. Este trabalho teve como objetivo comparar a hematologia, análises bioquímicas e hemogasometria entre bezerros neonatos clones e não clones no primeiro mês de vida. Os animais foram divididos em grupo 1, animais da raça Simbrasil (controle 1 – hemograma e perfil bioquímico; n=12); grupo 2, animais da raça Lageana, Curraleira e Junqueira (controle 2-hemogasometria;n=3); e o grupo 3, animais clones da raça Junqueira (n=3). O clone 01 nasceu com sinais clínicos de insuficiência cardíaca (hiperfonese). Logo após o nascimento apresentou acidose respiratória com pH sanguíneo baixo quando comparado ao grupo 2 (7,17 vs. 7,35). A partir do 2º dia de vida o clone 01 manifestou hematócrito reduzido (20% vs, 32%) e baixo valor de globulina (4,3 vs 5,97 g/dl) quando comparado a média do grupo 1. Animal veio a óbito com 21 dias por babesiose, o que agravou o quadro de anemia; este bezerro apresentava ainda persistência de canal arterioso. Os outros clones são clinicamente saudáveis, apesar da globulina ser baixa em relação ao grupo 1 (4,05 vs. 5,97 g/dl). É provável que esta hipoglobulinemia seja causada pela falha de absorção intestinal de proteínas colostrais nas primeiras 12 horas de vida. Os resultados deste estudo contribuíram para pesquisas de neonatologia bovina, mostrando dados clínicos importantes de bezerros clones cujo número de nascimento é muito baixo. Porém, é uma área que demanda mais conhecimentos para se determinar um padrão destas variáveis para bovinos neonatos.

---

<sup>1</sup>Veterinária, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Méd. Vet., doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Méd. Vet., Ph.D., CIDASC, Indaial-SC

<sup>4</sup>Méd. Vet., M.Sc., Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup>Méd. Vet., mestrando, Universidade Federal de Goiás-UFG

<sup>6</sup>Méd. Vet., Universidade de Brasília-UnB

<sup>7</sup>Méd. Vet., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>8</sup>Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 041 - AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E STATUS ACROSSOMAS DO SÊMEN DE OVINO DESCONGELADO E INCUBADO COM PLASMA SEMINAL (Evaluation of the viability and status acrossome of ovine semen thawing and incubated with seminal plasma)

Silva, T.A.S.N.<sup>1</sup>, Neves, J.P.<sup>2</sup>, Guimarães Neto, A.G.<sup>3</sup>, Guimarães, A.P.<sup>4</sup>, Rumpf, R.<sup>5</sup>, Sartori, R.<sup>6</sup>

O trabalho teve como objetivo verificar a ação do plasma seminal sobre a viabilidade e o status acrossomais, adicionando ao sêmen descongelado e incubado. Foram utilizados três carneiros no experimento que apresentavam padrões normais ao exame andrológico e um carneiro vasectomizado para a coleta do plasma seminal. Os animais foram submetidos à coleta seminal em vagina artificial, uma vez por semana, formando um *pool* de ejaculados e consequentemente congelados. O plasma seminal foi coletado e centrifugado a 600g/10 min e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Para a avaliação das amostras congeladas, o sêmen e o plasma seminal foram descongelado em banho-maria a  $37^{\circ}\text{C}$ , e incubado por 6h, com plasma seminal na proporção de 1:1 (sêmen/plasma). Buscando determinar a viabilidade e o status acrossomais foram colhidas amostras na hora 0, 2, 4, e 6 após a descongelação e foram coradas pela técnica de coloração dupla Tryplan blue/Giemsa O Tryplan blue detecta a população de vivos e mortos e Giemsa verifica a presença ou ausência de acrossoma. Há 4 categorias de espermatozoides que podem ser observados: vivo íntegro (VI), vivo reagido (VR), morto íntegro (MI) e morto reagido (MR). Os dados foram analisados pelo teste T pareado e considerou-se um nível de significância de  $P<0,05$ . Os resultados estão apresentados em média e erro padrão da média. Para a avaliação da viabilidade com plasma seminal e PBS não houve diferença  $P<0,05$  entre as 6 horas de incubação. Em relação ao status acrossomais, as células reagidas sendo (VR ou MR) com PBS apresentou um nível elevado de células reagidas em relação ao plasma tendo diferença significativa a partir das 2 horas com VR ( $6\pm 0,50$  PBS e  $3\pm 0,64$  plasma seminal) e a partir das 4 horas com MR ( $25,88\pm 2,46$  PBS e  $18,11\pm 1,50$  plasma seminal). Ao avaliar a relação de células vivas integras (VI) entre plasma seminal e PBS, o plasma seminal as 6 horas de incubação teve um nível mais elevado de células vivas integras (VI), tendo uma diferença significativa de ( $19,44\pm 2,00$  PBS e  $22,88\pm$  plasma seminal), mostrando assim que o plasma seminal ovino usado como solução de descongelamento exerce efeito protetor sobre as células espermáticas não capacitadas e prevenindo a reação precoce do acrossoma.

<sup>1</sup>Méd. Vet., mestrando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Méd. Vet., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Vet.erinária, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup>Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 042 - AVALIAÇÃO ULTRA-ESTRUTURAL E DA FRAGMENTAÇÃO DO DNA DE ESPERMATOZÓIDES BOVINOS CONSERVADOS POR DIFERENTES TRATAMENTOS DE LIOFILIZAÇÃO (Ultrastructural and DNA fragmentation evaluation of bovine spermatozoa conserved by different freeze-drying treatments)

Martins, C.F.<sup>1</sup>, Bão, S.N.<sup>2</sup>, Dode, M.N.<sup>3</sup>, Rumpf, R.<sup>3</sup>

A liofilização é um método que visa à preservação celular através da retirada da água dos sistemas biológicos por sublimação do gelo. Recentemente, a liofilização tem sido aplicada para preservar espermatozóides mamíferos, representando uma ferramenta alternativa para conservação do material genético. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da liofilização espermática por diferentes tratamentos sobre a estrutura dos espermatozóides bovinos, avaliada por microscopia eletrônica, coloração com acridine orange e teste de TUNEL. Espermatozóides de três touros foram coletados por eletroejaculação e diluídos com três diferentes meios: (T 1) - TCM hank's com 10% de SFB; (T 2) - TCM hank's com 10% de SFB e trehalose 0,2 M; (T 3) – Solução de EGTA, composta de 50mM/L de EGTA [ethylene glycol-bis(â-aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid] e 10mM/L de tris-HCl. Como controle foi utilizado sêmen congelado convencionalmente. As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e rapidamente levadas ao liofilizador, onde foram submetidas à liofilização por 12-16 horas. Para verificar os eventuais efeitos da liofilização foram avaliadas as principais estruturas envolvidas no processo de fecundação, tais como: membrana plasmática, acrossoma e núcleo. Para isto, foram realizadas avaliações ultraestruturais por microscopia eletrônica e da integridade do DNA espermático pelo corante *acridine orange* e pela técnica de TUNEL. Em todos os tratamentos os espermatozóides perderam a motilidade, no entanto, houve apenas uma perda discreta das caudas (separação da cabeça). A membrana plasmática sofreu maiores alterações nos T2 e T3, enquanto no T1 foi observado somente pequenas ondulações. O acrossoma e as mitocôndrias foram preservados em todos os tratamentos. Os microtúbulos sofreram completa desorganização nos tratamentos T2 e T3, e mantiveram-se normais no T1. Em relação à estabilidade da cromatina espermática foi observado uma integridade média de 95%, 98%, 100% e 100%, respectivamente para T1, T2, T3 e controle. Pela técnica de TUNEL observaram-se 14%, 5%, 2% e 1% de fragmentação do DNA, igualmente para os tratamentos T1, T2, T3 e controle. Estes resultados indicam que o processo de liofilização espermática é agressivo, tornando os espermatozóides imóveis, porém, o núcleo parece bem protegido pelos tratamentos T2 e T3. Apesar do comprometimento celular, o fato do núcleo permanecer intacto representa ainda possibilidade de fecundação, caso estes núcleos sejam microinjetados no citoplasma de ovócitos pela técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozóide.

<sup>1</sup>Méd. Vet., doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### **043 - CARACTERIZAÇÃO DE SNPs NO GENE GDF9 EM OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS E SUA RELAÇÃO COM O AUMENTO DE PROLIFICIDADE (Characterization of SNPs in the GDF9 gene in sheeps of the race Santa Ines and its relationship with the increase of prolificity)**

Avila, F.F.<sup>1</sup>, Franco, M.M.<sup>2</sup>, Paiva, S.R.<sup>3</sup>, Souza, C.J.H.<sup>4</sup>, Martins, N.F.<sup>5</sup>, Oliveira, A.A.<sup>6</sup>, Rumpf, R.<sup>2</sup>, Melo, E.O.<sup>3</sup>

O gene GDF9 codifica uma cadeia polipeptídica de 453 aminoácidos, que depois de processada dá origem a um peptídeo maduro com 135 aminoácidos. Ao se dimerizar, o peptídeo maduro forma o hormônio GDF9. Sintetizado e secretado pelo ovócito, está presente no fluido folicular e seus principais alvos são as células da granulosa e do cumulus. O GDF9 tem efeito mitogênico sobre as células da granulosa e cumulus adjacentes, sendo fundamental para a foliculogênese e o desenvolvimento folicular. Mutações pontuais no gene foram correlacionadas ao aumento da taxa de ovulação em ovelhas de raças européias quando em heterozigose e à infertilidade quando em homozigose. O objetivo deste trabalho foi seqüenciar o exon 2 do gene GDF9, dentro do qual está inserida a região codante do peptídeo maduro, em ovelhas da raça Santa Inês. As ovelhas analisadas eram filhas de partos múltiplos, sendo candidatas a apresentarem alterações no gene GDF9. A seqüência do exon 2 foi amplificada por PCR a partir de DNA genômico de 13 animais. O DNA amplificado foi purificado e sequenciado, e as seqüências resultantes foram comparadas com a seqüência depositada no *GenBank*. Foram identificadas sete mutações (SNPs) presentes tanto na região do pré-peptídeo quanto no peptídeo maduro. Seis destas mutações encontram-se no pré-peptídeo, sendo que três delas são silenciosas e uma conservada. A principal mutação foi encontrada na região do peptídeo maduro em 10 dos 13 animais analisados. Esta mutação, situada no 27º códon do peptídeo maduro, leva à alteração do aminoácido fenilalanina para cisteína. A fenilalanina encontra-se conservada nessa posição em diversos animais, o que sugere sua relevância na estrutura da proteína. Essa suposição foi corroborada pela modelagem do peptídeo maduro em sua conformação dimérica, pois no modelo gerado a fenilalanina encontra-se numa posição chave para interação das subunidades de GDF9. Portanto, os dados de genealogia e modelagem sugerem que esta mutação possa estar relacionada com o aumento da taxa de ovulação nos animais investigados.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Méd. Vet., Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Pecuária Sul

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Méd. Vet., Ph.D, Embrapa Tabuleiros Costeiros

## **044- CLONAGEM E EXPRESSÃO DAS REGIÕES GÊNICAS CODIFICADORAS DO PEPTÍDIO MADURO DOS HORMÔNIOS BMP15 E GDF9 DE CLONES BOVINOS (Cloning and expression of the mature peptide coding region of BMP15 and GDF9 in cattle)**

Lopez, I.M.R.<sup>1</sup>, Souza, C.J.H.<sup>2</sup>, Franco, M.M.<sup>3</sup>, Rumpf, R.<sup>3</sup>, Melo, E.O.<sup>4</sup>

Os genes BMP15 e GDF9 codificam hormônios que pertencem uma família de reguladores de crescimento e diferenciação TGF-?. O GDF9 e BMP15 são produzidos e secretados pelos ovócitos, e atuam estimulando o crescimento e diferenciação das células somáticas dos folículos ovarianos. Esses hormônios são transcritos como pré-próproteínas compostas por um peptídeo sinal, um pró-peptídeo e a região madura. Após a remoção do peptídeo sinal, o pró-peptídeo passa por uma clivagem que o separa da região madura bioativa. Recentemente demonstrou-se que a dimerização dos pró-peptídeos é necessária para que a clivagem ocorra e os hormônios sejam secretados. Entretanto, BMP15 e GDF9 não apresentam a quarta cisteína, de um conjunto conservado de sete resíduos de cisteínas, relacionada à formação de pontes dissulfeto e responsáveis pela formação de dímeros. Evidências têm demonstrado que GDF9 e BMP15 formam homodímeros e heterodímeros entre si. O objetivo deste trabalho foi clonar e expressar o peptídeo maduro dos hormônios BMP15 e GDF9 a partir do DNA de bovinos. As sequências codificadoras foram clonadas a partir de PCR do exon2 do DNA genômico extraído do sangue dos clones bovinos Vitória e Lenda da EMBRAPA. O BMP15 foi inicialmente clonado no vetor pGEM-Teasy (Promega) e posteriormente transferido para os vetores de expressão pRSET (Invitrogen) e pET21 (Novagen). O GDF9 foi inserido diretamente no vetor pET21 por meio de sua amplificação com primers desenhados para clonagem diretamente no vetor de expressão. Os peptídeos foram expressos em *E. coli*, produzindo peptídeos de aproximadamente 19kDa, correspondente ao esperado. Os peptídeos foram purificados a partir de gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) e injetados em galinhas para produção de anticorpos. Também foi observado o comportamento de ovoposição dos animais imunizados, já que é esperado que haja uma reação cruzada entre os anticorpos produzidos contra as proteínas bovinas e os hormônios sintetizados pelas galinhas. Os anticorpos produzidos serão empregados no estudo da expressão dos hormônios GDF9 e BMP15 em ovinos que sejam portadores de mutações (SNPs) nesses genes e apresentem um fenótipo de ovulação múltipla.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Pecuária Sul

<sup>3</sup>Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **045 - PRODUÇÃO DE BEZERRAS CLONES DE VACA JUNQUEIRA – RAÇA CRIOLA BRASILEIRA EM VIAS DE EXTINÇÃO. DADOS DA CONCEPÇÃO AO PERINATAL (Production of calves cloned from a Junqueira cow – an endangered Brazilian Creole breed - Data from conception to perinatal)**

Iguma, L.T.<sup>1</sup>, Pivato, I.<sup>2</sup>, Machado, G.M.<sup>3</sup>, Câmara, J.U.<sup>4</sup>, Ramos, A.F.<sup>5</sup>, Guimarães Neto, A.G.<sup>6</sup>, Gouvêia, L.V.<sup>7</sup>, Meirelles, F.C.<sup>7</sup>, Franco, M.M.<sup>8</sup>, Ferreira, M.E.<sup>9</sup>, Grattapaglia, D.<sup>9</sup>, Reis Jr., J.L.<sup>10</sup>, Borges, J.R.J.<sup>10</sup>, Rumpf, R.<sup>8</sup>

A tecnologia de transferência nuclear (TN), a clonagem animal, apresenta potencial na conservação animal. Este trabalho objetivou relatar dados da concepção ao período perinatal de 4 bezerras clones Junqueira, que avaliaram os efeitos do FSH em ovócitos receptores na TN de fibroblastos de vaca Junqueira adulta. Nesse estudo, transferiram-se 46 embriões para 34 receptoras do grupo sem-FSH (T1) e 36 embriões do grupo FSH (T2) em 29 receptoras. Houve 4 desenvolvimentos a termo, 2 de cada grupo. No T1, as gestações foram de 289 (clone1) e 286 dias (clone2), e a primeira morreu após 21 dias de vida, sendo submetida a oxigenoterapia e tratamento para hipertensão pulmonar. A segunda encontrava-se natimorta. Ambas pesavam 25Kg ao parto e apresentaram edema de placenta. À necrópsia, exibiram anomalias, como espessamento de vasos umbilicais, hipertrofia cardíaca, persistência de ducto arterioso e congestão renal. A clone1 apresentou ainda icterícia, hepatoesplenomegalia, e a causa *mortis* foi babesiose. A clone2 mostrou degeneração gordurosa no pericárdio e encéfalo hiperêmico. Do T2, nasceram as bezerras Porã e Potira, de parto normal, pesando 26 e 29Kg, após 292 e 290 dias de gestação, respectivamente. Esses clones têm apresentado desenvolvimento normal em todos os aspectos, exceto que manifestaram uma hipoglobulinemia durante o 1<sup>o</sup> mês de vida, mas que em seguida se normalizou. Testes de DNA comprovaram que as 4 bezerras exibiam perfis genéticos idênticos aos da vaca Junqueira (doadora de núcleos) e distintos dos das mães de aluguel. Aos 6 meses de idade Porã pesava 173Kg e Potira 183Kg. Sugere-se que a TN pode ser aplicada em programas de conservação de recursos genéticos, viabilizando o uso de células somáticas como fonte de germoplasma animal.

---

<sup>1</sup>Méd. Vet., doutoranda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq

<sup>2</sup>Méd. Vet., Ph.D., CIDASC

<sup>3</sup>Méd. Vet., graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Méd. Vet., doutorando, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

<sup>6</sup>Méd. Vet., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Méd. Vet., Universidade de Brasília-UnB

<sup>8</sup>Méd. Vet., Ph.D, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>9</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>10</sup>Méd. Vet., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

## **046 - USO DO PLASMA SEMINAL NO DESCONGELAMENTO DO SÊMEN OVINO PARA INSEMINAÇÃO TRANSCERVICAL EM OVELHAS COM ESTRO SINCRONIZADO (Use of seminal plasma to thaw ram semen for trans-cervical artificial insemination (ai) in ewe with synchronized estrus)**

Silva, T.A.S.N.<sup>1</sup>, Neves, J.P.<sup>2</sup>, Bragança, J.M.<sup>3</sup>, Gonçalves, P.B.D.<sup>4</sup>, Rumpf, R.<sup>5</sup>

Este trabalho teve por objetivo avaliar a ação da adição do plasma seminal no descongelamento do sêmen ovino criopreservado em pellets e aplicado pela via transcervical em ovelhas com estro sincronizado. Na retirada dos mesmos foram aplicados 250UI de eCG. O sêmen foi obtido de cinco carneiros da raça Ideal, criopreservado em pellets de 130 µl. Uma amostra de cada partida foi submetida ao TTR (37°C/6 horas) e avaliação da integridade do acrossoma pela coloração Tryplan blue/Giemsa. Somente foram aprovadas partidas que apresentaram ao final do TTR 25% de motilidade e 20% de células integras vivas. O plasma seminal foi obtido de dois carneiros vasectomizados e congelado. O mesmo era descongelado junto ao pellet em banho Maria a 37 °C, na proporção de (1:1). Conforme o grau de penetração do aplicador de sêmen no canal cervical das ovelhas considerou-se três graus de penetração: grau 1: superficial; grau 2: intermediário; grau 3: profundo. Como controle 61 ovelhas foram inseminadas com sêmen fresco/diluído. Das 100 restantes, metade foi inseminada com sêmen congelado/descongelado sem plasma seminal e a outra metade com plasma seminal. Após 45 dias da IA, foi realizado o diagnóstico de prenhez por ultra-sonografia. As ovelhas inseminadas apresentaram os percentuais de prenhez de 60,0% (50/30), 74,0% (50/37) e 67,2% (61/41), respectivamente para sêmen congelado/descongelado, sem plasma seminal, com plasma seminal e fresco/diluído. Quanto a penetração cervical obteve-se os percentuais de 52,3%, 66,6% e 83,3% , respectivamente, para os graus 1, 2 e 3. Os índices de prenhez não diferiram entre os tratamentos nos graus 1 e 2. No entanto, as percentagens de prenhez diagnosticadas nas ovelhas inseminadas com sêmen fresco (95,6%) e com sêmen congelado com plasma (94,1%) foram superiores a obtida com sêmen congelado sem plasma (60,0%; P<0,05) no grau 3. Em conclusão, o sêmen congelado pode ser utilizado via cervical com os mesmos índices do sêmen fresco em grau 1 e 2. No entanto, somente o sêmen descongelado com plasma seminal atinge níveis de prenhez similar ao sêmen fresco em grau 3.

---

<sup>1</sup>Med. Vet., mestrando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Med. Vet., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Med. Vet., doutorando, Universidade Federal de Santa Maria-UFSM

<sup>4</sup>Med. Vet., Ph.D., Universidade Federal de Santa Maria-UFSM

<sup>5</sup>Med. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



# CONTROLE BIOLÓGICO



## 047 - ABELHAS CARREADORAS DE PÓLEN DO ALGODÃO, *Gossypium hirsutum*: ANÁLISE PRELIMINAR (Bees carrying cotton pollen, *Gossypium hirsutum*: preliminary analysis)

Cardoso, C.F.<sup>1</sup>, Oliveira, G.<sup>2</sup>, Nakasu, E.<sup>3</sup>, Sujii, E.R.<sup>4</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>5</sup>, Silveira, F.A.<sup>6</sup>, Pires, C.S.S.<sup>5</sup>

Existem poucas informações sobre possíveis polinizadores do algodão no Brasil. O objetivo deste trabalho foi analisar dentre as abelhas visitantes florais do algodão aquelas espécies que potencialmente poderiam carrear pólen e promover o fluxo gênico. Araújo *et al* (Braz. J. Biol. 64(3B):563-568, 2004), correlacionando tamanho de corpo com capacidade de vôo, demonstrou uma relação direta e positiva entre esses parâmetros. Assim, através de análises morfológicas de 28 espécies coletadas na região do DF em 2005 separaram-se os indivíduos em três grupos: pequenas, médias e grandes. Foram tomadas medidas do comprimento e largura máximos da asa anterior, número de hámulos, espaço intertegular e comprimento do corpo. As abelhas consideradas grandes, conseqüentemente com maior capacidade de vôo, podendo carrear pólen em um raio de até 10 km são: *Bombus sp*, *Eulaema sp*, e *Eulaema nigrita*. As abelhas de tamanho médio, com capacidade de vôo estimada em 4km, as espécies: *Apis mellifera* (abelha melífera) e *Melissoptila cfr. cnecomala*. As abelhas menores e com menor capacidade de vôo, percorrendo um raio de até 900m foram: *Paratrigona lineata*, *Trigona spinipes* e espécies de Halictidae. Dados preliminares obtidos em diferentes regiões de produção têm demonstrado que as espécies médias e pequenas são as mais abundantes. Observações de campo foram realizadas em uma área de 200m X 50m na estação experimental da Embrapa Hortaliças para analisar qualitativamente o forrageamento das abelhas. Observações preliminares têm indicado que algumas espécies buscam somente o néctar nas flores, por exemplo, *A. mellifera*. Esses indivíduos apesar de tocarem as anteras das flores, raramente tocam o estigma, pouco contribuindo para a polinização cruzada do algodão. Porém, durante a coleta de pólen, outras abelhas, como *M. cnecomala*, tocam o estigma, contribuindo assim para troca de pólen entre as plantas. Informações sobre capacidade de vôo e comportamento de forrageamento são fundamentais para subsidiar os estudos sobre polinização e fluxo gênico em *Gossypium* spp e serão estudadas com mais detalhes na próxima safra.

Apoio: CNPq, FACUAL, FAP-DF

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Centro Unificado de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

## 048 - AÇÃO DE *Trichoderma* SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE *Sclerotium rolfsii* (Effect of *Trichoderma* on the development of *Sclerotium rolfsii*)

Gomes, D.M.P.A.<sup>1</sup>, Ávila, Z.R.<sup>2</sup>, Pádua, R.R.<sup>3</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>4</sup>, Carvalho Filho, M.R.<sup>5</sup>, Mello, S.C.M.<sup>6</sup>, Silva, J.B.T.<sup>7</sup>

*Sclerotium rolfsii* (Sacc.) é um patógeno cosmopolita que ataca diversas culturas causando danos severos. Na cultura da soja, que é altamente suscetível a este fungo, pode causar grandes prejuízos pela morte de plântulas, tanto em pré como em pós-emergência. Uma das características agravantes deste fungo é a capacidade de sobreviver por longos anos no solo, pela formação de estrutura de resistência, chamada de escleródio. Este, em condições favoráveis, torna-se fonte de inóculo para futuros plantios. O sucesso do uso de *Trichoderma* como agente de controle biológico deste patógeno tem sido documentado em vários países. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antagonístico de 20 isolados de *Trichoderma* obtidos a partir de amostras de solo da região do Distrito Federal, contra o *S. rolfsii*, in vitro e in vivo. Para a avaliação do antagonismo *in vitro* foi realizado o cultivo pareado, que consistiu em inoculação simultânea do patógeno e antagonista, em posições opostas de Placas de Petri contendo meio de batata-dextrose-ágar (BDA). Após cinco dias de cultivo, determinou-se a porcentagem de redução do crescimento das colônias. Para o experimento in vivo, os antagonistas e patógeno foram cultivados em arroz parboilizado previamente umedecido com água (60% p/v), em ambiente com ajuste de temperatura a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante seis dias. Os inóculos obtidos foram transferidos simultaneamente para vasos contendo solo estéril (5 g de arroz colonizado por microrganismo Kg. de solo). Após 24 horas, realizou-se o semeio da soja, cultivar BRS Milena, utilizando seis sementes por vaso. O potencial de biocontrole dos isolados foi determinado em termos da porcentagem de plantas vivas. Os dois experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. No cultivo pareado, observou-se redução do crescimento de *S. rolfsii* por todos os isolados de *Trichoderma*, entre 27,35 e 69%. O isolado CEN 252 superou os demais. Nos testes realizados em casa de vegetação, 13 dos 20 isolados apresentaram valores médios da porcentagem de plantas vivas entre 58 e 100%. Os isolados CEN 199, 219, 220, 254, 255, 260, 262 e 266, foram selecionados para estudos de campo em etapa posterior, pois proporcionaram controle acima de 79%.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>3</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 049 - ANÁLISE DE DNA DE INFECÇÕES POR SfMNPV EM CÉLULAS HOSPEDEIRAS (Sf9) DE *Spodoptera frugiperda* (DNA analysis of SfMNPV infection of cultured host *Spodoptera frugiperda* (Sf9) cells)

Almeida, G.F.<sup>1</sup>, Almeida, A.F.<sup>2</sup>, Ribeiro, Z.M.A.<sup>3</sup>, Pedrini, M.R.S.<sup>4</sup>, Castro, M.E.B.<sup>5</sup>

A lagarta *Spodoptera frugiperda*, conhecida como a lagarta-do-cartucho do milho, causa sérios danos à cultura de milho atacando não só o cartucho como as folhas e os grãos nas espigas. A utilização do baculovirus *Spodoptera frugiperda nucleopolyhedrovirus* (SfMNPV) como biopesticida, na tentativa de reduzir a aplicação de produtos químicos nas lavouras, tem sido uma interessante alternativa principalmente sob o ponto de vista ecológico. Porém, a produção dos baculovirus, que até o momento tem sido feita em sistemas de infecção in vivo, tem resultado em um produto final de custo elevado e muitas vezes não competitivo com os custos dos produtos químicos disponíveis. Uma outra forma de se produzir baculovirus é a produção em sistemas in vitro, mas que ainda apresenta muitas limitações. Uma delas, que constitui o principal foco do presente trabalho, é a diminuição da eficiência de infecção do vírus pela rápida acumulação de mutantes FP (*few polyhedra*) ou de partículas interferentes defectivas (DIPs) resultantes de passagens sucessivas do vírus em cultura de células. Para verificação da ocorrência dessas mutações, células da linhagem SF9 foram então infectadas pelo vírus SfMNPV e cultivadas em suspensão, sendo o vírus sucessivamente replicado de 1 até 7 passagens. O DNA obtido das infecções das passagens 3 (P3), 5 (P5) e 7 (P7) foi então clivado por enzimas de restrição e analisado por eletroforese em gel de agarose 1%. Os perfis gerados pela clivagem com *EcoRI* e *PstI* foram de aproximadamente 22 e 14 fragmentos, respectivamente. Embora não se tenha uma nítida visualização de todos os fragmentos produzidos, a análise dos perfis indica que até a sétima passagem do vírus o *efeito passagem* não deve ter ocorrido. Entretanto, para confirmação dos resultados é interessante que o DNA das passagens dos sistemas de infecção seja testado e analisado com outras enzimas de restrição. Além disso, os resultados sugerem que passagens mais altas do vírus em cultura de células devem ser analisadas quanto às possíveis alterações genéticas. Estes resultados poderão contribuir para a continuidade dos estudos de caracterização do vírus SfMNPV e de viabilidade de sua produção in vitro.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Química, M.Sc., Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN

<sup>3</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. de Alimentos, Ph.D., Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**050 - ANÁLISE MOLECULAR DAS ANTENAS DE *Euschistus heros* (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) PERCEVEJO-MARROM PRAGA DA SOJA PARA DETECÇÃO DE PROTEÍNAS LIGANTES DE ODORES (PLO) (Molecular analysis of the antennae of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) brown stink bug soybean for the detection of odorant bind proteins (PBO))**

Damacena, I.<sup>1</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>1</sup>, Laumann, R.A.<sup>2</sup>, Lozzi, S.P.<sup>3</sup>, Borges, M.<sup>4</sup>

Os insetos se comunicam através de sinais químicos que intermediam a troca de informação entre inseto-inseto e inseto-planta. A percepção das moléculas odoríficas nos insetos ocorre principalmente nas antenas através de proteínas específicas - Proteínas Ligantes de Odores (PLO), que estão localizadas na linfa sensiliar. As moléculas odorantes são transportadas por PLO's até as proteínas da membrana dendrítica. Há uma série de estudos sobre PLO e PL de Feromônios (PLF) com outros insetos. O percevejo *Euschistus heros*, é pentatomídeo Neotropical, considerado uma das principais pragas que atacam as culturas de soja no Brasil. Este trabalho tem como objetivo a extração de proteínas totais de antenas do *E. heros* para produção de perfis protéicos para identificação de PLO, sendo que as PLO's são encontradas apenas em adultos maduros sexualmente. Foi feito um estudo comparativo relacionado à concentração de PLO's produzidas em fêmeas e machos maduros sexualmente virgens e acasalados e em fêmeas maduras virgens estimuladas com 1mg do feromônio sexual sintético. Duzentas antenas de adultos e ninfas do 5º instar foram cortadas e estocadas à 80°C. As proteínas foram extraídas segundo metodologia estabelecida e posteriormente submetidas à Eletroforese em Gel de Poliacrilamida não-Desnaturante, para análise das mesmas que foram diferencialmente expressadas entre ninfas e adultos. As proteínas totais foram quantificadas usando o método colorimétrico de Bradford e feita análise de Variância (SigmaStat 3.2). A análise mostrou que há diferenças na concentração ( $F=13,6$  14 g.l  $P<0,001$ ). Somente ninfas e adultos apresentaram diferença no nível de concentração quando comparadas pelo teste de Student-Newman-Keul ( $p<0,05$ ) e não houve diferenças entre fêmeas e machos virgens ou acasalados. A análise demonstrou que não houve diferença significativa na concentração de proteínas entre as fêmeas virgens estimuladas com feromônio e as fêmeas acasaladas. Nos resultados obtidos por PAGE foi possível observar quatro proteínas diferenciais as quais não foram identificadas nos perfis das ninfas.

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Bióloga, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **051 - ATIVIDADE LARVICIDA E PERSISTÊNCIA DE PRODUTOS COMERCIAIS À BASE DE *Bacillus thuringiensis* SUBESP. *israelensis* PARA O CONTROLE DE *Aedes aegypti* (Larvicidal activity and persistence of *Bacillus thuringiensis* subesp. *israelensis* commercial products to control *Aedes aegypti*)**

Santos, R.B.<sup>1</sup>, Lopes, J.<sup>2</sup>, Santos, W.J.<sup>3</sup>, Monnerat, R.G.<sup>4</sup>

A bactéria *Bacillus thuringiensis* subesp. *israelensis* (Bti) tem sido amplamente empregada como larvicida em vista dos bons resultados obtidos. Entretanto, o Bti apresenta baixa persistência no ambiente quando comparado com inseticidas químicos, exigindo maior número de reaplicações. Perante isso, foi avaliada a persistência de três diferentes produtos comerciais à base de Bti disponíveis no mercado. O ensaio de semi-campo foi realizado em laboratório e os produtos foram testados em 4 repetições em baldes plásticos contendo 10 litros de água. Durante a montagem do ensaio foram adicionadas 25 larvas de 4º instar inicial de *Aedes aegypti* e os produtos foram aplicados nas seguintes concentrações: Vectobac® AS (10ppm), Teknar® HP-D (10ppm) e Bt-horus® SC (20ppm). A reposição de larvas de 2º instar foi realizada a cada 4 dias. Somente Vectobac® AS controlou 100% das larvas de 4º instar inicial colocadas no momento da montagem do ensaio e ao contrário dos demais tratamentos, não houve formação de pupas nesta fase. Em 52 dias de experimento, os tratamentos mantiveram 100% de controle contínuo das larvas de 2º instar, não havendo produção de pupas. Somente o Teknar® HP-D apresentou no 47º dia uma variação para 98% no controle de produção de pupas que foi restabelecida novamente para 100% na etapa seguinte. Para o cálculo da CL<sub>50</sub>, foram realizados bioensaios dos produtos com 25 larvas de 2º instar de *A. aegypti*. Teknar® HP-D mostrou-se mais eficiente seguido do Vectobac® AS e Bt-horus® SC, respectivamente.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Estadual de Londrina-UEL

<sup>2</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade Estadual de Londrina-UEL

<sup>3</sup>Eng. Agr., M.Sc., Instituto Agrônomo do Paraná-IAPAR

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 052 - AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E PERSISTÊNCIA DOS BIOINSETICIDAS BT-HORUS E VECTOBAC EM UMA POPULAÇÃO DE *Aedes aegypti* (Efficiency and persistence evaluation of two bioinsecticides used against *Aedes aegypti* population)

Dumas, V.F.<sup>1</sup>, Pimentel, L.W.<sup>2</sup>, Nunes, A.C.<sup>3</sup>, Vilarinhos, P.<sup>4</sup>, Monnerat, R.G.<sup>5</sup>

A dengue é transmitida pela fêmea do mosquito *Aedes aegypti* que também é vetor da febre amarela urbana. A prevenção de epidemias, principalmente de dengue, se dá pelo controle populacional do vetor dessas doenças. Um dos métodos mais utilizados para a eliminação dos insetos é a aplicação de larvicidas em seus criadouros. No Brasil, o produto mais utilizado para o controle dos mosquitos é o Temefós, um organofosforado que tem selecionado populações de *Aedes* resistentes. Visando a diminuição da utilização desse agente químico, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia têm utilizado produtos à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) em testes de campo, com o objetivo de selecionar bioinseticidas mais eficientes do que os já existentes no mercado. Este trabalho teve como objetivo comparar a eficiência e persistência do produto químico Temefós e de dois bioinseticidas (Vectobac e Bt-horus), à base de Bti. Os testes foram realizados em condições de campo controladas, em caixas d'água protegidas com telados, de modo a permitir a exposição à luz natural, em locais sombreados e a temperatura ambiente. Os tratamentos foram realizados em triplicata, utilizando uma população de *A. aegypti* susceptível ao Temefós, sendo que no controle não foi adicionado nenhum produto. A cada dez dias as caixas eram repovoadas com 20 larvas de *A. aegypti* de segundo instar e 20% da água era retirada e resposta logo em seguida, simulando a utilização da mesma. Diariamente as caixas foram inspecionadas e as pupas contadas, removidas e utilizadas para avaliar a atividade larvicida e persistência das formulações. Os resultados demonstraram que o Temefós apresentou melhor persistência do que os dois produtos biológicos. Verificou-se, também, que os bioinseticidas testados são eficazes no controle de *A. aegypti* e, quando comparados, apresentaram eficácia e persistência semelhantes. Entretanto, a utilização do Bt-horus é a mais viável, devido ao seu menor preço de mercado.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Biomédico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Diretoria de Vigilância Ambiental Brasília-DF

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 053 - AVALIAÇÃO DA ESPORULAÇÃO DE *Trichoderma* SPP. EM SUBSTRATOS SÓLIDOS (Sporulation of *Trichoderma* spp. on solid substrate)

Gomes, D.M.P.A.<sup>1</sup>, Ávila, Z.R.<sup>2</sup>, Pádua, R.R.<sup>3</sup>, Carvalho Filho, M.R.<sup>4</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>5</sup>, Mello, S.C.M.<sup>6</sup>

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 teve como objetivo avaliar cinco tipos de substratos sólidos (arroz parboilizado, arroz comum, palha de arroz, palha de arroz com caldo de batata e trigo) quanto à esporulação de *Trichoderma* ssp. Utilizaram-se os seguintes isolados de *Trichoderma* spp.: CEN 219 (*T. atroviride*), CEN225 (*T. spirale*), CEN226 (*T. fasciculatum*) e CEN238 (*T. harzianum*), todos com potencial de controle, em testes realizados em casa de vegetação contra *Sclerotium rolfsii*, com a cultura da soja. Foram colocados 5g de cada substrato previamente umedecido com água destilada 60% (p/v) em erlenmeyer de 200ml. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com três repetições. Para a coleta dos esporos, adicionou-se 20ml de solução água+Tween (0,02%) em cada Erlenmeyer. A contagem dos esporos foi realizada com o auxílio de câmara de Neubauer. Foi possível obter esporos de todos os isolados em todos os substratos, havendo entretanto variação nas suas concentrações. Verificou-se interação significativa entre os fatores (substratos e isolados). No substrato arroz parboilizado, o isolado CEN219 superou os demais, em termos de concentração de esporos, ao passo que, em palha de arroz com caldo de batata, os isolados CEN219 e CEN225 foram os que melhor esporularam. Para os substratos arroz comum, palha de arroz umedecido com água e trigo, não foi observada diferença significativa entre isolados. É importante ressaltar que a palha de arroz umedecida com caldo de batata apresentou resultado semelhante ao arroz parboilizado, que já vem sendo usado comercialmente e, por ser um substrato de baixo custo, poderia substituir este último com vantagem.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>6</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 054 - AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE DUAS POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* A PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS (Susceptibility evaluation of two *Aedes aegypti* populations to chemical and biological products)

Dumas, V.F.<sup>1</sup>, Pimentel, L.W.<sup>2</sup>, Nunes, A.C.<sup>3</sup>, Vilarinhos, P.<sup>4</sup>, Monnerat, R.G.<sup>5</sup>

A dengue é uma doença cujo agente infeccioso é um arbovirus. Atualmente, é a mais importante arbovirose que afeta o homem e 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, pois os criadouros encontram-se, em geral, dentro das próprias casas ou em seus arredores. Um dos métodos utilizados para eliminação dos insetos é a aplicação de larvicidas nos criadouros. Um produto largamente utilizado para o controle dos mosquitos é o organofosforado Temefós, que tem selecionado populações de mosquitos resistentes. Visando a diminuição da utilização desse agente químico, a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) tem utilizado produtos à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti). Este trabalho teve como objetivo comparar a eficiência e persistência de dois bioinseticidas (Vectobac WDG e Vectobac DT) à base de Bti e de dois produtos químicos (Pyriproxifen e Temefós). Os testes foram realizados em condições de campo controladas, em caixas d'água protegidas com telados, de modo a permitir a exposição à luz natural, em locais sombreados e a temperatura ambiente. Os tratamentos foram realizados em triplicata, utilizando populações suscetíveis e resistentes ao Temefós, sendo que no controle não foi adicionado nenhum produto. A cada dez dias as caixas eram repovoadas com 20 larvas de *A. aegypti* de segundo instar e 20% da água era retirada e repostada logo em seguida, simulando a utilização da mesma. Diariamente as caixas foram inspecionadas e as pupas contadas, removidas e utilizadas para avaliar a atividade larvicida e persistência das formulações. Os resultados demonstraram que os produtos químicos apresentaram eficácia de 100% durante 70 dias e os produtos biológicos durante 20 dias. Além disso, foram observadas diferenças na mortalidade das populações resistente e suscetível em todos os produtos testados.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Biomédico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Diretoria de Vigilância Ambiental Brasília-DF

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **055 - AVALIAÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* PARA O CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) (Evaluation of *Bacillus thuringiensis* strains to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae))**

Melatti, V.M.<sup>1</sup>, Batista, A.C.<sup>2</sup>, Demo, C.<sup>2</sup>, Praça, B.L.B.<sup>3</sup>, Martins, E.S.<sup>4</sup>, Siqueira, C.B.<sup>5</sup>, Monnerat, R.G.<sup>6</sup>

Bioinseticidas formulados à base de *Bacillus thuringiensis* vêm apresentando um resultado satisfatório no controle de insetos-praga. Dentre estes insetos, podemos destacar a *Spodoptera frugiperda*, um inseto polífono que ataca diversas culturas, principalmente o milho e o algodão. Este trabalho teve como objetivo a seleção de subespécies de *Bacillus thuringiensis* tóxicas a *S. frugiperda*. Foram utilizadas 29 estirpes pertencentes ao Banco de Germoplasma de Bacilos Entomopatogênicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. As estirpes foram cultivadas em meio NYSM para a realização dos bioensaios seletivos e de dose. Os bioensaios seletivos foram realizados colocando-se 35mL da bactéria cultivada em dieta artificial, previamente distribuídas em placas de acrílico. De acordo com os resultados obtidos nos bioensaios seletivos, foram realizados os bioensaios de dose. Para tal, usou-se estirpes liofilizadas e doses pré-determinadas. A observação dos cristais foi realizada através de microscopia eletrônica de varredura. As estirpes S608, S615, S1450 e S1576, pertencentes aos sorotipos *fukuokaensis*, *sotto*, *kurtaki* e *aizawai*, respectivamente, foram as mais tóxicas entre todas as analisadas, podendo ser utilizadas como base na produção de um bioinseticida para o controle de *S. frugiperda*. Dentre as quatro, as estirpes S1576 e S608 apresentaram as menores CL<sub>50</sub>, sendo estas as mais efetivas contra *S. frugiperda*.

---

<sup>1</sup>Bióloga, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup>Eng. Agr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 056 - AVALIAÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. NO CONTROLE DE *Sclerotium rolfsii* em FEIJOEIRO (*Trichoderma* spp. isolates to control *Sclerotium rolfsii* on *Phaseolus vulgaris*)

Pádua, R.R.<sup>1</sup>, Gomes, D.M.P.A.<sup>2</sup>, Ávila, Z.R.<sup>3</sup>, Carvalho Filho, M.R.<sup>2</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>4</sup>, Mello, S.C.M.<sup>5</sup>

Fungos do gênero *Trichoderma* vêm sendo utilizados com sucesso no controle de várias doenças de plantas, dentre as quais, as podridões de raiz e colo causadas por *Sclerotium rolfsii*. Devido à produção de escleródios, *S. rolfsii* é capaz de sobreviver no solo por vários anos, mantendo-se, desta forma, o inóculo inicial para futuros plantios. Este trabalho foi realizado no intuito de avaliar o potencial de 46 isolados de *Trichoderma* da coleção da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, para controle da podridão do colo e tombamento de plântulas do feijoeiro. A escolha desses isolados ocorreu em virtude dos bons resultados que apresentaram em experimentos anteriormente conduzidos com a soja. Neste trabalho, foram utilizados vasos plásticos com capacidade de 3 kg contendo solo constituído da mistura de terra de barranco, areia lavada de rio e esterco, corrigido e autoclavado. Os inóculos do patógeno e antagonista foram produzidos em grãos de arroz parboilizado previamente umedecido com água destilada (60% P/V) e autoclavado a 120°C por 20 minutos. Dois discos de micélio de cada isolado de *Trichoderma*, medindo 0,4 cm de diâmetro, foram transferidos para erlenmeyers de 500 ml de capacidade contendo 75g de arroz. Para *S. rolfsii*, o cultivo ocorreu em bandejas de alumínio de dimensão 44 x 30cm com 500g de arroz, recebendo cinco discos de micélio cada uma. Os erlenmeyers e as bandejas permaneceram sete dias em câmara de crescimento a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas. As inoculações do solo foram realizadas simultaneamente, com o antagonista e com o patógeno. Após 24 horas, procedeu-se a semeadura, utilizando-se 10 sementes de feijão por vaso. O delineamento foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento. As avaliações foram realizadas aos 15 e 30 dias após a semeadura, determinando-se as porcentagens de plantas vivas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quarenta e quatro isolados proporcionaram controle de 60 a 95%, sendo que destes, 13 isolados (CEN 144, CEN 168, CEN 201, CEN 209, CEN 211, CEN 221, CEN 222, CEN 225, CEN 227, 256, CEN 266) apresentaram controle igual ou superior a 90%.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>4</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**057 - AVALIAÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO A BASE DO FEROMÔNIO SEXUAL SINTÉTICO DE *Euschistus heros* PARA USO EM PROGRAMAS DE MONITORAMENTO DE PERCEVEJOS-PRAGA (Evaluation of a formulation based in synthetic sexual pheromone of *Euschistus heros* for use in monitoring programs of stink-bugs pests)**

Vieira, P.H.M.<sup>1</sup>, Oliveira, V.L.<sup>2</sup>, Laumann, R.A.<sup>3</sup>, Pires, C.S.S.<sup>4</sup>, Sujii, E.R.<sup>5</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>6</sup>, Borges, M.<sup>3</sup>

Após a caracterização, identificação química e estabelecimento de uma rota de síntese, a formulação dos feromônios é um passo essencial para viabilizar a sua utilização eficiente no campo. Neste trabalho, foi estudada uma formulação do feromônio sexual do percevejo-marrom *Euschistus heros* visando a sua utilização em armadilhas para monitoramento desta importante praga da soja do centro-oeste brasileiro. Para isto, foi analisada a persistência, taxa de liberação e atratividade em laboratório, para fêmeas da espécie, de uma formulação em pastilhas, do tipo “lure”, impregnadas com o feromônio sintético produzida pela empresa Fuji-Flavor do Japão. Cinco armadilhas contendo os lures foram distribuídas num campo experimental, na fase de pousio, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e mantidas por um período de 50 dias. Semanalmente os lures foram submetidos a aeração (24 hs.) para extração de feromônios e quantificação da taxa de liberação através de cromatografia gasosa e metodologia de padrão interno. No mesmo intervalo de tempo, os lures foram utilizados para realização de bioensaios em olfâmetro de dupla escolha com fêmeas virgens e sexualmente maduras de *E. heros* (10 a 15 dias de idade adulta). A emissão de feromônios, pela formulação mostrou uma queda significativa ao longo do tempo, contudo os bioensaios mostraram que, durante o período considerado, os lures não perderam eficiência para atração de fêmeas de *E. heros*, registrando uma resposta média de  $84,26 \pm 4,64$  dos insetos avaliados. Os resultados obtidos mostram que a formulação estudada apresenta persistência e taxas de liberação adequadas para sua utilização em programas de monitoramento de percevejos-praga. Contudo, a eficiência da formulação e seu potencial devem ser avaliados, ainda, a nível de campo.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Química, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 058 - AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Bacillus thuringiensis* NO MEIO DE CULTIVO BTHEK-2 COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNA DE SOJA (Evaluation of the growth of *Bacillus thuringiensis* in the Bthek-2 synthetic media based on different concentrations of soybean protein)

Melatti, V.M.<sup>1</sup>, Batista, A.C.<sup>2</sup>, Demo, C.<sup>2</sup>, Roberg, R.A.P.<sup>3</sup>, Silva, S.F.<sup>3</sup>, Soares, C.M.S.<sup>4</sup>, Siqueira, C.B.<sup>5</sup>, Monnerat, R.G.<sup>6</sup>

Para a produção de um bioinseticida à base de *Bacillus thuringiensis*, alternativas seguras e eficazes de mudanças nos meios de cultivo vêm sendo estudadas, em busca de um baixo custo, grande quantidade de biomassa seca, temperatura mais adequada, pH e outros fatores que possam influenciar positivamente na qualidade do produto final, como efetividade contra insetos-pragas. *Spodoptera frugiperda* é um inseto-praga capaz de destruir plantações de milho e algodão, afetando no rendimento da produção. Este trabalho teve como objetivo estabelecer dentre diferentes concentrações de proteína de soja em meio de cultivo, a composição de meio que promova um abundante crescimento, esporulação e síntese de proteínas (delta endotoxinas). O meio de cultivo Bthek-2 que foi desenhado pela Empresa Bthek Biotecnologia LTDA foi modificado quanto a quantidade de proteína. A estirpe S1905 foi crescida nos meios M1, M2, M3 e M4 contendo 24g/L, 18 g/L, 12 g/L e 8 g/L de proteína de soja, respectivamente. O meio M1, forneceu dentre os quatro testados, a maior biomassa seca e a maior quantidade de toxinas para o controle de *S. frugiperda*, apesar de levar mais tempo para obter a sua completa esporulação.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Bióloga, M.Sc., Bthek Biotecnologia Ltda

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bthek Biotecnologia Ltda

<sup>5</sup>Eng. Agr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **059 - BIOLOGIA FLORAL DE *Gossypium hirsutum latifolium* (MALVACEAE) (Floral biology of *Gossypium hirsutum latifolium* (Malvaceae))**

Cardoso, C.F.<sup>1</sup>, Silveira, F.A.<sup>2</sup>, Oliveira, G.<sup>3</sup>, Nakasu, E.<sup>4</sup>, Sujii, E.R.<sup>5</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>3</sup>, Pires, C.S.S.<sup>3</sup>

A recente aprovação do algodão *Bt* (Monsanto/Bolgard) no Brasil exige que se estabeleçam zonas de exclusão de plantio para manejar o fluxo de genes para as populações selvagens de *Gossypium*. Além disso, para minimizar o fluxo gênico entre variedades transgênicas e convencionais de algodoeiro, são necessárias outras medidas, tais como barreiras físicas e biológicas. Para isto, são necessários estudos sobre a biologia floral desta planta. Este trabalho visa estudar o sistema reprodutivo, o processo de abertura das flores e anteras e a dinâmica da produção de néctar de *G. hirsutum latifolium*. Dados preliminares coletados na safra 2004/05 no Distrito Federal demonstram que esta espécie independe de polinizadores, mas depende de polinização para a formação de frutos. As taxas de aborto observadas nos frutos autogâmicos (6%) e produzidos por autopolinização espontânea (18%) foram baixas em flores ensacadas. No entanto, a importância da polinização cruzada para a qualidade e quantidade de sementes e fibra produzidas por fruto ainda serão avaliadas. A maior visitação das flores pelas abelhas (possíveis polinizadoras) ocorre entre 10:00h e 14:00h, quando ocorre a maior produção de néctar (pico de produção às 12:00h). A antese floral ocorre a partir de 06:00h (72% de umidade relativa e 21,3°C), sendo que 90% das flores encontram-se abertas entre 09:00 e 10:00h (69% de umidade relativa e 24,8°C). As anteras abrem-se a partir de 08:10h. Pretende-se, na safra 2005/06, continuar a coleta de informações relacionadas à biologia floral. Esses estudos auxiliarão na determinação dos mecanismos de polinização cruzada do algodão que são fundamentais à execução das análises de risco e à tomada de medidas para evitar e/ou minimizar o fluxo do transgene para populações selvagens, garantindo a coexistência de culturas transgênicas e não-transgênicas.

Apoio: CNPq, FACUAL, FAP-DF

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

<sup>2</sup> Eng. Agr., Ph.D., Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

<sup>3</sup> Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>5</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**060 - CARACTERIZAÇÃO DOS VOLÁTEIS INDUZIDOS POR HERBÍVOROS EM DIFERENTES VARIEDADES DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum* L.) INFESTADO POR LAGARTAS DE *Spodoptera frugiperda* (Characterization of the induced herbivores volatiles in different cotton varieties (*Gossypium hirsutum* L.) infested by caterpillars of *Spodoptera frugiperda*))**

Oliveira, V.L.<sup>1</sup>, Aquino, M.F.S.<sup>2</sup>, Laumann, R.A.<sup>3</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>4</sup>, Cia, E.<sup>5</sup>, Borges, M.<sup>3</sup>

Os voláteis induzidos por herbívoros são compostos liberados pelas plantas, em resposta ao dano causado por insetos herbívoros, que atraem inimigos naturais (predadores e parasitóides). Estes compostos apresentam grande potencial para o manejo de insetos benéficos em programas de controle biológico. O objetivo deste trabalho foi estudar a resposta de plantas de algodão, de três variedades, ao dano causado por larvas de *Spodoptera frugiperda* (lagarta desfolhadora) a fim de identificar voláteis induzidos e comparar a mistura emitida por cada variedade. Foram utilizadas variedades de algodão (*Gossypium hirsutum* var. cedro, IAC17 e IAC20) com 20 a 25 dias após o plantio. As plantas foram acondicionadas em câmaras de aeração plásticas de 5L de capacidade. Em cada aeração foram utilizadas seis câmaras (três controles e três tratamentos). Foram utilizados como tratamento, plantas danificadas por 10 larvas de *S. frugiperda* e, como controle, plantas sadias. As amostras foram coletadas em adsorventes químicos (Super Q) em intervalos de 24 horas por um período de quatro dias. As amostras foram analisadas utilizando cromatografia gasosa com quantificação dos compostos através de padrão interno. Os perfis cromatográficos das plantas de algodão sadias resultaram similares com pequenas variações entre elas. Após as plantas serem danificadas por larvas de *S. frugiperda* os perfis cromatográficos das três variedades estudadas mostraram importantes diferenças em relação aos dos controles, com picos característicos entre os tempos de retenção de 10 a 13 minutos para todas as variedades e na região de 7 minutos para as variedades IAC17 e IAC20. A mistura de voláteis liberados pelas plantas danificadas pode ser específica para cada variedade de algodão. Esforços devem ser orientados para a identificação dos compostos presentes nas misturas de plantas danificadas e para estabelecer sua relação com o comportamento de inimigos naturais.

---

<sup>1</sup> Química, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup> Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup> Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Eng. Agr., Ph.D., Instituto Agronômico de Campinas-IAC

## 061 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS AO BICUDO-DO-ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1843) (Molecular characterization of *Bacillus thuringiensis* strains toxic against boll weevil)

Dumas, V.F.<sup>1</sup>, Martins, E.S.<sup>2</sup>, Ramos, F.R.<sup>3</sup>, Praça, L.B.<sup>4</sup>, Monnerat, R.G.<sup>5</sup>

A cotonicultura possui grande destaque no agronegócio brasileiro, uma vez que gera divisas movimentando o mercado mundial. Porém, esta cultura está vulnerável a diversas pragas, dentre estas, destaca-se o bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843), considerado uma das mais agressivas, devido aos danos que causa à cultura e pelas dificuldades de seu controle. Uma alternativa para o controle dessa praga é a utilização de agentes de controle biológico, como *Bacillus thuringiensis* (Bt), que é uma bactéria caracterizada pela presença de inclusões protéicas, ativas contra insetos. Assim sendo, o estudo do conteúdo protéico dessas inclusões e de seus genes codificadores se tornam indispensáveis para um melhor entendimento dos mecanismos pelos quais essas proteínas atuam. Neste processo, técnicas como PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) e eletroforese de proteínas em gel desnaturante, são o ponto de partida para caracterização de estirpes que apresentam potencial atividade para o controle de insetos. Este trabalho teve como objetivo a caracterização bioquímica, molecular e ultraestrutural de estirpes de *B. thuringiensis* ativas contra o bicudo do algodoeiro. Através de bioensaios seletivos, nove estirpes de *B. thuringiensis*, pertencentes ao banco de *Bacillus* spp. da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foram selecionadas por apresentar atividade patogênica contra o bicudo. Estas estirpes foram, então, caracterizadas quanto ao conteúdo gênico e perfil protéico. Das nove estirpes, três se destacaram pelos resultados de CL<sub>50</sub> e pelos perfis protéicos e moleculares bastante semelhantes, apresentando uma banda de 130kDa e genes da família *cry1*, indicando serem eles fortes candidatos para estudos moleculares e integração no genoma de cultivares de algodão como alternativa para o controle deste inseto.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 062 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS DE TRÊS GÊNEROS DE FUNGOS USANDO MARCADORES RAPD (Molecular characterization of three fungus isolates by rapd markers)

Lima, A.A.<sup>1</sup>, Tutunji, V.L.<sup>2</sup>, Lima, L.H.C.<sup>3</sup>, Queiroz, P.R.<sup>4</sup>

Os fungos pertencem a um grupo cosmopolita apresentando grande diversidade, variedade morfológica, atividades metabólicas e habitats, sendo que o Filo Ascomycota possui 46 ordens e cerca de 6000 gêneros, dentre eles, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Embora muitos estudos sobre caracterização de fungos já tenham sido elaborados, uma classificação precisa é ainda um objetivo a ser alcançado. O uso de marcadores RAPD é utilizado como diagnóstico para a identificação de isolados permitindo o entendimento das relações filogenéticas que existem entre as espécies constituintes dos variados gêneros de fungos uma vez que estes apresentam potencial biotecnológico. O objetivo do trabalho foi identificar marcadores RAPD específicos e estabelecer uma análise filogenética entre os isolados de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. A extração de DNA foi feita segundo uma metodologia previamente estabelecida e as reações de amplificação foram feitas usando-se 5 primers de RAPD. O polimorfismo obtido entre os isolados analisados permitiu identificar marcadores moleculares específicos para os gêneros em estudo. O primer OPA-04 produziu um perfil de bandas específico para os isolados de *Aspergillus*. O primer OPA 13 apresentou fragmentos monomórficos para os isolados de *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*. Os marcadores RAPD geraram um dendrograma com a formação de quatro grupos principais, sendo que os dois primeiros grupos foram relacionados ao gênero *Aspergillus* apresentando 55 % de similaridade. O terceiro e quarto grupos foram constituídos pelos isolados de *Penicillium* com similaridade de 47 %. O isolado de *Fusarium* ficou agrupado com *Penicillium*. Um isolado apresentou baixa similaridade (37 %) em relação aos demais grupos não tendo sido identificado morfológicamente, sugerindo que o isolado pertença a outro gênero. Nos resultados de análise molecular observou-se que 30,9 % da variação genética ocasionando diferenças de isolados dentro dos gêneros estudados e 69,1% entre os gêneros em questão. Essa estratégia molecular forneceu elementos complementares para a identificação de isolados nos casos onde a descrição morfológica foi inconsistente. Estudos mais elaborados poderão ser conduzidos na busca de marcadores mais específicos com a finalidade de se obter uma identificação mais rápida e precisa com a utilização de programas de melhoramento genético.

---

<sup>1</sup>Bióloga, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Biólogo, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, doutorando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

## 063 - CLONAGEM DO GENE 25KFP DE *Anticarsia gemmatalis* MNPV PARA TRANSFORMAÇÃO ESTÁVEL DE CÉLULAS DE INSETOS (Cloning of the *Anticarsia gemmatalis* MNPV 25KFP gene to stable transformation of insect cells)

Dalmolin, C.C.<sup>1</sup>, Maia, E.A.<sup>2</sup>, Ribeiro, B.M.<sup>3</sup>, Souza, M.L.<sup>4</sup>, Castro, M.E.B.<sup>4</sup>

*Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus* (AgMNPV) é um membro da família *Baculoviridae*, que devido ao seu potencial de infecção e estabilidade em campo é largamente empregado como biopesticida para o controle da lagarta da soja, *A. gemmatalis*. Devido ao sucesso deste programa, a produção de baculovirus *in vitro* assume aspecto relevante. Entretanto, a acumulação de variações genotípicas por passagem seriada em cultura de células constitui um dos grandes obstáculos para a produção do baculovirus em bioreatores de larga escala. Uma das mutações mais comuns decorrentes da passagem seriada é a alteração do fenótipo parental, com muitos poliedros por célula (MP), para o fenótipo com poucos poliedros por célula (FP). Segundo estudos anteriores, o gene 25KFP é essencial para a formação correta do poliedro e oclusão dos vírions, mutações dentro da seqüência são suficientes para produzir o fenótipo mutante FP. Neste trabalho, o gene 25KFP foi clonado no vetor pGEM com o objetivo de estudar sua função e construir células estavelmente transformadas. Além disso, a seqüência de aminoácidos da proteína foi utilizada em análises filogenéticas. Para estas análises, o alinhamento da seqüência de 25KFP de AgMNPV com a de outros baculovirus procedeu-se com o auxílio do programa ClustalX 1.81 e para a reconstrução da árvore filogenética utilizou-se o programa MEGA, segundo o algoritmo de “neighbor-joining”. Nossos dados indicam que AgMNPV pertence ao *Nucleopolyhedrovirus* grupo I, sendo mais proximamente relacionado com CfDEFNPV, EppoMNPV e CfMNPV. Para a clonagem do gene, primers específicos foram desenhados e o produto de PCR amplificado foi clonado no vetor pGEM-T easy, o promotor constitutivo *hsp70* foi clonado junto ao gene 25KFP. Este cassete será, então, transferido para outro vetor com o gene de resistência ao antibiótico puromicina, para construção de células estavelmente transformadas visando o estudo da estabilidade viral em diversas passagens em cultura de células que expressam constitutivamente essa proteína.

---

<sup>1</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **064 - CONTROLE DE CULICÍDEOS E SIMULÍDEOS UTILIZANDO BIOINSETICIDAS A BASE DE *Bacillus sphaericus* E *Bacillus thuringiensis* NA GRANJA DO TORTO, BRASÍLIA-DF (Control of Culicidae and Simuliidae using biological product based on *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* in Granja do Torto, Brasília-DF)**

Paganella, M.B.<sup>1</sup>, Boas, L.C.V.<sup>2</sup>, Oliveira, E.C.A.<sup>3</sup>, Ramos, F.R.<sup>4</sup>, Santoro, F.A.<sup>5</sup>, Sone, E.H.<sup>6</sup>, Carvalho, H.R.<sup>6</sup>, Soares, C.M.S.<sup>7</sup>, Monnerat, R.G.<sup>8</sup>

Insetos hematófagos estão tendo cada vez mais importância no cenário nacional, pois podem causar danos econômicos e grande incômodo à sociedade. Espécies da Família Culicidae como *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* são comuns nos centros urbanos e se reproduzem com facilidade em criadouros de água limpa, parada e/ou poluída, respectivamente. São considerados antropofílicos e são os responsáveis pela transmissão de doenças como a dengue, filariose e encefalites. Outro díptero que é foco dos recentes estudos sobre controle biológico de pragas são os da família Simuliidae, mais conhecidos como borrachudos. Estudos comprovaram que um aumento na incidência desses insetos vêm causando prejuízos sócio-econômicos como diminuição do rendimento na mão-de-obra do produtor rural, dificuldade no desenvolvimento do turismo, queda da produção agropastoril e desvalorização das propriedades rurais. Os simulídeos se reproduzem em locais de água corrente limpa ou com muita matéria orgânica, como cachoeiras, rios e córregos. A Granja do Torto possui grande número de nascentes com água corrente que favorece a proliferação dos simulídeos. *Culex* ocorre nas redes de esgotos e em água estagnada. O presente trabalho teve como objetivo o controle de simulídeos utilizando o Bt-horus<sup>®</sup> SC à base de *Bacillus thuringiensis* e de *C. quinquefasciatus* utilizando Sphaerus<sup>®</sup> SC, à base de *B. sphaericus*. Esses produtos foram desenvolvidos pela Bthek Biotecnologia em parceria com a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A metodologia adotada foi a procura de todos os tipos de criadouros dos insetos, constatada a presença das larvas, eram aplicados com regador uma solução de 500ml do Bt-horus<sup>®</sup> SC com 4 litros de água para o caso dos simulídeos e detectando-se larvas de *Culex*, eram aplicados com pulverizador costal uma solução de 50ml de Sphaerus<sup>®</sup> SC em 1 litro de água. De dezembro 2004 até outubro de 2005 houve uma diminuição considerável do número de insetos, não havendo mais reclamações das pessoas que transitam no local.

---

<sup>1</sup>Eng. Agr., M.Sc., Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Méd. Vet., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Eng. Florestal, Bthek Biotecnologia Ltda

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bthek Biotecnologia Ltda

<sup>8</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **065 - CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* ATRAVÉS DE USO SISTÊMICO DE *Bacillus thuringiensis* NA CULTURA DO ALGODÃO (Control of *Spodoptera frugiperda* through systemic use of *Bacillus thuringiensis* in cotton)**

Demo, C.<sup>1</sup>, Medeiros, P.T.<sup>2</sup>, Batista, A.C.<sup>3</sup>, Melatti, V.M.<sup>4</sup>, Praça, L.B.<sup>5</sup>, Berry, C.<sup>6</sup>, Monnerat, R.G.<sup>7</sup>

Lagartas de *Spodoptera frugiperda* são uma praga importante na cultura do algodão no Brasil, causando perdas de até 67% na produção. Os métodos de controle desta praga incluem a utilização de inseticidas biológicos como *Bacillus thuringiensis* (Bt). Esta bactéria produz esporos e cristais com ação contra insetos. A partir de estudos realizados sobre a utilização sistêmica de Bt visando o controle de insetos, foi utilizada a estirpe de *Bacillus thuringiensis* subs. *kurstaki* (Btk) marcada com gene de fluorescência (gfp) inoculada em plantas. Foram utilizados cinco tratamentos: comprimidos, mistura, inoculação turfosa, aplicação de 1ml semanal e testemunha sem Bt. A concentração dos tratamentos com Bt foi predefinida em 10% de material liofilizado. Três plantas de algodão, por tratamento, foram coletadas semanalmente. Amostras de 1g de solo, 1cm de raiz, 1cm de caule, 1cm de pedúnculo e 1cm<sup>2</sup> de folha foram masserados, submetidos a choque térmico e diluição seriada para posterior plaqueamento em meio com antibiótico. Após 24 horas, realizou-se a contagem de células. Além disso, folhas do algodão foram oferecidas a 30 lagartas de *Spodoptera frugiperda*. A leitura do bioensaio foi realizada após 48h avaliando a mortalidade das lagartas que chegou a 70% no tratamento com comprimido. Posteriormente foi resolidado a partir dos insetos mortos, sendo verificada a presença de Btk (gfp). Ensaio preliminares mostraram decréscimo no número de colônias de Bt nas plantas e nos insetos. A porcentagem de larvas mortas também diminuiu a partir da sexta semana. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia está realizando estudos para a adequação de doses dos tratamentos com uso sistêmico de Bt.

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr., M.Sc., Universidade Federal do Mato Grosso-UFMT

<sup>3</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Biólogo, Ph.D., Cardiff University, Inglaterra

<sup>7</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**066 - CRY1Ia, UMA PROTEÍNA PROMISSORA PARA O CONTROLE DE *Anthonomus grandis* (BICUDO-DO-ALGODOEIRO) E *Spodoptera frugiperda* (LAGARTA-DO-CARTUCHO-DO-MILHO) (Cry1Ia, a promising protein for the control of *Anthonomus grandis* (boll weevil) and *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm))**

Martins, E.S.<sup>1</sup>, Aguiar, R.W.S.<sup>2</sup>, Martins, N.F.<sup>3</sup>, Batista, A.C.<sup>4</sup>, Melatti, V.M.<sup>5</sup>, Gomes, A.C.M.M.<sup>4</sup>, Falcão, R.<sup>6</sup>, Ribeiro, B.M.<sup>7</sup>, Monnerat, R.G.<sup>3</sup>

O algodão é uma das mais importantes culturas em nível mundial, e hospedeiro de um grande número de pragas, como *Spodoptera frugiperda* e *Anthonomus grandis*. Uma alternativa para o controle desses insetos é a construção de cultivares de algodão transgênicos, contendo gene(s) de resistência a esses insetos. *Bacillus thuringiensis* é uma bactéria que produz toxinas entomopatogênicas que são amplamente usadas como agentes de controle biológico e como fonte de genes para construção de plantas transgênicas resistentes a insetos. O objetivo deste trabalho foi o isolamento e a caracterização de um gene da estirpe S1451 de *B. thuringiensis* tóxica a esses insetos. O gene *cry1Ia* da estirpe S1451 foi amplificado por PCR usando oligonucleotídeos específicos, seqüenciado, clonado no vetor de transferência pSynXIVX3+ e usado para construção de um baculovírus recombinante. A proteína Cry1Ia foi expressa em células de inseto infectadas com o vírus recombinante, produzindo grandes inclusões protéicas no citoplasma celular. Bioensaios usando a proteína recombinante mostraram alta toxicidade a larvas de *S. frugiperda* e *A. grandis*. Este gene é bastante promissor para a construção de uma nova cultivar resistente a insetos-praga.

---

<sup>1</sup> Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Eng. Agr., doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>6</sup> Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup> Biólogo, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

## **067 - DETERMINAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* (DIPTERA:CULICIDAE) UTILIZANDO MARCADORES DE RAPD (Genetic variability analysis of *Aedes aegypti* populations by rapd markers)**

Hiragi, C.O.<sup>1</sup>, Simões, K.C.C.<sup>2</sup>, Martins, E.S.<sup>3</sup>, Queiroz, P.R.<sup>4</sup>, Lima, L.H.C.<sup>5</sup>, Monnerat, R.G.

*Aedes aegypti* é o vetor de importantes doenças como a febre amarela e a dengue, e está presente nas regiões tropicais e subtropicais. Para o sucesso do controle dessa espécie é importante conhecer a estrutura genética e os mecanismos que resultaram na diversidade de suas populações. O uso da técnica de RAPD é útil quando se pretende obter informações genéticas a partir de polimorfismo de segmentos de DNA, utilizando-se primers de seqüências aleatórias em curto prazo e a baixo custo. O objetivo desse estudo foi analisar a variabilidade genética de diferentes populações de *A. aegypti* por meio da metodologia de RAPD. Amostras de DNA de 10 larvas, coletadas a partir de três populações provenientes de diferentes localidades, foram analisadas utilizando-se 5 primers de RAPD. Os produtos de amplificação foram visualizados em géis de agarose e os perfis eletroforéticos indicaram a existência de variabilidade genética inter e intrapopulacional. Esse resultado foi confirmado com a obtenção de um dendograma que indicou a distribuição das populações em dois agrupamentos principais com similaridade genética de 28 %. Em um desses agrupamentos foi possível distinguir duas populações que apresentaram um grau de similaridade de 67 %. A análise de variância molecular indicou que 58,70 % da fonte de variabilidade é resultante da variação entre as populações e 42,20 % de dentro das populações. Além disso, comparou-se a eficiência do protocolo de extração de DNA em relação aos estágios de pupa e adulto desse inseto. Os resultados indicaram que o protocolo adotado nesse estudo mostrou-se eficiente para a análise do inseto independente do estágio de desenvolvimento, evitando-se a adição de reagentes ou etapas adicionais de remoção de contaminantes, permitindo-se realizar estudos moleculares a partir da larva, pupa ou adulto. Futuros experimentos poderão ser realizados para confirmar se essa variabilidade pode estar ligada às características de resistência de cada população a um determinado pesticida.

---

<sup>1</sup> Bióloga, M.Sc., Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 068 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA, CONSERVAÇÃO E USO DE VARIEDADES SILVESTRES DE *Gossypium* SPP. NO DISTRITO FEDERAL E NOROESTE DE MINAS GERAIS (Geographic distribution, conservation and utilization of *Gossypium* spp. in Distrito Federal and northwest of Minas Gerais)

Souza, V.V.<sup>1</sup>, Noronha, S.<sup>2</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>3</sup>, Sujii, E.R.<sup>4</sup>, Barroso, P.<sup>5</sup>, Pais, J.S.O.<sup>6</sup>, Cardoso, C.F.<sup>7</sup>, Ciampi, A.<sup>3</sup>, Pires, C.S.S.<sup>3</sup>

Existem no Brasil duas espécies de algodão silvestre (*Gossypium mustelinum* e *G. barbadense* que possui duas variedades locais. O fluxo de genes das variedades comerciais para espécies silvestres está sendo estudado dentro do contexto de avaliação de segurança ambiental do algodoeiro geneticamente modificado. O presente trabalho teve como objetivo mapear a distribuição geográfica das espécies silvestres de *Gossypium*, os insetos associados e o estado de conservação e utilização das plantas pela comunidade. Para isso, foram usados questionários aplicados aos proprietários de terra ou aqueles que mantêm algum tipo de relação com o algodoeiro. Utilizaram-se imagens de satélites e GPS para georreferenciar as propriedades a fim de estudar o contexto geográfico no qual as plantas estavam inseridas. Foram coletadas amostras de folhas, sementes, flores e insetos para identificação taxonômica e estudos genéticos. Duas variedades de *G. barbadense* estão presentes na região estudada: *G. barbadense* var. *brasiliense* e o *G. barbadense* var. *barbadense*. Essa espécie ocorre basicamente em “fundos de quintais” nas pequenas comunidades agrícolas e nas periferias das cidades e tem sido utilizada como planta medicinal. Das plantas coletadas, 70,5% não recebiam nenhum tipo de manejo, como podas, adubação e irrigação e continham algum tipo de praga. Observou-se a presença de bicudo, cochonilhas, galhas, gorgulhos (nas sementes), lagartas, percevejos e pulgões. As lagartas foram encontradas predando folhas, botões, maçãs e sementes (principalmente a lagarta rosada). Os principais visitantes florais foram abelhas silvestres dos gêneros *Paratrigona* e *Ceratina* e espécies de Halictidae. Foi demonstrado também, através do Sistema de Informação Geográfica (SIG) e Sensoriamento Remoto, que a presença de grandes áreas cultivadas de terra não tem favorecido a conservação do *G. barbadense* já que atualmente, a ocorrência da espécie depende, por exemplo, de comunidade agrícola que a utilizam para fins medicinais.

---

<sup>1</sup>Geografia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Geógrafo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Algodão

<sup>6</sup>Técnico Agrícola, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Bióloga, mestranda, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

## 069 - EFEITO DA GLICOPROTEÍNA GP64 NA INFECÇÃO DE CÉLULAS DE INSETO COM *Anticarsia gemmatalis* NUCLEOPOLYHEDROVÍRUS (Effect of the GP64 Glycoprotein on insect cell infection with *Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus)

Mendes, D.N.<sup>1</sup>, Souza, M.L.<sup>2</sup>

Baculovírus têm sido usados com sucesso como bioinseticida para o controle de pragas agrícolas. Eles possuem dois fenótipos: “Budded virus” (BVs), responsável pela infecção sistêmica no inseto, e “Occluded Derived virus” (OVs), pela disseminação de inseto para inseto e no meio ambiente. O gene viral *gp64* expressa uma glicoproteína presente em estruturas chamadas peplômeros dos BVs, essencial para transmissão da infecção de célula para célula. Neste trabalho, investigou-se se a GP64 seria utilizada em sistemas in vitro, favorecendo a infecção em células de baixa susceptibilidade ao vírus, cujo bloqueio esteja associado à penetração da partícula viral na célula. Foi analisado efeito da presença de GP64 na infecção de células IPLB SF 21 AE (sistema produtivo) e de células Ld652Y (sistema não permissivo) com o baculovírus AgMNPV (*Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus). As células foram sedimentadas em placas 6 well na concentração de  $1 \times 10^6$  cels/placa e infectadas com o clone viral AgMNPV 2D com MOI de 10. Após adsorção durante 1 h, as células foram transfectadas com um plasmídeo contendo gene *gp64*. Como controle foram utilizadas células “mock infected”, “mock transfected”, e transfectadas apenas com o plasmídeo. As células foram monitoradas para visualização de alterações morfológicas e contagem de células infectadas. A presença de GP64 na superfície das células foi Investigada através de ensaio de fusão 72h após infecção (p.i). Esse ensaio consiste em diminuir o pH do meio (pH 5.0), resultando na fusão de membranas de células que contém GP64 em sua superfície. Foram observadas alterações morfológicas nas células IPLB SF 21 AE infectadas com AgMNPV, tais como hipertrofia celular e formação de poliedros, já às 48 h p.i. Entretanto, as células incubadas com o vírus e em seguida transfectadas com *gp64* apresentaram um menor número de células com sinais de infecção do que as que foram apenas infectadas com o vírus, indicando um efeito negativo no processo de infecção devido ao excesso da glicoproteína GP64. Diferenças nos resultados utilizando ensaio de fusão não foram observadas, comparando-se células infectadas e aquelas com infecção seguida de transfecção, provavelmente devido ao MOI utilizado. Por outro lado, células Ld652Y quando infectadas com o vírus (sem transfecção com o plasmídeo) não desenvolveram efeitos típicos de infecção mas, fusionaram após serem expostas a baixo pH. Esse fato indica que houve a síntese da glicoproteína GP64 e que embora o vírus não complete o seu ciclo de vida nas células Ld652Y, ocorre penetração da partícula viral e expressão de genes *early*. Os dados obtidos nesse trabalho indicam que excesso da GP64 deve interferir no processo de infecção levando a uma baixa produção de partículas oclusas.

<sup>1</sup>Farmacêutica, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 070 - EFEITO DE DIFERENTES MÉTODOS DE CONTROLE PRAGAS EM PREDADORES DO PULGÃO DO ALGODOEIRO (Effect of different methods of pest control on predators of the cotton aphid)

Santos, P.H.R.<sup>1</sup>, Beserra, V.A.<sup>2</sup>, Silva-Santos, P.V.<sup>2</sup>, Macedo, T.R.<sup>3</sup>, Silva, K.F.A.S.<sup>2</sup>,  
Fontes, E.M.G.<sup>4</sup>, Pires, C.S.S.<sup>4</sup>, Laumann, R.A.<sup>5</sup>, Schmidt, F.G.V.<sup>6</sup>, Sujii, E.R.<sup>7</sup>

O uso intensivo de inseticidas na cultura do algodão impacta negativamente o controle biológico natural e induz o aumento do uso desse insumo. Visando entender e alterar esse ciclo, identificou-se a fauna de predadores do pulgão do algodoeiro, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera:Aphididae), na região do Distrito Federal e o impacto do uso de diferentes métodos de controle de pragas na abundância dessas espécies. O estudo foi desenvolvido na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen) em plantio de 0,1 ha. sem controle de pragas e na Embrapa Hortaliças (CNPH), em uma área de 0,4 ha, onde parcelas tratadas com inseticidas químicos foram comparadas com aquelas tratadas com inseticidas biológicos e parcelas sem controle das pragas. A fauna de predadores no Cenargen apresentou predominância de joaninhas (Coleoptera: Coccinellidae). Além desse grupo, moscas predadoras (Diptera: Dolichopodidae) e aranhas foram os mais abundantes. Na área do CNPH a espécie mais abundante foi *Doru cf lineare* juntamente com as mesmas espécies observadas no Cenargen. As curvas de rarefação para as áreas do Cenargen e CNPH indicam que não houve diferença de riqueza entre as duas áreas. A diversidade comparada entre as áreas e entre métodos de controle de pragas pelo índice de Shannon-Wiener e o coeficiente de similaridade mostram que as comunidades foram semelhantes, apesar das diferenças de localização e nível de impacto causado pelos tratamentos. A porcentagem de plantas atacadas por pulgões e as espécies ou grupos de predadores mostraram-se positivamente correlacionados pelo coeficiente de Pearson. Porém, essa correlação foi em geral baixa e não significativa. No entanto, algumas correlações positivas nos tratamentos com inseticidas biológicos e no controle sugerem que predadores especialistas, como joaninhas e moscas predadoras possam aumentar suas populações de acordo com a população das pragas. Além disso, o uso de inseticidas seletivos pode favorecer o controle natural.

Apoio: CNPq, FAT/FINEP e FAPDF

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **071 - EFEITO DE ESTIRPES SELECIONADAS DE *Bacillus thuringiensis* SOBRE *Spodoptera* SPP. (Effect of selected *Bacillus thuringiensis* strains over *Spodoptera* spp.)**

Santos, K.B.<sup>1</sup>, Neves, P.J.<sup>2</sup>, Vilas-Bôas, G.F.T.<sup>3</sup>, Monnerat, R.G.<sup>4</sup>

*Spodoptera* spp. tem ocorrido de forma crescente nas lavouras de algodoeiro, provocando prejuízos significativos à cultura. Para o controle dessa praga, são necessárias aplicações constantes de inseticidas de largo espectro. Devido aos efeitos diretos e indiretos dos agrotóxicos na saúde humana e no meio ambiente, novas estratégias de controle de pragas têm sido desenvolvidas. Com isso o objetivo do trabalho foi avaliar a patogenicidade de estirpes de *Bacillus thuringiensis* pertencentes ao banco de Germoplasma de Bacillus Entomopatogênicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnológicos sobre lagartas de 2º instar de *Spodoptera cosmioides* e *Spodoptera eridania*. Adicionou-se 150 ul, na concentração de  $10^8$  esporos mL<sup>-1</sup>, de solução bacteriana em cada copo plástico contendo 5ml de dieta artificial. Foram utilizadas para cada tratamento 20 lagartas. O experimento foi conduzido em B.O.D. a  $25\pm 2^\circ\text{C}$ ,  $60\pm 10\%$  UR e fotofase de 14h. As estirpes S608 e S1450, pertencentes aos sorotipos fukuokaensis e kurstaki, respectivamente, demonstraram alta eficiência sobre as espécies estudadas.

---

<sup>1</sup>Eng. Agr., doutoranda, Universidade Estadual de Londrina-UEL

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade Estadual de Londrina-UEL

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Universidade Estadual de Londrina-UEL

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **072 - EFEITO DE MEIOS LÍQUIDOS NA PRODUÇÃO DE MASSA FÚNGICA E ESPORULAÇÃO DE *Colletotrichum gloeosporioides* (Effect of liquid medium on the growth and sporulation of *Colletotrichum gloeosporioides*)**

Martins, I.<sup>1</sup>, Ávila, Z.R.<sup>2</sup>, Mello, S.C.M.<sup>3</sup>, Pádua, R.R.<sup>4</sup>, Gavião, C.F.C.<sup>4</sup>, Peixoto, J.R.<sup>5</sup>

*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ataca partes aéreas de diversas culturas, causando a antracnose, doença que resulta em grandes perdas na produtividade e na qualidade de frutos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e esporulação de quatro isolados desse fungo em meios líquidos, a fim de oferecer um método rápido de produção de inóculo para uso experimental. Cinco mililitros de suspensão contendo  $10^5$  esporos/mL dos isolados CEN419, CEN421, CEN422 e CEN433 foram incorporadas aos meios V8 (Campbell<sup>o</sup>), BD (batata-dextrose), e BD+EL (batata-dextrose-extrato de levedura a 1%). Os meios foram distribuídos em frascos de 125ml, os quais foram mantidos sob agitação (150 rpm) a 25°C no escuro. Após sete dias, avaliaram-se: produção de conídios, biomassa seca e viabilidade. Houve interação entre meios e isolados, para produção de conídios e biomassa seca. Maiores valores médios de produção de conídios foram verificados com os isolados CEN419 e CEN422, no meio BD. Quanto à biomassa seca, os maiores valores foram obtidos com CEN421 e CEN422, no meio BD+ EL. Todos os isolados apresentaram 100% de viabilidade, após 24 horas de incubação dos conídios em meio BDA à 26°C, independentemente do meio em que foram produzidos.

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>3</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup> Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

## **073 - EFEITO DE METABÓLITOS PRODUZIDOS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. SOBRE O CRESCIMENTO DE *Colletotrichum gloeosporioides* (Effect of *Trichoderma* spp. metabolites on the growth of *Colletotrichum gloeosporioides*)**

Martins, I.<sup>1</sup>, Ávila, Z.R.<sup>2</sup>, Mello, S.C.M.<sup>3</sup>, Pádua, R.R.<sup>4</sup>, Silva, M.C.F.<sup>5</sup>, Peixoto, J.R.<sup>6</sup>

Dentre as doenças mais importantes do maracujazeiro, a antracnose, que tem como agente causal o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, merece destaque. Essa doença afeta diversos órgãos da planta (ramos, folhas, hastes, pecíolos, botões florais e frutos), sendo considerada limitante para a cultura. Uma alternativa no controle de *C. gloeosporioides* é a utilização de agentes biológicos. Espécies do gênero *Trichoderma* vêm se destacando dentre os agentes de biocontrole mais promissores. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* spp. em inibir a ação do patógeno pelo efeito de metabólitos tóxicos. Vinte isolados de *Trichoderma* foram cultivados em BD (batata-dextrose) por 12 dias sob agitação contínua. Após este período a massa fúngica foi coletada com o auxílio de uma bomba a vácuo, sendo a parte líquida centrifugada a 15.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante obtido foi esterilizado através de membrana Millipore (0,45µm), sendo esse filtrado estéril adicionado ao meio BDA na proporção de 25% (v/v). O meio de cultura foi distribuído em placas de Petri, cada placa recebendo um disco de micélio do patógeno, que foi depositado no centro da mesma. Medidas de diâmetros das colônias foram tomadas aos 12 dias de cultivo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Observou-se diferença significativa entre os tratamentos, destacando-se os isolados CEN219, CEN162 e CEN201, os quais proporcionaram valores médios de redução de crescimento das colônias de *C. gloeosporioides* de 81,5, 81,2 e 78,3%, respectivamente. Foram selecionados os 10 melhores isolados que apresentaram os melhores resultados de inibição e que serão utilizados em ensaios em casa de vegetação, visando ao controle da antracnose do maracujazeiro. Todos esses isolados pertencem à coleção de fungos para controle biológico de fitopatógenos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>3</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup> Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup> Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

## 074 - FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO PARA O CRESCIMENTO DE *Dicyma pulvinata* (Sources of carbon and nitrogen for the growth of *Dicyma pulvinata*)

Almeida, A.M.<sup>1</sup>, Melo, D.F.<sup>2</sup>, Bernardes, V.C.D.<sup>1</sup>, Ávila, Z.R.<sup>3</sup>, Mello, S.C.M.<sup>4</sup>, Silva, J.B.T.<sup>5</sup>

*Dicyma pulvinata* tem-se mostrado eficiente na inibição de *Microcyclus ulei*, agente causador do mal-das-folhas da seringueira. Para avaliar o crescimento e a esporulação de quatro isolados de *D. pulvinata*, utilizaram-se como fontes de carbono: glicose, galactose, maltose, sacarose e amido e fontes de nitrogênio: peptona, triptona, caseína e extratos de carne e de levedura, cloreto de amônio, fosfato de amônio, nitrato de amônio e de sódio e sulfato de amônio. Discos de 9mm de diâmetro retirados de culturas com 17 dias de cultivo foram colocados no centro de placa de Petri, contendo 25 ml de BD (20% de batata, 2% de ágar) mais 2% de cada fonte de carbono e nitrogênio, incubando-se em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Determinou-se o diâmetro da colônia até 16 dias de cultivo e a esporulação, após 17 dias. Os maiores crescimentos foram verificados com glicose, maltose e sacarose como fontes de carbono. Exceto para o isolado CEN 93, os demais não apresentaram diferenças significativas, em nitrogênio orgânico. Sulfato de amônio e cloreto de amônio foram as fontes de nitrogênio inorgânico que apresentaram menor crescimento. As fontes de carbono aumentaram a esporulação de *D. pulvinata* em relação à testemunha. Esses resultados mostraram que podem ser estabelecidos padrões para a otimização do cultivo. Os resultados da esporulação utilizando fontes de nitrogênio ainda estão sendo avaliados.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Biologia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 075 - IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES PARA POPULAÇÕES DE INSETOS-PRAGA (Identification of molecular markers of insects pests population)

Queiroz, P.R.<sup>1</sup>, Martins, E.S.<sup>2</sup>, Lima, L.H.C.<sup>3</sup>, Monnerat, R.G.<sup>3</sup>

O algodão é uma das plantas de maior interesse econômico cultivada em nível mundial. A cadeia produtiva do algodão é uma das principais do Brasil e do mundo, gerando milhares de empregos diretos e indiretos e movimentando, apenas na indústria, aproximadamente US\$ 1,5 bilhão. Esta cultura tem sofrido ataque de diversas pragas dentre elas, *Spodoptera frugiperda* e *Anthonomus grandis*. *S. frugiperda* 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%. O bicudo do algodoeiro (*A. grandis*) é considerado a maior praga do algodão. Como seu desenvolvimento larval se dá dentro das maçãs do algodoeiro é um inseto de difícil controle mesmo por métodos convencionais. Na fase adulta este inseto se alimenta dos botões florais e maçãs do algodoeiro, onde faz a oviposição. Um aspecto importante no controle de pragas é o conhecimento das características genótípicas desses insetos. Desta forma, procurou-se estabelecer um perfil de marcadores moleculares de RAPD e a variabilidade genética para as pragas *A. grandis*, *S. frugiperda* criadas em laboratório. Cinco primers foram identificados como marcadores moleculares para caracterização de populações de *S. frugiperda* e *A. grandis*. Essas informações serão úteis para a realização de trabalhos de caracterização molecular de outras populações desses insetos que poderão auxiliar na sistemática e ainda no desenvolvimento de kits para detecção da susceptibilidade dessas populações a produtos químicos ou biológicos.

---

<sup>1</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **076 - INFESTAÇÃO DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO, *Anthonomus grandis*, EM PLANTIO DE ALGODÃO NO CERRADO DO BRASIL CENTRAL (Boll weevil (*Anthonomus grandis*) infestation in cotton fields of central Brazil)**

Ribeiro, P.A.<sup>1</sup>, Diniz, I.R.<sup>2</sup>, Sujii, E.R.<sup>3</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>4</sup>

A cultura do algodão vem se expandindo rapidamente nos últimos anos em áreas de Cerrado. No entanto, essa Malvaceae sofre anualmente prejuízos consideráveis em decorrência do ataque de insetos-praga, um dos principais problemas da cultura, que ameaça a produtividade e aumenta os custos de produção devido à necessidade de controle químico. O bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* é considerado a praga de maior importância, em virtude do seu alto poder destrutivo, sendo seu ataque vinculado às condições climáticas. Portanto, pela expansão da cultura do algodão em áreas de Cerrado, é primordial que a implantação desta cultura seja planejada de forma a considerar o bioma, a diversidade local e as áreas plantadas como fatores de dispersão da população da praga para novas áreas. Com o objetivo de determinar a velocidade de infestação e a progressão dos danos causados pelo bicudo em área geograficamente isolada das regiões de plantio de algodão no Distrito Federal, foram feitas avaliações semanais no campo experimental da Embrapa Hortaliças, em quatro parcelas de 15 x 25 m durante a safra 2004/2005 do algodão. Cada parcela recebeu tratamento mínimo de inseticidas químicos visando controlar outras pragas da fase vegetativa como pulgão *Aphis gossypii* e curuquerê *Alabama argilacea* (três aplicações com os produtos Diafenthiuron, Imidacloprid, Cipermetrina+profenofos e Metamidophos) e permitir a colonização da área pelo bicudo. Os levantamentos foram feitos por caminhamento em ziguezague em cinco pontos por parcela, coletando-se botões florais e maçãs do terço médio superior da planta que apresentava melhor desenvolvimento vegetativo, e daqueles caídos ao solo. A infestação foi determinada através de observações dos danos causados por orifícios de oviposição e de alimentação. Foram observados 1098 botões e 97 maçãs nas plantas e 711 botões e 169 maçãs no solo. O bicudo foi capaz de colonizar a área aumentando progressivamente sua população. Nas plantas o maior percentual de danos por oviposição foi 47% (botões) e 33% (maçãs) e os de alimentação 79% (botões) e 75% (maçãs). No solo os maiores danos por oviposição foram 79% (botões) e 38% (maçãs) e os de alimentação 52% (botões) e 64% (maçãs). As porcentagens de danos observadas estão acima do nível de controle determinado que é de 10%.

---

<sup>1</sup>Eng. Agr., doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**077 - INFLUÊNCIA DAS CORES DO SUBSTRATO E DO HOSPEDEIRO NOS COMPORTAMENTOS DE BUSCA E SELEÇÃO DE HOSPEDEIROS DE PARASITÓIDES DE OVOS DE PERCEVEJOS (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) (Substrate and host color influence in searching and selection behaviors of parasitoids of stink-bugs eggs (Hymenoptera: Scelionidae)**

Vieira, A.R.A.<sup>1</sup>, Laumann, R.A.<sup>2</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>3</sup>, Borges, M.<sup>2</sup>

O comportamento de forrageamento de parasitoides é influenciado por estímulos de diferente natureza. O objetivo deste trabalho foi estudar a influência da cor do substrato e do hospedeiro na busca e seleção de hospedeiros dos parasitoides *Telenomus podisi* e *Trissolcus basal*s. Fundos de placas de Petri (15cm) foram divididas em 5 áreas e forradas com papeis cartolina de diferentes cores (amarelo, branco, preto, marrom e verde). Em cada área foram colados 15 ovos de *Euschistus heros* (24 h.). Fêmeas dos parasitoides (n=10/espécie) foram liberadas individualmente na arena e mantidas por um período de 24 h., para posterior avaliação do número de ovos parasitados em cada área. Para estudar a influência da cor do hospedeiro foram utilizados ovos artificiais (perolas de vidro de 1 mm de diâmetro) pintados com cores diferentes (amarelo, branco, preto, marrom, verde, vermelho e azul). Grupos de ovos artificiais de cada cor foram distribuídos em placas de Petri (9 cm). Fêmeas dos parasitoides (n= 40/espécie) foram introduzidas na placa por um período de 10 minutos e seus movimentos e comportamentos registrados. A cor do substrato (amarela e branca) influenciou significativamente a incidência de parasitismo de *Telenomus podisi*. As fêmeas de *T. basal*is não mostraram diferenças na porcentagem de ovos parasitados em cada área. A escolha inicial de *T. podisi* foi orientada para posturas artificiais da cor amarela, entretanto *T. basal*is mostrou preferência pelas posturas de cores escuras (preto e marrom), contudo estas diferenças não resultaram estatisticamente significativas. Não foram observadas diferenças no tempo de residência e nos comportamentos desenvolvidos em posturas de diferentes cores. Os resultados indicam que a cor do substrato pode influenciar o comportamento de busca, já a cor das posturas parece não ter influência durante a escolha sugerindo que outros estímulos (visuais, físicos ou químicos) seriam os responsáveis pela seleção de hospedeiros.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB, PIBIC/UCB

<sup>2</sup> Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 078 - INFLUÊNCIA DO ALIMENTO NO DESEMPENHO DE *Cycloneda sanguinea* (COLEOPTERA:COCCINELIDAE) (Influence of food type on the performance of *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae))

Silva, K.F.A.S.<sup>1</sup>, Macedo, T.R.<sup>2</sup>, Togni, P.H.B.<sup>2</sup>, Sujii, E.R.<sup>3</sup>, Pires, C.S.S.<sup>4</sup>, Schmidt, F.G.V.<sup>5</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>4</sup>

A joaninha *Cycloneda sanguinea* (L.) foi selecionada como modelo para estudos de toxicidade e efeito ecológico de plantas transgênicas resistentes a insetos sobre inimigos naturais, com base em critérios científicos sobre a ecologia de predadores associados à cultura do algodão e características do ambiente. Em campos de algodão, *C. sanguinea* se alimenta preferencialmente de pulgão (*Aphis gossypii*) e ovos de Lepidoptera. Este trabalho teve como objetivo desenvolver, em laboratório, uma metodologia prática e econômica para testar a adequação de dietas à base de ovos das lepidópteras *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella* e do pulgão da couve, *Brevicoryne brassicae*, para estudos de plantas transgênicas que produzem proteínas inseticidas. O efeito do alimento sobre a mortalidade, desenvolvimento e reprodução do predador foram testados à temperatura ambiente e câmara BOD (27°C e alta umidade). O intervalo máximo de provisão do alimento e o tipo de recipientes de criação também foram testados para determinação das condições adequadas de práticas de criação. *C. sanguinea* sobrevive em laboratório quando alimentada com *A. kuehniella* ou *B. brassicae*, mas foram observados altos índices de mortalidade de larvas e pupas (32,5 e 22,5%; 52,5 e 29,6%, respectivamente) para cada alimento. Com *S. cerealella* a mortalidade de larvas ocorreu em índices ainda mais elevados e os adultos gerados colocaram poucos ovos. Com base neste e outros parâmetros analisados, como duração do estágio imaturo, peso e mortalidade de adultos e o número de ovos férteis por fêmea, concluiu-se que, embora *A. kuehniella* e *B. brassicae* possam ser usadas para a criação do predador em laboratório, devido à facilidade de obtenção ou criação dos mesmos, estas dietas não são adequadas para experimentos de avaliação do efeito de plantas geneticamente modificadas sobre a sobrevivência e desempenho de *C. sanguinea*. O estudo continuará comparando estas dietas com o pulgão do algodão e adicionando-se pólen e néctar como nutrientes complementares.

Apoio: Embrapa/Finep/FAT, CNPq

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 079 - INFLUÊNCIA DO FOTOPERÍODO NO CRESCIMENTO E ESPORULAÇÃO DE *Dicyma pulvinata* (Influence of photoperiod on growth and sporulation of *Dicyma pulvinata*)

Melo, D.F.<sup>1</sup>, Almeida, A.M.<sup>2</sup>, Mello, S.C.M.<sup>3</sup>, Ávila, Z.R.<sup>4</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>5</sup>, Silva, J.B.T.<sup>6</sup>

O fungo *Dicyma pulvinata* (Berl & M. A.) Arx, vem sendo alvo de interesse como agente de biocontrole para o mal-das-folhas da seringueira (*Hevea* spp.), causada por *Microcyclus ulei* (P. Henn.) Arx, pela sua capacidade de parasitar os estromas do patógeno. Essa doença, constitui-se um dos maiores entraves para a expansão dessa cultura, especialmente nas regiões úmidas do Brasil e de outros países da América Latina. O presente trabalho faz parte de um estudo que vem sendo realizado de uma metodologia eficiente para produção do hiperparasita em larga escala e teve como objetivo verificar o efeito do fotoperíodo no seu crescimento e esporulação. Dois experimentos foram conduzidos com quatro fotoperíodos: 0, 6, 12 e 24 horas de luz e quatro isolados do fungo: CEN 58, CEN 62, CEN 91 e CEN 93, utilizando-se os meios de cultivo à base de batata-dextrose-ágar (BDA) e de arroz parboilizado. No primeiro experimento, discos de 9mm de diâmetro, retirados de cultura com 10 dias de idade foram depositados no centro de placas de Petri contendo o meio BDA. No segundo experimento, utilizaram-se frascos Erlenmeyers de 250 ml de capacidade contendo 25 gramas de arroz parboilizado. Este substrato, previamente umedecido com água destilada (60% P/V) e autoclavado a 120°C durante 20 minutos, foi inoculado com quatro discos de 9 mm de diâmetro/frasco, também retirados de cultura com 10 dias de idade. As placas e frascos, após inoculação, foram incubados a 25°C, nos referidos fotoperíodos. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento, em sistema fatorial. Para avaliação do crescimento micelial, foram tomadas medidas do diâmetro das colônias desenvolvidas no meio BDA, aos 4, 8, 12 e 16 dias de incubação. A esporulação foi avaliada, tanto em BDA como no arroz parboilizado, aos 17 dias. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 0,05. Não houve interação significativa entre fatores (fotoperíodo e isolado), para os valores de diâmetro das colônias. Os resultados mostraram que 0 e 6 horas de luz foram os fotoperíodos que melhor favoreceram o crescimento do fungo. Aos 4 e 8 dias de incubação, não se observou diferença entre isolados quanto ao crescimento. Porém, aos 12 e aos 16 dias, os isolados CEN 58 e CEN 91 apresentaram os maiores valores médios de diâmetro de colônias. Luz contínua proporcionou maior esporulação dos isolados, destacando-se o CEN 58 em meio BDA e o CEN 93 em arroz parboilizado, com os maiores valores médios de concentração de esporos.

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>5</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>6</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 080 - INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE MANEJO DE PRAGAS NA FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE LAGARTAS DO CURUQUERÊ-DO-ALGODÃO *Alabama argillacea* (HÜBNER) E NA INCIDÊNCIA DE PARASITÓIDES (Influence of pest management system in population fluctuation of caterpillars of *Alabama argillacea* (Hübner) and in parasitoids incidence)

Silva-Santos, P.V.<sup>1</sup>, Ribeiro, P.H.R.<sup>2</sup>, Macedo, T.R.<sup>3</sup>, Laumann, R.A.<sup>4</sup>, Pires, C.S.S.<sup>5</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>5</sup>, Sujii, E.R.<sup>6</sup>

O curuquerê do algodão é considerado uma das principais pragas da fase vegetativa do algodoeiro. O objetivo deste trabalho foi estudar a flutuação populacional desta espécie e a incidência de parasitóides, em cultivos de algodão com três diferentes métodos de manejo de pragas. Os métodos foram: convencional (controle com inseticidas químicos com aplicações de Diafentiuron, Imidacloprid, Cipermetrina+profenofos e Metamidofos nas dosagens recomendadas pelo fabricante), biológico (controle com inseticidas biológicos *Beauveria bassiana*, *Verticillum lecanii* e *Bacillus thuringiensis*) e controle (sem aplicação). Para isto foi montada uma área experimental na Embrapa Hortaliças (Brasília, DF). Os diferentes tratamentos (métodos de manejo) foram distribuídos totalmente ao acaso em parcelas (25 x 20 m) com 4 repetições por tratamento. Uma das parcelas do manejo biológico foi perdida por invasão de plantas daninhas, assim para este tratamento foram realizadas 3 repetições. Foram realizadas amostragens semanais registrando e coletando as lagartas presentes em unidade amostrais (n=3/parcela/data de amostragem) de um metro linear da cultura. As lagartas coletadas foram criadas em laboratório até a eclosão dos adultos ou de parasitóides. *A. argillacea* apresentou duas gerações. O manejo convencional controlou satisfatoriamente a população de lagartas apenas da primeira geração. Isto pode estar relacionado com a menor incidência de parasitismo neste tratamento ( $2,20 \pm 1,40$  %) comparado ao controle ( $23,90 \pm 9,50$  %). Não foram observados efeitos deletérios do manejo biológico nas taxas de parasitismo ( $5,80 \pm 1,87$  %) em relação ao controle. Os parasitóides encontrados pertencem às Ordens Diptera (Tachinidae 2 msp e Phoridae 1 msp) e Hymenoptera (Encyrtidae 1 msp, Eulophidae 1 msp, Chalcididae 1 msp, Ichneumonidae 1 msp e Braconidae 1 msp).

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 081 - INIBIÇÃO DE *Sclerotinia sclerotiorum* POR MEIO DA COMPETIÇÃO E PELA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS FUNGITÓXICOS POR *Trichoderma* SPP. (Inhibitor effects of *Trichoderma* spp. isolates against *Sclerotinia sclerotiorum* by competition and secondary metabolites)

Gomes, D.M.P.A.<sup>1</sup>, Ávila, Z.R.<sup>2</sup>, Pádua, R.R.<sup>3</sup>, Carvalho Filho, M.R.<sup>4</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>5</sup>, Mello, S.C.M.<sup>6</sup>, Silva, M.C.F.<sup>7</sup>

*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary é um patógeno conhecido por atacar diversas culturas, podendo sobreviver no solo por vários anos, na forma de escleródios. O controle químico desse fungo é ineficaz, tornando necessária adoção de outras medidas de controle, dentre essas, a utilização de agentes antagonistas. Um dos gêneros de fungos que vem sendo amplamente pesquisado para controle de patógenos do solo é o *Trichoderma*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de 21 isolados de *Trichoderma* em inibir o desenvolvimento de *S. sclerotiorum*, por efeito direto no crescimento de colônias e pela produção de metabólitos fungitóxicos. Em todos os experimento, adotou-se o delineamento inteiramente ao acaso, utilizando-se quatro repetições por tratamento. Nos testes de produção de metabólitos, foram utilizados quadrados de papel celofone sobrepostos ao meio a base de batata-dextrose-agar (BDA), em placas de Petri. Sobre estes, depositaram-se discos retirados de colônia de *Trichoderma*. Após 48 horas de incubação a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas, foram removidos os quadrados de papel celofane juntamente com a colônia desenvolvida na superfície deste. Na superfície do mesmo meio, distribuíram-se discos de *S. sclerotiorum* (um disco/placa). As placas foram novamente incubadas a 25 °C e, após cinco dias, foram tomadas medidas do diâmetro das colônias do patógeno. Novamente, as placas foram incubadas e, ao final de 40 dias, foi feita a contagem do número de escleródios produzidos. Para a avaliação do antagonismo em cultivo pareado, os isolados de *Trichoderma* foram colocados opostamente ao patógeno em placas de Petri contendo o meio BDA. Após cinco dias, procedeu-se a medição do diâmetro das colônias e a classificação do antagonismo baseada em escala apropriada. Todos os isolados produziram metabólitos tóxicos que inibiram o crescimento do *S. sclerotiorum*. A porcentagem de inibição variou de 29 a 100%, destacando-se os isolados CEN 219 e CEN 250, como antagonistas mais ativos. Do mesmo modo, ocorreu redução do número de escleródios, entre 47,5 e 98,5%. No cultivo pareado, obtiveram-se reduções no crescimento de *S. sclerotiorum* de 25,9 a 69,7%. Os mais elevados valores da porcentagem de inibição foram verificados com o isolado CEN 252. Pelo menos 16 isolados foram classificados como altamente antagonistas.

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>3</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>6</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 082 - ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. PERTENCENTES AO BANCO DE FUNGOS DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA E AVALIAÇÃO DE SEU POTENCIAL ANTAGÔNICO (*Trichoderma* spp. isolates from the Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia culture collection and assesment of their antagonistc potential)

Pádua, R.R.<sup>1</sup>, Ávila, Z.R.<sup>2</sup>, Gomes, D.M.P.A.<sup>3</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>4</sup>, Carvalho Filho, M.R.<sup>5</sup>, Silva, M.C.F.<sup>6</sup>, Mello, S.C.M.<sup>7</sup>, Silva, J.B.T.<sup>8</sup>

O micoparasita *Trichoderma* spp., inimigo natural de diversos patógenos de plantas vem sendo utilizado com bastante sucesso, em diversos países, sobretudo para patógenos de solo, como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pyhtium aphanidermatum*, *Fusarium oxysporum*, dentre outros. Além de ser um excelente antagonista, espécies deste gênero vem despertando interesse de pesquisadores, também pelo seu potencial na solubilização de nutrientes da rizosfera, tornando-os mais disponíveis às plantas, bem como promovendo o crescimento das mesmas. Já existem vários produtos comerciais disponíveis tanto no mercado internacional quanto nacional. Diante da busca incessante de alternativas para o controle das doenças de plantas que não sejam poluidoras do ambiente, é importante, a formação de coleções de microrganismos com potencial para serem utilizados na redução dos danos causados por estas doenças. Este trabalho faz parte de um projeto que visa ampliar o número de acessos de fungos do gênero *Trichoderma* do Banco de Germoplasma de Fungos de Interesse para o Controle Biológico da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, por meio das atividades de coleta, isolamento, identificação, caracterização, preservação e avaliação do potencial de uso de isolados no controle biológico de patógenos de solo. Para obtenção dos isolados foi utilizada a metodologia de diluição seriada e cultivo em meio Martyn. Os isolados purificados foram avaliados quanto ao seu potencial em inibir o crescimento dos fitopatógenos *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum* in vivo. Para tanto foi utilizada a metodologia de cultivo pareado e a classificação quanto ao antagonismo. Os isolados foram divididos em sete grupos. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Todos os isolados reduziram o crescimento dos patógenos ocorrendo, entretanto diferenças significativas entre as porcentagens de redução, variando de 24, 12 a 74% para *S. sclerotiorum*, e para *S. rolfsii* de 17,7 a 59, 72%. Quanto a classificação, 50 isolados foram classificados como altamente antagônicos para *S. rolfsii*, e para *S. sclerotiorum*, 63 isolados receberam esta mesma classificação.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>4</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>8</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **083 - MONITORAMENTO DA ESTABILIDADE GENÉTICA DO BIOINSETICIDA *Erinnyis ello* GRANULOVÍRUS APLICADO EM SANTA CATARINA NO PERÍODO DE 1986 A 2000 (Monitoring of the genetic stability of the *Erinnyis ello* granulovirus biopesticide applied in Santa Catarina State from 1986 to 2000)**

Costa, N.R.<sup>1</sup>, Castro, M.E.B.<sup>2</sup>, Souza, M.L.<sup>2</sup>

O *Erinnyis ello* granulovirus (baculovirus *Erinnyis*) é um vírus de ocorrência natural e demonstrou ser uma alternativa viável, segura e econômica para o controle do mandarová, importante praga da mandioca. O objetivo deste trabalho foi monitorar a estabilidade genética do vírus aplicado como bioinseticida no estado de Santa Catarina. Lagartas com sintomatologia de infecção, fornecidas pelo Dr. Renato Pegoraro (EPAGRI, SC), foram coletadas nas safras de 1986, 1990, 1994, 1998, 1999 e 2000. Inicialmente partículas virais foram purificadas de larvas infectadas através de ultracentrifugação em gradiente de sacarose. Em seguida o DNA foi extraído através de ciclos de fenol e clorofórmio, digerido com diferentes enzimas de restrição e submetido a eletroforese em gel de agarose. A análise comparativa dos perfis de restrição obtidos com *Eco*RI revelou um total de vinte e um fragmentos presentes em todos os isolados. Entretanto uma banda submolar de 8,6 Kb esteve presente no ano de 1986, sendo que sua intensidade diminuiu no ano de 1994, aumentou nos anos de 1998 e 1999 e novamente decaiu no ano de 2000. Esse comportamento foi também observado ao comparar os perfis obtidos com a enzima *Pst* I. Nesta digestão, além dos 3 fragmentos comuns aos isolados, foi detectada uma banda submolar de 12,7 Kb presente na amostra do ano de 1986 que aumentou de intensidade em 1990 e não foi detectada em 1994. Entretanto ela apareceu novamente em 1999, mas teve sua intensidade reduzida em 2000 caracterizando um fluxo na população. Na digestão com *Eco*RV foram produzidos um total de 12 fragmentos além de uma banda submolar de 13,6 Kb que esteve presente a partir do ano de 1999 e tornou-se menos intensa no ano de 2000. Ao se analisar os perfis obtidos com *Bam*HI observou-se também uma modificação a partir da safra 1999, dessa forma uma banda de 2,4 Kb deixou de ser observada nesse ano bem como no ano subsequente. Com essa enzima foram obtidos um total de 8 fragmentos. Finalmente, nenhuma alteração foi observada nos perfis obtidos por digestão com *Hind*III. Estes dados mostram significantes mudanças no ano de 1999, indicando que um novo genótipo (ou genótipos) tornou-se predominante a partir dessa safra.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **084 - MONITORAMENTO DE PRAGAS NO ALGODOEIRO COMO METODOLOGIA PARA AVALIAR O IMPACTO DE PLANTAS GENETICAMENTE MODIFICADAS SOBRE O PULGÃO DO ALGODOEIRO (Pest monitoring on cotton crop as methodology to assess the impact of genetically modified plants on cotton aphid)**

Beserra, V.A.<sup>1</sup>, Santos, P.H.R.<sup>2</sup>, Silva-Santos, P.V.<sup>1</sup>, Macedo, T.R.<sup>3</sup>, Silva, K.F.A.S.<sup>1</sup>,  
Fontes, E.M.G.<sup>4</sup>, Pires, C.S.S.<sup>4</sup>, Laumann, R.A.<sup>5</sup>, Schmidt, F.G.V.<sup>6</sup>, Sujii, E.R.<sup>7</sup>

O uso do algodão geneticamente modificado, expressando proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis*, representa uma importante ferramenta para o manejo das pragas. No entanto, é importante avaliar seu efeito sobre pragas não alvo, como os insetos sugadores, pois espécies como *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) podem ter suas populações aumentadas como consequência de mudanças nas interações ecológicas provocadas pelo algodão geneticamente modificado. O objetivo desse trabalho foi avaliar se a metodologia de monitoramento de pragas usada pelos agricultores, amostragem da presença/ausência de pulgões e colônias/planta e inimigos naturais, pode ser utilizada para avaliar o efeito de plantas GM sobre esse grupo de insetos. Assim, foram realizados levantamentos de flutuação populacional em áreas tratadas e não tratadas com inseticidas na região do Distrito Federal. Nestas áreas foram coletadas amostras de 25 a 50 plantas e as populações de pulgões e seus inimigos naturais foram avaliados durante três anos. A avaliação de ocorrência do pulgão, baseado na proporção de plantas infestadas, não foi eficiente para detectar os impactos causados pelos inseticidas, portanto não é recomendada para avaliação de planta GM. A proporção de plantas com colônias (+5 pulgões) e a densidade média de pulgões apresentaram diferenças entre os tratamentos, mas mostraram-se fortemente influenciados por outros fatores. A abundância de inimigos naturais e a precipitação pluviométrica também foram importantes no controle da população de pulgões em diferentes anos e áreas. Os resultados demonstraram que o monitoramento da flutuação populacional deve ser acompanhado de outros estudos. Os efeitos das interações planta/praga e inimigos naturais/praga, bem como dos fatores climáticos sobre a dinâmica populacional do inseto devem ser considerados nas avaliações do impacto de novas tecnologias de manejo de praga como o algodão Bt.

Apoio: CNPq, FAT/FINEP e FAPDF

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**085 - ORIENTAÇÃO DO PARASITÓIDE *Telenomus podisi* (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) MEDIADA PELOS SINAIS VIBRACIONAIS DE FÊMEAS DO PERCEVEJO-MARROM, *Euschistus heros* (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) (Orientation of the parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) mediated by female's vibratory signals of brown-stink bug *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae))**

Lopes, A.P.S.<sup>1</sup>, Laumann, R.A.<sup>2</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>3</sup>, Cokl, A.<sup>4</sup>, Borges, M.<sup>2</sup>

Os pentatomídeos apresentam um complexo sistema de comunicação baseado em sinais químicos, visuais e vibracionais. A comunicação vibracional ocorre pela propagação, através das plantas, de vibrações geradas pelos movimentos do corpo do inseto. A especificidade destas vibrações é tão alta quanto do feromônio sexual. Os insetos, machos e fêmeas, emitem vibrações em diferentes frequências e essas frequências variam de acordo com a função na comunicação, isto é, há diferentes vibrações para os diferentes comportamentos como chamamento e acasalamento. O objetivo deste trabalho foi testar e validar a hipótese de que insetos parasitóides podem utilizar os sinais vibracionais para se orientarem durante a busca de hospedeiros. Para isto a resposta de fêmeas de *Telenomus podisi*, frente a sinais emitidos por machos e fêmeas do percevejo *Euschistus heros*, foi avaliada em plantas de feijão quando possuíam duas folhas verdadeiras completamente abertas. Uma das folhas foi ligada a um alto-falante (tratamento, T) através do qual se emitiram as vibrações previamente registradas e digitalizadas em um computador, a outra folha, permaneceu sem vibrações atuando como controle (C). Foram utilizadas sinais de fêmeas (n=4), machos (n=5) e de machos e fêmeas em duetos (n=5). Fêmeas de *T. podisi* (48h de idade adulta, n=4 a 6 para cada sinal) foram liberadas individualmente na parte inferior da planta e monitorados durante 10 minutos, registrando: escolha inicial (EI), e tempo de residência (TR) em diferentes partes da planta. Os resultados mostram que a EI dos parasitóides foi significativa para o canto de fêmeas. Estes cantos também fizeram com que as fêmeas do parasitóide mostrassem um TR no T significativamente maior que no C. Os resultados confirmam a hipótese de que o parasitóide pode utilizar os sinais vibracionais de *E. heros* para orientação a longa distância e que o parasitóide discrimina os sinais emitidos pelas fêmeas dos emitidos pelos machos ou duetos.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., National Institut of Science, Ljubjuana, Slovenia

## **086 - POTENCIAL DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. PARA O CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides* PATOGÊNICO AO MARACUJAZEIRO (Potential of *Trichoderma* spp. isolates to control *Colletotrichum gloeosporioides* on passion fruit)**

Martins, I.<sup>1</sup>, Mello, S.C.M.<sup>2</sup>, Ávila, Z.R.<sup>3</sup>, Pádua, R.R.<sup>4</sup>, Peixoto, J.R.<sup>5</sup>

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (teleomorfo *Glomerella cingulata*) incide em todos os órgãos de diversas culturas, causando a antracnose, doença que resulta em grandes perdas na produtividade e na qualidade de frutos. Uma das alternativas para a redução de seus danos é o controle biológico, pela utilização de fungos antagonistas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de 20 isolados de *Trichoderma* em inibir o crescimento de *C. gloeosporioides*, por meio do cultivo pareado. Inicialmente fez-se a inoculação no meio de batata-dextrose-ágar com disco de micélio do patógeno e, após cinco dias de crescimento, inoculou-se o *Trichoderma*. Realizou-se a avaliação da inibição aos 14 dias após o pareamento. O experimento foi disposto em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. A incubação ocorreu em câmaras BOD a 27<sup>o</sup> C, no escuro. Os isolados também foram classificados quanto ao antagonismo segundo escala de Bell et al. (*Phytopathology*, v.72, p. 379-382, 1982). Todos os isolados inibiram o crescimento do patógeno e foram classificados como altamente antagônicos, tomando-se por base a testemunha, crescida na ausência de *Trichoderma*. Esses isolados de *Trichoderma* pertencem à coleção de fungos para controle biológico de fitopatógenos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e estão sendo testados em casa-de-vegetação, no controle da antracnose do maracujazeiro e em experimentos para detecção de metabólitos tóxicos.

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>4</sup>Bióloga, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

## 087 - RELAÇÕES TRÓFICAS DA CULTURA DO ALGODÃO QUE INFLUENCIAM A DINÂMICA DE HERBÍVOROS-PRAGA (Trophic relationships in cotton crops that influence the dynamic of pest herbivores)

Silva-Santos, P.V.<sup>1</sup>, Santos, P.H.R.<sup>2</sup>, Sujji, E.R.<sup>3</sup>, Pires, C.S.S.<sup>4</sup>, Laumann, R.A.<sup>5</sup>, Silva, K.F.A.S.<sup>1</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>4</sup>

Predadores generalistas influenciam a estrutura de comunidades e podem afetar as populações de herbívoros. Consumidores secundários e terciários demonstram efeitos em cascata através de três ou quatro níveis tróficos em ecossistemas devido ao fato de serem onívoros. Isto tem conseqüências para o controle biológico natural porque tais predadores podem liberar populações de um determinado herbívoro praga ao consumir seu principal inimigo natural. O entendimento destes mecanismos de interação entre predadores generalistas, e a identificação das redes alimentares e dos principais elos de cadeias tróficas que resultam na regulação da população de herbívoros-praga do algodão foram os objetivos deste trabalho. O experimento foi conduzido na Embrapa Hortaliças (DF) em período de floração e início de frutificação em que a cultura do algodão oferece maior quantidade de recursos. Foram comparados três tratamentos: aplicação de inseticidas químicos (Diafentiurom, Imidacloprido, Metamidofós, Cipermetrina+Fenofós), biológicos (*Beauveria bassiana*+*Verticillium lecanii* e *Bacillus thuringiensis*) e sem aplicação. Os dados foram complementados com informações da literatura. São descritas as interações tróficas para apresentar a diversidade de espécies e os intrincados elos que resultam em redes alimentares, produzidas por diferentes níveis tróficos que nem sempre são bem definidos. produzindo redes tromunidades s a diversidade de espComparando as três áreas não houve diferença significativa de riqueza. Todas as espécies amostradas foram encontradas em todos os estágios fenológicos, não havendo uma espécie que se destacasse em algum estágio. Nas três áreas as tesourinhas (Dermaptera) e *Condilostylus* sp. (Diptera) prevaleceram entre as espécies mais abundantes. Nas áreas com controle químico e sem aplicação de inseticidas produzindo redes tromunidades s a diversidade de esp, o aumento ou diminuição na população de inimigos naturais está correlacionado com as variações da população de herbívoros predominantes, principalmente o pulgão. Na área com inseticida biológico esta correlação não é muito bem percebida, talvez porque os agentes biológicos adicionados ao sistema tenham liberado elos da cadeia que favoreceram a regulação de populações de pulgão. Esta hipótese, bem como a identificação de espécies-chave, será objeto de próximos estudos.

Apoio: FINEP e CNPq

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 088 - SELEÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS AO BICUDO-DO-ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1843) (Screening of *Bacillus thuringiensis* strains toxic against boll weevil (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843))

Ramos, F.R.<sup>1</sup>, Dumas, V.F.<sup>2</sup>, Martins, E.S.<sup>3</sup>, Praça, L.B.<sup>4</sup>, Monnerat, R.G.<sup>5</sup>

O algodoeiro é uma cultura de grande importância econômica no Brasil. Seu principal produto é a fibra, que são tricomas expandidos do ovário da flor polinizada. Atualmente estão identificadas cinquenta espécies de algodão do gênero *Gossypium*, distribuídas nos continentes: Ásia, África, Austrália e América. *Gossypium hirsutum* L. é uma das quatro espécies cultivadas no mundo para a produção da fibra de algodão sendo explorada economicamente numa ampla faixa tropical e em algumas regiões subtropicais. Essa espécie contribui com 90% da produção mundial de algodão e seu cultivo apresenta grande importância social e econômica para o Brasil. Um dos maiores problemas enfrentados pelos produtores é o ataque do bicudo, que é considerado a principal praga dos algodoeiros nas Américas. Se não controlado corretamente, a praga pode causar perdas de até 70% da produção em função da sua alta capacidade de reprodução, elevado poder destrutivo e pelas dificuldades de seu controle. Uma das alternativas para o controle dessa praga é a utilização de agentes de controle biológico, como *Bacillus thuringiensis* (Bt). Essa bactéria entomopatogênica produz proteínas Cry, que são ativadas ao entrarem em contato com o pH intestinal alcalino dos insetos. As vantagens da utilização do Bt são a sua especificidade aos insetos sensíveis à ação de suas toxinas, o efeito não poluente ao meio ambiente, a inocuidade aos mamíferos e invertebrados e ausência de toxicidade as plantas. O objetivo do presente trabalho foi à seleção de estirpes de Bt que apresentassem alta toxicidade ao bicudo do algodoeiro. De aproximadamente 300 estirpes pertencentes ao banco de *Bacillus spp.* da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia foram selecionadas três estirpes, S906, S907 e S908 que se mostraram mais tóxicas que todas as outras analisadas. No entanto, destas três a S906 apresentou uma toxicidade duas vezes superior ao padrão *Bacillus thuringiensis tenebrionis*, podendo ser uma ótima alternativa para doar genes para construção de uma planta geneticamente modificada resistente ao bicudo.

---

<sup>1</sup>Biólogo, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 089 - SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. NO CONTROLE DE *Sclerotium rolfsii* EM SOJA 'BRS MILENA' (Selection of *Trichoderma* spp. isolates to control *Sclerotium rolfsii* in soybean 'BRS Milena')

Carvalho Filho, M.R.<sup>1</sup>, Ávila, Z.R.<sup>2</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>3</sup>, Pádua, R.R.<sup>4</sup>, Gomes, D.M.P.A.<sup>5</sup>, Almeida, A.M.<sup>4</sup>, Mello, S.C.M.<sup>6</sup>

O controle biológico vem tendo ampla aplicação no combate às doenças das plantas. Os organismos causadores dessas doenças são diversos, inclusive fungos de solo, como o *Sclerotium rolfsii* (Sacc.). Este é um patógeno com capacidade de restringir a germinação, apodrecer o colo da planta, atacar as raízes, causando tombamento de plântulas e, ainda, provocar murchas em uma gama de espécies vegetais, dentre as quais, a soja. Os fungos do gênero *Trichoderma*, em contrapartida, apresentam características singulares que os tornam eficientes agentes de biocontrole, especialmente contra os patógenos de solo. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antagonico de 11 isolados de *Trichoderma* spp. contra *S. rolfsii* em soja. O experimento foi conduzido em casa de vegetação (Temperatura variando de 20 a 35° C, e umidade, de 60 a 90%), com a cultivar Milena. Para a produção de inóculo, tanto do antagonista como do patógeno, utilizou-se arroz parboilizado previamente umedecido com água destilada (60% p/v). As inoculações do solo foram realizadas por meio da aplicação de 5g de arroz colonizado por quilo de solo. Este, previamente autoclavado, foi acondicionado em vasos de 3Kg de capacidade. Ambos, patógeno e antagonista foram aplicados ao mesmo tempo e, após 24 horas, procedeu-se o semeio da soja. O experimento foi disposto em delineamento Inteiramente casualizado com 4 repetições, sendo a repetição constituída de 1 vaso com 15 plantas. Foram realizadas duas avaliações, para determinação da porcentagem de plantas vivas, aos 8 e aos 15 dias após o semeio. Os isolados CEN 227, CEN 405, CEN 226, CEN 238, CEN 211, CEN 228, CEN 266, CEN 219, CEN 400 e CEN 206 apresentaram desempenho estatisticamente semelhantes no controle do patógeno, evidenciado pelos altos valores da porcentagem de plantas vivas, que foram os seguintes: 90%, 83.25%, 81.7%, 76.5%, 75%, 71%, 70%, 68.25%, 55%, e 53.25% respectivamente. Esses 10 isolados foram considerados com potencial para uso como biofungicidas e, neste sentido, deverão ser submetidos a novos testes, em ensaios de casa de vegetação e campo. O isolado 232, por outro lado, foi o que demonstrou menor potencial para controle do *S. rolfsii*, devendo ser testado no futuro, contra outros patógenos. Os isolados utilizados neste trabalho pertencem à coleção de fungos para controle biológico da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

---

<sup>1</sup>Biólogo, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>6</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 090 - SELEÇÃO IN VITRO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sclerotinia sclerotiorum* (*In vitro* selection of *Trichoderma* spp. isolates to control *Sclerotinia sclerotiorum*)

Orioli, F.P.<sup>1</sup>, Ávila, Z.R.<sup>2</sup>, Auler, A.C.V.<sup>3</sup>, Falcão, J.L.<sup>1</sup>, Mello, S.C.M.<sup>4</sup>

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary é responsável por perdas em diversas culturas de importância social e econômica, principalmente em cultivos irrigados de feijão, soja e algodão. Este patógeno é um habitante do solo, formador de escleródios, que permanecem viáveis por vários anos, podendo tornar inviáveis extensas áreas agrícolas. Seu controle por meio de fungicidas é difícil, oneroso e poluente. Este trabalho teve como objetivo selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com potencial de uso controle desse patógeno. Na primeira etapa dos experimentos, avaliaram-se 08 isolados e na segunda, 12 isolados. Foram utilizados os seguintes métodos, para estudos *in vitro*: 1) culturas pareadas, em que o patógeno e o antagonista foram cultivados simultaneamente, em meio à base de batata-dextrose-ágar (BDA), opostamente, à distância de 1,0 cm da margem da placa, durante cinco dias; 2) produção de metabólitos tóxicos não voláteis, que consistiu na utilização de papel celofane transparente, previamente lavado e autoclavado. O papel celofane foi colocado sobre o meio BDA já solidificado, em placas de Petri, para que aderisse completamente em todo o diâmetro da placa. Em seguida, colocou-se sobre no mesmo um disco de *Trichoderma* spp. As placas foram colocadas para crescimento em incubadoras do tipo BOD durante 48 horas. Posteriormente, o papel celofane foi o papel removido juntamente com a colônia do antagonista, inoculando-se, no mesmo meio, o patógeno e retornando as placas para a BOD. As condições dos experimentos foram: temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. Foram realizadas quatro repetições por tratamento, distribuídas inteiramente ao acaso, cada repetição representada por uma placa de Petri. As avaliações consistiram na medição do diâmetro da colônia após cinco dias de cultivo, período em que a testemunha cobriu todo o diâmetro da placa. Observou-se redução de crescimento de *S. sclerotiorum* com todos os isolados de *Trichoderma*, em cultivo pareado. Na primeira etapa, os oito isolados apresentaram resultados significativos, entretanto não diferiram estatisticamente. Na segunda etapa, os melhores isolados foram: CEN246, CEN223, CEN219, CEN256, CEN198, CEN204, CEN233, os quais proporcionaram redução entre 33 e 44%. Na avaliação de antagonismo pela ação de metabólitos tóxicos não voláteis, os isolados CEN195, CEN168, CEN151, CEN162, CEN231, CEN219 apresentaram 100% de inibição do patógeno. Dentre os 12 isolados testados na segunda etapa, destacaram-se: CEN219, CEN242, CEN244, CEN223, CEN256, CEN246, CEN245.

<sup>1</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>3</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Eng. Agr., BIOCERTO

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 091 - TESTE DE BIOINSETICIDA À BASE DE *Bacillus sphaericus* PARA O CONTROLE DE LARVAS DE *Culex quinquefasciatus* EM LAGOA DE DECANTAÇÃO EM UMA FAZENDA DE LATICÍNIOS (Test of a bioinsecticide based on *Bacillus sphaericus* for the control of *Culex quinquefasciatus* larvae in a decantation lake in a milk farm)

Sone, E.H.<sup>1</sup>, Ramos, F.R.<sup>2</sup>, Carvalho, H.R.<sup>1</sup>, Boas, L.C.V.<sup>3</sup>, Paganella, M.B.<sup>3</sup>, Oliveira, E.C.A.<sup>4</sup>, Santoro, F.A.<sup>5</sup>, Soares, C.M.S.<sup>6</sup>, Monnerat, R.G.<sup>7</sup>

*Culex quinquefasciatus*, conhecido como pernilongo, é um mosquito urbano de grande importância médico-sanitária no Brasil por ser o vetor primário e principal da filariose bancroftiana e de algumas encefalites. Os insetos do gênero *Culex* são insetos de hábitos noturnos e antropofílicos, exercendo a hematofagia nos humanos dentro de suas habitações, onde se abrigam durante o dia. As larvas de *Culex* se desenvolvem em coleções de água parada com abundância de matéria orgânica em decomposição como esgotos e lagoas de tratamento de efluentes. Uma alternativa ambientalmente correta para o controle das larvas desse inseto é a utilização de um bioinseticida à base de *Bacillus sphaericus*, o SPHAERUS<sup>®</sup> SC, produzido pela Bthek Biotecnologia em parceria com a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. As vantagens da utilização desse produto são a inocuidade a mamíferos e aves, ação tóxica restrita ao inseto alvo e não poluir o ambiente já que o *B. sphaericus* é encontrado naturalmente no solo. O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência deste bioinseticida no controle das larvas de *C. quinquefasciatus* em condições naturais de campo. O experimento foi realizado em duas lagoas de decantação que recebiam esgoto proveniente do curral e apresentava índice de infestação média acima de 26 larvas de mosquito por conchada. Foram aplicados a concentração de um litro/ha SPHAERUS<sup>®</sup> SC. Decorridas 48 horas do tratamento, o bioinseticida apresentou resultados de mortalidade de 80,8% e passados sete dias não foi observado a presença de larvas. O monitoramento foi realizado semanalmente durante os meses de setembro de 2004 a janeiro de 2005 sendo que o índice de infestação médio durante esse período foi inferior a duas larvas por conchada, comprovando a eficiência do bioinseticida no controle das larvas deste inseto.

---

<sup>1</sup>Eng. Florestal, Bthek Biotecnologia

<sup>2</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Méd.Vet., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bthek Biotecnologia Ltda

<sup>7</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 092 - UTILIZAÇÃO DO *Bacillus sphaericus* NO CONTROLE DO *Culex quinquefasciatus* TRANSMISSOR DE FILARIOSE NO BRASIL (Utilization of *Bacillus sphaericus* to control of *Culex quinquefasciatus* vector of filarioses in Brazil)

Ramiro, C.A.<sup>1</sup>, Dumas, V.F.<sup>2</sup>, Monnerat, R.G.<sup>3</sup>

A filariose linfática humana ocorre pelo parasitismo de nematelmintos das espécies *Wuchereria bancroftii*, *Brugia malayi* e *Brugia timori*. Em várias regiões tropicais da Ásia, da África e das Américas têm sido uma doença endêmica, que tem trazido sérios problemas de saúde pública para diversos países destes continentes. Na década de 50, pesquisas demonstraram uma nítida relação entre a distribuição e abundância de *Culex quinquefasciatus* e os focos de *W. bancroftii* no Brasil. Então, descobriu-se que o mosquito vem sendo um excelente vetor do parasito da filariose, visto que, têm-se condições climáticas apropriadas, fácil adaptação e dispersão da doença. Atualmente, vem-se tornando um sério problema em Recife, Jaboatão e Olinda, no estado de Pernambuco, e em Alagoas, Maceió, onde há um alto índice do mosquito vetor transmitindo as formas infectantes de *W. bancroftii*. A transmissão acontece através da picada da fêmea do mosquito que em seu aparelho bucal tem a microfilaria que é rapidamente introduzida nas correntes sangüíneas, migrando depois para as linfas e linfonodos do corpo humano onde se alojam e se tornam adultos dando continuidade ao ciclo de vida. Na busca incansável de soluções, em 1939 descobriu-se o DDT, um químico eficiente, mas com alto poder residual que tem selecionado populações resistentes. Visando a diminuição da utilização desse agente químico, a saída tem sido o uso dos produtos à base de *B. sphaericus*, que são bactérias entomopatogênicas, que possuem uma toxina binária efetiva no controle do *Culex* spp. Este trabalho teve como objetivo analisar a eficiência do *B. sphaericus* contra *C. quinquefasciatus* em diferentes condições, tais como, luminosidade, temperatura e umidade. Os testes foram realizados com a estirpe S242 caracterizada por apresentar toxicidade contra *C. quinquefasciatus*. Os bioensaios foram realizados utilizando sete doses, em triplicata de cada dose e repetindo cada bioensaio duas vezes. As leituras foram feitas 48 horas após a realização dos mesmos. Os resultados demonstraram que a CL<sub>50</sub> dos bioensaios realizados com exposição à luz foi menor que a CL<sub>50</sub> dos bioensaios com ausência de luz. No fator temperatura, a CL<sub>50</sub> a 25 °C foi menor que a 20 °C e a CL<sub>50</sub> dos bioensaios desenvolvidos com a umidade a 20% foi menor que a CL<sub>50</sub> dos bioensaios com a umidade à 80%.

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 093 - VARIABILIDADE ENTRE ISOLADOS DE *Dicyma pulvinata* QUANTO AO CRESCIMENTO E À ESPORULAÇÃO EM MEIO BDA (Growth and sporulation variability among *Dicyma pulvinata* isolates)

Alvarenga, D.O.<sup>1</sup>, Silva, M.C.F.<sup>2</sup>, Almeida, A.M.<sup>3</sup>, Melo, D.F.<sup>4</sup>, Pádua, R.R.<sup>3</sup>, Carvalho Filho, M.R.<sup>5</sup>, Gomes, D.M.P.A.<sup>6</sup>, Ávila, Z.R.<sup>7</sup>, Mello, S.C.M.<sup>8</sup>

A seringueira (*Hevea* spp), pertencente à família Euphorbiaceae, possui grande importância econômica para as comunidades da Amazônia devido a sua alta produção de látex, matéria-prima da borracha. Um dos problemas que essas comunidades têm enfrentado é a redução da produção de látex ocasionada pelo “Mal-das-Folhas”, doença causada pelo fungo *Microcyclus ulei*. Vários estudos têm sido conduzidos em busca de alternativas para o combate a esta doença. Um método promissor é o controle biológico, com a utilização do fungo antagonista *Dicyma pulvinata* (Berk & Curtis) Arx. Para se desenvolver eficientemente um produto de controle biológico, é preciso escolher um antagonista que apresente bom crescimento e reprodução em condições de laboratório. O objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade entre isolados de *D. pulvinata* quanto ao desenvolvimento micelial e conidiação em meio de cultura à base de batata-dextrose-ágar (BDA). Foram analisadas 61 amostras de *D. pulvinata* isoladas de diferentes locais. A inoculação foi realizada utilizando-se discos de micélio, no centro de placas de Petri contendo o meio de cultura. Foram utilizadas três repetições por isolado. A incubação ocorreu em câmaras do tipo BOD, a 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Efetuaram-se medidas dos diâmetros de colônias, bem como a contagem em câmara de Neubauer do número de esporos produzidos. Os dados foram então submetidos ao Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quanto ao crescimento micelial, destacaram-se os isolados CEN 138, 114, 77, 88, 89, 104 e 124, enquanto o isolado CEN 137 apresentou o melhor desempenho na produção de esporos. Esses dados são importantes, mostrando que, para a formulação adequada de um produto para o biocontrole, além de se escolher um isolado eficiente, deve-se também conhecer a variabilidade que ocorre dentro da espécie e se ter o cuidado de preservar a carga genética do isolado selecionado, para a maximização de seu potencial de biocontrole.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup>Biólogo, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>6</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>8</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 094 - VARIABILIDADE ENTRE ISOLADOS DE *Trichoderma harzianum* QUANTO À CAPACIDADE DE INIBIR O CRESCIMENTO DE *Rhizoctonia solani* (Capability of *Trichoderma harzianum* to inhibit colonial growth of *Rhizoctonia solani*)

Carvalho Filho, M.R.<sup>1</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>2</sup>, Ávila, Z.R.<sup>3</sup>, Gomes, D.M.P.A.<sup>4</sup>, Pádua, R.R.<sup>5</sup>, Almeida, A.M.<sup>5</sup>, Mello, S.C.M.<sup>6</sup>

Os fungos do gênero *Trichoderma* têm sido amplamente estudados devido à capacidade de degradar carboidratos estruturais e não estruturais, atuando como biorremediadores e como produtores de enzimas, que apresentam uma infinidade de aplicações. Esses fungos são também importantes na manutenção do equilíbrio biológico, e como promotores de crescimento de plantas. A espécie *T. harzianum* destaca-se entre as mais eficientes antagonistas, com várias linhagens registradas para uso no biocontrole de uma ampla gama de fungos fitopatogênicos, entre eles, *Rhizoctonia solani* (Kühn). Este patógeno é responsável por fitomoléstias severas, tais como as podridões de pré e pós-emergência, o tombamento de plântulas e a podridão do colo, da raiz e da coroa, tendo sido reportado o ataque a diversas culturas. Os danos são mais severos sob condições de alta umidade do ar e temperaturas elevadas (25 a 30°C). Essas condições são predominantes em muitos agroecossistemas brasileiros. O objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade entre 17 isolados de *T. harzianum* quanto à capacidade de inibir o crescimento de *R. solani*. Realizou-se o cultivo pareado em meio de batata, dextrose e ágar (BDA), que consistiu em inocular o patógeno em um ponto da borda de placas de Petri e, no outro extremo, o antagonista. A inibição do crescimento foi avaliada pela determinação do diâmetro médio das colônias e pela atribuição de notas (de 1 a 5, onde 1 representou o controle total, com o antagonista crescendo sobre o patógeno, e 5 a ausência de controle, com o patógeno ocupando toda a superfície da placa), segundo a escala de Bell (Phytopathology, Vol.72, N<sup>o</sup> 4, Pgs. 379-382, 1982). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 0,05. Os isolados CEN 234, CEN 230, CEN 254, CEN 235, CEN 262, CEN 223, CEN 220, CEN 168, CEN 151 e CEN 241 proporcionaram melhor desempenho na redução do crescimento da colônia do patógeno, com taxas de 33,2% a 41,47% de inibição. Treze dos isolados estudados (CEN 168, CEN 201, CEN 230, CEN 234, CEN 235, CEN 254, CEN 262, CEN 151, CEN 195, CEN 220, CEN 223, CEN 237 e CEN 255) foram classificados como altamente antagônicos, tendo apresentado notas menores ou iguais a 2. Todos os isolados apresentaram nota inferior a 3, podendo ser considerados antagonistas a *R. solani*.

<sup>1</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Bolsista CNPq

<sup>4</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>5</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>6</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**095 - VARIACÃO NA RESPOSTA DE *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) A VOLÁTEIS INDUZIDOS POR HERBÍVOROS EM DUAS VARIEDADES DE ALGODÃO (Response variation of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to herbivore induced volatiles of two cotton varieties)**

Aquino, M.F.S.<sup>1</sup>, Oliveira, V.L.<sup>2</sup>, Laumann, R.A.<sup>3</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>4</sup>, Cia, E.<sup>5</sup>, Borges, M.<sup>3</sup>

Os voláteis induzidos por herbívoros são compostos que as plantas produzem em resposta ao ataque de insetos e que alteram o padrão de movimentação de parasitóides. Estes compostos podem ser utilizados por inimigos naturais para localização do habitat do hospedeiro ou do hospedeiro a longa distância. O objetivo deste trabalho foi testar o efeito dos voláteis liberados por duas variedades de algodão, quando danificadas por *Spodoptera frugiperda*, sobre o comportamento de busca de hospedeiros do parasitóide *T. pretiosum*. Foram realizados bioensaios com fêmeas de *T. pretiosum* (48 hs. de idade e experiência de oviposição) em olfatômetro de tipo “Y”. Os tratamentos utilizados foram extratos de voláteis provenientes de plantas sadias e de plantas danificadas por larvas I de *S. frugiperda*. Utilizaram-se as variedades de algodão Cedro e IAC-17. Foram observados escolha inicial e tempo de residência em cada área. Os extratos da variedade Cedro, quando danificada pelas larvas de *S. frugiperda*, influenciaram o comportamento de busca de *T. pretiosum*. A escolha inicial e o tempo de residência foram significativamente maiores nas áreas do olfatômetro que receberam voláteis de plantas danificadas em relação às áreas que receberam voláteis de plantas sadias (teste  $\chi^2$   $p < 0,05$  e teste de Wilcoxon  $P < 0,05$  respectivamente). Os voláteis emitidos pela variedade IAC-17, quando danificada, também afetaram positivamente o comportamento do parasitóide considerando a escolha inicial (teste  $\chi^2$   $p < 0,05$ ), porém não mostraram efeito em relação ao tempo de residência (teste de Wilcoxon  $P < 0,05$ ). Os resultados obtidos podem indicar que os processos de melhoramento de plantas cultivadas para obtenção de variedades com diferentes características agronômicas, podem alterar o perfil de voláteis induzidos por herbívoros e as relações tri-tróficas dos sistemas planta-inseto herbívoro – inimigo natural.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Química, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Instituto Agronômico de Campinas-IAC

## 096 - VISITANTES FLORAIS DO ALGODÃO, *Gossypium hirsutum*, EM DIFERENTES REGIÕES DE PRODUÇÃO DO BRASIL (Flower visitors of cotton, *Gossypium hirsutum*, in different production areas of Brazil)

Oliveira, G.<sup>1</sup>, Cardoso, C.F.<sup>2</sup>, Nakasu, E.<sup>3</sup>, Scomparini, A.L.<sup>4</sup>, Teles, E.<sup>5</sup>, Rodrigues, S.<sup>6</sup>, Santos, J.B.<sup>7</sup>, Miranda, J.<sup>8</sup>, Sujii, E.R.<sup>9</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>10</sup>, Silveira, F.A.<sup>11</sup>, Pires, C.S.S.<sup>10</sup>

Para a realização de análises de risco do algodão Bt, em 2003/04 iniciou-se um inventário de visitantes florais do algodão no DF e Paraíba para obter informações sobre diversidade e abundância de abelhas e outros insetos. O levantamento foi estendido em 2005 para os estados da BA (Barreiras), MT (Primavera do Leste e Rondonópolis) e GO (Santa Helena de Goiás e Mineiros), além de ampliado para outros locais no DF e PB. As coletas ocorreram em áreas de plantio comercial com e sem inseticidas e em campos experimentais. Todo o material foi separado por morfoespécie e família, sendo a maioria identificada até gênero. Foram coletadas mais espécies nas áreas não tratadas com inseticidas e próximas à vegetação natural. Foram coletadas 41 espécies de abelhas nos três anos de coleta no DF. Na Bahia, as coletas foram realizadas em três plantios comerciais tratados com inseticidas e 16 espécies foram identificadas. No Mato Grosso coletou-se 19 espécies, na Paraíba 23 e em Goiás 3 espécies. *Apis mellifera*, abelha introduzida para fins comerciais, ocorreu em todas as áreas amostradas. Dados preliminares indicam que no DF as mais abundantes são: *A. mellifera*, *Paratrigona lineata*, *Melissoptila* cfr. *cnecomala*, *Trigona spinipes* e 1 espécie de Halictidae. No Mato Grosso são: *A. mellifera*, *Partamona* sp e *P. lineata*. No Nordeste foram: *A. mellifera* e *T. spinipes*. Em Goiás foram coletadas: *A. mellifera*, *Xylocopa* spp e 1 espécie de abelha silvestre não identificada. Os seguintes insetos foram coletados em menor abundância nas flores: 2 espécies de Coccinellidae, besouros predadores, 1 espécie de Dermaptera predador, 1 Diptera coletor de néctar e 2 espécies de besouros pragas agrícolas (*Antonomus grandis* e *Diabrotica speciosa*). Como base nesses resultados e dados de biologia das abelhas, estão sendo selecionadas espécies indicadoras para o desenvolvimento de protocolos para análise de toxicidade de proteínas *Bt*.

Apoio: CNPq, FACUAL, FAP-DF

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Bióloga, mestranda, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Bióloga, M.Sc., UNIR

<sup>5</sup>Agronomia, graduanda, UNIR

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Algodão

<sup>7</sup>Eng. Agr., EBDA

<sup>8</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Algodão

<sup>9</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>10</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>11</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

# RECURSOS GENÉTICOS



# CARACTERIZAÇÃO



## 097 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE DIFERENTES LINHAGENS DE MELÃO UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES (Genetic variability analysis of melon lines using molecular markers)

Gontijo, S.L.<sup>1</sup>, Paiva, W.O.<sup>2</sup>, Amorim, J.C.<sup>1</sup>, Amaral, Z.P.<sup>3</sup>, Buso, J.A.<sup>4</sup>, Buso, G.S.C.<sup>5</sup>

O melão (*Cucumis melo*) é uma planta de origem asiática, rasteira e herbácea da família Cucurbitaceae, de formato variável, apresenta vários tipos de aroma e cores de polpa, sendo a oitava fruta produzida e uma das dez principais frutas frescas mais exportadas. Com o aumento da demanda de produção do melão no mercado internacional, que passou de 1,3 milhões de toneladas em 1997 para cerca de 1,6 milhões em 2002, faz-se necessário o aumento da produção e da qualidade final do produto. Com base na importância econômica do melão, programas de melhoramento genético vêm sendo desenvolvidos para aumentar a eficiência do sistema produtivo. Uma forma eficiente de auxiliar os programas de melhoramento é a análise da variabilidade genética por meio da utilização de marcadores moleculares, pois detectam dissimilaridades entre diferentes acessos em nível de DNA. Marcadores moleculares RAPD (“*Random Amplified Polymorphic DNA*”) são úteis por apresentarem baixo custo, alto conteúdo informativo e identificarem alto número de locos polimórficos nos segmentos de DNA por reação, além de requerer pouca mão-de-obra. Linhagens desenvolvidas nos programas de melhoramento da Embrapa Agricultura Tropical e Embrapa Hortaliças foram analisadas visando à indicação do nível de similaridade entre elas. A análise demonstrou haver grande variabilidade genética entre as linhagens e poucos pares de linhagens que se apresentaram com similaridade acima de 0,90. Prevê-se que poderá ser obtido um número elevado de combinações híbridas a partir das linhagens avaliadas, mesmo selecionando-se linhagens com similaridade abaixo de 0,85.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Agricultura Tropical

<sup>3</sup>Assistente de Operações II, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 098 - ANÁLISE GENÉTICA DE FAMÍLIAS DE *Gossypium barbadense* COM USO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES (Genetic analysis of *Gossypium barbadense* families using microsatellite markers)

Castilho, Y.G.<sup>1</sup>, Contini, L.R.<sup>2</sup>, Barroso P.V.<sup>3</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>4</sup>

*Gossypium barbadense* é uma espécie silvestre naturalizada, amplamente distribuída no Brasil. O Brasil é considerado um importante centro de diversidade de *Gossypium* com ocorrência da espécie silvestre *G. mustelinum*, silvestre naturalizada *G. barbadense* e pela grande produção da fibra de algodão obtida da cultivar comercial *G. hirsutum* var. *marie galante*. *G. hirsutum* e *G. barbadense* co-ocorrem em diversas regiões do Brasil e seus sistemas reprodutivos evidenciam que são sexualmente compatíveis. Com o objetivo de estimar o fluxo gênico e verificar a presença de alelos do algodão comercial em *G. barbadense*, foram realizadas análises genéticas com uso de marcadores SSR - *Simple Sequence Repeats*. O polimorfismo desse marcador molecular é baseado nas diferenças de comprimento das seqüências amplificadas, de acordo com o número de repetições em cada microsatélite que é altamente variável no genoma. A amostra de folhas de indivíduos adultos e de sementes de *G. barbadense* foi coletada em três regiões do Mato Grosso (Baixada Cuiabana, Pantanal e Cerrado). Sementes de 75 acessos com 20 descendentes cada foram plantadas. O DNA genômico foi extraído a partir de folhas segundo o protocolo CTAB 2%. Os DNAs de foram genotipados com seis *primers* SSRs. A detecção da amplificação dos fragmentos foi realizada em gel desnaturante de poliacrilamida 4%, corado com nitrato de prata. Sendo *G. barbadense* e *G. hirsutum* espécies alotetraplóides, durante a amplificação foi possível verificar dois locos em todos os *primers* analisados. Na análise dos *primers* CML63, CML43, BNL686(1) e BNL1440(2) foi considerado somente um loco, sendo a maioria monomórficos. Na análise dos *primers* BNL3103 e BNL1317 um dos dois locos foi considerado. O *primer* BNL1317 é o único que não apresentou correspondência com o publicado e o CML63 é o único que apresenta polimorfismo no loco inferior entre famílias, mas não entre indivíduos de uma mesma família. Neste estudo, não foi observado nenhum alelo de *G. hirsutum* nos descendentes da espécie *G. barbadense*, nem mesmo na região de Cerrado onde ocorre cultivo intensivo de algodão comercial. A estratégia de análise de forma direta está sendo utilizada para estimativa do fluxo gênico e taxa de cruzamento da espécie *G. barbadense*.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Algodão

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 099 - AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO IN VITRO DE SEMENTES DE ARNICA (*Lychnophora ericoides* MART.) EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO (*In vitro* germination of *Lychnophora ericoides* Mart. in different media)

Silva, A.A.<sup>1</sup>, Cardoso, L.D.<sup>2</sup>, Mendes, R.A.<sup>3</sup>

A crescente destruição dos ecossistemas, através da conversão de paisagens naturais em agricultura e pastagem e do extrativismo predatório, tem se constituído na principal ameaça à biodiversidade. A crescente demanda por matéria prima pela indústria farmacêutica em todo o mundo constitui ameaça à sobrevivência e conservação de plantas medicinais em seus habitats naturais. Segundo dados da Sociedade Brasileira de Botânica, a arnica (*Lychnophora ericoides*) encontra-se ameaçada de extinção devido ao extrativismo predatório. Essa espécie é endêmica, habitando principalmente regiões montanhosas com afloramentos rochosos de quartzito ou arenito em campos rupestres, com altitudes entre 800m e 2000m. No aspecto fármaco-terapêutico a arnica é empregada em machucados, contusões, inchaços, hematomas, atividades antitumorais, antitripanocidas e antimicrobianas, como antiinflamatório, aromatizador, anestésico e cicatrizante, além de apresentar potencial ornamental. O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de germinação *in vitro* de sementes de arnica em diferentes meios de cultura e desenvolver um protocolo para seu estabelecimento e multiplicação. A coleta dos frutos foi feita na Fazenda Água Limpa- FAL, UnB entre os meses de março e abril de 2005. Por meio de teste densimétrico, os aquênios foram separados em cheios e chochos e, posteriormente, desinfestados com hipoclorito de sódio na concentração de 1%. Dos aquênios foram extraídas as sementes, que também foram desinfestadas por hipoclorito de sódio na concentração de 0,5%. As sementes foram inoculadas nos seguintes meios: MS, ½ MS, WPM e ½ WPM. Após uma semana, as sementes começaram a germinar com algumas plântulas já apresentando radícula. Foi observada uma alta taxa de contaminação (54,7%) e taxa de germinação de 75%. Desconsiderando-se os tubos contaminados, houveram as seguintes taxas de germinação, com bom desenvolvimento da raiz: meio MS (45%); ½ MS (60%); WPM (82%) e ½ WPM (91%). Observou-se uma maior taxa de germinação nos meios WPM e ½ WPM, que possuem menor concentração de nutrientes e são muito utilizados na cultura de tecidos de espécies lenhosas.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **100 - BUSCA DE PRIMERS MICROSSATÉLITES, *IN SILICO*, DE GENES-CHAVE PARA CARACTERÍSTICAS BIÓTICAS E ABIÓTICAS DE FEIJÃO, MILHO E MANDIOCA (Search for microsatellite primers, *in silico*, for bean, corn and cassava for key genes biotic and abiotic characteristics)**

Paiva, M.R.<sup>1</sup>, Miranda, H.A.<sup>2</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>3</sup>, Dalmolin, C.C.<sup>4</sup>, Alegria, M.R.M.<sup>5</sup>, Buso, G.S.C.<sup>6</sup>

Visando o manejo sustentável da agrobiodiversidade nos biomas Cerrado e Caatinga, o Programa Biodiversidade Brasil-Itália fez um trabalho participativo para levantar as características desejáveis de comunidades de pequenos agricultores em seu contexto ambiental e socioeconômico. Estas características vêm sendo alvos das atividades com marcadores moleculares a serem utilizados na genotipagem para dar subsídios à conservação, no melhoramento genético e eventual seleção. Polimorfismos moleculares em seqüência ou dentro de genes-chave são de grande utilidade para o monitoramento e a salvaguarda da variabilidade genética. Portanto, este trabalho teve como objetivo a procura de marcadores para genes funcionais visando características importantes apontadas pelas comunidades e desenho de primers que flanqueiam seqüências repetitivas, portanto variáveis, dentro dos genes-chaves. Para milho foram definidas as seguintes características: eficiência na absorção e uso do nitrogênio; eficiência na absorção e uso de fósforo; tolerância ao estresse hídrico; tolerância ao alumínio. Para feijão: eficiência na absorção e uso do nitrogênio; tolerância ao estresse hídrico. Para mandioca: resistência a seca, resistência à doença leiteira ou bacteriose (Cassava Bacterial Blight) causada pela *Xanthomonas campestris* pv. Manihotis. Após identificação dos genes-chaves, feita a partir de pesquisa na literatura, fez-se a procura de seqüências em bancos públicos de depósito de seqüências, como o Graminae e/ou NCBI. Para localização de seqüências repetitivas dentro das seqüências relacionadas aos genes-chaves, utilizou-se o programa TROLL. Posteriormente, procedeu-se o desenho de primers nas regiões flanqueadoras das seqüências repetitivas, utilizando-se o programa Primer 3. No desenho dos primers os seguintes critérios foram utilizados: temperatura média de anelamento (Tm) entre 55 °C e 70 °C, diferença de Tm entre pares de primers menor que 3 °C e conteúdo de GC entre 40% e 60%. Até o momento, 32 pares de primers foram selecionados para síntese: 28 para milho, 2 para feijão e 2 para mandioca Estes primers terão as respectivas temperaturas de anelamento otimizadas e a amplificação será testada em amostras das culturas que segregam para as características determinadas.

Apoio financeiro: Programa Brasil-Itália

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup>Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 101 - CARACTERIZAÇÃO DE NOVOS PRIMERS SSR E ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE FEIJÃO COM MARCADORES MICROSSATÉLITES (Characterization of new SSR primers and genetic variability analysis of bean accessions with microsatellite markers)

Lamas, N.S.<sup>1</sup>, Junqueira, L.P.<sup>3</sup>, Ohse, B.J.G.<sup>2</sup>, Cerqueira, A.A.<sup>4</sup>, Amaral, Z.P.S.<sup>5</sup>, Ferreira, M.A.<sup>6</sup>, Buso, G.S.C.<sup>7</sup>

Cultivado por pequenos e grandes produtores, em diversificados sistemas de produção e em todas as regiões brasileiras, o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) reveste-se de grande importância econômica e social. Apesar da importância, a produtividade média desta cultura não tem crescido. Uma alternativa para incrementar esta produtividade é a melhor utilização dos recursos genéticos existentes como fonte de variabilidade genética. Este conhecimento é importante para incrementar a utilização do germoplasma em programas de melhoramento. Para tanto, os marcadores moleculares fornecem segura estimativa da diversidade genética. Microsatélites (SSRs) são marcadores genéticos apropriados para esse fim, pois são baseados em PCR, têm herança codominante, alto conteúdo de informação, são multialélicos e podem ser semi-automatizados em ensaios com multiplex. Este trabalho teve como objetivo a caracterização de novos SSRs, desenvolvidos a partir de bibliotecas genômicas enriquecidas e o estudo da variabilidade de 84 acessos representativos da coleção de germoplasma mantida na Embrapa Arroz e Feijão utilizando os marcadores caracterizados. Os dados foram analisados considerando a amplitude alélica, tamanho de cada loco SSR amplificado, número de alelos por loco e diversidade alélica para a caracterização de cada loco polimórfico e a presença ou ausência para a análise de variabilidade. Na análise de variabilidade notou-se a formação de dois grupos principais, um contendo acessos de *P. vulgaris* e o outro com *P. lunatus* e dentro de *P. vulgaris* formaram-se pequenos agrupamentos. A caracterização desses novos microsatélites de feijão indica a potencial utilidade dos mesmos em estudos de variabilidade e estrutura genética das coleções, de mapeamento de características importantes e utilização futura na seleção assistida por marcadores e análise de pedigrees.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup>Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Biólogo, B.Sc., Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup>Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Químico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **102 - CARACTERIZAÇÃO FITOPATOLÓGICA DE HÍBRIDOS ENTRE ANFIDIPLÓIDES SINTÉTICOS DE OITO ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* E *Arachis hypogaea* (Phytopathological characterization of hybrids between synthetic amphidiploids of eight wild *Arachis* species and *Arachis hypogaea*)**

Santos, R.F.<sup>1</sup>, Fávero, A.P.<sup>2</sup>, Valls, J.F.M.<sup>3</sup>

Muitas das espécies silvestres de *Arachis* têm sido estudadas pelo seu alto potencial de resistência a doenças fúngicas. Foram obtidas, na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 13 combinações híbridas distintas entre anfidiplóides sintéticos, indivíduos F e *A. hypogaea*. Avaliou-se as reações destas famílias de híbridos, quanto à resistência a *Puccinia arachidis*, usando-se a técnica de folhas destacadas. A inoculação foi feita por pincelamento na face abaxial dos folíolos, com uma suspensão contendo 100.000 esporos/ml. Os bioensaios foram incubados sob fotoperíodo (10h luz) e temperatura entre 25-28°C, em 4 blocos ao acaso. Avaliou-se o número de lesões por área foliar (mm<sup>2</sup>) após 28 dias. A cultivar IAC-Runner e o acesso Mdi1678, ambos *A. hypogaea*, apresentaram o maior número de lesões, mostrando-se os mais suscetíveis. A exceção de um, todos os demais híbridos e anfidiplóides sintéticos foram mais resistentes à ferrugem quando comparados com os cultivares, sendo que alguns não apresentaram lesões. Os híbridos resistentes poderão ser usados na transferência de genes de resistência ao amendoim cultivado via cruzamentos, em programas de melhoramento genético.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB/PIBIC/CNPq

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Bolsista PQ/CNPq

### **103 - CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA MOLECULAR DE MAÇARANDUBA - *Manilkara huberi* (DUCKE) A.CHEV. (SAPOTACEAE): POTENCIAL IMPLICAÇÃO NA DEFINIÇÃO DE UM PROGRAMA DE MANEJO SUSTENTÁVEL [Molecular genetic characterization of maçaranduba – *Manilkara huberi* (Ducke) A.Chev. (Sapotaceae): potencial implication in the definition of a sustainable management program]**

Azevedo, V.C.R.<sup>1</sup>, Kanashiro, M.<sup>2</sup>, Grattapaglia, D.<sup>3</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>4</sup>

Uma espécie que se encontra sob manejo sustentável na Floresta Amazônica é a *Manilkara huberi*. Esta é uma das espécies arbóreas de maior ocorrência, que atinge maior DAP do gênero, sendo a mais valiosa devido sua madeira, que é pesada, dura e resistente e conseqüentemente é a mais explorada. Para estimar a diversidade genética, uma variedade de índices que representam o conteúdo informativo de um loco pode ser utilizada para diferentes aplicações como na identificação individual e na análise de parentesco, na estimativa do fluxo gênico, sistema de cruzamento e estruturação genética espacial. A genotipagem constituiu-se de 294 adultos e 810 plântulas descendentes de 27 árvores maternas originárias de uma floresta primária de terra-firme da Amazônia Brasileira, na FLONA Tapajós, utilizando marcadores microssatélites desenvolvidos para a espécie. As seguintes estimativas foram obtidas para adultos e descendentes respectivamente: heterozigosidade esperada 0,86 e 0,82; índice de fixação 0,17 e 0,23, (IC 95%). A população adulta apresentou significativa estruturação genética espacial ao nível de 300m. A estimativa da taxa de cruzamento multiloco foi alta (0,98±0,111) e a uniloco por sua vez, foi menor (0,710±0,042) e significativamente diferente, (IC 95%). A probabilidade de exclusão de paternidade, atingiu poder total de 0,9998. Para 809 descendentes um provável pai foi assinalado, porém para apenas 19 o  $\Delta$  score foi superior ao crítico no nível de P=95%. Foi observada taxa de 5,4% de autofecundação. A distância de polinização média dentro da população foi de 297,21 metros (P=95%). Os resultados indicam que a espécie é preferencialmente alógama. O fluxo de pólen é eficiente, entretanto o cruzamento entre aparentados é intenso, resultando em um coeficiente de endocruzamento significativo. A estruturação genética espacial observada sugere padrão de isolamento por distância. Estes resultados têm fortes implicações em programas de manejo e conservação genética, coleta de sementes para a recuperação de áreas degradadas e reflorestamentos comerciais.

---

<sup>1</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB, CAPES

<sup>2</sup>Eng. Florestal, Ph.D., Embrapa Amazônia Oriental

<sup>3</sup>Eng. Florestal., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 104 - CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALFAVACA (*Ocimum gratissimum* L.) [Chemical characterization of alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) essential oil]

Mendes, J.H.M.<sup>1</sup>, Gracindo, L.A.M.B.<sup>2</sup>, Adjuto, E.N.P.<sup>3</sup>, Vianna, J.S.<sup>1</sup>, Vieira, R.F.<sup>4</sup>, Dantas, M.S.F.<sup>5</sup>

A alfavaca (*Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae), é um arbusto lenhoso perene comumente utilizado na medicina popular e largamente encontrada em quintais e jardins domésticos. Os óleos essenciais de *O. gratissimum* podem ser classificados em três grupos químicos: eugenol, geraniol e timol. As folhas e flores da Alfavaca são utilizadas na forma de infusão, decocção ou em forma de xaropes, como carminativos, estimulantes, sudoríficos, febrífugos, diuréticos, sendo recomendados nas tosses e bronquites. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar os 3 tipos químicos de *Ocimum gratissimum* em função da variação sazonal e circadiana (8h e 12h) na região de Brasília, DF. Doze indivíduos de cada tipo químico foram reproduzidos vegetativamente para obtenção de matéria prima para extração do óleo essencial. As plantas foram cultivadas no período entre janeiro e setembro de 2005 e a biomassa (peso fresco e peso seco) foi avaliada. Folhas secas em estufa de ar circulante a 38°C foram retiradas dos ramos, pesadas e armazenadas em sacos de papel. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em aparelhos de Clevenger modificados. Para avaliação quantitativa das amostras de *Ocimum gratissimum* foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu GC 17A com auto-injetor AOC-20i, em coluna capilar HP-5 (25m X 0.32mm X 0.25 µm). A temperatura do forno foi de 60° a 240°C a 3°C/min, e o hidrogênio foi o gás carreador (1.4 ml/min). Foi injetado 0,05 mL de óleo puro no modo split 1:100 (injetor a 250°C). Os teores de eugenol, geraniol e timol foram determinados por comparação com padrões comerciais. Os acessos de *O. gratissimum* avaliados apresentaram teores médios de óleo essencial variando entre 1 a 1,6% (tipo eugenol), 2,3 a 2,5% (tipo timol) e 2 a 2,7% (tipo Geraniol), em relação ao peso seco das folhas. Os teores máximos observados de eugenol, timol e geraniol foram de 25,4% (12h), 29,9% (8h) e 84,8% (8h), respectivamente.

---

<sup>1</sup>Eng. Agr., graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Farmacêutica-Bioquímica, graduando, Universidade Paulista

<sup>3</sup>Agronomia, pós-graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Transferência de Tecnologia

## 105 - CONSTRUÇÃO DE UM MAPA GENÉTICO DE UMA POPULAÇÃO DE *Capsicum annuum* UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES (Construction of a *Capsicum annuum* population genetic map using microsatellites markers)

Marques, J.M.<sup>1</sup>, Ferreira, M.A.<sup>4</sup>, Moretzsohn, M.C.<sup>3</sup>, Ribeiro, C.S.C.<sup>5</sup>, Buso, G.S.C.<sup>2</sup>

A produção brasileira de frutos do gênero *Capsicum* está estimada em 280.000 toneladas por ano, o que destaca o país como um grande produtor. Essa produção poderia ser maior, entretanto, a ocorrência de doenças tem dificultado o cultivo de *Capsicum* no Brasil afetando a qualidade dos seus frutos, entre elas destacam-se o mosaico, causado pelo potyvirus Pepper Yellow Mosaic Virus (PepYMV) e a murcha-de-fitófitor, causada pelo fungo *Phytophthora capsici*. Atualmente, o melhoramento genético de plantas está utilizando ferramentas que possibilitam a obtenção de resultados mais rápidos e precisos, dentre elas pode-se citar os mapas genéticos, obtidos por meio de marcadores moleculares do tipo microsatélites, os quais apresentam expressão co-dominante, elevado polimorfismo e distribuição freqüente ao longo do genoma eucarioto. Este trabalho objetivou o desenvolvimento de um mapa genético para *Capsicum annuum* utilizando marcadores microsatélites, com avaliação fenotípica para resistência à murcha-de-fitófitor e ao mosaico do PepYMV. A população utilizada para o mapeamento é composta de 186 indivíduos F2, proveniente do cruzamento intraespecífico de cultivares contrastantes para resistência às referidas doenças. De um total de 275 pares de iniciadores microsatélites originalmente desenvolvidos, 245 foram testados, até o momento, para avaliar o polimorfismo entre os parentais do cruzamento. Destes, 37 apresentaram polimorfismo, ou seja, foram potencialmente úteis para o mapeamento.

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Químico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

## **106 - DESCRITORES PARA ABACAXI ORNAMENTAL (Descriptors for ornamental pineapple)**

Martins, V.A.<sup>1</sup>, Ferreira, F.R.<sup>2</sup>, Fávero, A.P.<sup>2</sup>

O produto interno bruto do negócio envolvendo flores e plantas ornamentais, no Brasil, está estimado em US\$ 1.2 bilhões. Este mercado vem crescendo cerca de 20% ao ano no Brasil. O abacaxi vem se destacando entre as plantas tropicais utilizadas como ornamentais, pois muitas de suas espécies apresentam, além da durabilidade, uma beleza única, exótica e exuberante em suas inflorescências e coroas usadas em arranjos florais. A coleta, preservação, caracterização e avaliação de germoplasma de abacaxi, podem indicar genótipos que apresentem potencial para utilização em programas de melhoramento genético, ou ainda que tenham interesse imediato para uso direto por parte dos produtores, já que a entrada contínua de novas variedades é determinante para manter aquecido o interesse desse exigente mercado. Os bancos de germoplasma de abacaxi até então mantidos pela Embrapa, visavam primordialmente dar suporte aos programas de melhoramento para obtenção de variedades para a produção de fruto. Mais recentemente tem sido despertado o interesse desses materiais para a produção de plantas ornamentais. Com o objetivo de caracterizar e avaliar a variabilidade de Ananás ornamental, foram propostos 48 descritores relacionados com as características vegetativas e fisiológicas da planta, inflorescência, fruto, coroa e pedúnculo. Estes descritores já são utilizados de forma padronizada em várias coleções. Os resultados serão avaliados quanto à sua eficácia em caracterizar o germoplasma disponível, além de seu uso no desenvolvimento de descritores oficiais brasileiros para registro e proteção de variedades.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr. , Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 107 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA A ANÁLISE GENÉTICA DE FEIJÃO (Development of microsatellites markers for bean genetic analysis)

Ohse, B.J.<sup>1</sup>, Cerqueira, A.A.<sup>2</sup>, Junqueira, L.P.<sup>3</sup>, Lamas, N.S.<sup>4</sup>, Ferreira M.A.<sup>5</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>6</sup>, Buso, G.S.C.<sup>7</sup>

A cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) vem mantendo há muitos anos um importante lugar na agricultura brasileira, tendo em vista, grande uso na alimentação, com consumo médio de 2.950 mil t/ano ou 18 kg por habitante/ano. Sendo uma cultura importante tanto do ponto de vista social quanto econômico, nos últimos 10 anos, a área cultivada tem permanecido acima de 5 milhões de hectares, produzindo em média 2,6 milhões de toneladas. A cultura do feijoeiro apresenta baixos níveis de produtividade, e fatores como tipos de cultivares, baixa tecnologia de cultivo e ocorrência de pragas e doenças têm sido citados como limitantes ao seu adequado desempenho. Uma proposta para aumentar a produtividade do feijão é o melhoramento genético. Marcadores moleculares têm sido usados como ferramentas essenciais em programas de melhoramento. Os marcadores SSRs caracterizam-se por serem codominantes, multialélicos, baseados em PCR, abundantes e aparentemente distribuídos por todo o genoma. Devido à riqueza de informação genética que oferecem, são ideais para o mapeamento genético. Uma bateria de 275 primers SSR para feijão foi desenvolvida anteriormente, mas somente 20% mostrou polimorfismo entre os parentais de três populações de mapeamento. Portanto, houve a necessidade de desenvolvimento adicional, mudando-se a enzima de corte do DNA genômico, na tentativa de pegar regiões diferentes do genoma. As etapas do desenvolvimento incluíram extração de DNA, construção de biblioteca genômica enriquecida, seleção de clones positivos, desenho e testes de primers. O DNA foi digerido com a enzima Mse I e ligado aos adaptadores. A fase de enriquecimento é caracterizada por um complexo contendo o DNA ligado aos adaptadores, biotina ligada a oligonucleotídeos (TC) e a estreptavidina ligada às contas magnéticas. O DNA é ligado ao vetor pGMET e em seguida é feita a clonagem em bactérias *E. coli* (XL1-blue). Obteve-se 579 clones positivos que estão sendo seqüenciados, para posterior desenho de primers e otimização dos mesmos. O enriquecimento da biblioteca para elementos TC/AG foi eficaz devido ao grande número de clones positivos obtidos.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Biologia, B.Sc., Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>3</sup>Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup>Química, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Biologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 108 - DESENVOLVIMENTO E UTILIZAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPLEX DE MARCADORES SSR PARA FEIJÃO (Development and utilization of SSR markers multiplex systems for bean)

Junqueira, L.P.<sup>1</sup>, Lamas, N.S.<sup>2</sup>, Ohse, B.J.G.<sup>3</sup>, Cerqueira, A.A.<sup>4</sup>, Amaral, Z.P.S.<sup>5</sup>, Ferreira, M.A.<sup>6</sup>, Buso, G.S.C.<sup>7</sup>

O feijão, *Phaseolus vulgaris*, constitui-se num dos alimentos básicos da população brasileira e é um dos principais fornecedores de proteína, ferro e carboidratos na dieta alimentar de estratos sociais, economicamente menos favorecidos. Contudo, há necessidade do desenvolvimento de métodos que acelerem a capacidade analítica dos estudos genéticos de feijão. Seqüências Simples Repetidas (SSRs) são marcadores genéticos poderosos para uma análise genômica detalhada. O conteúdo informativo de um loco SSR é bastante alto por se tratar de seqüências de alta taxa evolutiva. Mesmo em comparações de germoplasma de estreita base genética, detecta-se um alto número de alelos em um loco SSR. No entanto, por se tratar de uma reação PCR específica, somente um loco é analisado de cada vez, reduzindo o conteúdo informativo total. Por isso, a capacidade multiplex fica comprometida. Por outro lado, é possível maximizar a capacidade multiplex da técnica desenvolvendo reações PCR independentes, mas separando os segmentos amplificados no mesmo gel de eletroforese. A importância do uso de formas multiplex reside, assim, no tempo para a geração de informação e maior praticidade, uma vez que serão processados, mais do que um primer em um único gel. Para tal objetivo, deve-se ter um conhecimento prévio da amplitude alélica e o tamanho de cada loco SSR amplificado. Esse conhecimento é fundamental para que durante a corrida eletroforética em gel de poliacrilamida os locos não se sobreponham. Outro fator limitante na utilização de vários primers em um mesmo gel seria em relação à corrente elétrica utilizada durante a eletroforese, que não poderia ultrapassar 2800 Volts e 65 mAmp. Portanto, o objetivo do trabalho é definir o número de loci, intervalo de aplicação de amostras e tempo de revelação do gel. Para a formação de sistemas multiplex foram testados aproximadamente 100 primers SSR de feijão, que foram agrupados em conjuntos de 04 primers, de acordo com o tamanho do loco e o tempo de aplicação e revelação de cada um.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Biólogo, B.Sc., Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup>Técnica de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Químico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 109 - ESTUDO DA VARIABILIDADE ENTRE ESPÉCIES SILVESTRES E CULTIVADAS DE *Anthurium* (Study of variability among wild and cultivate species of *Anthurium*)

Oliveira, D.S.<sup>1</sup>, Paiva, W.O.<sup>2</sup>, Ferreira, M.A.<sup>3</sup>, Marques, J.M.<sup>4</sup>, Camestrini, A.H.<sup>4</sup>, Amaral, Z.P.S.<sup>5</sup>, Buso, G.S.C.<sup>6</sup>

Os antúrios são de regiões tropicais e subtropicais quase todos nativos da América Central e do Sul. Pertencem à família Araceae e ao gênero *Anthurium*, sendo conhecidas mais de 600 espécies. O antúrio comumente cultivado para flor de corte é da espécie *Anturio andraeanum* Lind., originário da Colômbia, entretanto, outras espécies têm potencial para uso de folhas cortadas ou como planta de vaso. O agronegócio de plantas ornamentais no Brasil responde por um PIB estimado em US\$ 1,5 bilhões. Promove geração de empregos e é praticado em áreas de agricultura familiar. O Nordeste vem se destacando como grande produtor e exportador de flores tropicais. Visando o incremento do cultivo de antúrio nesta região, espécies exóticas e cultivadas foram coletadas em diferentes localidades. Para o melhoramento é necessário confirmar a classificação inicial e a distribuição da variabilidade genética dos acessos. Este trabalho teve por objetivo analisar a diversidade genética de acessos do gênero *Anthurium* do banco de germoplasma da Embrapa Agroindústria Tropical por meio de marcadores moleculares. A análise de 145 acessos, compreendendo 8 espécies, foi feita com marcadores RAPD. Até o momento foram utilizados 21 primers e marcadores polimórficos identificados possibilitaram observar grande variação na similaridade. Em geral, houve agrupamento dos indivíduos de acordo com as espécies, no entanto dois acessos classificados inicialmente como *A. lindmanianum*, tiveram perfis de bandas comuns aos acessos classificados como *A. affine*.

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Agricultura Tropical

<sup>3</sup> Químico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UNB

<sup>5</sup> Assistente de Operações II, Embrapa Recursos genéticos e biotecnologia

<sup>6</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **110 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE PLANTAS ORIUNDAS DA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE GENÓTIPOS DE BATATA-DOCE UTILIZANDO MARCADORES RAPD (Study of genetic variability of plants derived from somatic embryogenesis of sweet potato genotypes using RAPD markers)**

Marouelli, L.P.<sup>1</sup>, Buso, G.S.C.<sup>2</sup>, Magalhães, J.S.<sup>3</sup>, Torres, A.C.<sup>4</sup>

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) é uma dicotiledônea, da família Convolvulacea. Apresenta custo de produção e investimentos baixos, e retorno elevado, sendo uma das hortaliças com maior capacidade de produzir energia por unidade de área e tempo, e a quarta mais consumida no Brasil. É uma espécie hexaplóide, apresentando auto-incompatibilidade e incompatibilidade cruzada entre cultivares, dificultando os trabalhos de melhoramento genético. Devido ao alto grau de heterozigose, as progênies obtidas por via sexual diferem geneticamente das linhagens parentais. É propagada vegetativamente, o que possibilita a transmissão e acúmulo de doenças de uma geração para outra, causando decréscimo na produção. A embriogênese somática é um método de propagação *in vitro* que tem o potencial de produzir milhões de propágulos a custo competitivo, e, ainda, pode ser utilizado para a transformação genética de plantas. Neste trabalho observou-se a variabilidade genética de 81 acessos oriundos da embriogênese somática de genótipos de batata-doce, compreendendo 8 cultivares, por meio de marcadores RAPD. Até o momento, foram testados 23 primers e destes 16 foram utilizados. A análise dos fragmentos possibilitou verificar que não houve variabilidade relevante entre os clones da maioria das cultivares, porém em alguns casos encontrou-se em clones originados da mesma cultivar padrão de amplificação idêntico ao de outra cultivar utilizada no processo de propagação.

---

<sup>1</sup>Bióloga, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Bióloga, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

## 111 - LEVANTAMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS DISPONÍVEIS NO HERBÁRIO DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA – (CEN), BRASÍLIA, DISTRITO FEDERAL [Medicinal plants available at the Embrapa Genetic Resources and Biotechnology Herbarium (CEN), Brasília, DF, Brazil]

Silva, A.A.<sup>1</sup>, Skorupa, L.A.<sup>2</sup>, Vieira, R.F.<sup>3</sup>

O bioma Cerrado possui uma flora vegetal estimada em sete mil espécies (Mendonça et. al, 1998), sendo o segundo bioma brasileiro de maior diversidade vegetal, logo após a floresta amazônica. Esse bioma é rico em espécies medicinais que apresentam características morfológicas como raízes (xilopódios) e cascas, que frequentemente acumulam substâncias farmacologicamente ativas. O Herbário CEN é hoje referência para a conservação de recursos genéticos e conta com um acervo de aproximadamente 46 mil exsicatas, destacando-se entre as coleções, as de uso medicinal do Cerrado. O presente trabalho representa um levantamento de herbário de espécies com potencial medicinal na flora do cerrado coletadas por Ladislau Araújo Skorupa e Roberto Fontes Vieira nos seguintes estados: Distrito Federal (Brasília, Brazlândia e Sobradinho); Goiás (Dianópolis, Goiás Velho, Guardianópolis, Gurupi, Itacajá, Itapuranga, Jataí, Mossâmedes, Niquelândia, Padre Bernardo, Pirenópolis e Rubiataba); Minas Gerais (Morada Nova) e Tocantins (Alvorada, Araguaína, Gurupi e Miracema do Norte). Foi elaborada uma listagem onde constam o nome científico, família, coletor, local e utilização das plantas indicadas popularmente como medicinais. Dentre elas destacam-se: faveiro (*Dimorphandra mollis* Benth.), velame-branco (*Macrosiphonia velame* (A. St.-Hil.) M. Arg), pé-de-perdiz (*Croton antisiphiliticus* Mart.) e pacari (*Lafoensia pacari* St. Hil.). Foram relatadas 42 famílias e mais de 70 espécies. A divulgação deste acervo é importante, para que seja dado prosseguimento aos estudos das espécies mais utilizadas e sirva de referência para identificação botânica por parte da comunidade que faz uso destas espécies.

---

<sup>1</sup>Eng. Florestal, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Meio Ambiente

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 112 - MÉTODO DE OBTENÇÃO DE PLÂNTULAS DE *Sinningia lineata* (HJELMQ.) CHAUTEMS (GESNERIACEAE) IN VITRO (Method for plant obtainment of *Sinningia lineata*)

Viana, C.R.B.<sup>1</sup>, Cardoso, L.D.<sup>2</sup>, Mendes, R.A.<sup>3</sup>

A espécie *Sinningia lineata* é uma planta conhecida popularmente como “rainha-do-abismo”, devido a sua beleza e por seu hábito de crescer nas paredes de precipícios. Possui como característica principal uma estrutura de reserva chamada túbero, também vulgarmente conhecida como batata. O túbero é uma estrutura de reserva de água e nutrientes. A maioria das espécies desse gênero é rupícola, ou seja, cresce apoiada ou totalmente verticalizada sobre rochas. No período seco, perdem as folhas e então toda a energia e água para manter o seu metabolismo são obtidas do túbero. Esta planta chegou à Europa oriunda do Brasil, onde seu cultivo ocorre há pelo menos 200 anos. É uma planta por nós ainda desconhecida. Este trabalho teve como objetivo propagar esta espécie *in vitro*. Foram utilizados quatro tipos de explantes: pedaços das folhas, partes do pecíolos, gemas laterais e apicais. Os explantes coletados em casa de vegetação foram imersos em solução de detergente durante 1 minuto e enxaguados com água esterilizada (água destilada e autoclavada). Então, foram imersos em solução de sacarose à 10% por um período de 30 minutos, após o qual foram enxaguados por três vezes em água esterilizada. A desinfestação se deu com a imersão em solução de hipoclorito de sódio à 2% e duas gotas de detergente, durante 15 minutos. Passado esse tempo, os explantes foram enxaguados três vezes com água esterilizada, em ambiente estéril, dentro da câmara de fluxo laminar. Amostras destes explantes foram inoculadas em três diferentes meios de cultura modificados de Murashige & Skoog. Meio para indução de brotações, MS adicionado de fosfato diácido de potássio (167mg/L), inositol (100mg/L), tiamina (0,4mg/L), ácido nicotínico (0,4mg/L), piridoxina (0,4mg/L), ácido indol acético (2,0mg/L) e benzilaminopurina (0,08mg/L); meio para máxima indução de brotações, MS adicionado de ácido naftaleno acético (0,1mg/L), benzilaminopurina (5,4mg/L) e sulfato de adenina e meio para indução de gemas adventícias, MS adicionado de ácido naftaleno acético (1,0mg/L), benzilaminopurina (1,0mg/L). Após 21 dias, foi possível observar que os explantes de pedaços de folhas não demonstraram nenhum sinal de desenvolvimento, com escurecimento do explante. Partes de pecíolos e gemas apicais mostraram-se verdes por mais tempo, porém não houve regeneração de plântulas. O explante de gemas laterais mostrou o melhor resultado na obtenção de plântulas e o meio de máxima indução de brotações foi o mais eficiente.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**113 - MORFOLOGIA DO CROMOSSOMO SATELITADO EM ACESSOS DE GERMOPLASMA DE *Arachis stenosperma* KRAPOV. & W. C. GREGORY DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL (Satellited chromosome morphology of germplasm accessions of *Arachis stenosperma* Krapov. & W.C.Gregory from central Brazil)**

Silva, G.S.<sup>1</sup>, Peñaloza, A.P.S.<sup>2</sup>, Valls, J.F.M.<sup>3</sup>

*Arachis stenosperma* é uma rara espécie do gênero com área de distribuição conhecida largamente disjunta. Populações da região central do Brasil apresentam cromossomos satelitados (SAT) do tipo 5, enquanto as do litoral brasileiro mostram SAT dos tipos 3 e 5. Com o objetivo de ampliar o número de acessos de germoplasma da espécie caracterizados quanto ao cromossomo SAT, realizou-se a análise citogenética de 10 acessos de germoplasma de *A. stenosperma*: Jt 2, Sv 2411, V 7805-AR, V 9010, V 10309, V 12575, V 12646, V 13824, V 13844, V 14090. Todos apresentam  $2n=20$  cromossomos com um par de cromossomos "A". O acesso V 7805-AR apresentou cromossomo SAT do tipo 5, comum aos acessos de *A. stenosperma* da região central. Entretanto, em V 10309, também originário do Mato Grosso, observou-se SAT do tipo 3, semelhante ao que é encontrado em acessos de germoplasma do litoral brasileiro. Coincidentemente, este é o acesso interiorano que mais se assemelha, morfologicamente, aos do litoral. Os resultados indicam que houve aumento da variabilidade intraespecífica, quanto ao tipo de cromossomo satelitado, antes da óbvia dispersão de *A. stenosperma* pelo homem, do Brasil Central ao Litoral Atlântico.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB, Bolsista CNPq

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Bolsista CNPq

## 114 - OCORRÊNCIA DE ESPÉCIES DE *Manihot* NO CERRADO (Occurrences of *Manihot* species in Brazilian Savannah areas)

Andrade, A.P.A.<sup>1</sup>, Mendes, R.A.<sup>2</sup>

Em trabalho realizado pelo CIAT na Colômbia, as áreas de ocorrência de cada uma das seções do gênero foram sobrepostas em um mesmo mapa do Brasil e observou-se que a concentração maior de espécies corresponde aos biomas Cerrado e Caatinga. A maior diversidade biológica ocorre no Brasil Central, com epicentro localizado no Distrito Federal e regiões próximas do Estado de Goiás. Assim fica definida uma área onde a ocorrência da maioria das seções é coincidente, estabelecendo o “quadrilátero do gênero *Manihot*” entre 15° e 35° de latitude sul e 35° e 55° de longitude oeste. A manutenção do germoplasma de *Manihot* em seu habitat natural tem sido um desafio. Muitas populações desse gênero têm desaparecido sistematicamente. Portanto, esforços de agências governamentais e não-governamentais devem ser realizados para que esse material não seja perdido. Para isso, há necessidade do conhecimento dos locais de ocorrência das diversas populações, para que estratégias de conservação e utilização deste recurso genético sejam estabelecidas. O trabalho de levantamento das populações de espécies silvestres do gênero *Manihot* encontradas na Região Centro-Oeste foi elaborado por meio de consultas aos Herbários da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, da Universidade de Brasília (UnB), da Reserva Ecológica da Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e da Universidade Federal de Goiás (UFG). As informações coletadas foram concentradas nos dados de passaporte. O registro e a atualização do banco de dados foram realizados com base no programa ELCEN, desenvolvido pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e utilizado por seu Herbário. Os resultados obtidos mostram um total de 3.989 exsiccatas do gênero *Manihot*, das quais 2.270 estão armazenadas no Herbário da Embrapa Cenargen, 946 no da UnB, 568 no do IBGE e 115 no da UFG, correspondendo respectivamente a 59, 24, 14 e 3% do total da amostra. O estabelecimento da base de dados com informações sobre as espécies silvestres de *Manihot* permitirá sua consulta *on line* para pessoas e pesquisadores interessados, permitindo o estabelecimento de estratégias de conservação e o estudo de sua utilização em programas de pré-melhoramento.

Apoio: PROBIO-Banco Mundial

---

<sup>1</sup>Eng. Florestal, graduanda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq/PROBIO

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 115 - OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO DE *Vasconcella* E *Jacaratia*, PARENTES SILVESTRES DE MAMÃO, NO SUL E CENTRO-OESTE DO BRASIL (Occurrence and distribution of *Vasconcella* and *Jacaratia*, wild relatives of papaya, in the South and Midwest of Brazil)

Martins, V.A.<sup>1</sup>, Ferreira, F.R.<sup>2</sup>, Dantas, J.L.L.<sup>3</sup>, Noronha, S.E.<sup>4</sup>

O Brasil é o maior produtor mundial de mamão, com 25% da produção total (FAO, 2005). Não obstante esta pujante produção, a cultura enfrenta sérios problemas como a alta suscetibilidade ao Vírus da Mancha Anelar (PRSV). O melhoramento genético tradicional não conseguiu obter variedades comerciais tolerantes a essa enfermidade, pois os cruzamentos com parentes silvestres resistentes, como a *Vasconcella quercifolia*, produzem plantas que não sobrevivem e não existem fontes de resistência na espécie *Carica papaya*. Diante disto a Embrapa produziu o mamão transgênico resistente ao vírus, a partir da capa protetiva do PRSV. Para liberar com segurança o mamão transgênico, são necessários estudos, relacionados aos impactos alimentar e ambiental. Para dar suporte a isso foram realizadas expedições com objetivo de coletar e mostrar a ocorrência e distribuição geográfica dos parentes silvestres de mamão, *Vasconcella* e *Jacaratia*, no Sul e Centro-Oeste do Brasil. Para isso, foi realizado levantamento dos herbários que possuem parentes silvestres de mamão em seus acervos. Contataram-se dezenas de pessoas envolvidas com essas atividades, nas regiões Centro-Oeste e Sul, que orientaram as duas expedições para exploração botânica e coleta de germoplasma; uma na região Centro-Oeste, abrangendo os Estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul; e outra na região Sul, nos Estados de Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Ao todo foram percorridos cerca de 11000 km em 26 dias. Foi coletado germoplasma, sementes e/ou mudas de mamão comum, de *Vasconcella* e *Jacaratia*. Na região Centro-Oeste muitos locais de ocorrência constatados nos herbários, não foram identificados no campo, indicando variabilidade genética aquém daquela esperada. Foram amostradas varias populações de *J. spinosa* e apenas duas pequenas populações de *V. quercifolia*, uma em Goiás e outra em Mato Grosso do Sul. Na região Sul, a espécie *V. quercifolia* foi encontrada em abundância, a única espécie silvestre que ocorre nesta região. O *J. spinosa*, foi encontrado em apenas um local, em Santa Catarina, na forma cultivada, embora seja abundantemente citado na literatura e nos levantamentos de herbário. A forte pressão antrópica, devido à expansão agrícola e ao extrativismo, provoca significativa erosão genética dessas espécies nas regiões estudadas. Estas informações podem ser importantes para os estudos de impacto ambiental do mamão transgênico no Brasil.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical

<sup>4</sup>Geógrafo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 116 - REVISÃO CITOTAXONÔMICA DE ESPÉCIES BRASILEIRAS DE *Paspalum* (GRUPO NOTATA) A PARTIR DE MATERIAL CONSERVADO EX SITU EM BANCOS DE GERMOPLASMA (Cytotaxonomic review of brazilian *Paspalum* species (Notata group) based on genebank materials)

Côrtes, A.L.A.<sup>1</sup>, Valls, J.F.M.<sup>2</sup>, Peñaloza, A.P.S.<sup>3</sup>, Santos, S.<sup>4</sup>

O gênero *Paspalum* é dominante nos Campos sul-brasileiros, Pantanal mato-grossense e Cerrado. Espécies do grupo Notata, mostram ampla variação morfológica e diferentes níveis de ploidia e modos de reprodução. O grupo reúne espécies diplóides (*P. pumilum*, *P. strigosum*, *P. barretoii* e *P. nummularium*) ou hexaplóides (*P. conduplicatum* e *P. ramboi*) e outras com citotipos diplóides e tetraplóides (*P. notatum*, *P. maculosum*, *P. cromyorrhizon*, *P. dedeccae*) ou tetraplóides e octoplóides (*P. ionanthum*). *Paspalum subciliatum* engloba triplóides e tetraplóides. O citotipo regional de *P. minus* é pentaplóide. A recente sinonimização de *P. barretoii* com *P. minus*, por autores estrangeiros, exige revisão criteriosa da circunscrição dessas espécies. Para revisar os conhecimentos atuais sobre as espécies do grupo Notata e espécies afins, nativas do Brasil, realizou-se análise citogenética de 12 acessos de germoplasma conservados *ex situ* em Brasília, DF. Os números somáticos corresponderam aos citados na literatura. Em *P. minus*, observou-se interessante assincronia meiótica, com 10 cromossomos em anáfase e os demais em metáfase. Em *P. ellipticum*, espécie incluída ou não, por diferentes autores, em Notata, confirmou-se o nível diplóide, mas com cromossomos grandes, raros no gênero e similares aos encontrados em *P. alnum*.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB, Bolsista IC/CNPq

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Bolsista PQ/CNPq

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 117 - VARIABILIDADE GENÉTICA DE ESPÉCIES BRASILEIRAS NATIVAS DO SEMI-ÁRIDO UTILIZANDO MARCADOR MOLECULAR RAPD (Genetic variability of a Brazilian native semi-arid species using RAPD marker)

Lacerda, A.L.M.<sup>1</sup>, Póvoa, J.S.R.<sup>2</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>3</sup>

Estudos genéticos são muito importantes, principalmente para espécies sujeitas a forte pressão antrópica e/ou com alto potencial econômico e ecológico. Para prover a condução de planos de coleta e conservação de espécies nativas do semi-árido com potencial farmacológico, estudos genéticos estão sendo feitos para estimar a variabilidade genética entre e dentro de populações usando marcadores RAPD. Para investigar a variabilidade genética de uma dessas espécies, pertencendo à família Bignoniaceae, quatro populações de localidades distintas do semi-árido brasileiro foram analisadas, totalizando 96 indivíduos. Dezenove “primers” geraram 130 marcas RAPDs. O dendrograma de similaridade mostrou a formação de três grupos: indivíduos de população A, população B e populações C e D. Dissimilaridade de 30% foi encontrada mostrando baixa variabilidade genética nas populações. O dendrograma de populações mostra que estes são divididos em dois grupos: A e B, e C e D. O Teste de Mantel entre as matrizes de similaridade de Jaccard e valores cofenéticos mostrou alta correlação e nenhuma significância ( $r = 0.864$ ,  $p = 0.1672$ ), e entre matrizes de similaridade de Jaccard e distância Euclidiana entre pontos do gráfico de dispersão mostrou alta correlação e significância ( $r = 0.999$ ,  $p = 0.0438$ ). Isto indica que o gráfico 3D de dispersão é mais eficiente em mostrar a variabilidade genética entre as populações amostradas. Todas as populações analisadas são geneticamente distintas umas das outras.

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq

<sup>2</sup>Eng. Agr., doutoranda, Universidade Federal de Lavras-UFLA, CAPES

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



# CONSERVAÇÃO



## 118 - APLICAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES EM *Amburana cearensis* E *Cedrella fissilis* NA DEFINIÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE CONSERVAÇÃO (Conservation strategies for endangered tree species in central Brazil)

Nakasu, E.T.<sup>1</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>2</sup>, Salomão, A.N.<sup>3</sup>, Sevilha, A.C.<sup>4</sup>, Vieira, D.<sup>5</sup>, Scariot, A.<sup>6</sup>

*Amburana cearensis* “amburana” e *Cedrella fissilis* “cedro” são arbóreas ameaçadas de extinção pelo alto valor de suas madeiras. Embora apresentem ampla distribuição pela América do Sul, suas populações têm naturalmente baixas densidades. No Centro – Oeste do Brasil, cedro e umburana ocorrem em manchas de solo rico que são quase totalmente desflorestados por criadores de gado. Um plano de conservação *in situ* e *ex situ* foi implementado para essas espécies, visando a maximização da diversidade genética. A área escolhida foi a Bacia do Rio Paranã (60000 km<sup>2</sup>), com grandes concentrações de solos ricos derivados de rochas calcárias, conseqüentemente com alta densidade potencial de cedro e umburana, e altas taxas de desflorestamento. Foram coletadas folhas e sementes de 96 indivíduos de umburana e 137 de cedro, com distância máxima de 190 Km entre as árvores. A genotipagem foi realizada utilizando marcadores microssatélites desenvolvidos para cada espécie. Os adultos mostraram alta diversidade genética (0,79 amburana e 0,82 cedro) e foram úteis para a formação de um banco de germoplasma. As sementes são conservadas em câmaras frias na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, e plântulas foram transferidas para um estoque permanente em uma estação experimental da Embrapa e em três áreas designadas para restauração da floresta tropical decidual do Paranã, gentilmente cedidas por fazendeiros. Cedro e umburana estão sendo extintos com seus habitats, e somente a criação de reservas pode conservá-las.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Florestal, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Florestal, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Florestal, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup>Eng. Florestal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 119 - CONSERVAÇÃO IN SITU SOB CULTIVO DE MILHO: REINTRODUÇÃO E DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE OS KRAHÔ (Conservation on-farm of *Zea mays*: reintroduction and genetic diversity among the Krahô Indians)

Souza, G.C.<sup>1</sup>, Zarur, S.B.<sup>2</sup>, Dias, T.A.B.<sup>3</sup>, Krahô, M.<sup>4</sup>

Os Krahô são índios Timbira da família lingüística Jê. Habitam 302.533 ha de Cerrado em Goiatins e Itacajá, Tocantins. Organizam-se em complexo sistema de metades, como as metades sazonais *Wakmeye* (estação seca) e *Katameye* (estação chuvosa). Em 1995, recuperaram poucas sementes de milho Xavante, guardadas pela Embrapa, restabelecendo o ameaçado cultivo do milho *pohonpey*. Em 2004, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia encaminhou quase 400 kg de sementes multiplicadas pela Embrapa Milho e Sorgo, com recursos do Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome, para ampliar a variabilidade genética do milho entre os Krahô. A forma como as sementes foram reintroduzidas respeitou as estratégias tradicionais de circulação e distribuição de produtos agrícolas nas aldeias. Foram feitos acompanhamentos *in locu* da distribuição de sementes das variedades RO 013, MT V Moroti, Nodzob Udzé e Nodzob Pré nas aldeias Santa Cruz, Pedra Branca, Cachoeira e Rio Vermelho. Este trabalho apresenta os resultados obtidos em viagem à aldeia Pedra Branca em novembro de 2004. Adotou-se como metodologia a observação participante, entrevistas e o olhar e ouvir disciplinados no acompanhamento da distribuição feita no pátio central da aldeia e do plantio do milho em algumas roças. Recomendou-se o plantio com cuidados para evitar cruzamentos indesejados. Os moradores da Pedra Branca (cerca de 310) receberam 45 kg de Nodzob Pré e 25 kg de Nodzob Udzé. A distribuição entre as metades foi igualitária: 36 kg para cada, sendo 14 kg de Nodzob Udzé e 22 kg de Nodzob Pré para os *Wakmeye*, enquanto 13 kg de Nodzob Udzé e 23 kg do Nodzob Pré foram para os *Katameye*. Cada agricultor recebeu 1 kg para plantar na sua roça. Os prefeitos da estação corrente (*Katameye*) coordenaram tudo (e não o “cacique”) e se responsabilizaram pelos 5 Kg dos *Katameye* e 2 kg dos *Wakmeye* destinados à roça comunitária. Constatou-se a forma tradicional de conservação das sementes em cabaças, com uma mistura de cinza e pimenta malagueta, mantendo-as viáveis de um ano para outro. A reintrodução como estratégia de conservação “in situ” sob cultivo permite além de preservar o germoplasma local e os aspectos culturais determinantes para a identidade étnica, propiciar condições para o desenvolvimento de novo germoplasma. A ação está de acordo com orientações de tratados internacionais, como a Convenção da Diversidade Biológica e o Tratado de Recursos Fitogenéticos da FAO.

---

<sup>1</sup>Antropologia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Antropóloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Membro da Associação das Aldeias Krahô-Kapey

## 120 - MARCADORES MICROSSATÉLITES COMO INDICADORES DE DIVERSIDADE PARA CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE *Araucaria angustifolia* (BERT.) O. KUNTZE (Microsatellites as indicators of diversity for genetic conservation of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze)

Schmidt, A.B.<sup>1</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>2</sup>, Guerra, M.P.<sup>3</sup>, Nodari, R.O.<sup>3</sup>

*Araucaria angustifolia* é uma espécie arbórea dióica que ocorre no sul do Brasil. Pela intensa exploração dessa espécie devido ao seu valor madeireiro, hoje temos somente 2% da sua população original. Marcadores moleculares baseados em microsatélites são ideais para estudos genéticos de populações naturais devido ao seu elevado grau de polimorfismo, co-dominância e multialelismo. O objetivo do estudo foi (1) o desenvolvimento dos marcadores microsatélites para *A. angustifolia*, e (2) avaliação do nível de diversidade genética e estrutura populacional em populações naturais da espécie. Bibliotecas genômicas enriquecidas para Microsatélites foram construídas inicialmente digerindo-se o DNA genômico com enzima de restrição (*Mse* I). Fragmentos com tamanhos entre 200 e 800 pb foram isolados, ligados a adaptadores, enriquecidos para sequências (AG)<sub>n</sub> e seqüenciados. Foram desenhados 50 iniciadores e selecionados 10 para marcação fluorescente que permitiram detecção alélica em seqüenciador automático de DNA. O Ministério do Meio Ambiente designou cinco áreas de Florestas com Araucária como prioritárias para a criação de unidades de conservação. Em quatro áreas, sendo duas áreas localizadas no Paraná e duas em Santa Catarina, foram realizados estudos de diversidade genética e estrutura populacional com amostragem de 344 em aproximadamente 50 mil hectares. A estrutura e a diversidade genética das populações de *Araucaria angustifolia* foram analisadas utilizando o programa Genetic Data Analysis - GDA, versão 1.1 (Lewis e Zaykin, 2001) para 7 locos microsatélites. Três locos microsatélites foram desconsiderados por apresentarem proporções de homocigotos acima do esperado pelo equilíbrio de Hardy Weinberg. O resultados mostraram elevada diversidade genética, com valores de heterozigosidade média esperada de 0,90 e média de 20 alelos por loco. Revelaram maior diversidade genética dentro das populações que entre as populações. Os testes de significância mostram que o índice de estruturação populacional ( $F_{st}$ ) não foi significativo entre as populações do Estado do Paraná e significativo entre as demais populações.

---

<sup>1</sup>Eng. Agr., doutoranda, Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC

## **121 - MONITORAÇÃO DE ACESSOS DE FUMO (*Nicotiana tabacum* L.) CONSERVADOS A LONGO PRAZO NA EMBRAPA (Monitoring of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) accessions in a long-term storage at Embrapa)**

Mamão, L.S.<sup>1</sup>, Pereira Neto, L.G.<sup>2</sup>, Wetzel, M.M.V.S.<sup>3</sup>, Pais, V.O.<sup>4</sup>

O uso do fumo pelo homem remonta de muitos séculos, sendo que antes do descobrimento do Brasil, o mesmo já era utilizado pelos índios com a maceração das folhas em cachimbo. Um dos principais acontecimentos da cultura no Brasil ocorreu em 1903 no Rio de Janeiro quando teve início a industrialização dos cigarros. A produção de fumo continua sendo uma importante atividade agrícola brasileira, sendo 93% produzido nos estados da Região Sul. A Embrapa Recursos Genéticos Biotecnologia, em apoio a agricultura nacional, mantém uma Coleção de Base de Gemoplasma Semente desde 1975, com aproximadamente 96.000 acessos armazenados a -20°C. A Coleção de Fumo (*Nicotiana tabacum* L.) é formada de 116 acessos, originadas de introdução (Carolina do Norte – EU) e de coletas, em alguns estados dos pais, como Rio de Janeiro, Goiás e Minas Gerais. O objetivo deste trabalho foi monitorar a qualidade fisiológica dos acessos de fumo armazenados há 30 anos na Coleção de Base. Os acessos foram retirados da câmara fria (-20°C) deixados para descongelar por 24 horas. Foram retiradas sub-amostras de 100 sementes para o teste de germinação, conforme as Regras para Análise de Sementes-MAPA. Os resultados obtidos no teste de germinação demonstraram que 97% dos acessos conservados estão mantendo sua germinação acima dos padrões de conservação (75%), após 30 anos de armazenamento.

---

<sup>1</sup>Estudante Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Auxiliar de Operações III, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **122 - MULTIPLICAÇÃO DE SEMENTES DE ACESSOS DE BUCHA (*Luffa cylindrica* (L.) ROEMA) CONSERVADOS A LONGO PRAZO NA EMBRAPA (Seed multiplication of loofah (*Luffa cylindrica*) accessions in a long-term storage at embrapa)**

Couço, C.S.<sup>1</sup>, Pereira Neto, L.G.<sup>2</sup>, Wetzel, M.M.V.S.<sup>3</sup>, Costa, L.F.M.M.<sup>4</sup>, Mamão, J.B.<sup>4</sup>

A bucha (*Luffa cylindrica* (L.) Roema) é uma planta trepadeira, pertencente à família das Cucurbitaceae. No Brasil, foi introduzida pelos portugueses sendo cultivada em todas as regiões do país. É utilizada para fins medicinais, cosmético, artesanato e indústria automotiva. A Embrapa Recursos Genéticos Biotecnologia possui um banco de germoplasma de sementes de bucha, com 15 acessos armazenados a longo prazo em temperatura de -20°C, desde 1980. Devido a pouca disponibilidade de sementes, foi realizado o processo de multiplicação das sementes de dois acessos, BRA-000892 e BRA-000973. O acesso BRA-000892 foi coletado em Brasília - DF e armazenado em dezembro de 1980. O acesso BRA-000973 foi introduzido de Viçosa - MG e armazenado em maio de 1988. O objetivo deste trabalho foi multiplicar as sementes de bucha dos acessos armazenados a longo prazo na Coleção de Base de Germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos Biotecnologia. Os acessos, armazenados em envelopes aluminizados e hermeticamente fechados foram retirados da câmara fria, descongelados e retiradas sub-amostras de 05 e 10 sementes, respectivamente. As sementes foram colocadas em germinadores a 25°C. Foram realizadas contagens aos 08 dias após o plantio. Os dois acessos apresentaram 100% de germinação, após 25 e 16 anos de armazenamento. As plântulas foram levadas para a casa de vegetação para o seu desenvolvimento pleno e coleta de sementes. O processo de multiplicação das sementes dos acessos de bucha demonstrou ser eficiente e deverá ser usado para as espécies em que não exista banco de germoplasma.

---

<sup>1</sup>Estudante Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Auxiliar de Operações III, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 123 - QUALIDADE DE SEMENTES DE *Coffea arabica* CV. CATUAÍ EM CONDIÇÕES DE BANCO DE GERMOPLASMA (*Coffea arabica* cv. Catuaí seed quality under genebank conditions)

Ribeiro, F.N.S.<sup>1</sup>, Ribeiro, V.S.<sup>1</sup>, Eira, M.T.S.<sup>2</sup>, Bartholo, G.F.<sup>3</sup>

A espécie *Coffea arabica* caracteriza-se por elevada produção e preferência frente aos mercados internacionais principalmente nos tempos atuais, visto ao crescente comércio dos cafés especiais. A cultivar Catuaí, seja de frutos amarelos ou vermelhos, é uma das principais componentes do parque cafeeiro do País, ao lado da cultivar Mundo Novo e apresenta alta qualidade de bebida. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o armazenamento de sementes de *Coffea arabica* de cultivares do grupo Catuaí em diferentes ambientes, visando o estabelecimento do protocolo para conservação do germoplasma de *Coffea* a longo prazo em banco de germoplasma. As sementes foram produzidas em campos experimentais da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Epamig e enviadas à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília – DF. Foram testadas as seguintes cultivares: Catuaí Amarelo IAC 62; Catuaí Amarelo IAC 47; Catuaí Vermelho IAC 144 e Catuaí Vermelho IAC 15. Logo após o recebimento, foi determinado o grau de umidade e a qualidade inicial das sementes através do teste de germinação. O grau de umidade das sementes foi ajustado sobre soluções salinas, de acordo com os ambientes de armazenamento. A seguir as sementes foram embaladas hermeticamente e armazenadas nas temperaturas +25°C, +5°C, -20°C e -196°C (nitrogênio líquido). Foram conduzidos testes de germinação aos 4, 8 e 12 meses de armazenamento. Os resultados mostraram que a qualidade inicial das sementes era bastante elevada, superior a 90%, para todas as cultivares. Houve perda expressiva de viabilidade durante o período de armazenamento na temperatura ambiente (+25°C) a partir do 8º mês de armazenamento, em todas as cultivares. Observou-se queda inicial da viabilidade das sementes armazenadas sob temperatura de -20°C, sendo que o poder germinativo de algumas sementes foi mantido durante o período de armazenamento. A perda viabilidade foi mais lenta no armazenamento a +5°C do que a -20°C, resultado esperado por serem as sementes intermediárias. A viabilidade foi mantida durante todo o período de armazenamento sob temperatura de -196°C (nitrogênio líquido), sugerindo que a criopreservação possa ser a melhor forma de conservação *ex situ* do germoplasma da espécie.

---

<sup>1</sup>Estudante Nível Médio, Bolsista do PNP&D/Café

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Café/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Café

# SEGURANÇA BIOLÓGICA



# **INTERCÂMBIO E QUARENTENA**



**124 - ÁCAROS DO GÊNERO *Brevipalpus* SP. (PROSTIGMATA: TENUIPALPIDAE) ASSOCIADOS A PLANTAS ORNAMENTAIS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL [Mites of *Brevipalpus* sp. genus (Prostigmata: Tenuipalpidae) associated with ornamental plants in Distrito Federal, Brazil]**

Calvoso-Miranda, L.<sup>1</sup>, Návía, D.<sup>2</sup>

Os ácaros fitófagos podem assumir status de pragas em agroecossistemas. Entre estes, destacam-se os pertencentes ao gênero *Brevipalpus* Donnadieu (Tenuipalpidae), conhecidos como ácaros planos. Os principais danos causados por estes ácaros são indiretos, e se devem à ação como vetores de vírus do grupo Rhabdovírus, por exemplo, aqueles causadores da leprose dos citros, um dos problemas mais sérios da citricultura nacional, e da mancha anelar do cafeeiro, cuja importância vem aumentando em diversos Estados nos últimos anos. Os ácaros *Brevipalpus* são extremamente polífagos, e apresentam um grande número de hospedeiros entre as frutíferas e ornamentais. No Brasil, as três principais espécies são – *B. phoenicis* (Geijskes), *B. obovatus* Donnadieu e *B. californicus* (Banks). Há possibilidade de uma ou mais plantas ornamentais serem carregadoras silenciosas do vírus da leprose dos citros transmitido por *Brevipalpus*. A necessidade de minimizar perdas, a alta exigência do mercado consumidor e as restrições comerciais devido às questões fitossanitárias fazem necessária a ampliação dos conhecimentos na área de sanidade das plantas ornamentais, pois estas são importantes disseminadoras de pragas. Este trabalho teve como objetivo conhecer as plantas ornamentais hospedeiras de ácaros *Brevipalpus* presentes no Distrito Federal, bem como observar sintomas de doenças causadas por Rhabdovírus nas plantas hospedeiras. Foram realizadas 5 coletas entre Julho e Setembro de 2005 em 15 pontos dentro do Distrito Federal, incluindo viveiros e jardins. Foram coletadas 85 amostras de folhas e ramos de plantas ornamentais pertencentes a 56 espécies. Para a inspeção acarológica utilizaram-se os métodos de lavagem do material vegetal em solução de detergente e exame direto ao estereoscópio (40x). Os ácaros da família Tenuipalpidae foram preservados em lâminas de microscopia, em meio de Hoyer, e depois identificados em microscópio óptico de contraste de fase. Foram encontrados ácaros *Brevipalpus* sp. em 22 espécies de plantas ornamentais no DF, incluindo 2 espécies que ainda não haviam sido relatadas como hospedeiras: *Alpinia purpurata* e *Pithecolobium averemthemum*. Foram observados sintomas de Rhabdovírus em *Ligustrum sinensis* e *Hibiscus rosa-sinensis*.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 125 - ÁCAROS FITÓFAGOS ASSOCIADOS À CULTURA DO CAFÉ – ESPÉCIES QUE OCORREM NO BRASIL E INVASORAS POTENCIAIS (*Phytophagous mites associated with coffee crop - species occurring in Brazil and potential invasive*)

Gonçalves, G.C.P.<sup>1</sup>, Návía, D.<sup>2</sup>

Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de café. Embora seja o líder mundial em exportação do produto, apresenta uma baixa produtividade, o que decorre de vários fatores, dentre eles os problemas fitossanitários. A cultura do café é suscetível ao ataque de insetos, nematóides, patógenos e ácaros, que podem causar danos consideráveis, prejudicando a produção. Os ácaros fitófagos podem causar danos diretos, devido à alimentação, ou indiretos, pela transmissão de fitopatógenos. No Brasil, entre os ácaros fitófagos associados ao cafeeiro, as espécies que tem apresentado maior importância são *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Tetranychidae) e *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Tarsonemidae), por danos diretos; e *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Tenuipalpidae), pela transmissão de viroses. É importante aprofundar o conhecimento sobre os ácaros fitófagos associados à cultura do café no país, especialmente em áreas de expansão da cultura, como no Cerrado. É igualmente importante adotar medidas preventivas e/ou de contenção para evitar a introdução de novas espécies de ácaros fitófagos no país, pois estes podem vir a agravar os problemas da cultura. Este trabalho teve como objetivo identificar as espécies de ácaros Eriophyoidea associados à cultura do café no Estado de São Paulo; levantar os ácaros fitófagos associados ao cafeeiro em áreas de Cerrado do Distrito Federal e apontar as espécies com potencial de invasoras na cultura do café no Brasil. Em SP, foram realizadas coletas nos municípios de Garça e Jiquara, de abril a junho de 2003. Em Planaltina, DF, no mês de agosto, realizou-se uma coleta em cafezal de sequeiro e irrigado. Os métodos utilizados para a inspeção acarológica foram lavagem e exame direto, e os ácaros detectados foram preservados em lâminas de microscopia. Os ácaros fitófagos invasores potenciais ao café foram levantados através de buscas bibliográficas em bases de dados e consultas a catálogos. Os ácaros Eriophyoidea associados ao café em SP pertencem aos gêneros *Catarhinus* e *Phyllocoptruta*. Outras 15 morfoespécies estão sendo identificadas. Entre os ácaros associados ao café no DF foram encontrados *Brevipalpus* sp. e tetraniquídeos, os quais estão sendo identificados. Foram apontadas oito espécies de ácaros fitófagos – 5 Eriophyoidea, 1 Tenuipalpidae e 1 Tetranychidae – que ainda não ocorrem no Brasil, sendo consideradas invasoras potenciais, as quais serão submetidas à Análise de Risco de pragas.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 126 - AVALIAÇÃO DA COLEÇÃO DE *Mentha* QUANTO À PRESENÇA DE *Oidium* (*Erysiphe biocellata* EHRENB) (Evaluation of *Mentha* collection regarding to the presence of *Oidium*)

Piazzarollo, T.L.D.R.<sup>1</sup>, Nepomuceno, A.K.<sup>2</sup>, Castro, P.K.G.<sup>2</sup>, Oliveira, A.S.<sup>3</sup>, Silva, D.B.<sup>4</sup>, Mendes, M.A.S.<sup>4</sup>

O gênero *Mentha* com cerca de 25 espécies pertence a família Lamiaceae e possui grande importância econômica, principalmente para a produção de mentol, muito utilizado pela indústria farmacêutica, de alimentos e de higiene. Um dos fatores que prejudica a produção de menta é a ocorrência da doença conhecida como oídio, causada pelo fungo *Erysiphe biocellata* Ehrenb., fase anamórfica *Oidium*. O objetivo desse trabalho foi avaliar a coleção de germoplasma de *Mentha* da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, quanto à infecção pelo fungo *E. biocellata*. Em 15/08/2005, foram coletadas amostras de 70 acessos da coleção de germoplasma de *Mentha*. As plantas apresentavam sintomas de oídio, sendo confirmada a etiologia do fungo através da confecção de lâmina e observação das estruturas do fungo sob microscópio de luz. A doença foi constatada em casa de vegetação, não tendo tido nenhuma interferência. Os sintomas e infecções apresentados ocorreram em condições naturais. Para as avaliações foram coletadas 10 folhas ao acaso, de cada acesso. As folhas foram observadas sob microscópio estereoscópio, e avaliadas quanto a área da folha coberta com os esporos do fungo. Os acessos cuja média das 10 folhas examinadas apresentaram-se com 0 % de infecção foram considerados imunes (I) ou altamente resistentes (AR), com 0,01 a 5 % resistentes (R), com 5,01 a 25 % moderadamente resistente (MR), com 25,1 a 50 % susceptível (S) e acima de 50,01 % altamente susceptível (AS). Os resultados demonstraram, que a grande maioria dos acessos ou seja 38 acessos da coleção de *Mentha* apresentaram-se AR ou I ao fungo *Oidium* sp.. Quatro acessos mostraram-se R; dose, MR: oito, S e oito acessos foram AS.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 127 - AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Mentha* QUANTO À FERRUGEM CAUSADA POR *Puccinia menthae* (Evaluation of *Mentha* genotypes regarding to the rust caused by *Puccinia menthae*)

Nepomuceno, A.K.<sup>1</sup>, Piazzarollo, T.L.D.R.<sup>2</sup>, Castro, P.K.G.<sup>3</sup>, Oliveira, A.S.<sup>4</sup>, Silva, D.B.<sup>15</sup>, Mendes, M.A.S.<sup>6</sup>

O gênero *Mentha* com cerca de 25 espécies pertence a família Lamiaceae e possui grande importância econômica, devido a diversidade de compostos presentes em seu óleo essencial. Um dos fatores limitantes da produção de menta no Brasil é a ocorrência da ferrugem da folha, causada pelo fungo *Puccinia menthae*. O objetivo deste trabalho foi avaliar 69 acessos da coleção de germoplasma de *Mentha* da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, quanto à infecção pelo fungo *P. menthae*. As plantas, cultivadas em vasos na casa de vegetação, apresentavam sintomas de ferrugem em condições naturais, sendo confirmada a etiologia do fungo através da confecção de lâmina e observação das estruturas do fungo sob microscópio de luz. Para as avaliações foram coletadas 10 folhas ao acaso, de cada acesso em 10/08/2005. As folhas foram observadas sob microscópio estereoscópio, e avaliadas quanto a área da folha coberta com os esporos do fungo. Os acessos cuja média das 10 folhas examinadas apresentaram-se com 0 % de infecção foram considerados imunes (I) ou altamente resistentes (AR), com 0,1 a 5 % resistentes (R), com 5,1 a 25 % moderadamente resistente (MR), com 25,1 a 50 % susceptível (S) e acima de 50,1 % altamente susceptível (AS). Os resultados demonstraram, que a grande maioria dos acessos ou seja 45 acessos da coleção de *Mentha* apresentaram-se AR ou I à ferrugem. Dose acessos mostraram-se R; seis, MR; sete, S; e apenas 3 acessos foram AS a *P. menthae*.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>3</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>4</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 128 - AVALIAÇÃO DE TRÊS SUBSTRATOS PARA O CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* VAR. H1 (The assessment of three substrates to the *Pleurotus ostreatus* var. H1 cultivation)

Piazzarollo, T.L.D.R.<sup>1</sup>, Urben, A.F.<sup>2</sup>

No Brasil, os cogumelos não fazem parte da dieta alimentar do povo brasileiro, devido à falta de hábito, do alto custo e da pequena disponibilidade do produto no mercado. A utilização de resíduos alternativos capazes de reduzir o custo de produção poderá tornar este produto mais acessível ao público. *Pleurotus ostreatus* var. H1, é conhecido vulgarmente como cogumelo Ostra, Gigante, Shimeji, Hiratake ou Caetetuba. As cores dos corpos frutíferos variam de acordo com a linhagem ou variedade, podendo ser brancas, amarelas, marrons, cinza, pretas ou azuis. Este cogumelo apresenta píleo carnoso, haste curta e cilíndrica e de coloração cinza claro a escuro. É espécie comestível com propriedades nutricionais e medicinais. Os produtores de substrato para cultivo de cogumelo no Brasil são escassos, o que ocasiona preços exorbitantes ao produto final. O objetivo deste trabalho foi de pesquisar dentro dos substratos testados o mais adequado para o cultivo e o mais produtivo. Os ensaios foram conduzidos no laboratório de cogumelo da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em Brasília – DF, durante o período de março a maio de 2005. Testou-se três espécies Gramíneas: *Braquiaria* sp., *Cost cross* e *Sorgo*, na seguinte formulação; 78% de gramínea, 20% de farelo de arroz e 2% de gesso, adicionando 8-9 litros de água para cada substrato, no qual foi inoculado com o fungo e incubado no escuro a temperatura de 25-28°C com ventilação. Após 67 dias de incubação o substrato colonizado pelo fungo foi transferido para casa de vegetação com luminosidade moderada. O substrato contendo *Braquiaria* foi o mais adequado para o desenvolvimento do fungo. A produção de cogumelos ocorreu com apenas 5 dias após Ter sido transferido para a casa de vegetação.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 129 - BANCO DE DADOS DE FUNGOS EM VIDEIRA (Data base of fungi in grapevine)

Castro, P.K.G.<sup>1</sup>, Melo, L.A.M.P.<sup>2</sup>, Mendes, M.A.S.<sup>3</sup>

A uva da espécie *Vitis vinifera*, conhecida como rubi, é de grande importância na produção de vinho do Brasil. Esse produto, atualmente, é a quarta principal frutífera no Brasil em valor de importação. Sua produção vem aumentando aceleradamente no país, cresceu 31,7 % entre 1987 e 1992, sendo também exportada. Apesar da elevada produção de uvas no Brasil, grandes volumes são importados. As pragas que não ocorrem no país, mas que causam grandes prejuízos financeiros nas regiões onde estão registradas, além de possuírem características bioecológicas favoráveis para o seu estabelecimento no território brasileiro, estão incluídas ou devem fazer parte da lista A1 de pragas quarentenárias para o Brasil. Dada a importância econômica da videira para o País, a Unidade de Micologia do Laboratório de Quarentena Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia iniciou, em 2004, a estruturação de um banco de dados para armazenar informações básicas referentes aos fungos ocorrentes em videira. Neste banco de dados, constam informações relativas a gêneros/espécies de fungos relatados em videira no mundo, sinônimos, distribuição geográfica e referências bibliográficas. Atualmente estão catalogados aproximadamente 380 fungos, dentre os quais aproximadamente 240 são exóticos tais como *Armillaria luteobubalina*, *Guignardia bidwellii*, *Phoma uvicola*, *Phymatotrichopsis omnivora*, *Physopella ampelopsidis*, *Pseudopeziza tracheiphil*. O banco de dados está disponível para consulta via Internet no endereço eletrônico [www.cenargen.embrapa.br](http://www.cenargen.embrapa.br) (na opção “Segurança Biológica ® Unidade de Micologia ® Banco de Dados”).

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 130 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS DE TRÊS GÊNEROS DE FUNGOS USANDO MARCADORES RAPD (Molecular characterization of three fungus isolates by rapd markers)

Lima, A.A.<sup>1</sup>, Tutunji, V.L.<sup>1</sup>, Lima, L.H.C.<sup>2</sup>, Queiroz, P.R.<sup>3</sup>

Os fungos pertencem a um grupo cosmopolita apresentando grande diversidade, variedade morfológica, atividades metabólicas e habitats, sendo que o Filo Ascomycota possui 46 ordens e cerca de 6000 gêneros, dentre eles, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Embora muitos estudos sobre caracterização de fungos já tenham sido elaborados, uma classificação precisa é ainda um objetivo a ser alcançado. O uso de marcadores RAPD é utilizado como diagnóstico para a identificação de isolados permitindo o entendimento das relações filogenéticas que existem entre as espécies constituintes dos variados gêneros de fungos uma vez que estes apresentam potencial biotecnológico. O objetivo do trabalho foi identificar marcadores RAPD específicos e estabelecer uma análise filogenética entre os isolados de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. A extração de DNA foi feita segundo uma metodologia previamente estabelecida e as reações de amplificação foram feitas usando-se 5 primers de RAPD. O polimorfismo obtido entre os isolados analisados permitiu identificar marcadores moleculares específicos para os gêneros em estudo. O primer OPA-04 produziu um perfil de bandas específico para os isolados de *Aspergillus*. O primer OPA 13 apresentou fragmentos monomórficos para os isolados de *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*. Os marcadores RAPD geraram um dendrograma com a formação de quatro grupos principais, sendo que os dois primeiros grupos foram relacionados ao gênero *Aspergillus* apresentando 55 % de similaridade. O terceiro e quarto grupos foram constituídos pelos isolados de *Penicillium* com similaridade de 47 %. O isolado de *Fusarium* ficou agrupado com *Penicillium*. Um isolado apresentou baixa similaridade (37 %) em relação aos demais grupos não tendo sido identificado morfológicamente, sugerindo que o isolado pertença a outro gênero. Nos resultados de análise molecular observou-se que 30,9 % da variação genética ocasionando diferenças de isolados dentro dos gêneros estudados e 69,1% entre os gêneros em questão. Essa estratégia molecular forneceu elementos complementares para a identificação de isolados nos casos onde a descrição morfológica foi inconsistente. Estudos mais elaborados poderão ser conduzidos na busca de marcadores mais específicos com a finalidade de se obter uma identificação mais rápida e precisa com a utilização de programas de melhoramento genético.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

### 131 - COMPARAÇÃO DOS PERFIS DE MARCADORES MOLECULARES DE *Bemisia tabaci* ENTRE ESPÉCIES DE ALEIRODÍDEOS (Comparison of *Bemisia tabaci* molecular markers patterns among Aleyrodidae species)

Queiroz, P.R.<sup>1</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>2</sup>, Lima, L.H.C.<sup>2</sup>

Devido a grande importância da mosca branca (*Bemisia tabaci*) como praga no mundo, o recente aumento na densidade de suas populações, na diversidade de seus hospedeiros e de infestações detectadas no Brasil, faz-se necessário o conhecimento da genética dessa espécie. Assim, o estudo da variabilidade genética das populações de mosca branca, a partir do uso de técnicas baseadas em DNA, fornecerão valiosos instrumentos para caracterização e desenvolvimento de marcadores específicos para o complexo *B. tabaci*, gerando informações para o monitoramento, a dispersão de populações e o controle da entrada de novos biótipos no Brasil. Utilizando-se a técnica de RAPD, o objetivo desse trabalho foi comparar a relação entre o perfil de marcadores moleculares dos biótipos de *B. tabaci* e entre outras espécies de aleirodídeos. A extração de DNA foi feita a partir de amostras pertencentes à coleção de aleirodídeos empregando-se um protocolo previamente estabelecido seguido de reações de RAPD com 10 primers. Fazendo-se a comparação entre os perfis de *B. tabaci* com outras espécies, tais como, *B. tuberculata*, *Aleurothrixus aepim*, dentre outros, foram identificados marcadores específicos com o emprego de poucos primers de RAPD. A análise filogenética dos marcadores indicou dois grupos com 16 % de similaridade em relação a *B. tuberculata* e *A. aepim*. O mesmo resultado foi observado entre os biótipos de *B. tabaci*, indicando que os biótipos B, A e BR apresentaram 15 % de similaridade em relação ao biótipo Q. O biótipo B apresentou 19,4 % em relação aos biótipos A e BR. A partir dessas informações foram identificadas algumas bandas de DNA que estão sendo estudadas quanto ao potencial de utilização como marcador específico para os biótipos de *B. tabaci*. Essa estratégia permitirá o desenvolvimento de uma ferramenta baseada no DNA que levará à efeito a identificação de biótipos específicos de mosca branca com o intuito de prevenir a entrada de novos biótipos.

---

<sup>1</sup>Biólogo, Doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 132 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES ESPECÍFICOS PARA BIÓTIPOS DE *Bemisia tabaci* DE OCORRÊNCIA NO BRASIL (Development of a specific molecular marker to specific biotypes of *Bemisia tabaci* occurring in Brazil)

Queiroz, P.R.<sup>1</sup>, Lima, L.H.C.<sup>2</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>2</sup>

A mosca-branca (*Bemisia tabaci*) é uma praga cosmopolita, vetora de fitovíruses e polífaga, incluindo espécies cultivadas e ornamentais. A diversidade genética de suas populações gerou a discussão sobre a complexidade desta espécie, que atualmente é constituída de aproximadamente 41 biótipos. No Brasil, essa espécie vem causando perdas consideráveis em várias culturas de grande importância socioeconômica em função da sua grande adaptabilidade tanto a diferentes temperaturas e a diferentes plantas hospedeiras. A correta identificação desses biótipos é estratégica em termos de procedimentos de quarentena e de mitigação de risco, pois apenas dois biótipos do complexo *B. tabaci* encontram-se presente no país. O conhecimento da genética da espécie *B. tabaci* a partir do estudo da variabilidade genética das populações se faz necessário, gerando dessa forma, informações para o monitoramento e o controle da entrada de novos biótipos no Brasil. O objetivo desse trabalho foi desenvolver um novo método molecular para a identificação de biótipos específicos de *B. tabaci*. A extração de DNA foi feita com amostras de indivíduos de ambos os sexos, utilizando-se um protocolo previamente estabelecido, seguido de reações de RAPD. Bandas monomórficas persistentes em várias populações de *B. tabaci* foram analisadas por métodos moleculares. Desenharam-se os primers característicos para os biótipos de *B. tabaci* de interesse para o Brasil e a partir dessas informações, bandas de DNA foram identificadas com relação ao seu potencial e sua utilização como marcador específico para os biótipos de *B. tabaci*. O procedimento foi testado em populações de mosca-branca e uma estratégia molecular foi estabelecida, permitindo a identificação mais rápida e segura dos biótipos presentes no país. Essa estratégia também contribui para a elaboração de políticas públicas de fortalecimento do controle fitossanitário dessa praga, protegendo conseqüentemente, o agronegócio brasileiro.

---

<sup>1</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 133 - DIFERENCIAÇÃO DE BIÓTIPOS DE *Bemisia tabaci* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) UTILIZANDO PCR-RFLP E SEQUENCIAMENTO DA REGIÃO ITS1 rDNA [Differentiation of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotypes using PCR-RFLP and sequencing of the spacer region ITS1 rDNA]

Rabello, A.R.<sup>1</sup>, Queiroz, P.R.<sup>2</sup>, Simões, K.C.<sup>1</sup>, Lima, L.H.C.<sup>3</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>3</sup>, Mehta, A.

A mosca branca (*Bemisia tabaci*) é considerada uma das principais pragas da agricultura, causando danos nos agroecossistemas do Brasil e do mundo, em regiões tropicais e subtropicais. Atualmente, o complexo *B. tabaci* é constituído de mais de 40 biótipos. Trata-se de uma praga vetora de fitoviroses e com um grande número de hospedeiros, incluindo espécies cultivadas e ornamentais. A correta identificação destes biótipos é de grande importância para um eficiente manejo e controle desta praga. O presente estudo teve por objetivo a análise dos biótipos B e Q utilizando PCR-RFLP (“Restriction Fragment Length Polymorphism”) e sequenciamento da região ITS1 rDNA, na tentativa de obter um marcador para a diferenciação destes biótipos. Três populações do biótipo B foram utilizadas, sendo uma proveniente dos Estados Unidos coletada em cultura de melão e as outras duas do Brasil coletadas de cultura de soja e tomate, sendo a última cultivada em casa de vegetação. As três populações do biótipo Q foram provenientes da Espanha, Nigéria e Marrocos, coletadas das culturas de tomate, mandioca e pepino, respectivamente. Nas análises de PCR-RFLP utilizou-se um total de 30 indivíduos, sendo 5 de cada um dos biótipos B e Q das diferentes regiões geográficas. A região ITS1 rDNA foi amplificada e digerida com as enzimas *Ava*I, *Dde*I e *Sau*3A. Os resultados mostraram uma alta similaridade entre os biótipos B e Q. Os biótipos B e Q da Espanha e do Marrocos apresentaram perfis idênticos, enquanto que a maior parte dos indivíduos do biótipo Q da Nigéria apresentou perfil único, portanto diferente dos demais. A região ITS1 rDNA dos indivíduos representando os biótipos e perfis obtidos foi seqüenciada e a análise das seqüências demonstrou resultados semelhantes aos de PCR-RFLP. A obtenção de marcadores moleculares que permitam uma identificação rápida de biótipos é relevante para o controle fitossanitário, proporcionando dessa forma um monitoramento da praga e evitando a entrada de novos biótipos, contribuindo para fortalecer o sistema de quarentena vegetal do país.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### **134 - EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO DE SEMENTES DE *Gossypium hirsutum* NA ERRADICAÇÃO DO NEMATÓIDE *Aphelenchoides abyssinicus* (Effect of thermal treatment of *Gossypium hirsutum* seeds in eradication of *Aphelenchoides abyssinicus* nematóide)**

Sousa, A.I.M.<sup>1</sup>, Rodrigues Junior, A.J.G.<sup>2</sup>, Pereira, J.C.<sup>3</sup>, Silva, H.A.N.S.<sup>4</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>5</sup>

Sementes de *Gossypium hirsutum* infectadas por *Aphelenchoides abyssinicus* foram submetidas ao tratamento térmico úmido e seco com o propósito de erradicar esse parasita, sem contudo causar danos a germinação dessas sementes. O tratamento testado incluiu variações de temperatura e de período de exposição ao calor. O tratamento úmido foi de 40°C por 10 minutos e seguido da variação de 60°C por 10 e 8 minutos. Entretanto, o tratamento seco variou de 60°C por 3 e 6 horas seguido de 95°C por 3 horas. Portanto, o ensaio teve cinco tratamentos que incluiu a testemunha, aplicados em duas variedades de algodão (OGM). Cada tratamento foi repetido quatro vezes, sendo cada repetição foi composta de 17g (aproximadamente 200 sementes). Para todos os tratamentos foram avaliados os seguintes parâmetros: infestação de nematóides e poder germinativo (uma semana após o tratamento). Os resultados mostraram que as variações do tratamento úmido obtiveram a erradicação dos nematóides das sementes quando comparados a testemunha, que apresentou nematóides. Em relação ao tratamento térmico seco, as avaliações dos parâmetros já mencionados, encontram-se em andamento, em fase de conclusão.

---

<sup>1</sup> Secret. Executiva, graduanda, Faculdade CECAP-CECAP/CNPq

<sup>2</sup> Agronomia, graduando, União Pioneira de Integração Social/FAGRO

<sup>3</sup> Estudante Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biologia, graduando, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 135 - ERRADICAÇÃO DE PRAGA EXÓTICA EM GERMOPLASMA DE MILHETO (Eradication of exotic pest in millet germplasm)

Ferreira, R.A.F.<sup>1</sup>, Piazzarollo, T.L.D.R.<sup>2</sup>, Oliveira, A.S.<sup>3</sup>, Fonseca, J.N.L.<sup>4</sup>, Camargo, C.P.<sup>5</sup>, Mendes, M.A.S.<sup>6</sup>

O milheto (*Pennisetum glaucum* L.) é considerado o cereal melhor adaptado para a implantação e recuperação de pastagens, antecipando o início de pastejo, principalmente para forrageiras como *B. brizantha* e *B. decumbens*. Sementes de milheto procedentes dos Estados Unidos foram avaliadas quanto à sanidade no Laboratório de Quarentena de Vegetal, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Para detecção de fungos foi utilizado o método de plaqueamento em papel de filtro. 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 % e incubadas em câmara com fotoperíodo de 12 horas de luz NUV (“Near Ultra Violet”) e 12 horas de escuro, durante 7-8 dias. Após este período, as sementes foram examinadas sob microscópio estereoscópio para observação de estruturas fúngicas. As sementes examinadas estavam contaminadas com a praga exótica *Bipolaris mediocris* além de *Alternaria alternata*, *Bipolaris hawaiiensis*, *Epicoccum* sp. e *Fusarium sambucinum*, sendo que nenhum destes patógenos foi relatado nesta cultura no Brasil. Para liberação deste material livre destas pragas tratamentos químicos foram realizados nas dosagens recomendadas pelo fabricante, que apenas controlou os fungos e em dosagens elevadas que erradicou todas as espécies fungos, embora tenha prejudicado significativamente a germinação das sementes. Após o tratamento em maiores concentrações do princípio ativo do fungicida, o germoplasma de milheto pode ser disponibilizado para o melhorista livre das pragas detectadas.

---

<sup>1</sup>Agronomia, graduando, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>3</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 136 - ESTABELECIMENTO DE UMA COLEÇÃO CRIOPRESERVADA DE *Meloidogyne* SPP. (Establishment of a cryopreserved collection of *Meloidogyne* spp.)

Mota, F.C.<sup>1</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>2</sup>, Martins, I.<sup>3</sup>, Randig, O.<sup>4</sup>

A manutenção de culturas de referência de microorganismos e invertebrados, visando a estudos de identificação e caracterização, é um dos objetivos dos projetos da EMBRAPA - Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN). A manutenção de culturas puras de *Meloidogyne* spp. em tomateiros ou nos seus respectivos hospedeiros para estudos de identificação, caracterização e resistência genética é tarefa trabalhosa, uma vez que requer inoculações e purificações das populações de nematóides por um longo período de tempo. Além dessas dificuldades, repicagens sucessivas em tomateiros podem alterar a patogenicidade de uma determinada população ao seu hospedeiro original, ocasionando perda de virulência. A técnica de criopreservação empregada no estabelecimento desta coleção consistiu de duas etapas iniciais, utilizando como crioprotetor o etileno glicol a 10%, à temperatura ambiente e, a 70% à 4° C. O congelamento foi feito através da cristalização induzida, ou seja, imersão de tiras de papel contendo os juvenis de segundo estágio (J2) diretamente em nitrogênio líquido (NL) até finalização do borbulhamento. A seguir, as tiras de papel foram colocadas em criotubos e armazenadas em botijões de NL. Essa técnica mostrou-se altamente eficiente em trabalhos anteriores, permitindo o congelamento e descongelamento de várias espécies de *Meloidogyne* por tempo indeterminado. Dessa maneira, foi constituída esta coleção de nematóides de galhas que conta atualmente com 75 populações das seguintes espécies: *M. arabicida*, *M. arenaria*, *M. crusciani*, *M. ethiopica*, *M. exigua*, *M. graminicola*, *M. hapla*, *M. hispanica*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. konaensis*, *M. mayaguensis*, *M. morociensis*, *M. orizae*, *M. paranaensis* e vários *Meloidogyne* spp. Embora a coleção conte com cerca de 12.000 J2 por população, ainda não está disponibilizada aos nematologistas.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB, CNPq

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Bióloga, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., CNPq

## 137 - INSPEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO ENTOMOLÓGICA NA ESTAÇÃO QUARENTENÁRIA DE GERMOPLASMA VEGETAL (Inspection and entomological identification on plant germplasm quarantine station)

Gonçalves, G.C.P.<sup>1</sup>, Silva, S.F.<sup>2</sup>, Oliveira, M. R.V.<sup>3</sup>

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia tem como uma de suas atividades prioritárias, o intercâmbio de germoplasma vegetal, destinado a coleções de base, a programas de melhoramento e demais projetos visando o enriquecimento do acervo nacional de recursos genéticos vegetais e sua caracterização. Com o objetivo de assegurar que este material vegetal intercambiado não represente risco aos sistemas produtivos e ao meio ambiente, o mesmo tem sido submetido à análise fitossanitária e quarentena de pós-entrada na Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal (EQGV). A Portaria N° 11 de 15 de fevereiro de 2002 credencia a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia como Estação Quarentenária nível I, para os procedimentos legais exigidos para a introdução de material propagativo no país. A maior parte do intercâmbio de germoplasma vegetal do Laboratório de Quarentena Vegetal é feito por meio de sementes, mas também de mudas, estacas, rizomas, bulbos, tubérculos e material *in vitro*. A Entomologia, no ano de 2004, inspecionou aproximadamente 18.612 acessos de importação, exportação e trânsito interno de germoplasma vegetal. Neste período, os materiais recebidos com maior frequência foram: sementes de milho, soja, trigo, melão e arroz. Os métodos utilizados para a inspeção entomológica foram: exame direto e peneiramento do material vegetal. Foram identificados insetos pertencentes a 3 ordens: Coleoptera, Lepidoptera, Pscoptera, pertencentes a seis famílias: Cucujidae, Curculionidae, Dermestidae, Gelechiidae, Liposcelidae, Pyralidae, 5 gêneros: *Cryptolestes*, *Sitophilus*, *Liposcelis*, *Sitotroga*, *Palpita* e 5 espécies: *Cryptolestes ferrugineus*, *Sitophilus oryzae*, *Liposcelis corrodens*, *Sitotroga cerealella* e *Palpita unionalis*; sendo esta última uma espécie exótica para o Brasil. Devido à diversidade de insetos detectados no germoplasma vegetal intercambiado e os danos que estes podem causar à agricultura nacional, ressaltam-se a importância da aplicação de medidas quarentenárias para evitar a introdução/dispersão de espécies e/ou biótipos destes organismos juntamente com o germoplasma vegetal de interesse, fortalecendo diretamente o Sistema de Quarentena Vegetal no Brasil e contribuindo para o desenvolvimento econômico e agrícola do país.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 138 - INTERCEPTAÇÃO DE FUNGOS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA EM *Olea europaea* PROCEDENTES DE ISRAEL (Interception of fungi quarantine expression in *Olea europaea* from Israel)

Nepomuceno, A.K.<sup>1</sup>, Piazzarolo, T.L.D.R.<sup>2</sup>, Castro, P.K.G.<sup>1</sup>, Oliveira, A.S.<sup>3</sup>, Mendes, A.P.<sup>4</sup>, Mendes, M.A.S.<sup>5</sup>, Urben, A.F.<sup>6</sup>, Camargo, C.P.<sup>7</sup>, Fonseca, J.N.L.<sup>8</sup>

Mudas de oliveira (*Olea europaea* L.) procedentes de Israel foram analisadas pelo Laboratório de Quarentena Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia com o objetivo de identificar e interceptar os fungos exóticos associados ao material introduzido. Foram utilizados os métodos de exame direto sob microscópio estereoscópio, câmara úmida e plaqueamento em meio de cultura BDA. As placas foram incubadas a temperatura de 28°C, sob luz fluorescente contínua, por 7 a 8 dias. Os fungos identificados e interceptados foram *Phyllosticta panizzei* Petri e *Cercospora cladosporioides* Sacc., exóticos para o país, além de *Cycloconium oleaginum* Cast. de ocorrência restrita em Minas Gerais. Foi realizado o tratamento químico semanal, podas drásticas e avaliações sanitárias periódicas, ou seja, o acompanhamento sanitário contínuo até a erradicação destes patógenos. A internalização deste valioso material é de grande importância para o cultivo de oliveiras no Brasil.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>3</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>8</sup>Eng. Agr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 139 - INTERCEPTAÇÃO DE *Palpita unionalis* (HÜBNER) EM PLANTAS DE OLIVEIRA (*Olea europaea*) (*Palpita unionalis* (Hübner) intercepted on olive tree, *Olea europaea*)

Silva, S.F.<sup>1</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>2</sup>, Gonçalves, G.C.P.<sup>3</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>4</sup>

No continente europeu, a cultura da oliveira desempenha um papel de grande expressão econômica, especialmente nos países do mediterrâneo. No Brasil não há plantio em escala comercial de oliveira, por isso o consumo dos derivados dessa cultura no país é praticamente todo importado. Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), em 2004, o Brasil importou 49.331 toneladas de azeitona, totalizando US\$ 48,420 mil, e 23.654 toneladas de azeite de oliva, num total de US\$ 82,403 mil. Entretanto, a produção de oliveira, em níveis mundiais, pode ser prejudicada pela presença de pragas que causam sérios prejuízos a esta cultura e podem ser dispersas pelo mundo por meio do comércio de plantas, tornando assim, necessária a utilização de medidas preventivas nos países importadores. Um dos objetivos do Laboratório de Entomologia - Estação Quarentenária Vegetal Nível I, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia é detectar a presença ou ausência de insetos no germoplasma intercambiado. Na primeira quinzena de outubro do ano de 2004, quarenta acessos de mudas importadas de oliveira, *Olea europaea*, proveniente da região mediterrânea, foram inspecionadas no Laboratório de Entomologia. Durante a inspeção do germoplasma, em meio às mudas de oliveira foram encontradas lagartas vivas e estas então foram colocadas em vidros com os dados relativos ao material no qual o inseto foi detectado. Após a inspeção do material vegetal, o mesmo foi encaminhado para o tratamento quarentenário de modo a erradicar as possíveis formas vivas presentes no germoplasma. As lagartas empuparam e transformaram-se em micro-mariposas, constatou-se assim, que pertenciam à Ordem Lepidoptera, Família Pyralidae, identificando a espécie exótica *Palpita unionalis*, uma espécie polífaga que ataca as espécies de *Jasminum* sp., *Ligustrum* sp., *Fraxinus* sp., *Phyllirea media* L., bem como a oliveira, *Olea europaea* L., danificando a folhagem dessas plantas. Os insetos detectados, em sua maioria, podem ser nocivos ao material vegetal e se introduzidos no país, vir a causar sérios problemas em culturas de expressão econômica. Portanto enfatiza-se a importância de medidas quarentenárias para prevenir a introdução de espécies ou biótipos de insetos juntamente com o germoplasma vegetal de interesse agrícola. Atualmente, várias pragas podem colocar em risco o agronegócio brasileiro, entre elas pragas associadas à planta hospedeira *Olea europaea*.

---

<sup>1</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>2</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>4</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**140 - INTERCEPTAÇÃO DO ÁCARO *Oxycenus maxwelli* (KEIFER) (PROSTIGMATA: ERIOPHYIDAE) EM MUDAS DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L.) (*Oxycenus maxwelli* (Keifer) (Prostigmata: Eriophyidae) intercepted on olive tree (*Olea europaea* L.))**

Reis, M.T.<sup>1</sup>, Gonçalves G.C.P.<sup>2</sup>, Miranda L.C.<sup>2</sup>, Návía, D.<sup>3</sup>

O cultivo de oliveiras (*Olea europaea* L.) (Oleaceae), denominado olicultura, tem sido realizado visando à produção dos frutos (azeitonas) e/ou a extração do azeite de oliva. Atualmente existem mais de um bilhão de árvores plantadas em 39 países ao redor do mundo, produzindo cerca de 15 milhões de toneladas por ano. A olicultura no Brasil é ainda incipiente, atualmente no país, não há nenhum plantio em escala comercial de oliveiras e, todos os produtos da oliveira consumidos no Brasil têm sido importados de outros países. Estão sendo desenvolvidos alguns projetos para o desenvolvimento da olicultura no país, nas regiões que apresentam potencial para o cultivo, especialmente nos Estados do Sul. Entretanto, sua produção pode ser prejudicada pela introdução de pragas que podem causar sérios prejuízos a esta cultura, as quais podem ser disseminadas pelo mundo através do comércio internacional de material de propagação vegetativa. No período de setembro de 2004 a julho de 2005, foram realizadas, através da Embrapa CENARGEN a inspeção acarológica do material de propagação vegetativa de oliveiras, utilizando-se o método de exame direto e lavagem. Durante a inspeção acarológica foram detectados e interceptados ácaros fitófagos pertencentes à espécie *Oxycenus maxwelli* (Keifer, 1939) (Eriophyidae), a qual é a espécie tipo do gênero *Oxycenus* Keifer. Estes ácaros apresentam alta especificidade hospedeira e, até o momento, foram relatados infestando apenas a oliveira. Sua presença não é relatada no Brasil nem em outros países da América do Sul, sendo considerada uma espécie exótica invasora potencial no Brasil, assim como as outras espécies de ácaros eriofiídeos associados à oliveira. Ressalta-se a importância da adoção de medidas preventivas para evitar a introdução destes ácaros, que podem vir a prejudicar a expansão da olicultura no país. É extremamente importante realizar análises fitossanitárias detalhadas e quarentena de pós-entrada de todo material de propagação vegetativa de oliveiras que venha a ser introduzido no país.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 141 - NEMATÓIDES DETECTADOS EM MATERIAL DE INTERCÂMBIO E SUA ERRADICAÇÃO (Detected nematodes in exchanged material and their eradication technique)

Silva, E.G.<sup>1</sup>, Sousa, A.I.M.<sup>2</sup>, Prates, M.<sup>3</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>4</sup>

Com finalidade de impedir a introdução de pragas exóticas no Brasil através de germoplasma importado, a Estação Quarentenária de nível 1, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN) realiza análises fitossanitárias. Ainda, foram realizadas as análises de material vegetal exportado. Dentro deste contexto, encontram-se as análises para detecção de nematóides parasitas de plantas. Após diversos procedimentos de extração de nematóides foram detectados a presença destes parasitas em diferentes acessos de germoplasma, durante o decorrer desse ano de 2005 (período janeiro a setembro). 140 processos foram abertos neste período e os materiais procedentes de diversos países, mostraram nos resultados das análises, a contaminação referente a 18 processos, totalizando 1328 acessos infectados. Entre esses materiais destacam-se: algodão, arroz, batata, cereja, maçã, milho, soja, tomate, trigo e videira. Para os exportados foram: *Brachiaria* spp. e *Neoregelia*. Os nematóides encontrados foram: *Aphelenchoides* sp. (algodão, arroz, *Brachiaria* spp. e tomate); *Aphelenchoides abyssinicus*, (algodão, maçã, milho e soja); *Aphelenchoides besseyi*, (arroz e *Brachiaria* spp.); *Aphelenchoides blastophthorus*, (trigo); *Aphelenchoides coffeae*, (arroz); *Aphelenchus* sp., (algodão); *Belonolaimus* sp. (cereja); *Ditylenchus acutus*, (batata); *Ditylenchus emus*, (*Brachiaria* spp.); *Ditylenchus* sp. (*Brachiaria* spp., *Neoregelia*, trigo e videira); *Ektaphelenchoides* sp., (algodão e tomate); *Tylenchocriciconema alleni*, (*Neoregelia*); *Tylenchus* sp. (cereja). Foram aplicados aos acessos contaminados com nematóides exóticos, tratamentos térmicos (seco ou úmido), possibilitando a erradicação dos fitonematóides e conseqüentemente a liberação desses materiais aos usuários do programa de melhoramento da EMBRAPA. Com essas medidas fitossanitárias, a Estação Quarentenária do Cenargen EMBRAPA vem colaborando ativamente para decrescer o risco de introdução de novas espécies de fitonematóides no Brasil.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Secret. Executivo, graduando, Faculdade Cecap-ECAP

<sup>3</sup>Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 142 - PATOGENICIDADE DE *Meloidogyne javanica* EM *Pffafia glomerata* E *Pffafia paniculata* (Pathogenicity of *Meloidogyne javanica* on *Pffafia glomerata* and *Pffafia paniculata*)

Cirotto, P.A.S.<sup>1</sup>, Mesquita, L.F.G.<sup>1</sup>, Almeida, M.R.A.<sup>2</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>3</sup>

Mais conhecidas como “Ginseng Brasileiro”, *Pffafia glomerata* e *Pffafia paniculata* são plantas com propriedades medicinais, tônicas e anti-cancerígenas, respectivamente. Recentemente detectadas no Distrito Federal, causando sérios danos ao sistema radicular dessas plantas, onde estão armazenados os princípios ativos medicinais, *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e *Meloidogyne* sp. foram caracterizadas e purificadas através do polimorfismo de esterases. Essas espécies sempre ocorreram em populações mistas em condições de campo, com predominância de *M. javanica*. O objetivo deste trabalho foi avaliar a patogenicidade de *M. javanica* a *P. glomerata* e *P. paniculata*. Plantas de dois meses de idade de cada espécie receberam inóculo com aproximadamente 30.000 ovos do nematóide e plantas não inoculadas serviram como testemunha. Após um período de 8 meses em telado, as raízes foram coletadas, lavadas, pesadas e coradas com floxina B para a visualização e avaliação do número de massas de ovos e galhas. Posteriormente, ovos foram extraídos e quantificados em lâmina de Peters e calculado o fator de reprodução (FR). Os resultados evidenciaram alta suscetibilidade de *P. glomerata* (FR= 7,97) e *P. paniculata* (FR=10,0). As duas espécies apresentaram reações diferentes ao patógenos. As raízes de *P. paniculata* apresentaram um grande numero de galhas, enquanto as de *P. paniculata* mostraram-se engrossadas e necrosadas. Quanto ao desenvolvimento da parte aérea, pode-se observar que as duas espécies foram tolerantes ao ataque do nematóide, ou seja, não ocorreu redução de tamanho, ou mesmo sintomas de meloidoginose nas plantas infectadas quando comparada com as testemunhas. Outra diferença foi quanto à variação do peso fresco das raízes. Plantas de *P. glomerata* infectadas apresentaram o peso do sistema radicular inferior ao da testemunha, enquanto para *P. paniculata*, esse valor foi superior. Mais estudos são necessários no sentido de quantificar os princípios ativos das duas plantas, parasitadas ou não, para mostrar os danos secundários causados pelos nematóides ao sistema radicular.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 143 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA A PRAGA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL, *Agrotis segetum* (RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Agrotis segetum*)

Almeida, D.C.<sup>1</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>2</sup>, Silva, S.F.<sup>3</sup>, Queiroz, P.R.<sup>4</sup>, Hiragi, C.O.<sup>5</sup>, Simões, K.C.C.<sup>6</sup>, Monnerat, R.G.<sup>7</sup>, Lima, L.H.C.<sup>7</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>7</sup>

O momento atual passa por mudanças profundas de paradigma quanto ao desenvolvimento sustentável da agricultura, segurança dos alimentos e alimentar e na comercialização e trocas comerciais de produtos agropecuários. Medidas quarentenárias desempenham papéis importantes contribuindo para barrar a entrada de organismos exóticos contribuindo de forma preponderante para sustentabilidade ambiental e do agronegócio brasileiro. *Agrotis segetum* é uma praga de expressão quarentenária para o Brasil. Ela compõe a “Coleção biológica de referência de insetos exóticos” da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O perfil molecular para essa praga foi determinado por meio de RAPD-PCR. O protocolo molecular otimizado deverá ser aplicado quando da suspeita ou interceptação da praga no país, contribuindo para a concretização de ações quarentenárias e no estabelecimento e desenvolvimento de um banco de marcadores moleculares baseados em RAPD para insetos exóticos. A técnica de RAPD-PCR (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) se baseia na amplificação do DNA gerando simplicidade e rapidez a baixos custos ao mesmo tempo em que facilita a identificação de uma praga quarentenária.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>2</sup> Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>4</sup> Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup> Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>7</sup> Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 144 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA A PRAGA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL, *Chilo partellus* (RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Chilo partellus*)

Silva, S.F.<sup>1</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>2</sup>, Almeida, D.C.<sup>3</sup>, Queiroz, P.R.<sup>4</sup>, Hiragi, C.O.<sup>5</sup>, Simões, K.C.C.<sup>6</sup>, Monnerat, R.G.<sup>7</sup>, Lima, L.H.C.<sup>7</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>7</sup>

Os acordos internacionais que tratam da proteção de plantas e do estabelecimento de medidas fitossanitárias visam ao mesmo tempo, fortalecer a negociação de commodities e ainda proteger a fauna e a flora nativas de cada país. Para o cumprimento desses acordos, as medidas quarentenárias desempenham papéis importantes contribuindo para barrar a entrada de organismos exóticos. *Chilo partellus* é uma praga de expressão quarentenária para o Brasil. Ela compõe a “Coleção biológica de referência de insetos exóticos” da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O perfil molecular para essa praga foi determinado por meio de RAPD-PCR. O protocolo molecular foi otimizado e deverá ser aplicado quando da suspeita ou interceptação da praga no país, contribuindo para a concretização de ações quarentenárias e no estabelecimento e desenvolvimento de um banco de marcadores moleculares baseados em RAPD para insetos exóticos. A técnica de RAPD-PCR (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) se baseia na amplificação do DNA gerando simplicidade e rapidez a baixos custos ao mesmo tempo em que facilita a identificação de uma praga quarentenária.

---

<sup>1</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>2</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>4</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>7</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 145 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA A PRAGA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL, *Cydia pomonella* (RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Cydia pomonella*)

Simões, K.C.C.<sup>1</sup>, Hiragi, C.O.<sup>2</sup>, Queiroz, P.R.<sup>3</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>4</sup>, Silva, S.F.<sup>5</sup>, Almeida, D.C.<sup>6</sup>, Monnerat, R.G.<sup>7</sup>, Lima, L.H.C.<sup>7</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>7</sup>

A entrada de espécies exóticas em áreas do sistema produtivo pode onerar os custos de produção agrícola e ainda dificultar o acesso a novos mercados. *Cydia pomonella* é uma praga de expressão quarentenária A2 para o Brasil e foi introduzida no final da década de 1920 ou meados da década de 1940. É uma praga de expressão econômica significativa para a fruticultura temperada do país. Ela compõe a “Coleção biológica de referência de insetos exóticos” da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O perfil molecular para essa praga foi determinado por meio de RAPD-PCR (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso). A técnica de RAPD-PCR se baseia na amplificação do DNA gerando simplicidade e rapidez a baixos custos ao mesmo tempo em que facilita a identificação de uma praga quarentenária. O protocolo molecular otimizado deverá ser aplicado quando da suspeita da dispersão da praga no país ou outras populações forem introduzidas ou interceptadas em pontos de entrada, permitindo uma identificação segura e ações rápidas de quarentena e a elaboração de políticas públicas para pragas quarentenárias ou interceptação da praga no país. Esse diagnóstico contribuirá também para a concretização de ações quarentenárias e no estabelecimento e desenvolvimento de um banco de marcadores moleculares baseados em RAPD para insetos exóticos ou de expressão econômica para o agronegócio brasileiro.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>2</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>6</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>7</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 146 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA A PRAGA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL, *Helicoverpa armigera* (RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Helicoverpa armigera*)

Hiragi, C.O.<sup>1</sup>, Queiroz, P.R.<sup>2</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>3</sup>, Silva, S.F.<sup>4</sup>, Simões, K.C.C.<sup>5</sup>, Almeida, D.C.<sup>6</sup>, Monnerat, R.G.<sup>7</sup>, Lima, L.H.C.<sup>7</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>7</sup>

Uma das conseqüências da globalização da economia é a dispersão de espécies invasoras exóticas. Medidas quarentenárias desempenham papéis importantes contribuindo para barrar a entrada de espécies exóticas. *Helicoverpa armigera* é uma praga de expressão quarentenária para o Brasil. Ela compõe a “Coleção biológica de referência de insetos exóticos” da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O perfil molecular para essa praga foi determinado por meio de RAPD-PCR. O protocolo molecular otimizado deverá ser aplicado quando da suspeita ou interceptação da praga no país, contribuindo para a concretização de ações quarentenárias e no estabelecimento e desenvolvimento de um banco de marcadores moleculares baseados em RAPD para insetos exóticos. A técnica de RAPD-PCR (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) se baseia na amplificação do DNA gerando simplicidade e rapidez a baixos custos ao mesmo tempo em que facilita a identificação de uma praga quarentenária.

---

<sup>1</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>5</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>6</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>7</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**147 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA AS PRAGAS DE EXPRESSÃO ECONÔMICA, *Grapholita molesta* E QUARENTENÁRIA, *Grapholita prunivora*, PARA O BRASIL (RAPD-PCR fingerprinting of the pests of economic, *Grapholita molesta* and quarantine, *Grapholita prunivora*, importance to Brazil)**

Vilarinho, K.R.<sup>1</sup>, Silva, S.F.<sup>2</sup>, Queiroz, P.R.<sup>3</sup>, Simões, K.C.C.<sup>4</sup>, Hiragi, C.O.<sup>5</sup>, Almeida, D.C.<sup>6</sup>, Monnerat, R.G.<sup>7</sup>, Lima, L.H.C.<sup>7</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>7</sup>

O aumento na demanda de frutas no comércio internacional vem contribuindo de forma preponderante para o aumento das exportações brasileiras, gerando empregos na área rural. Entretanto, uma das conseqüências da globalização da economia é a dispersão de espécies invasoras exóticas. Medidas quarentenárias desempenham papéis importantes contribuindo para barrar a entrada dessas espécies. *Grapholita molesta* e *G. prunivora*, são pragas de expressão econômica e quarentenária para o Brasil, respectivamente. Elas compõem a “Coleção biológica de referência de insetos exóticos” da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O perfil molecular para essas pragas foi determinado por meio de RAP-PCR. O protocolo molecular otimizado deverá ser aplicado quando da suspeita ou interceptação da praga quarentenária no país, contribuindo para a concretização de ações quarentenárias e no estabelecimento e desenvolvimento de um banco de marcadores moleculares baseados em RAPD para insetos exóticos. A técnica de RAPD-PCR (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) se baseia na amplificação do DNA gerando simplicidade e rapidez a baixos custos ao mesmo tempo em que facilita a identificação de uma praga quarentenária.

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>3</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB,

<sup>4</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>5</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>7</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**148 - PERFIL MOLECULAR OBTIDO POR RAPD-PCR PARA A PRAGA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL, *Hyphantria cunea* (DRURY, 1773) (LEPIDOPTERA, ARCTIIDAE ARCTIINAE) [RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Hyphantria cunea* (Drury, 1773) (Lepidoptera, Arctiidae Arctiinae)]**

Queiroz, P.R.<sup>1</sup>, Silva, S.F.<sup>2</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>3</sup>, Hiragi, C.O.<sup>4</sup>, Simões, K.C.C.<sup>5</sup>, Almeida, D.C.<sup>6</sup>, Monnerat, R.G.<sup>7</sup>, Lima, L.H.C.<sup>7</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>7</sup>

O movimento de pessoas, bens de consumo e dos meios de transporte vem favorecendo a dispersão e conseqüentemente, a globalização de pragas. A introdução e o estabelecimento dessas pragas resultam em perdas para os ecossistemas natural e agrícola, favorecendo impactos econômicos, ambientais e sociais. Medidas quarentenárias desempenham papéis importantes contribuindo para barrar a entrada de organismos exóticos. *Hyphantria cunea* é uma praga de expressão quarentenária para o Brasil. Ela compõe a “Coleção biológica de referência de insetos exóticos” da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O perfil molecular para essa praga foi determinado por meio de RAP-PCR. O protocolo molecular otimizado deverá ser aplicado quando da suspeita ou interceptação da praga no país, contribuindo para a concretização de ações quarentenárias e no estabelecimento e desenvolvimento de um banco de marcadores moleculares baseados em RAPD para insetos exóticos. A técnica de RAPD-PCR (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) se baseia na amplificação do DNA gerando simplicidade e rapidez a baixos custos ao mesmo tempo em que facilita a identificação de uma praga quarentenária.

---

<sup>1</sup>Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS,

<sup>3</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>6</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>7</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **149 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO BRASIL VIA WEB, DESENVOLVIDA POR MEIO DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA COM A COOPERAÇÃO DA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA (Bibliographical references of Brazil by Web, developed by Embrapa Genetic Resources and Biotechnology with cooperation of Catholic University of Brasília)**

Passos, A.P.<sup>1</sup>, Rissoli, V.R.V.<sup>2</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>3</sup>

O Agronegócio no Brasil corresponde a um importante fator econômico de produção de divisas. As pesquisas envolvidas nesta área contribuem para o avanço da agricultura nacional, além de constituir item expressivo na economia, seja em sua produção ou nos recursos financeiros e de suporte. Dentro desse contexto destaca-se a Nematologia, área de conhecimento que compreende as pesquisas relacionadas aos nematóides, parasitas que se nutrem de organismos vivos. Os parasitas que atacam as plantas são fitonematóides e se alimentam dentro dos tecidos vegetais de raízes ou partes aéreas. Seu estudo é relevante para agricultura, sendo realizado em centros de pesquisa, como o Laboratório de Nematologia (LN) da Embrapa. Pesquisadores apontam prejuízos de milhares de dólares causados por fitonematóides em várias culturas, sendo reconhecida sua importância econômica pelo seu potencial de destruição. Consciente dos ricos relacionamentos e da quantidade de publicações sobre eles, o LN iniciou em 1981, o levantamento bibliográfico das ocorrências de nematóides no país, resultando na publicação do 1º livro Bibliografia Brasileira de Nematóides, atualizado e armazenado num gerenciador de arquivos em 1997, correspondente a 2º revisão dessas ocorrências. Em 2001, o LN tornou-se parceiro da Universidade Católica de Brasília e transferiram estes dados para o banco de dados cooperativo da Embrapa. Em 2002 fez o levantamento da localização geográfica da ocorrência de nematóides no país, fornecendo acesso via Internet a todos estes dados por meio de páginas web dinâmicas elaboradas em HTML e ASP. Em 2004 fez o sistema de informação de manipulação destes dados e neste ano está implementando o sistema que manipula os dados das referências bibliográficas, que foi desenvolvido em ferramenta de 4ª geração e fornece ambiente gráfico intuitivo para o acesso fácil de usuários que não dominam a informática. Assim, por meio deste novo sistema, iniciou-se a rápida atualização das referências bibliográficas de 2004 e 2005 que possui 1760 culturas, 382 nematóides e 998 trabalhos científicos, proporcionando uma ferramenta mais ágil, segura e atual.

---

<sup>1</sup>Ciência da Computação, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Analista de Sistema, M.Sc., Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 150 - REVISÃO NO BANCO DE DADOS DE DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE NEMATÓIDES NO BRASIL, DISPONIBILIZADO NA INTERNET (Update in the database of geographic distribution of nematodes in Brazil, available by internet)

Timo, R.T.<sup>1</sup>, Ogibowski, A.R.G.<sup>2</sup>, Melo, L.A.M.P.<sup>3</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>4</sup>

Nematóides parasitas de plantas têm importância econômica muito expressiva a um país. Se não prevenido, pode causar prejuízos consideráveis na produção final de diversas culturas. No Brasil, por sua grande extensão, é de extrema importância que pesquisas sobre ocorrência de nematóides sejam desenvolvidas, o que tem sido feito desde o ano de 1887, quando Goeldi publicou o primeiro relato sobre *Meloidogyne* no Brasil. Com a infinidade de trabalhos publicados desde então, surgiu a necessidade dos diversos profissionais, direta e indiretamente envolvidos na área, de terem acesso a estas referências para o desenvolvimento de novos trabalhos e pesquisas. Contudo, desde 1981, o Laboratório de Nematologia da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia iniciou um levantamento de dados de nematóides ocorrentes no Brasil, sendo que em 2001, foi projetado e implementado um sistema computacional no armazenamento desses resultados, em um banco de dados. Esta base de dados foi organizada de modo a registrar as informações obtidas nas referências bibliográficas, indicando os nematóides relatados, a planta hospedeira e a ocorrência por Unidade Federativa. Outros relatos de trabalhos em nematologia foram armazenados sobre todos os registros de trabalhos brasileiros publicados nas diversas fontes bibliográficas, trazendo as citações na íntegra, abordando o nematóide, a planta e assunto do trabalho. A partir de 2004, este banco de dados foi disponibilizado na rede mundial de computadores (Internet) por meio do site <http://www.cenargen.embrapa.br>, na área de Segurança Biológica/Nematologia. Neste foi desenvolvido um sistema de busca, onde as consultas permitem ao usuário listar os resultados da busca, tais como: distribuição de nematóides no país, correlacionado à planta hospedeira e a referência bibliográfica pertinente. Desde então, o banco vem sendo revisado e acrescido de publicações mais recentes, bem como ajustes pequenos nas citações já incluídas e disponibilizadas. O banco conta hoje com cerca de 450 nematóides levantados em aproximadamente 300 referências bibliográficas. Este trabalho é contínuo e em breve terá o acréscimo das referências de 2005.

---

<sup>1</sup>Publicidade e Propaganda, graduando, IESB

<sup>2</sup>Ciências da Computação, graduando, Pontifícia Universidade Católica-PUC

<sup>3</sup>Analista de Sistema, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **151 - SITUAÇÃO ATUAL DO SISTEMA COMPUTACIONAL DAS ANÁLISES NEMATOLÓGICAS DE DIFERENTES ACESSOS DE GERMOPLAMA IMPORTADOS PELO BRASIL, NO LABORATÓRIO DE QUARENTENA DA EMBRAPA (Update of computational system of nematological analysis in different accessions of imported germplasm by Brazil, at Quarantine Laboratory of Embrapa)**

Nascimento, H.I.<sup>1</sup>, Rissoli, V.R.V.<sup>2</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>3</sup>, Cares, J.E.<sup>4</sup>

Para minimizar os riscos de entrada de pragas no país, estão sendo desenvolvidos trabalhos de detecção e reconhecimento dessas pragas. Laboratório de Quarentena Vegetal, vem trabalhando para disponibilizar germoplasma livre de nematóides, bem como evitar a disseminação, durante o processo de intercâmbio de material genético para os programas de melhoramento no Brasil. Nos últimos anos verificou-se a necessidade de estabelecer o manuseio seguro na importação e exportação, além do armazenamento e manipulação eficazes de todos os resultados oriundos das análises fitossanitárias. Neste contexto, desenvolveu-se uma aplicação computacional para manusear eficientemente uma base de dados relacional que armazenaria todos os dados obtidos das análises. Efetivou-se a criação de um sistema computacional coerente com as necessidades da Nematologia, denominado Sistema de informações de Germoplasma (SIG). O SIG armazena informações referentes a cada material introduzido, como: ano da introdução; número do processo; país de origem; instituições doadoras e destinatárias; número de acessos analisados, com ou sem contaminação; nome dos nematóides detectados e outros. Esta base de dados contém informações referentes a 1981 a junho de 2005, onde aproximadamente 383 mil acessos passaram pelo processo de análises, sendo quase 90% (338.441) de importação e o restante de exportação (45.181) de germoplasma vegetal. Dos acessos examinados, 18.605 apresentaram-se contaminados por fitonematóides, perfazendo um total de 5%, uma taxa muito alta para nematóides transmitidos por sementes. Considerando o volume de acessos e as informações referentes a estes, o uso do SIG permitiu a rápida interação com os dados deste período, contribuindo de modo acurado e ágil, na busca dos principais materiais contaminados e os importantes nematóides a estes associados. Por meio deste sistema pode-se ainda localizar germoplasma contaminado de exportação, possibilitando informações importantes para notificação da primeira ocorrência da praga no Brasil. Uma das conclusões deste trabalho é dar preferências a importação de germoplasma de países que apresentam o menor risco de pragas, notificadas no SIG. O contínuo aperfeiçoamento do SIG é de vital interesse e importância aos trabalhos relacionados ao Agronegócio Brasileiro, além da alta relevância do custo benefício propiciado por essas análises em material vegetal de importação e exportação.

---

<sup>1</sup>Ciência da Computação, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Analista de Sistema, M.Sc., Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

## 152 - SUBSÍDIOS AO PROCESSO DE ELABORAÇÃO DE PLANO DE CONTINGÊNCIA: *Trogoderma granarium* (Subsidies to contingency planning elaboration process: *Trogoderma granarium*)

Vilarinho, K.R.<sup>1</sup>, Silva, S.F.<sup>2</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>3</sup>

O aumento do intercâmbio comercial e do turismo no Brasil representa um desafio para a proteção dos sistemas agrícolas e ambientais como também das atividades do agronegócio. Variações climáticas que vão de tropicais e subtropicais e a diversidade de plantas hospedeiras fornecem a pragas indesejáveis um ambiente adequado. Essas pragas são também chamadas de espécies invasoras exóticas ou pragas quarentenárias. Para proteção da entrada de organismos não desejáveis, os países membros da Convenção Internacional de Proteção dos Vegetais e a Aplicação do Acordo de Medidas Sanitárias e Fitossanitárias da Organização Mundial do Comércio devem considerar em suas políticas fitossanitárias os seguintes aspectos: justificativa técnica, transparência, impacto mínimo, análise de risco de pragas, entre outras ações. Nesse cenário, o plano de contingência é uma ferramenta importante nas atividades de proteção de plantas, especialmente, se há um risco iminente da entrada de pragas exóticas e a identificação clara de uma via-de-ingresso. Ele deve considerar a análise de risco de pragas como guia para a caracterização da praga, objeto de estudo, com potencial de introdução e estabelecimento em um ambiente. *Trogoderma granarium*, é uma praga de impacto econômico de produtos animais e vegetais, especialmente, trigo, cevada, milho, arroz, farinha e aveia. Ele é também uma praga quarentenária para o Brasil. Sua presença na América do Sul, o aumento do comércio internacional entre países onde a ocorrência do inseto e a capacidade de sobrevivência do mesmo em temperaturas acima de 20o C, representa uma ameaça para as atividades do agronegócio brasileiro. Um plano de contingência para essa praga foi elaborado para subsidiar as autoridades oficiais para a tomada de decisão, dada a dificuldade de erradicação e contenção das populações do inseto.

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>3</sup> Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 153 - USO DE MARCADORES SCAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* E *M. arenaria* (Application of scar markers to identify *M. incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria*)

Santos, M.F.A.<sup>1</sup>, Randig, O.<sup>2</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>3</sup>

Os nematóides de galhas, do gênero *Meloidogyne*, incluem-se entre as principais pragas para as culturas agrícolas no Brasil e no mundo. Recentemente, marcadores específicos do tipo SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) foram desenvolvidos para as três espécies mais disseminadas: *M. javanica* (jav-A01-F/R), *M. arenaria* (are-A12-F/R) e *M. incognita* (inc-B06-F/R) (Ziljstra *et al*, 2000). O objetivo do trabalho foi testar a especificidade desses marcadores com diferentes espécies de *Meloidogyne* do Brasil e América Central, seguindo as condições de reação descritas no citado artigo para cada *primer* e em reação de multiplex-PCR. Foram utilizadas 21 populações: *M. arabicida* (1), *M. arenaria* (5), *M. cruciani* (2), *M. exigua* (1), *M. ethiopica* (2), *M. incognita* (4), *M. javanica* (3), *M. paranaensis* (3) e 7 populações de *Meloidogyne* spp., ainda não identificadas. Em condições de reação previamente descritas para cada marcador SCAR, o par de primers jav-A01-F/R amplificou um fragmento de 670pb para as populações pertencentes à espécie *M. javanica*, sendo que nenhuma amplificação foi observada nas demais espécies testadas. Os primers are-A12-F/R amplificaram um fragmento de 420pb nas populações de *M. arenaria*, *M. cruciani* e uma população de *Meloidogyne* sp. Os primers inc-B06-F/R amplificaram um fragmento de 1200pb nas populações de *M. incognita*, *M. cruciani* e três populações de *Meloidogyne* sp. Em condições de multiplex-PCR, a melhor temperatura de anelamento para todos os primers foi de 62°C, sendo mantidas as demais condições de reação. Da mesma maneira, foram obtidos os mesmos resultados de amplificação observados anteriormente. Os resultados obtidos mostraram a não especificidade dos primers are-A12-F/R de *M. arenaria* e inc-B06-F/R de *M. incognita*. Os primers jav-A01-F/R apresentaram especificidade para *M. javanica*, de acordo com as espécies utilizadas neste estudo. Avaliação desse marcador SCAR deve ser realizada com um maior número de populações de *M. javanica* e de outras espécies de *Meloidogyne*, a fim de validar seu uso na identificação dessa espécie.

---

<sup>1</sup>Bióloga, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., CNPq

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## ÍNDICE DE AUTORES

(A numeração corresponde ao número do resumo)

Acauã, T. ....	030
Adjuto, E.N.P. ....	104
Agostini, M.A.V. ....	013
Aguiar, R.W.S. ....	066
Alegria, M.R.M. ....	100
Almeida, A.F. ....	049
Almeida, A.M. ....	074, 079, 089, 093, 094
Almeida, D.C. ....	143, 144, 145, 146, 147, 148
Almeida, G.F. ....	049
Almeida, J.D. ....	015
Almeida, L.M. ....	003
Almeida, M.R.A. ....	142
Alvarenga, D.O. ....	048, 053, 056, 079, 081, 082, 089, 093, 094
Alves, E.R. ....	019
Amaral, Z.P.S. ....	097, 101, 108, 109
Amorim, J.C. ....	097
Andrade, A.C. ....	021, 028
Andrade, A.E. ....	035
Andrade, A.P.A. ....	114
Aquino, M.F.S. ....	060, 095
Araújo, A.C.G. ....	003
Arrial, R.T. ....	030
Auler, A.C.V. ....	090
Ávila, F.F. ....	043
Ávila, Z.R. ....	048, 053, 056, 072, 073, 074, 079, 081, 082, 086, 089, 090, 093, 094
Azevedo, V.C.R. ....	103
Báo, S.N. ....	042
Barbosa, A.E.A.D. ....	008, 011, 018, 020
Barbosa, E.A. ....	028
Barbosa, T. ....	023, 033, 036, 037
Barros, E.V.S.A. ....	005, 012, 020
Barros, L.M.G. ....	015, 030
Barroso, P.V. ....	068, 098
Bartholo, G.F. ....	123
Batista, A.C. ....	055, 058, 065, 066
Batista, J.A.N. ....	011
Bernardes, V.C.D. ....	074
Berry, C. ....	065

Bertioli, D.J. ....	009, 024, 025, 027, 039
Beserra, V.A. ....	070, 084
Bloch Jr., C. ....	007, 023, 028, 033, 035, 036, 037
Boas, L.C.V. ....	064, 091
Borba, T.C.B. ....	004
Borges, J.R.J. ....	040, 045
Borges, M. ....	050, 057, 060, 077, 085, 095
Bragança, J.M. ....	046
Brand, G.D. ....	007
Brito, K.M. ....	021, 028
Brunetta, P.S.F. ....	034
Buso, G.S.C. ....	097, 100, 101, 105, 107, 108, 109, 110
Buso, J.A. ....	097
Cabral, G.B. ....	017, 029, 038
Calvoso-Miranda, L. ....	124
Câmara, J.U. ....	045
Camargo, C.P. ....	135, 138
Campestrini, A.H. ....	109
Cardoso, C.F. ....	047, 059, 068, 096
Cardoso, L.D. ....	099, 112
Cares, J.E. ....	151
Carneiro, M. ....	015, 030
Carneiro, R.M.D.G. ....	011, 012, 024, 136, 142, 153
Carneiro, V.T.C. ....	001, 003, 019, 029, 038
Carvalho, H.R. ....	064, 091
Carvalho, L.J.C.B. ....	013
Carvalho Filho, M.R. ....	048, 053, 056, 081, 082, 089, 093, 094
Casado-Filho, E. ....	006
Castilho, Y.G. ....	098
Castro, M.E.B. ....	049, 063, 083
Castro, P.K.G. ....	126, 127, 129, 138
Cavalcante, K.L. ....	004, 034
Cavalcante, W.S. ....	020
Cerqueira, A.A. ....	101, 107, 108
Cia, E. ....	060, 095
Ciampi, A.Y. ....	068, 098, 100, 103, 107, 117, 118, 120
Cirotto, P.A.S. ....	142
Coelho, M.M.S. ....	040
Cokl, A. ....	085
Contini, L.R. ....	098
Côrtes, A.L.A. ....	116
Costa, L.F.M.M. ....	122
Costa, N.R. ....	083

Costa, P.H.A. ....	016
Couto, C.S. ....	122
Cruz, C.C.M. ....	032
Daga, C.J. ....	023, 033, 036, 037
Dalmolin, C.C. ....	063, 100
Damacena, I. ....	050
Dantas, J.L.L. ....	115
Dantas, M.S.F. ....	104
Demo, C. ....	055, 058, 065
Dias, T.A.B. ....	119
Diniz, I.R. ....	076
Dode, M.N. ....	042
Dumas, V.F. ....	052, 054, 061, 088, 092
Dusi, D.M.A. ....	019, 029, 038
Eira, M.T.S. ....	123
Evangelista, I.B.R. ....	004, 031
Evaristo, R.G.S. ....	006, 016, 032
Falcão, J.L. ....	090
Falcão, L.L. ....	017, 026
Falcão, R. ....	066
Fávero, A.P. ....	102, 106
Felix, G.C. ....	035
Fernandez, D. ....	012
Ferreira, C.H. ....	023, 036, 037
Ferreira, F.R. ....	106, 115
Ferreira, M.A. ....	101, 105, 107, 108, 109
Ferreira, M.E. ....	045
Ferreira, R.A.F. ....	135
Figueira, E.L.Z. ....	018, 034
Fonseca, F.C.A. ....	025
Fonseca, J.N.L. ....	135, 138
Fontes, E.M.G. ....	047, 059, 068, 070, 076, 078, 080, 084, 087, 096
Franco, M.M. ....	043, 044, 045
Franco, O.L. ....	006, 022
Gander, E.S. ....	002, 017, 026
Gavião, C.F.C. ....	072
Gomes, A.C.M.M. ....	019, 024, 066
Gomes, C.S. ....	017
Gomes, D.M.P.A. ....	048, 053, 056, 081, 082, 089, 093, 094
Gonçalves, G.C.P. ....	125, 137, 139, 140
Gonçalves, P.B.D. ....	046
Gontijo, S.L. ....	097

Gouvêia, L.V. ....	045
Gracindo, L.A.M.B. ....	104
Grattapaglia, D. ....	045, 103
Grossi-de-Sá, M. ....	020
Grossi-de-Sá, M.F. ...	004, 005, 006, 007, 008, 010, 011, 012, 016, 018, 020, 022, 023, 031, 032, 034
Guerra, M.P. ....	120
Guimarães, A.P. ....	041
Guimarães, L.A. ....	001
Guimarães, L.M. ....	011
Guimarães, P.M. ....	009, 024, 025, 027, 039
Guimarães Neto, A.G. ....	041, 045
Hiragi, C.O. ....	067, 143, 144, 145, 146, 147, 148
Iguma, L.T. ....	040, 045
José, A.C.V.F. ....	027, 039
Junqueira, L.P. ....	101, 107, 108
Kanashiro, M. ....	103
Krahô, M. ....	119
Lacerda, A.L.M. ....	117
Lamas, N.S. ....	101, 107, 108
Laumann, R.A. ....	050, 057, 060, 070, 077, 080, 084, 085, 087, 095
Leal-Bertioli, S.C.M. ....	009, 024, 025, 027, 039
Lecouls, A.C. ....	012
Lima, A.A. ....	130
Lima, L.H.C. ....	035, 067, 075, 130, 131, 132, 133, 143, 144, 145, 146, 147, 148
Lima, L.M. ....	011
Lopes, A.P.S. ....	085
Lopes, J. ....	051
Lopez, I.M.R. ....	044
Lozzi, S.P. ....	050
Macedo, T.R. ....	070, 078, 080, 084
Machado, G.M. ....	040, 045
Magalhães, J.C.C. ....	016, 032
Magalhães, J.S. ....	110
Magalhães, M.T.Q. ....	007, 010
Maia, E.A. ....	063
Mamão, J.B. ....	122
Mamão, L.S. ....	121
Marcellino, L.H. ....	002, 017, 026
Marouelli, L.P. ....	110
Marques, G.M. ....	033
Marques, J.M. ....	105, 109

Martins, C.F. ....	042
Martins, E.S. ....	055, 061, 066, 067, 075, 088
Martins, I. ....	072, 073, 086, 136
Martins, N.F. ....	011, 043, 066
Martins, V.A. ....	106, 115
Medeiros, P.T. ....	065
Mehta, A. ....	035, 133
Meireles Jr., H.J. ....	017, 045
Meirelles, F.C. ....	045
Melatti, V.M. ....	055, 058, 065, 066
Mello, S.C.M. ....	048, 053, 056, 072, 073, 074, 079, 081, 082, 086, 089, 090, 093, 094
Melo, D.F. ....	074, 079, 093
Melo, E.O. ....	043, 044
Melo, F.R. ....	023, 033, 036, 037
Melo, J.A.T. ....	035
Melo, L.A.M.P. ....	129, 150
Mendes, A.P. ....	138
Mendes, D.N. ....	069
Mendes, J.H.M. ....	104
Mendes, M.A.S. ....	126, 127, 129, 135, 138
Mendes, R.A. ....	099, 112, 114
Mesquita, L.F.G. ....	142
Miranda, H.A. ....	100
Miranda, J. ....	096
Miranda, L.C. ....	140
Monnerat, R.G. ....	051, 052, 054, 055, 058, 061, 064, 065, 066, 067, 071, 075, 088, 091, 092, 143, 144, 145, 146, 147, 148
Moraes, M.C.B. ....	050, 057, 060, 077, 085, 095
Moretzsohn, M.C. ....	105
Moscardini, A.R.C. ....	040
Mota, F.C. ....	136
Nakasu, E.T. ....	047, 059, 096, 118
Nascimento, H.I. ....	151
Návia, D. ....	124, 125, 140
Nepomuceno, A.K. ....	126, 127, 138
Neves, J.P. ....	041, 046
Neves, P.J. ....	071
Nielen, S. ....	025
Nóbrega, J.M. ....	003
Nodari, R.O. ....	120
Noronha, E.F. ....	006, 035
Noronha, S.E. ....	068, 115

Nunes, A.C. ....	052, 054
Ogibowski, A.R.G. ....	150
Ohse, B.J.G. ....	101, 107, 108
Oliveira, A.A. ....	043
Oliveira, A.C. ....	035
Oliveira, A.S. ....	126, 127, 135, 138
Oliveira, D.S. ....	109
Oliveira, E.C.A. ....	064, 091
Oliveira, G. ....	047, 059, 096
Oliveira, G.R. ....	018, 034
Oliveira, M.R.V. ....	131, 132, 133, 137, 139, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 152
Oliveira, P.E.F. ....	012
Oliveira, R.S. ....	004, 031
Oliveira, V.L. ....	057, 060, 095
Oliveira Neto, O.B. ....	011, 031
Orioli, F.P. ....	090
Pádua, R.R. ....	048, 053, 056, 072, 073, 081, 082, 086, 089, 093, 094
Paes, N.S. ....	004, 011, 031
Paganella, M.B. ....	064, 091
Pais, J.S.O. ....	068
Pais, V.O. ....	121
Paiva, M.R. ....	100
Paiva, S.R. ....	043
Paiva, W.O. ....	097, 109
Palácio, T.C. ....	005
Passos, A.P. ....	149
Pedrini, M.R.S. ....	049
Peixoto, J.R. ....	072, 073, 086
Peñaloza, A.P.S. ....	113, 116
Pereira, J.C. ....	134
Pereira, J.L. ....	035
Pereira, J.M.N. ....	017, 026
Pereira Neto, L.G. ....	121, 122
Piazzarollo, T.L.D.R. ....	126, 127, 128, 135, 138
Pimentel, L.W. ....	052, 054
Pires, C.S.S. ....	047, 057, 059, 068, 070, 078, 080, 084, 087, 096
Pires, M.V.V. ....	017
Pivato, I. ....	040, 045
Póvoa, J.S.R. ....	117
Praça, L.B. ....	055, 061, 065, 088
Prates, M. ....	141
Prates, M.V. ....	028
Proite, K. ....	009, 024

Queiroz, P.R. ....	067, 075, 130, 131, 132, 133, 143, 144, 145, 146, 147, 148
Rabello, A.R. ....	133
Ramiro, C.A. ....	092
Ramos, A.F. ....	045
Ramos, A.R. ....	002
Ramos, F.R. ....	061, 064, 088, 091
Ramos, H.B. ....	018, 034
Randig, O. ....	136, 153
Reis, M.T. ....	140
Reis, M.B.A. ....	022
Reis Jr., J.L. ....	040, 045
Ribeiro, B.M. ....	063, 066
Ribeiro, C.S.C. ....	105
Ribeiro, F.N.S. ....	123
Ribeiro, P.A. ....	076
Ribeiro, P.H. ....	080
Ribeiro, V.S. ....	123
Ribeiro, Z.M.A. ....	049
Rissoli, V.R.V. ....	149, 151
Roberg, R.A.P. ....	058
Rocha, T.L. ....	006, 010, 016, 022, 032
Rodrigues, S. ....	096
Rodrigues Junior, A.J.G. ....	134
Romano, E. ....	022
Rosato, Y.B. ....	035
Rumpf, R. ....	040, 041, 042, 043, 044, 045, 046
Sales, R.M.O.B. ....	014, 021
Salomão, A.N. ....	118
Santana, C.G. ....	029, 038
Santoro, F.A. ....	064, 091
Santos, D.B.M. ....	015
Santos, J.B. ....	096
Santos, K.B. ....	071
Santos, K.C.A. ....	036, 037
Santos, M.F.A. ....	153
Santos, P.H.R. ....	070, 080, 084, 087
Santos, R.B. ....	051
Santos, R. F. ....	102
Santos, S. ....	116
Santos, W.J. ....	051
Sartori, R. ....	041
Scariot, A. ....	118
Schmidt, A.B. ....	120

Schmidt, F.G.V.	070, 078, 084
Scomparini, A.L.	096
Sevilha, A.C.	118
Silva, A.A.	099, 111
Silva, D.B.	126, 127
Silva, E.G.	141
Silva, F.R.	001, 012, 014, 021
Silva, G.S.	113
Silva, H.A.N.S.	134
Silva, J.B.T.	048, 074, 079, 082
Silva, K.F.A.S.	070, 078, 084, 087
Silva, M.C.F.	073, 081, 082, 093
Silva, M.C.M.	018, 034
Silva, S.F.	058, 137, 139, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 152
Silva, T.A.S.N.	041, 046
Silva, T.S.	010
Silva-Santos, P.V.	070, 080, 084, 087
Silveira, E.D.	001
Silveira, F.A.	047, 059, 096
Simões, K.C.C.	067, 133, 143, 144, 145, 146, 147, 148
Siqueira, C.B.	055, 058
Skorupa, L.A.	111
Soares, C.M.S.	058, 064, 091
Sone, E.H.	064, 091
Sousa, A.I.M.	134, 141
Souza, C.J.H.	043, 044
Souza, C.R.B.	013
Souza, D.S.L.	008, 011, 020, 022, 032
Souza, G.C.	119
Souza, M.L.	063, 069, 083
Souza, V.V.	068
Sujii, E.R.	047, 057, 059, 068, 070, 076, 078, 080, 084, 087, 096
Teixeira, J.B.	002, 005
Teles, E.	096
Tenente, R.C.V.	134, 141, 149, 150, 151
Timo, R.T.	150
Togawa, R.C.	011
Togni, P.H.B.	078
Torres, A.C.	110
Tutunji, V.L.	130
Urban, A.F.	128, 138
Valls, J.F.M.	102, 113, 116
Vasconcelos, E.A.R.	010, 016

Viana, A.A.B. ....	011, 031
Viana, C.R.B. ....	112
Vianna, J.S. ....	104
Vidal, M.C. ....	035
Vieira, A.R.A. ....	077
Vieira, D. ....	118
Vieira, P.H.M. ....	057
Vieira, R.F. ....	104, 111
Vilarinho, K.R. ....	139, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 152
Vilarinhos, P. ....	052, 054
Vilas-Bôas, G.F.T. ....	071
Vinecky, F. ....	021, 028
Vitalino, R.C. ....	023, 033, 036, 037
Wetzel, M.M.V.S. ....	121, 122
Zarur, S.B. ....	119

## ÍNDICE DE ORIENTADORES

(A numeração corresponde ao número do resumo)

Alan Carvalho Andrade.....	021, 028
Ana Cláudia Guerra de Araújo.....	003
Ana Yamagushi Ciampi.....	098, 103, 117, 118, 120
Andréa del Pilar de Souza Peñaloza.....	113
Angela Mehta.....	035, 133
Arailde Fontes Urben.....	128
Carmen Sílvia Soares Pires.....	047, 059, 068, 080, 096
David John Bertoli.....	025, 027
Denise Návia Magalhães Ferreira.....	124, 125, 140
Edison Ryoiti Sujii.....	070, 084
Eduardo de Oliveira Melo.....	043, 044
Eduardo Romano.....	022
Eliana Maria Gouveia Fontes.....	076, 078, 080
Érika Valéria Saliba Albuquerque de Barros.....	005, 012
Eugen Silvano Gander.....	026
Felipe Rodrigues da Silva.....	014
Francisco Ricardo Ferreira.....	106, 115
Francislete Rodrigues de Melo.....	023, 033, 036, 037
Gláucia Barbosa Cabral.....	029, 030
Glauca Salles Cortopassi Buso.....	097, 100, 101, 105, 107, 108, 109, 110
João Batista Tavares da Silva.....	074
Jairo Pereira Neves.....	041, 046
José Francisco Montenegro Valls.....	102, 116
José Nelson Lemos Fonseca.....	135
Leila Maria Gomes Barros.....	030
Leonel Gonçalves Pereira Neto.....	121, 122
Lucília Helena Marcellino.....	002, 017
Luzia Helena Correa Lima.....	067, 131, 132, 143, 144, 145, 146, 148
Maria Carolina Blassioli Moraes.....	050
Maria Elita Batista de Castro.....	049, 063
Maria Fátima Grossi-de-Sá.....	007, 008, 010, 011, 018, 020, 031, 034
Maria Regina Vilarinho de Oliveira.....	137, 139, 143, 147, 148, 152
Marlinda Lobo de Souza.....	069, 083
Marta Aguiar Sabo Mendes.....	126, 127, 129, 138
Mauro Carneiro.....	015
Miguel Borges.....	057, 060, 095
Mirian Therezinha Souza da Eira.....	123
Norma Santo Paes.....	004
Patrícia Messenberg Guimarães.....	009, 024

Paulo Roberto Queiroz da Silva.....	062, 130
Raul Alberto Laumann.....	077, 080, 085, 095
Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro.....	136, 142, 153
Renata Cesar Vilardi Tenente.....	134, 141, 149, 150, 151
Roberto Fontes Vieira.....	104, 111
Rodolfo Rumpf.....	040, 042, 045
Rose Gomes Monnerat....	051, 052, 054, 055, 058, 061, 064, 065, 066, 071, 075, 088, 091, 092
Rui Américo Mendes.....	099, 112, 114
Sandra Beatriz Barbosa de Cerqueira Zarur.....	119
Soraya Cristina de M. Leal-Bertioli.....	039
Sueli Corrêa Marques de Mello...	048, 053, 056, 072, 073, 079, 081, 082, 086, 089, 090, 093, 094
Thales Lima Rocha.....	006, 016, 032
Vera Tavares Campos Carneiro.....	001, 019

