

VIII TALENTO ESTUDANTIL

RESUMOS DOS TRABALHOS



**ANAIS
2003**

Embapa

República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

José Amauri Dimárzio
Presidente

Clayton Campanhola
Vice-Presidente

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

Diretoria-Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola
Diretor-Presidente

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

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

José Manuel Cabral de Souza Dias
Chefe -Geral

Maurício Antonio Lopes
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

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

Maria do Rosário de Moraes
Chefe-Adjunto de Administração

**VIII ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA
EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E
BIOTECNOLOGIA
2003**

Anais

Resumos dos Trabalhos

**Brasília, DF
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
2003**

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão

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

CEP 70.770-900 - Caixa Postal 02372

PABX: (61) 448-4600

Fax: (61) 340-3624

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

e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias

Secretária Executiva: Maria José de Oliveira Duarte

Membros: Luciano Lourenço Nass

Maurício Machaim Franco

Regina Maria Dechechi G. Carneiro

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares Campos Carneiro

Suplentes: Maria Alice Bianchi

Maria de Fátima Batista

Revisor de texto: Responsabilidade dos autores

Normalização bibliográfica:

Tratamento de ilustrações da capa: Gustavo Coelho de Souza & Cristiano Spohr

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

Editoração Eletrônica: Alysson Messias da Silva

João Paulo Portela Gervasio

1ª edição

1ª impressão (2003): tiragem 300 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 (8. : 2003 : Brasília, DF).

Anais: resumos dos trabalhos : VIII Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 165 p.

Corpo editorial: João Batista Tavares da Silva e Zilda Maria de Araújo Ribeiro.

ISBN 85-87697-24-2

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

CDD 575.1

© Embrapa 2003

**VIII ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS
GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA - 2003**

COMISSÃO ORGANIZADORA

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

COMISSÃO DE SELEÇÃO DOS TRABALHOS

**PRESIDENTE: João Batista Tavares da Silva
Gláucia Salles Cortopassi Buso
Luciano Lourenço Nass
Margot Alves Nunes Dode
Maria de Fátima Batista
Vera Tavares de Campos Carneiro**

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

COMISSÃO JULGADORA

Dirce Mendes - Centro Universitário de Brasília - UniCEUB

Henoque Ribeiro da Silva - Embrapa Hortaliças

Job Lúcio Gomes Vieira - Embrapa Sede

José Roberto Antoniol Fontes - Embrapa Cerrados

Maria do Socorro Rodrigues - Universidade de Brasília - UnB

Shângely Silva Souza - FAP/DF

Silvana Almeida Figueira de Medeiros - CNPq

Silvia Elena T. Bittencourt - Faculdade da Terra de Brasília - FTB

APRESENTAÇÃO

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia vem promovendo desde 1996 o Encontro do Talento Estudantil. O evento visa mostrar a produção e a capacidade científica dos estudantes de graduação e de pós-graduação, nas áreas de recursos genéticos e biotecnologia, e valorizar os resultados das pesquisas por eles desenvolvidos, orientados por pesquisadores e técnicos do Centro. O interesse na participação dos Encontros tem sido crescente, principalmente entre os estudantes de iniciação científica.

Neste ano de 2003, mais uma vez os pesquisadores e técnicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia estimularam seus orientandos a participarem desse Encontro, já em sua 8ª edição. 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.

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

Foram inscritos 117 resumos, sendo 84 (71,8%) elaborados por estudantes de iniciação científica e 33 (28,2%) por estudantes graduados, compreendendo 6 (5,1%) de recém graduados, 19 (16,2%) de mestrandos e 8 (6,9%) de doutorandos. Os resultados de pesquisa dos trabalhos inscritos, cujos resumos estão incluídos nestes anais, são apresentados, durante o Encontro, sob a forma de pôsteres, para apreciação da comissão julgadora e do público interessado.

Parabenizamos e agradecemos, antecipadamente, a todos que participaram 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, bem como à Universidade Paulista - UNIP e ao Centro Universitário de Brasília – UniCEUB pelo co-patrocínio. 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

BIOLOGIA CELULAR	21
001 - AVALIAÇÃO CITOGENÉTICA DE PLANTAS TETRAPLÓIDES ARTIFICIAIS DE <i>Brachiaria brizantha</i> E F1 (Cytogenetics analysis of <i>Brachiaria brizantha</i> artificial tetraploid plants and F1). Nobrega, J. M., Carneiro V.T. C., Araújo, A. C. G.	23
002 - ESTUDOS HISTOLÓGICOS DA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA EM <i>Brachiaria brizantha</i> (Hystological analyses of <i>Brachiaria brizantha</i> somatic embryogenesis). Plácido, J.C.P.P., Cabral, G.B., Falcão, R., Gomes, A.C.M.M.G., Carneiro, V.T.C.	24
003 - PRODUÇÃO DE MUDAS DE ABACAXIZEIRO, CV PÉROLA, EM BIORREATOR DE IMERSÃO TEMPORÁRIA (Production of pineapple cv. 'pérola' plantlets in temporary immersion bioreactor). Barboza, S.B.S.C., Souza, L.A.C. , Teixeira, J.B.	25
BIOLOGIA MOLECULAR	27
004 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DA PARTE AÉREA DE CAFEIEIRO EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO (Transcriptional analysis of the aerial part from a coffee tree under water deficit conditions). Vinecky, F. , Rodrigues, G.C., Silva, F.R. da, Andrade, A.C.	29
005 - ARRANJAMENTO DE CLONES E MINIPREPARAÇÃO DE DNA - PROTOCOLOS OTIMIZADOS (Cloning arrangement and minipreparation of DNA – optimized protocols). Labuto, L.B.D., Lopes, J.M.P., Sousa, Z.A.R., Andrade, V.N. , Borges Neto, C.R.	30
006 - CLONAGEM E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DA REGIÃO PROMOTORA DO GENE OPAQUE-2 DE MILHETO (Cloning and physical-chemical and biological characterization of pearl millet opaque-2 promotor region). Lima, I.L.P., Gander, E.S., Marcellino, L.H.	31
007 - CO-CULTURA E TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE DE <i>Brachiaria brizantha</i> A <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Coculture and susceptbility test of <i>Brachiaria brizantha</i> to <i>Agrobacterium tumefaciens</i>). Pires, M.V.V., Cabral, G. B., Lacerda, A. L., Dusi, D. A., Carneiro, V.T.C.	32
008 - CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS DE cDNA DE OVÁRIO DE <i>Brachiaria brizantha</i> APOMÍTICA E SEXUAL NA MEGAESPOROGÊNESE E MEGAGAMETOGÊNESE (Construction of cDNA library from ovary tissues of apomictic and sexual <i>Brachiaria brizantha</i>). Silveira, E. D., Carneiro, V. T. C.	33

009 - CONSTRUÇÃO DE VETORES PARA BOMBARDEAMENTO DE <i>Coffea arabica</i> E <i>Coffea canephora</i> (Construction of vectors to <i>Coffea arabica</i> and <i>Coffea canephora</i> bombardment). Barbosa, M.F.F., Vianna, G.R., Machado, F.R.B., Paixão, A.L.D., Soares, F.Q., Grossi-de-Sá, M.F., Barros, E.V.S.A.	34
010 - CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA LINHAGEM CELULAR ESTÁVEL, UFL-AG-PAC, CONTENDO O GENE INIBIDOR DE APOPTOSE <i>IAP-3</i> DE <i>Orgyia pseudotsugata</i> nucleopolyhedrovirus (OpMNPV) [Construction and characterization of a stable cell line, UFL-AG-PAC, containing the apoptosis inhibitor gene <i>iap-3</i> of <i>Orgyia pseudotsugata</i> nucleopolyhedrovirus (OpMNPV)]. Andrade, M.A., Ribeiro, B.M., Castro, M.E.B.	35
011 - CULTIVO DE LINHAGENS CELULARES CLONES TRANSFECTADAS EM MDBK PARA ESTUDOS DO TRANSGENE (Cultive of transfected MDBK clones cell lines for transgene studies). Lisauskas, S., Rumpf, R., Rech, E.L., Aragão, F.J.L.	36
012 - DETERMINAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS A PROMOTORES PÓLEN-ESPECÍFICOS DE <i>Arabidopsis thaliana</i> NA PRESENÇA DA PROTEÍNA ROLA E DO PADRÃO DE EXPRESSÃO DESSES PROMOTORES EM <i>Nicotiana tabacum</i> (Determination of the expression of <i>Arabidopsis thaliana</i> pollen-specific promoters associated genes in the presence of Rol A and expression pattern of these promoters in <i>Nicotiana tabacum</i>). Thees, M.F.R.S., Carneiro, M.	37
013 - “DNA SHUFFLING” DE INIBIDORES DE α-AMILASE (DNA shuffling of α-amilase inhibitors). Castro, F.C., Grossi-de-Sá, M.F., Da Silva, M.C.M.	38
014 - ESTABELECIMENTO DE UM PROTOCOLO PARA TRANSFORMAÇÃO DE CULTIVARES BRASILEIRAS DE ALGODOEIRO (Establishment of a novel transformation protocol for brazilian cotton varieties). Evangelista, I.B.R., Lacerda, H.M., Almeida, S.D.S., Oliveira-Neto, O.B, Paes, N.S., Grossi-de-Sá, M.F.	39
015 - EXPRESSÃO DA REGIÃO PRO DA PROTEINASE CISTEÍNICA CPAO DE <i>Acanthoscelides obtectus</i> E ANÁLISE DA ATIVIDADE INIBITÓRIA SOBRE A PROTEÍNA COGNATA (Expression of the PRO region of CPAO cysteine proteinase from <i>Acanthoscelides obtectus</i> and analysis of its inhibitory activity over the cognate protein). Del Sarto, R.P., Silva, F.B., Marra, B.M., Monteiro, A.C.S., Batista, J.A.N., Oliveira Neto, O.B., Paes, N. S., Grossi-de-Sá, M.F.	40
016 - EXPRESSÃO DO GENE <i>GUS</i> EM DIFERENTES EXPLANTES DE <i>Brachiaria brizantha</i> CV. MARANDU (Expression of <i>gus</i> gene in different explantes of <i>Brachiaria brizantha</i>). Pires, M.V.V., Cabral, G.B., Lacerda, A.L., Rodrigues, J.C.M., Carneiro, V.T.C.	41
017 - GENE DA DNA POLIMERASE DE <i>Anticarsia gemmatalis</i> nucleopolyhedrovirus E SUAS RELAÇÕES FILOGENÉTICAS (<i>Anticarsia gemmatalis</i> nucleopolyhedrovirus DNA polymerase gene and its phylogenetic relationship). Dalmolin, C.C., da Silva, F.R., Castro, M.E.B.	42

018 - IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE SEQUÊNCIAS NBS-RGA DE <i>Coffea canephora</i> (Identification and analysis of <i>Coffea canephora</i> NBS-RGA sequences). Machado, F.R.B., Barros, E.V.S.A., Fragoso, R.R., Barbosa, M.F.F., Bertoli, D., Grossi-de-Sá M.F.	43
019 - ISOLAMENTO DE RGAs (ANÁLOGOS A GENES DE RESISTÊNCIA) DE UMA BIBLIOTECA GENÔMICA DE <i>Arachis</i> SILVESTRE (Search for RGAs in a genomic library of wild <i>Arachis</i>). Proite, K., Menezes, L.A., Leal-Bertoli, S.C.M., Bertoli, D., Guimarães, P.M.	44
020 - OBTENÇÃO DE EMBRIÕES DE <i>Coffea canephora</i> TRANSFORMADOS ATRAVÉS DO CO-CULTIVO COM <i>Agrobacterium</i> (Transformed <i>Coffea canephora</i> embryos obtained through via the <i>Agrobacterium</i> method). Paixão, A.L.D., Cruz, A.R.R., Machado, F.R.B., Barbosa, M.F.F., Soares, F.Q., Cabral G.B. , Barros, E.V.S.A. .	45
021 - O GENE <i>IAP-3</i> DE <i>Anticarsia gemmatalis</i> nucleopolyhedrovirus INIBE APOPTOSE NA PRESENÇA DO VÍRUS INDUTOR VAPAG (<i>Anticarsia gemmatalis</i> nucleopolyhedrovirus <i>iap-3</i> gene inhibits apoptosis in the presence of the vApAg inducer). Soares, E. F., Ribeiro, B. M., Castro, M. E. B.	46
022 - O USO DE ANCHOR-MARKERS NA CONSTRUÇÃO DE UM MAPA GENÉTICO DE <i>Arachis</i> (The development of a genetic map for using anchor markers). José, A.C.V.F., Leal-Bertoli, S.C.M., Bertoli, D.J., Guimarães, P.M.	47
023 - PROTOCOLO OTIMIZADO DA REAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO DE DNA (Optimized protocol of PCR sequencing reaction). Castro, A.S., Bisol, T.B., Borges Neto, C.R.	48
024 - PURIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA - PROTOCOLOS OTIMIZADOS (Purification and sequencing of DNA – optimized protocols). Figueiredo, G.S.F., Reis, A.C.de M., Castro, A.S., Borges Neto, C.R.	49
025 - REGENERAÇÃO DE PLANTAS DE FEIJÃO AZUKI (<i>Vigna angularis</i>) ATRAVÉS DE ORGANOGÊNESE DIRETA (Regeneration of Azuki bean plants (<i>Vigna angularis</i>) by direct organogenesis). Costa, M.F. , Osório, R. , Coutinho, M.V. , Paes, N.S. , Cabral, G.B., Lima, J.N., Grossi-de-Sá, M.F.	50
026 - SUPER-EXPRESSION DE TRANSGENE QUE CONFERE TOLERÂNCIA A ESTRESSE HÍDRICO EM <i>Arabidopsis thaliana</i> (Over expression of transgene confers tolerance to water stress in <i>Arabidopsis thaliana</i>). Lisboa, E.D., Romano, E.	51
027 - TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE PLANTAS DE SOJA [<i>Glycine max</i> L.(MERRIL)] VISANDO A PRODUÇÃO DO ANTICORPO SCFVDIR83D4, ANTI-ANTÍGENO TUMORAL TN. (Genetic transformation of soybean plants to production of the scFvDIR83D4 antibody, an anti- tumoral Tn antigen). Cunha, N.B., Jungmann, L., Cipriano, T.M. , Póvoa, A.M., de Lucca, P.C., Leite, A., Vianna, G.R., Aragão, F.J.L. , Rech, E.L.	52

028 - USO DE MARCADORES SCAR-RAPD EM MULTIPLEX-PCR PARA DETECÇÃO DE ESPÉCIES DE <i>Meloidogyne</i>, PARASITAS DO CAFEEIRO (Application of SCAR-RAPD markers in multiplex-PCR to detect coffee-damaging species of <i>Meloidogyne</i>). Souza, H.J.M., Randig, O., Carneiro, R.M.D.G.	53
029 - USO DE RADIAÇÃO GAMA NA ELIMINAÇÃO DE GENES MARCADORES DE SOJA GENETICAMENTE MODIFICADA (Gamma radiation as a tool to remove marker genes from transgenic soybean plants). Tinoco, M.L.P., Reis, M.B.A., Abud, S., Souza, P.I.M., Vianna, G.R., Rech, E.L., Aragão, F.J.L.	54
030 - UTILIZAÇÃO DA REGIÃO-PRO DE PROTEINASE CISTEÍNICA HGCP-I COMO FATOR DE DEFESA NO CONTROLE DO NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA <i>Heterodera glycines</i> (Use of cysteine proteinase pro-region as defense factor the control of the soybean cyst nematode <i>Heterodera glycines</i>). Marra, B.M., Batista, J.A.N., Silva, F.B., Figueira, E.L.Z., Cares, J.E., Grossi-de-Sá, M.F.	55
CARACTERIZAÇÃO	57
031 - ANÁLISE DA DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE LINHAGENS DE MELÃO UTILIZANDO MARCADORES RAPD (Analysis of genetic divergence among melon lines using RAPD markers). Cerqueira, A.A., Amorim, J.C., Paiva, M.R., Souza, Z.P., Paiva, W.O., Vieira, J.V., Buso, A.J., Buso, G.S.C.	59
032 - ANÁLISE DA ESTRUTURA GENÉTICA E TAXA DE CRUZAMENTO DE <i>Cedrela fissilis</i> – CEDRO (MELIACEAE) UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES (Genetic structure analysis and outcrossing rate of <i>Cedrela fissilis</i> based on microsatellites markers). Nakasu, E.Y.T., Ciampi, A.Y.	60
033 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE CEREJEIRA <i>Amburana cearensis</i> UTILIZANDO MARCADOR MOLECULAR RAPD (Analisis of the genetic variability of cerejeira <i>Amburana cearensis</i> using RAPD molecular marker). Catelan, R.C., Nakasu, E. Y. T., Vieira, D.L.M., Ciampi, A.Y., Scariot, A.	61
034 - AVALIAÇÃO DE ACESSOS DE MELÃO VISANDO IDENTIFICAR FONTES DE RESISTÊNCIA A <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i> (Evaluation of melon accessions for resistance to <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>). José Jr., G., Melo, L.A., Marques, A.S.A., Lopes, C.A., Buso, G.S.C., Nass, L.L.	62
035 - BUSCA E SELEÇÃO DE GENES EM QTLs RELACIONADOS À TOLERÂNCIA A SECA PARA IDENTIFICAÇÃO DE SNPs EM ARROZ (<i>Oryza sativa</i> L.) (Search and selection of genes in QTLs linked to drought tolerance in rice [<i>Oryza sativa</i> L.] for SNP discovery). Pessoa-Filho, M.A.C.P., Ferreira, M.E.	63
036 - CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS DE GERMOPLASMA DE <i>Arachis</i> QUANTO À RESISTÊNCIA AO <i>Aspergillus flavus</i> (characterization of <i>Arachis</i> germplasm accessions to <i>Aspergillus flavus</i> resistance). Martino, L.A., Ribeiro, V.S., Cardoso, T.O., Fávero, A.P., Ramos, V.R.	64

- 037 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DAS PRINCIPAIS RAÇAS DE OVINOS DESLANADOS DO BRASIL A PARTIR DE MARCADORES MOLECULARES RAPD-PCR (Characterization of the principal breeds of brazilian hair sheep using rapd-pcr molecular markers).** Silvério, V.C., Paiva, S.R., Egito, A.A., McManus, C., Faria, D.A., Mariante, A.S., Castro, S. R., Albuquerque, M.S.M., Dergam, J.A. ... 65
- 038 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE SACOS EMBRIONÁRIOS DE ACESOS APOMÍTICOS FACULTATIVOS DE *Brachiaria brizantha* (Morphological characterization of embryo sacs in facultative apomictic accessions of *Brachiaria brizantha*).** Simões, K.C.C., Falcão, R., Araújo, A.C.G. 66
- 039 - CONTAGEM DE CROMOSSOMOS DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *Arachis* (Chromossome counting of *Arachis* interspecific hybrids).** Fonseca, F.C.A., Santos, R.F., Fávero, A.P., Valls, J.F.M. 67
- 040 - CRUZABILIDADE INTERSECCIONAL EM *Arachis* (LEGUMINOSAE) (Intersectional crossability in *Arachis* (Leguminosae)).** Rodrigues, L.S. Valls, J.F.M. 68
- 041 - DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA *Symphonia globulifera* (CLUSIACEAE) E *Carapa guianensis* (MELIACEAE) (Development and optimization of microsatellite for *Symphonia globulifera* (Clusiaceae) and *Carapa guianensis* (Meliaceae)).** Vinson, C.C., Azevedo, V.C.R., Almeida, T.N.S., Ciampi, A.Y., Sampaio, I. 69
- 042 - DETECÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA, VIA MARCADORES MOLECULARES RAPD, EM POPULAÇÕES BRASILEIRAS, ARGENTINAS E PARAGUAIAS DE *Bemisia tabaci* (Detection of genetic variability of brazilian, argentinean and paraguayan whitefly populations based on RAPD markers).** Lago, W.N.M., Queiroz, P.R., Truol, G., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V. 70
- 043 - DETECÇÃO DE NOVOS BIÓTIPOS PENTAPLÓIDES NO GRUPO DILATATA DE *Paspalum* (GRAMINEAE) (Detection of new pentaploid biotypes in the group Dilatata of *Paspalum* (Gramineae)).** Machado, A.C.C., Valls, J.F.M., Santos, S. 71
- 044 - DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE BÚFALOS USANDO MARCADORES RAPD (Genetic distance among buffalo populations using RAPD markers).** Silva, A.C.M., Alburquerque, M.S.M., Egito, A.A., Paiva, S.R., Castro, S.T.R., Marques, J.R.F., Costa, M.R., Mariante, A.S. 72
- 045 - ESTIMATIVA DE FREQUENCIA DE ALELOS NULOS EM PRIMERS MICROSSATÉLITES DE *Eucalyptus* UTILIZANDO DETECÇÃO FLUORESCENTE (Frequency estimation of null alleles with *Eucalyptus* microsatellite markers using fluorescent detection).** Bueno, N.W., Missiaggia, A.A., Grattapaglia, D. 73
- 046 - ESTRUTURA GENÔMICA DE TRÊS MEGABASES DE DNA GENÔMICO "SHOTGUN" DE *Eucalyptus*: CONTEÚDO NUCLEOTÍDICO, SEQUÊNCIAS REPETITIVAS E GENES (Genomic structure of 3 Mbp of *Eucalyptus* genomic DNA**

- obtained by shotgun: nucleotide content, repetitive sequences and genes). Lourenço, R.T., Pappas, G.J., Cunha, A.F., Pereira, G.A.G., Grattapaglia, D. 74
- 047 - EXTENSÃO DO MAPA GENÉTICO REFERÊNCIA DE EUCALIPTO UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES COM DETECÇÃO FLUORESCENTE E MAPEAMENTO DE QTL PARA CARACTERÍSTICAS DE INTERESSE COMERCIAL (Extension of the reference genetic map for eucalypt using fluorescently labeled microsatellite markers and QTL mapping of characters with economic importance).** Missiaggia, A.A, Bueno, N.W., Rezende, G. D., Grattapaglia, D. 75
- 048 - IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES RAPD PARA UTILIZAÇÃO NO CONTROLE DE QUALIDADE DE PRODUÇÃO DE ALHO-SEMENTE DA CULTIVAR AMARANTE (RAPD markers identification for the utilization on the quality production control of garlic cloves of the Amarante cultivar).** Paiva, M.R., Lopes, F.F.R., Cerqueira, A.A., Amorim, J.C., Amaral, Z.P.S., Dusi, A.N., Buso J.A., Buso, G.S.C. 76
- 049 - INFECTIVIDADE DO ISOLADO I-01 DE *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus EM LINHAGENS CELULARES DE INSETOS (Infectivity of the *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus I-01 isolate in insect cell lines).** Santos, A.C.B., Ribeiro, Z.M.A., Dalmolin, C. C., Castro, M.E.B. 77
- 050 - MARCADORES MICROSSATÉLITES (SSR) PARA A ESPÉCIE MADEIREIRA AMAZÔNICA *Manilkara huberi* – MAÇARANDUBA (Microsatellite markers for the timber Amazonian species *Manilkara huberi* - Maçaranduba).** Azevedo, V.C.R., Vinson, C.C., Silva, V.P. , Ciampi, A.Y. 78
- 051 - NOVOS MICROSSATÉLITES PARA *Eucalyptus* A PARTIR DE CLONES “SHOTGUN” (New approach for microsatellite development in *Eucalyptus* using shotgun clones).** Batista, A. R. S., Lourenço, R. T., Pereira, G. A. G., Grattapaglia, D. 79
- 052 - NÚMEROS CROMOSSÔMICOS EM ESPÉCIES E CULTIVARES DE DUAS SECÇÕES TAXONÔMICAS DO GÊNERO *Arachis* L. (LEGUMINOSAE) [Chromosome numbers in species and cultivars from two taxonomic sections of genus *Arachis* L. (Leguminosae)].** Lima, J.G.A., Peñaloza, A.P.S., Santos, S., Valls, J.F.M. 80
- 053 - SELEÇÃO DE ACESSOS DE *Arachis* SILVESTRES RESISTENTES AOS FITONEMATÓIDES *Meloidogyne arenaria* raça 1 e 2, *M. javanica* raça 4 E PRODUÇÃO DE UMA POPULAÇÃO F2 PARA O MAPEAMENTO GENÉTICO E ESTUDO DA EXPRESSÃO GÊNICA (Identification of wild *Arachis* accessions resistant to *Meloidogyne arenaria* race 1 and 2, *M. javanica* race 4 and the development of a F2 segregant population to genetic mapping and gene expression studies).** Proite, K., Dias, J.G.O., Bertoli, D.J., Leal-Bertoli, S.C.M., Guimarães, P.M. 81
- 054 - TRANSFERABILIDADE E CONTEÚDO INFORMATIVO DE MICROSSATÉLITES PARA CONSTRUÇÃO DE MÚLTIPLOS MAPAS GENÉTICOS ENTRE CINCO ESPÉCIES DO GÊNERO *Eucalyptus* (Transferability and informative content of microsatellite**

markers to develop multiple genetic maps among five species of *Eucalyptus* genera). Mamaní, E.M., Missiaggia, A., Grattapaglia, D. 82

CONSERVAÇÃO 85

055 - CALENDÁRIO SAZONAL KRAHÔ: LEVANTAMENTO PRELIMINAR DA ÉPOCA DE COLETA DAS FRUTAS NATIVAS (Krahô calendar season: preliminary survey of collecting period of native fruits). Alencar, C., Camargo, N.F., Machado, A.P.S., Dias, T.A.B. 87

056 - CONSERVAÇÃO DE POLÍNEA DE *Oncidium fuscopetalum* LINDL., UMA ALTERNATIVA NA PRESERVAÇÃO DAS ORQUÍDEAS DO CERRADO (*Oncidium fuscopetalum* Lindl. pollinia conservation; an alternative for the preservation of Cerrado's orchids). Rodrigues Jr., C.E., Mendes, R.A. 88

057 - CONSERVAÇÃO "ON FARM": LEVANTAMENTO DE ETNOVARIEDADES DE BATATA-DOCE JUNTO AO POVO INDÍGENA KRAHÔ (On-farm conservation: Survey of sweet potato etnovarieties from Krahô's community). Alencar, C., Camargo, N.F., Machado, A.P.S., Krahô, T., Dias, T.A.B. 89

058 - CONSTRUÇÃO DO PROCESSO DE ANUÊNCIA PRÉVIA INFORMADA JUNTO À COMUNIDADE INDÍGENA KRAHÔ (Construction of the Prior Informed Approval Process of Krahô Indigenous Community). Camargo, N.F., Machado, A.P.S., Alencar, C., Ferreira, S.N., Bueno, Y.M., Moreira, L., Dias, T.A.B. 90

059 - GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Ananas ananassoides* (BAKER L. B. SM.) (Bromeliaceae) *IN VITRO* (*Ananas ananassoides* (Baker L. B. Sm.) (Bromeliaceae) *in vitro* seeds germination). Figueiredo, G.S.F., Nunes, A.C.G. da S., Mendes, R.A., Cardoso, L.D. 91

060 - GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Schlumbergera truncata*. (HAW.) MORAN (CACTACEAE) *IN VITRO*. (*Schlumbergera truncata*. (Haw.) Moran (Cactaceae) *in vitro* seed germination). Nunes, A.C.G. da S., Figueiredo, G.S.F., Mendes, R.A., Cardoso, L. D. 92

061 - LEVANTAMENTO PRELIMINAR DAS ETNOVARIEDADES DE ARROZ DEMANDADAS PELO POVO KRAHÔ (Preliminary Survey of rice etnovarieties required by Indigenous Krahô People). Alencar, C., Camargo, N.F., Machado, A.P.S., Krahô, T., Dias, T.A.B. 93

062 - MICROPROPAGAÇÃO DE *Melocactus violaceus ssp. margaritaceus* N. P. TAYLOR (CACTACEAE) *IN VITRO* (*Melocactus violaceus ssp. margaritaceus* N. P. Taylor (Cactaceae) *in vitro* micropropagation). Nunes, A.C.G. da S., Figueiredo, G.S.F., Mendes, R.A., Cardoso, L.D. 94

063 - QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS (Seeds sanitary quality of forest species) Araújo, M.M.M., Wetzels, M.M.V.S., Ramos, V.R., Ribeiro, V.S. 95

CONTROLE BIOLÓGICO 97

064 - AÇÃO CAIROMONAL DO COMPOSTO (E)-2-HEXENAL SOBRE PARASITÓIDES DE OVOS *Trissolcus* spp. (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) (Kairomonal action of the composition (E)-2-hexenal on parasitoid of eggs *Trissolcus* spp. (Hymenoptera: Scelionidae). Alarcão, G., Botelho, A.C., Laumann, R.A., Moraes, M.C.B., Sujii, E.R., Pires, C.S.S., Borges, M. 99

065 - ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DE DUAS ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* CONTRA *Spodoptera frugiperda* (Analysis of the efficiency of two *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda*). Silva, C.R.M., Demo, C., Batista, A.C., Queiroz, R. M. V., Praça, L.B., Dias, D.G.S., Monnerat, R.G. 100

066 - ATIVIDADE TÓXICA DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* CONTRA A TRAÇA DAS CRUCÍFERAS (*Plutella xylostella*) (Activity toxic of *Bacillus thuringiensis* strains against Diamondback moth (*Plutella xylostella*)). Medeiros, P.T., Barreto, E.G.S., Dias, D.G.S., Monnerat, R.G. 101

067 - AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ESPÉCIES DE *Trissolcus* (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) COMO AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO DE *Euschistus heros* (F.) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) (Evaluation of *Trissolcus* species potencial (Hymenoptera: Scelionidae) as biological control agents of *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). Botelho, A.C., Alarcão, G., Laumann, R.A., Moraes, M.C.B., Sujii, E.R., Pires, C.S.S., Borges, M. 102

068 - AVALIAÇÃO ECOLÓGICA DE RISCOS DO ALGODÃO *Bt*: EFEITO SOBRE LEPIDÓPTEROS NÃO-ALVO (Ecological risk assessment of *Bt* cotton: effects on non-target Lepidoptera). Pinheiro, E.M.L., Fontes, E.M.G., Becker, V.O., Ávila, D., Frizzas, M.R. 103

069 - CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis* EFETIVOS CONTRA INSETOS DA ORDEM LEPIDOPTERA, COLEOPTERA E DIPTERA (Characterization of effective strains of *Bacillus thuringiensis* against insects of Lepidoptera, Coleoptera and Diptera orders). Praça, L.B., Batista, A.C., Martins, E.S., Gomes, A.C., Falcão, R., Monnerat, R.G. 104

070 - CARACTERIZAÇÃO DOS SINAIS VIBRACIONAIS DE DUAS ESPÉCIES DE PERCEVEJOS PRAGAS DA SOJA, *Euschistus heros* e *Piezodorus guildinii* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE): SUA FUNÇÃO NO ACASALAMENTO E ISOLAMENTO REPRODUTIVO (Characterization of vibrational communication of two stink bug species soybean pests, *Euschistus heros* and *Piezodorus guildinii*: the function on mating and reproductive isolation). Cordeiro, D.M., Çolk, A., Laumann, R., Moraes, M.C.B., Borges, M. 105

071 - COMPARAÇÃO DE DOIS PRODUTOS COMERCIAIS COM FORMULAÇÃO NACIONAL À BASE DE *Bacillus thuringiensis* NO CONTROLE DE *Plutella xylostella* (LEP. PLUTELLIDAE) EM REPOLHO (Comparison of a national formulation and two *Bacillus thuringiensis* based products controlling *Plutella xylostella* (Lep. Plutellidae)

on cabbage). Barreto, E.G.S., Medeiros, P.T., Dias, D.G.S., Soares, C.M.S., Monnerat, R.G.	106
072 - CRIAÇÃO MASSAL DA TRAÇA DAS CRUCÍFERAS EM DIETA NATURAL (Rearing massive of Diamondback moth.) Souza, N.R., Medeiros, P.T., Barreto, E.G.S., Dias, D.G.S., Monnerat, R.G.	107
073 - ECOLOGIA DE POPULAÇÕES DE CRISOMELÍDEOS-PRAGA (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) NO DISTRITO FEDERAL (Population ecology of chrysomelids pests (Coleoptera: Chrysomelidae) in the Federal District). Ramos, N., Ribeiro P. H., Laumann, R., Pires, C.S.S., Schmidt, F.G.V., Borges, M., Moraes, M.C.B., Sujii, E. R.	108
074 - EFICIÊNCIA DE MEIOS DE CULTURA NO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Dicyma pulvinata</i> (Efficiency of cultural media for mycelium growth of <i>Dicyma pulvinata</i>). Catalão, G.L., Silva, J.B.T., Mello, S.C.M., Melo, D.F., Pinho, D.S., Orioli, F.P., Frazão, H.	109
075 - ESTUDO DA ADAPTABILIDADE DO ISOLADO P10 DE <i>Pasteuria penetrans</i> AO NEMATÓIDE DO CAFÉ, <i>Meloidogyne paranaensis</i> (Adaptability study of <i>Pasteuria penetrans</i> on the coffee root-knot nematode, <i>Meloidogyne paranaensis</i>). Mesquita, L.F.G., Neves, D.I., Carneiro, R.M.D.G.	110
076 - ESTUDO DA PERCOLAÇÃO DE ENDÓSPOROS DE <i>Pasteuria penetrans</i> EM SUBSTRATOS PARA MUDAS DE CAFEIEIRO COM DIFERENTES TEXTURAS (Influence of different substrats on the percolation of <i>Pasteuria penetrans</i> endospores in coffee seedlings). Mesquita, L.F.G., Neves, D.I., Carneiro, R.M.D.G.	111
077 - ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE ACASALAMENTO DO PERCEVEJO PRAGA DA SOJA <i>Thyanta perditor</i> MEDIADO PELA COMUNICAÇÃO VIBRACIONAL (Study of Courtship behaviour of the stink bug soybean pest, <i>Thyanta perditor</i>, and its mediation by vibrational communication). Passos, R.S.F., Laumann, R, Moraes, M.C.B, Çokl, A., Borges, M.	112
078 - ESTUDO DO CRESCIMENTO DE ESTIRPES DE <i>Bacillus thuringiensis</i> EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA (Studies in the growth of <i>Bacillus thuringiensis</i> strains in different culture). Queiroz, R.M.V., Batista, A.C., Demo, C., Silva, C.R.M., Praça, L.B., Silva, S.F., Roberg, R.P., Soares, C.M., Monnerat, R.G.	113
079 - FAUNA COMPARADA DE ARTRÓPODOS PREDADORES SOBRE O SOLO EM UMA LAVOURA DE ALGODÃO NO DISTRITO FEDERAL (Compared fauna of on the ground predatory arthropods in a cotton field on Distrito Federal). Portilho, T., Schmidt, F.G.V., Faria, M., Fontes, E.M.G., Pires, C.S.S., Sujii, E.R.	114
080 - INVENTÁRIO DE ABELHAS VISITANTES DAS FLORES DE ALGODÃO, <i>Gossypium hirsutum</i>, NO DISTRITO FEDERAL (Survey of flower-visiting bees on cotton, <i>Gossypium hirsutum</i>, in the Distrito Federal). Pereira, F.F.O., Moreira, R.O., Pinheiro, E., Portilho, T., Silveira, F.A., Pires, C.S.S.	115

- 081 - ISOLAMENTO DE UMA ESTIRPE DE *Bacillus sphaericus* ALTAMENTE TÓXICA A LARVAS DE *Culex quinquefasciatus* (Isolation of a *Bacillus sphaericus* strain high toxic against *Culex quinquefasciatus* larvae).** Silva, S.F., Dias, D.G.S., Martins, E.S., Soares, C.M.S., Dias, J.M.C.S., Monnerat, R. G. 116
- 082 - ISOLAMENTO DE UMA ESTIRPE DE *Bacillus thuringiensis* ALTAMENTE TÓXICA A LARVAS DE *Aedes aegypti* (Isolation of *Bacillus thuringiensis* strain high toxic against *Aedes aegypti* larvae).** Barros, P., Dias, D.G.S., Silva, S.F., Martins, E.S., Praça, L.B., Soares, C.M., Dias, J.M.C.S., Monnerat, R.G. 117
- 083 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* ENDOFÍTICAS DE ALGODÃO (Isolation and characterization of endophytic *Bacillus thuringiensis* strains from cotton).** Barros, P.C., Santos, R.C., Batista, A.C., Berry, C., Monnerat, R.G. 118
- 084 - MORTALIDADE DE CARUNCHO DE FEIJÃO DE CORDA (*Callosobruchus maculatus*), CAUSADA PELOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Mortality of cowpea seed beetle (*Callosobruchus maculatus*), by entomopatogenic fungus *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*).** Sarmento, R.B.C., Martins, I., Laumann, R., Franco, O.L., Valadares-Ingliš, M.C. 119
- 085 - OCORRÊNCIA DE INSETOS PRAGA E SEUS INIMIGOS NATURAIS EM PLANTAS DE ALGODÃO SOB DIFERENTE MANEJO DE PRAGAS, NO DISTRITO FEDERAL (Occurrence of pest insects and their natural enemies in cotton plants under different pest management in the Distrito Federal).** Portilho, T., Pires, C., Fontes, E.M.G., Pereira, F.F.O., Schmidt, F.G.V., Sujji, E.R. 120
- 086 - OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE *Dicyma pulvinata* EM DIFERENTES SUBSTRATOS SÓLIDOS (Optimization of *Dicyma pulvinata* production in different solid substrats).** Melo, D.F., Mello, S.C.M., Silva, J.B.T., Catalão, G.L., Frazão, H. 121
- 087 - PROSPECÇÃO DAS ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* EFETIVAS PARA O CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis* (Screening of *Bacillus thuringiensis* toxic against *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda*).** Batista, A.C., Silva, C.R.M., Demo, C., Queiroz, R.M.V., Praça L.B., Monnerat, R.G. 122
- 088 - PROSPECÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS AO BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1943) (Screening of *Bacillus thuringiensis* strains toxic to boll weevil - *Anthonomus grandis* Boheman, 1943).** Sone, E. H., Waga, I. C., Praça, L. B., Monnerat, R. G. 123
- 089 - RITMOS DIÁRIOS DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS DE *Diabrotica speciosa* (GERMAR, 1824) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) RELACIONADOS À TEMPERATURA E AO SEXO (Daily rhythms of behaviour activity of *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) related to temperature and sex).** Ribeir-

ro, P. H., Ramos, N., Laumann, R., Pires, C.S.S., Schmidt, F.G.V., Borges, M., Moraes, M.C.B., Sujii, E. R. 124

090 - SPHAERUS®, PRODUTO BIOLÓGICO NACIONAL PARA O CONTROLE DE *Aedes aegypti*, COMPARADO A PRODUTOS IMPORTADOS USADOS NO COMBATE AO VETOR (SPHAERUS®, national biological product for *Aedes aegypti* control, compared to foreign products used on vector combat). Dias, D.G.S., Soares, C.M.S., Monnerat, R.G. 125

091 - *Trichoderma* spp. ISOLADOS DE SOLOS DO CERRADO (*Trichoderma* spp. isolated from cerrado soil). Braúna, L.M., Mello, S.C.M., Falcão, J., Silva, J.B.T. 126

092 - VOLÁTEIS DE PLANTAS DE ALGODÃO INFESTADOS POR LAGARTAS DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE) ESTIMULAM A RESPOSTA DO PARASITÓIDE DE OVOS, *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) (Plant volatiles of cotton infested with caterpillar, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), elicit the response on egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Pinheiro, P.V., Jardim, D.P., Cavalcante, C., Laumann, R., Borges, M., Moraes, M.C.B. 127

093 - VOLÁTEIS DE SOJA (*Glycine max*) INDUZIDOS PELA ALIMENTAÇÃO DE *Euschistus heros* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) E SUA INFLUÊNCIA NO COMPORTAMENTO DO PARASITÓIDE *Telenomus podisi* (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) (Soybean's volatiles prompted by feeding of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) and its influence on the parasitoid's behavior *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). Sousa, L.M.P., Moraes, M.C.B., Laumann, R., Borges, M. 128

INTERCÂMBIO E QUARENTENA 129

094 - *Alternaria chrysanthemi* INTERCEPTADO EM CRISÂNTEMO PELA QUARENTENA DE PÓS-ENTRADA (*Alternaria chrysanthemi* intercepted in Chrysanthemum by the post-entry quarantine service). Mendes, P.D., Mendes, M.A.S., Urben, A.F., Oliveira, A.S. 131

095 - BANCO DE DADOS DE FUNGOS EM VIDEIRA (Data base of fungi in grapevine). Paulo, J.A.O., Mendes, M.A.S., Melo, L.A.M.P., Oliveira, M.R.V. 132

096 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIES EXÓTICAS DE MOSCAS-DAS-FRUTAS DO GÊNÉRO *Bactrocera* sp. POR RAPD - PCR (Molecular characterization the exotic species of genus *Bactrocera* sp. by RAPD - PCR). Damacena, I. de S., Queiroz, P.R., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V., Lopes, D.L. de M. 133

097 - COMPÊNDIO NEMATOLÓGICO SOBRE ESPÉCIES DE *Xiphinema* TRANSMISSORES DE VÍRUS (Nematological compendium about virus vector *Xiphinema* species). Encinas, V.B., Tenente, G.C.M.V., Tenente, R.C.V. 134

- 098 - EFEITO DA IDADE DAS FOLHAS DE PLANTAS DE MELÃO SOBRE O INCREMENTO POPULACIONAL DE *Acidovorax venae* subsp. *citrulli* (Population increase of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as affected by melon leaf age).** Melo, L.A., José Jr., G., Santos, J.P., Mendes, A.P., Lopes, C.A., Marques, A.S.A. 135
- 099 - ERRADICAÇÃO DE *Fusarium moniliforme* EM SEMENTES DE MILHO UTILIZANDO TRATAMENTO TÉRMICO ÚMIDO (Eradication of seed-borne *Fusarium moniliforme* in corn seeds by wet-thermic treatment).** Rodrigues Jr., A.J.G., Mendes, M.A.S., Oliveira, A.S., Fonseca, J.N.L. 136
- 100 - FORMAÇÃO DE UM BANCO DE DADOS SOBRE PRAGAS EM BORBULHAS DE FRUTEIRAS, BASE PARA ELABORAÇÃO DE ARPQNR (Development of a Database about pests fruit tree in buds, base for ARPQNR elaboration).** Barros, T.O., Mendes, M.A.S., Oliveira, M.R.V., Martins, O.M., Batista, M.F., Fonseca, J.N.L., Felix, A.A.A. 137
- 101 - FUNGOS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (Fungi of quarantine importance on fruit-plants in Brazil).** Felix, A.A.A., Mendes, M.A.S., Santos, M.F., Paulo, J.A.O. 138
- 102 - IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DE RISCO DE INTRODUÇÃO DE INSETOS EXÓTICOS NO BRASIL ATRAVÉS DA IMPORTAÇÃO DE BONSAI (Identification and evaluation of risk on the introduction of exotic insects into Brazil through bonsai import).** Damacena, I. de S., Oliveira, M.R.V., Lopes, D.L. de M. 139
- 103 - IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE *Bactrocera carambolae* NO BRASIL (Molecular identification of the Brazilian population of *Bactrocera carambolae*).** Damacena, I. de S., Queiroz, P.R., Lima, L.H.C., Oliveira, M.R.V., Lopes, D.L. de M., Silva, R.A. da 140
- 104 - IMPLEMENTAÇÃO DA HOME PAGE PARA A DIVULGAÇÃO DA UNIDADE DE MICOLOGIA/ LABORATÓRIO DE QUARENTENA VEGETAL (Development of homepage to divulge the mycological unity/laboratory of vegetal quarantine).** Barros, T.O., Melo, L.A.M.P., Mendes, M.A.S., Urben, A.F. 141
- 105 - INFLUÊNCIA DOS CULTIVOS ORGÂNICO E CONVENCIONAL SOBRE A INCIDÊNCIA DE MOSCA BRANCA (*Bemisia tabaci*) EM BRÁSSICAS (Influence of organic and conventional plantations of *Brassicaceae* on *Bemisia tabaci* (Gen.) populations).** Oliveira, N.N., Paula, S.V., Oliveira, M.R.V. 142
- 106 - MANCHA DE SEPTORIA EM *Pfaffia glomerata* NO DISTRITO FEDERAL (Septoria spot on *Pfaffia glomerata* in Distrito Federal).** Paulo, J.A.O., Mendes, M.A.S., Alves, R.B.N., Vieira, R.F., Oliveira, A.S. 143
- 107 - PESQUISA EM ANDAMENTO: UMA METODOLOGIA PARA ERRADICAÇÃO DE NEMATÓIDES EM SEMENTES DE *Brachiaria decumbens* (Research in progress: Methodology for nematode eradication in *Brachiaria decumbens***

seeds). Rodrigues Jr., A.J.G., Sousa, A.I.M., Gomes, V.F., Lemos, A.P., Tenente, R.C.V. 144

108 - QUARENTENA DE GERMOPLASMA VEGETAL – PROCEDIMENTOS, MÉTODOS E INTERCEPTAÇÃO DE VÍRUS, VIROIDES E FITOPLASMAS (Quarantine of vegetal germoplasm – Procedures, methods and interception of vírus, viroids and phytoplasms). Silva, R.D.C., Marinho, V.L.A., Batista, M. de F. 145

109 - SISTEMA DE INFORMAÇÕES DE GERMOPLASMA DÁ SUPORTE AOS PROCEDIMENTOS NEMATOLÓGICOS DIMINUINDO OS RISCOS DE PRAGAS EXÓTICAS (Germplasm Information System giving support to nematological procedures decreasing the risks of exotic pests). Nascimento, H.I., Rissoli, V.R.V., Tenente, R.C.V., Cares, J.E. 146

110 - SISTEMA DE INFORMAÇÕES DE INSETOS QUARENTENÁRIOS PARA O BRASIL (Systematic information of insects and mites of quarantine importance to Brazil). Lopes, D.L.M., Oliveira, M.R.V., Paula, S.V. 147

111 - UTILIZAÇÃO DA PCR EM ENSAIOS SOBRE A TRANSMISSÃO DE *Ralstonia solanacearum* POR SEMENTES DE TOMATE (Use of PCR technique for investigating seed transmission of *Ralstonia solanacearum* in plants). Nogueira, S.B., Martins, O.M., Lopes, C. A. 148

REPRODUÇÃO ANIMAL 149

112 - AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO* CULTIVADOS EM DIFERENTES SISTEMAS E VITRIFICADOS PELO MÉTODO OPS (Evaluation of the survival rate of in vitro produced bovine embryos cultured in diffent systems and vitrified by the OPS method). Pereira, D.C., Dode, M.A.N., Corrêa, G.A., Rumpf, R. 151

113 - AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE TÉCNICA DE PARTOS GEMELARES EM BOVINOS DE CORTE NO PLANALTO CENTRAL (Evaluation of feasibility of twinning in cattle for beef production in planalto central). Lucas, L.A., McManus, C., Rumpf, R. 152

114 - CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES DO EPIDÍDIMO DE ANIMAIS MORTOS E SUA UTILIZAÇÃO NA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES *IN VITRO*: UMA IMPORTANTE FERRAMENTA NA PRESERVAÇÃO DE GENES VALIOSOS (Cryopreservation of epididymal spermatozoa from dead animals and its use in the in vitro embryos production: a important tool in the preservation of valuable genes). Martins, C.F., Dode, M., Pereira, D.C., Rumpf, R. 153

115 - DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES CLONES A PARTIR DE FIBROBLASTOS DE BOVINO ADULTO TRANSFECTADOS OU NÃO (Development of cloned embryos from adult bovine fibroblasts transfected or not). Iguma, L.T., Sousa, R.V., Melo,

E.O., Campos, H.C.F., Franco, M.M., Dode, M.A.N, Rech, E.L., Rumpf, R. 154

116 - INFLUÊNCIA DO ESTÁGIO E VELOCIDADE DE DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES PRODUZIDOS IN VITRO NA TAXA DE PREENHEZ (influence of the growth rate and stage of development of bovine embryos produced in vitro on the pregnancy rate). Pereira, D.C., Zucoloto, J., Oliveira, M.A.F., Rumpf, R., Dode, M.A.N. ... 155

117 - LENDA DA EMBRAPA – BEZERRA CLONADA A PARTIR DE CÉLULAS DO CUMULUS DE VACA ADULTA MORTA. DADOS DA CONCEPÇÃO AO PERI-NATAL (Lenda da Embrapa – calf cloned from cumulus cells of a dead adult cow. Data from conception to peri-natal period). Iguma, L.T., Pereira, D.C., Sousa, R.V., Pivato, I., Melo, L.F., Dresch, R., Campos, H.C.F., Borges, J.R.J., Paludo, G.R., Grattapaglia, D., Ferreira, M.E., Dode, M.A.N., Rumpf, R. 156

ÍNDICE DE AUTORES 158

ÍNDICE DE ORIENTADORES 164

OBS: A REDAÇÃO DOS RESUMOS É DE INTEIRA RESPONSABILIDADE DOS AUTORES



001 - AVALIAÇÃO CITOGENÉTICA DE PLANTAS TETRAPLÓIDES ARTIFICIAIS DE *Brachiaria brizantha* E F1 (Cytogenetics analysis of *Brachiaria brizantha* artificial tetraploid plants and F1)

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

Algumas espécies de *Brachiaria* são importantes forrageiras e a maioria das espécies cultivadas reproduz-se por apomixia, uma forma de reprodução assexual que em gramíneas, está geralmente associada à poliploidia, enquanto a sexualidade, à diploidia. Os acessos comercializados são poucos e normalmente apomíticos, o que limita os programas de melhoramento. A aparente incompatibilidade entre os acessos é observada pela alta mortalidade de plântulas e baixo número de híbridos obtidos nos cruzamentos interespecíficos entre plantas tetraplóides sexuais e apomíticas. O melhoramento genético de *Brachiaria* foi incrementado com o uso de plantas tetraplóides artificiais, sexuais de *B. ruziziensis*. Entretanto, a obtenção de novas variedades fica restrita a combinações com *B. decumbens* e *B. brizantha*. Visando ampliar as possibilidades de cruzamento e aumentar a variabilidade, as primeiras plantas tetraplóides artificiais de *B. brizantha* foram produzidas através da duplicação de cromossomos do acesso BRA002747. Para viabilizar o uso dessa nova alternativa, é preciso obter e selecionar progênies que sejam tetraplóides, férteis, com modo sexual de reprodução e compatíveis com variedades de interesse. Iniciamos nossos estudos com essas plantas e algumas de suas progênies, verificando a ploidia, o tipo de saco embrionário e a taxa de formação de sementes. Todas as plantas mãe confirmaram possuir 36 cromossomos, sacos embrionários do tipo Polygonum e taxas de formação de sementes superiores àquela determinada para o acesso BRA 002747. Foram confirmados 36 cromossomos em 9 progênies e 27 cromossomos em apenas uma planta. Determinamos a presença de saco embrionário do tipo Polygonum e baixas taxas de formação de sementes em duas F1 tetraplóides e na F1 triploide. No momento estamos gerando F2 dessas plantas.

¹ Biologia, graduanda, FTB, CNPq/PIBIC, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

002 - ESTUDOS HISTOLÓGICOS DA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA EM *Brachiaria brizantha* (Hystological analyses of *Brachiaria brizantha* somatic embryogenesis)

Plácido, J.C.P.P.¹, Cabral, G.B.², Falcão, R.³, Gomes, A.C.M.M.G.⁴, Carneiro, V.T.C.⁴

Brachiaria é um gênero de gramíneas, introduzido da África, e largamente utilizado no Brasil como forrageira tropical por sua ampla adaptação a diferentes condições edafo-climáticas, sendo cultivada em uma área de aproximadamente 40 milhões de ha. *Brachiaria*, como outras gramíneas, apresenta plantas de modo de reprodução sexual e modo de reprodução apomítico. Apomixia é um modo de reprodução assexual, ocorrendo uma clonagem através de sementes, o que ocasiona uma baixa variabilidade genética. Uma grande demanda do programa de melhoramento genético desta forrageira é a introdução de genes de interesse por técnicas de transformação genética, e um pré-requisito para obtenção de plantas transformadas é a obtenção de um sistema eficiente de regeneração in vitro. O objetivo deste trabalho foi testar a capacidade de indução de embriogênese e regeneração de *B. brizantha* em dois meios de cultura distintos, para fins comparativos. Os meios de indução utilizados foram M1.2 e MSC1^{ind} e para regeneração MS2 e MSC1^{reg} respectivamente, onde foram introduzidas as sementes. Foram feitas observações periódicas, a olho nu, do desenvolvimento dos calos. A análise histológica dos calos formados de *B. brizantha* durante a indução e regeneração foi feita com auxílio de equipamentos como o microscópio eletrônico de varredura e o microscópio óptico comum, possibilitando o registro dos resultados por meio de fotografias. O experimento resultou na formação de calos com padrões diversificados tais como calos brancos, brancos com brotos e/ou raiz e calos friáveis com raiz e/ou brotos.

¹ Biologia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

003 - PRODUÇÃO DE MUDAS DE ABACAXIZEIRO, CV PÉROLA, EM BIORREATOR DE IMERSÃO TEMPORÁRIA (Production of pineapple cv. 'pérola' plantlets in temporary immersion bioreactor)

Barboza, S.B.S.C.¹, Souza, L.A.C.², Teixeira, J.B.³

A produção de mudas de abacaxi em laboratório é altamente demandante de mão de obra. Aliado ao baixo preço de mercado da muda, é necessário buscar novas alternativas de produção para melhorar a eficiência do processo e baratear os custos, principalmente com a redução do uso de mão de obra. O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar diferentes tempos de imersão, utilizando biorreator de imersão temporária desenvolvido pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, na taxa de crescimento e rendimento de mudas. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com três tratamentos (imersão a cada 2 horas-T₁; 4 horas-T₂ e 8 horas-T₃) em quatro repetições. Usou-se o meio MS acrescido de ANA a 0,63 µM e BAP a 2,5 µM na multiplicação e sem fitoreguladores no alongamento, por um período de 120 e 60 dias, respectivamente. As culturas foram mantidas em sala de cultivo com luminosidade de 30 µmol m⁻² s⁻¹, temperatura de 25 ± 3 °C e fotoperíodo de 16 horas. Na multiplicação usando os tratamentos T3 e T2, os explantes mostraram taxas de crescimento estatisticamente iguais (0,035 e 0,032 g/g/dia, respectivamente), sendo em T₁ a taxa de crescimento inferior à obtida em T₃. No alongamento de brotos, as taxas de crescimento foram inferiores às observadas na multiplicação, no entanto, os resultados mostraram comportamento similar, dentro de cada experimento. O rendimento dos explantes em brotos não diferiu entre os diferentes tempos de imersão, com valores superiores a 54%, observando-se tendência de maior número de brotos em imersão a cada oito horas. Os brotos apresentavam altura média de 10 cm e percentual de enraizamento acima de 93%, em todos os tratamentos. Correlação positiva e significativa foi observada entre taxa de crescimento e número de brotos alongados. Os primeiros resultados mostram resultados promissores para o uso de biorreator de imersão temporária na produção de mudas de abacaxi. Novos experimentos estão sendo conduzidos para confirmar os resultados.

¹ Eng. Agr., doutoranda, UFG, EMDAGRO/EmbrapaTabuleiros Costeiros, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Estatístico, M. Sc., Brasília, DF.

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



004 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DA PARTE AÉREA DE CAFEIEIRO EM CONDIÇÕES DE DÉFICIT HÍDRICO (Transcriptional analysis of the aerial part from a coffee tree under water deficit conditions)

Vinecky, F.¹, Rodrigues, G.C.², Silva, F.R. da³, Andrade, A.C.⁴

Tendo em vista a importância da cultura do café na produção agrícola brasileira, encontra-se em andamento por iniciativa do Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café, o projeto “Genoma Café”. Este projeto consiste no seqüenciamento em larga escala de genes expressos (ESTs) de café, objetivando principalmente a identificação e caracterização dos determinantes genéticos e moleculares, responsáveis pelas características agrônômicas importantes no cafeeiro, tais como qualidade e tolerância a estresses bióticos e abióticos. O projeto genoma café está sendo executado pela rede AEG-Fapesp e a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, objetivando identificar e anotar de 20 a 30 mil genes de *Coffea spp.*, a partir do seqüenciamento de 200.000 clones de ESTs, obtidos de diversas bibliotecas de cDNA. O presente trabalho está focalizado no estudo dos mecanismos genéticos envolvidos na resposta das plantas ao estresse hídrico, visando auxiliar os programas de melhoramento na obtenção de plantas tolerantes à seca, tendo em vista a importância deste aspecto, no caso de culturas perenes. O material vegetal utilizado para a construção das bibliotecas de cDNA foi proveniente de um ensaio experimental com plantas de *Coffea arabica* cv. *Rubi*, cultivadas no regime de sequeiro e irrigado, localizado no campo experimental da Embrapa Cerrados. O RNA total foi extraído a partir dos tecidos vegetais componentes de um ramo plagiotrópico (folhas, ramos, gemas etc), coletado separadamente, de plantas sob regime de déficit hídrico (-3,3 MPa) e irrigado (-0,5 MPa). Após a purificação do mRNA, procedeu-se a construção das bibliotecas de cDNA (SuperScriptII, Invitrogen), que foram validadas através da análise das seqüências provenientes de 384 clones. Para o processo de validação das bibliotecas, a porcentagem de vetores sem inserto, o tamanho dos insertos e o nível de redundância, foram determinados e considerados. Uma vez validadas as bibliotecas, aproximadamente 10.000 clones foram submetidos ao sequenciamento e os resultados armazenados na base de dados do Projeto Genoma Café. As análises dos dados ainda se encontram na fase inicial e os resultados preliminares serão apresentados. Espera-se que os resultados finais dessas análises propiciem um melhor entendimento dos fatores genéticos envolvidos no processo fisiológico de resposta ao estresse hídrico em plantas de cafeeiro, o que possibilitará a identificação de genes com potencial utilização no melhoramento genético e biotecnológico com vistas à obtenção de plantas tolerantes à seca.

¹ Agronomia, graduando, UnB, PNP&D/Café, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Cerrados.

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

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

005 - ARRANJAMENTO DE CLONES E MINIPREPARAÇÃO DE DNA - PROTOCOLOS OTIMIZADOS (Cloning arrangement and minipreparation of DNA – optimized protocols)

Labuto, L.B.D.¹, Lopes, J.M.P.¹, Sousa, Z.A.R.², Andrade, V.N.², Borges Neto, C.R.³

A clonagem consiste na obtenção de múltiplas cópias de um gene para que se possa manipulá-lo quimicamente. A clonagem biológica de um gene consiste em inserí-lo em um vetor, que é um DNA capaz de se multiplicar dentro de um sistema vivo; um exemplo é o plasmídeo bacteriano. Os plasmídeos são utilizados em biologia molecular como vetor de clonagem. O DNA do genoma do doador é cortado em fragmentos, contendo um ou vários genes e permite que estes fragmentos sejam inseridos individualmente nos plasmídeos. Para a amplificação do DNA recombinante, introduz-se o plasmídeo em uma linhagem de bactéria (transformação bacteriana). Uma vez na célula hospedeira, o vetor irá se replicar de modo normal, mas agora que o DNA do doador é parte de seu comprimento, ele se replica automaticamente junto com o vetor. Desta forma cada plasmídeo recombinante que entra na célula irá formar múltiplas cópias de si próprio. Ocorrem muitos ciclos de multiplicação celular e os vetores recombinantes sofrem por novos ciclos de replicação. A Biologia Molecular dispõem de técnicas que viabilizam a remoção dos plasmídeos, que contenham os genes clonados das células bacterianas, para a realização de alguns procedimentos. O arranjo de clones é o primeiro passo para os procedimentos de minipreparação, consiste, basicamente em organizar em placas de cultura permanente as colônias bacterianas transformadas. A minipreparação de plasmídeos é uma técnica largamente utilizada, onde os mesmos são removidos das células bacterianas sem perda de qualidade. Nesta técnica, parte da cultura de bactérias transformadas é centrifugada e submetida a soluções que permitem a exposição e o armazenamento dos plasmídeos após a lise bacteriana. A Plataforma de Sequenciamento de DNA tem otimizado protocolos para aumentar a eficiência e reduzir os custos da minipreparação de DNA. Atualmente o custo do arranjo de clones é US\$ 9,32 e da minipreparação de DNA é de US\$ 37,66, inferior ao custo de prestação de serviços de outros laboratórios no Brasil e no exterior.

¹ Biologia, graduanda, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Técnica Laboratório, bolsista genoma café, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

006 - CLONAGEM E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DA REGIÃO PROMOTORA DO GENE OPAQUE-2 DE MILHETO (Cloning and physical-chemical and biological characterization of pearl millet opaque-2 promotor region)

Lima, I.L.P.¹, Gander, E.S.², Marcellino, L.H.³

O milheto, gramínea de potencial foi, até agora, pouco investigado ao nível molecular. Trata-se de uma cultura robusta, capaz de crescer em condições adversas de solo e clima, ou seja em solo ácido e é resistente à seca. Desta forma, esta espécie poderia servir como fonte de genes de interesse para o uso em programas de melhoramento de gramíneas de alto valor agrônômico, tais como o próprio milheto, arroz, milho etc. Recentemente foi identificado, no laboratório, um gene potencialmente regulador da expressão de prolaminas de sementes. Este gene tem todas características de um gene do tipo b-ZIP, mais exatamente com o opaque-2 de milho. Experimentos preliminares indicaram que este gene é transcrito em sementes nos estágios iniciais de desenvolvimento. Para compreender o padrão de expressão deste gene, neste trabalho passou-se a caracterização da região promotora. Para tal foi clonado um fragmento de cerca de 500 pb, utilizando a técnica de PCR inverso. A análise da seqüência de DNA deste fragmento revelou a presença de diversos motivos, como o "prolamin box", potencialmente envolvidos na regulação da expressão do próprio gene.

¹ Biologia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

007 - CO-CULTURA E TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE DE *Brachiaria brizantha* A *Agrobacterium tumefaciens* (Coculture and susceptibility test of *Brachiaria brizantha* to *Agrobacterium tumefaciens*)

Pires, M.V.V.¹, Cabral, G. B.², Lacerda, A. L.³, Dusi, D. A.⁴, Carneiro, V.T.C.⁵

Brachiaria é um gênero de gramíneas, nativo da África, cultivadas em uma área de aproximadamente 40 milhões de ha. Esta forrageira apresenta plantas de modo de reprodução sexual e assexual, por apomixia. Na apomixia as plantas geradas são idênticas à planta-mãe, ou seja, ocorre uma clonagem através de sementes, ocasionando uma baixa variabilidade genética. Uma grande demanda do programa de melhoramento genético desta forrageira é viabilizar a introdução de variabilidade por técnicas de transformação genética. O objetivo deste trabalho foi testar o potencial de uso da *A. tumefaciens* como vetor de transformação genética através de teste de susceptibilidade da planta a cepas selvagens da bactéria, uma vez que braquiária é uma monocotiledônea, não sendo, portanto, um hospedeiro natural desta bactéria. *Brachiaria brizantha* acesso sexual (BRA 00274) e acesso apomítico (BRA 000591) foram introduzidos *in vitro* a partir de gemas axilares de plantas cultivadas no campo. As plantas cultivadas *in vitro* foram posteriormente, inoculadas com seis cepas de *A. tumefaciens* (Ach5, A281, Bo542, B6, 82139 e C58) para observação de sintomas da infecção. Paralelamente, foram realizadas co-culturas utilizando meristemas de plantas *in vitro* e calos embriogênicos oriundos de sementes do acesso apomítico com as cepas EHA 105 pCAMBIA 1301 e LBA 4404 pTOK 233. Calos embriogênicos estão sendo cultivados em meio de regeneração na presença de agente seletivo.

¹ Agronomia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Bióloga, B.Sc.

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

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

008 - CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS DE cDNA DE OVÁRIO DE *Brachiaria brizantha* APOMÍTICA E SEXUAL NA MEGAESPOROGÊNESE E MEGAGAMETOGÊNESE (Construction of cDNA library from ovary tissues of apomictic and sexual *Brachiaria brizantha*)

Silveira, E. D.¹, Carneiro, V. T. C.²

A apomixia é o modo de reprodução assexual em plantas, caracterizado pela formação da semente sem a fertilização. Assim, o embrião desenvolve-se sem necessidade de fecundação pelo gameta masculino, formando uma planta geneticamente idêntica à planta mãe. A apomixia está relacionada com um desenvolvimento diferenciado do gametófito feminino em relação ao sexual, que dará origem ao embrião maduro. Para que se possa entender os fatores responsáveis pela apomixia, é importante um estudo detalhado dos mecanismos moleculares envolvidos na diferenciação e desenvolvimento do megagametófito, tanto em espécies sexuais quanto apomíticas. Em *Brachiaria brizantha* (*Poaceae*), o modo de reprodução apomítico apospórico é predominante e dos 275 acessos já caracterizados apenas um é sexual. Os diferentes estágios de maturação do saco embrionário apomítico e sexual foram caracterizados como: estágios I e II, relacionados à megaesporogênese, III e IV, relacionados a megagametogênese, anteriores à antese. Visando a obtenção de sequências específicas dos diferentes estágios de diferenciação do megagametófito apomítico, foram construídas bibliotecas de cDNA de ovário de *B. brizantha* apomítica e sexual em dois momentos distintos do desenvolvimento: megaesporogênese, estágio I e II, e megagametogênese estágio IV. Para construção dessas bibliotecas, foi extraído RNA total dos ovários, previamente identificados de acordo com o estágio de desenvolvimento. Após a extração do RNA total, o polyA + foi isolado com o kit Dynabeads[®] Oligo(dT)₂₅. À partir do polyA +, foram construídas as 4 bibliotecas utilizando o Kit SMART cDNA Library Construction Kit da Clontech. Após a obtenção dos cDNAs, estes foram ligados no vetor plasmial TriPLEX2. *E. coli* XL 1Blue foi transformada com essa ligação por eletroporação. Apenas a biblioteca estágio I e II apomítica foi titulada. Para isso, 1/20 V da cultura foi plaqueado em meio LB sólido contendo ampicilina (100ug/mL) e a titulação foi de $1,2 \times 10^8$ cfu/mL. Com a construção de uma biblioteca, além da triagem de cDNAs diferenciais, podemos também gerar um banco de dados através do seqüenciamento dos clones obtidos, possibilitando análise de função de outros genes envolvidos no desenvolvimento do ovário.

¹ Bióloga, mestranda, UnB-CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

009 - CONSTRUÇÃO DE VETORES PARA BOMBARDEAMENTO DE *Coffea arabica* E *Coffea canephora* (Construction of vectors to *Coffea arabica* and *Coffea canephora* bombardment)

Barbosa, M.F.F.¹, Vianna, G.R.², Machado, F.R.B.¹, Paixão, A.L.D.³, Soares, F.Q.⁴, Grossi-de-Sá, M.F.⁴, Barros, E.V.S.A.⁵

O café é o mais tradicional produto de exportação brasileiro, mas apesar disso, a cafeicultura brasileira sofre enormes prejuízos causados por pragas e doenças. A broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, constitui uma das principais pragas do café, atacando as espécies *Coffea canephora* e *Coffea arabica*. O melhoramento tradicional de plantas perenes para obtenção de resistência é um processo bastante demorado, além do que a base genética do café é considerada estreita. A transformação genética destas espécies, utilizando vetores contendo um gene de interesse, pode levar a resultados mais rápidos na obtenção de plantas resistentes. O gene da α -AI 1, retirado do feijão comum, é um inibidor natural das amilases digestivas da broca-do-café. Serão utilizadas nos experimentos de transformação, opções de construções variando: terminador, promotor tecido específico e gene de seleção na planta. Neste trabalho, são descritas as construções de dois vetores para inserção de diferentes terminadores de transcrição no vetor pTA2, que contém o gene estrutural da α AI 1 sob controle do promotor da fitohemaglutinina. O terminador OCST (650pb) da octopina sintase foi isolado do plasmídeo pMD4 e o PHAt (3.500pb), da própria fitomaglutinina, do plasmídeo Puc18/PHAt através de digestão com as enzimas XbaI e EcoRI. Posteriormente os fragmentos correspondentes ao vetor e os terminadores foram isolados através do kit Wizard SV Gel, ligados ao pTA2 tratado com as mesmas enzimas e transformados em *E.coli*. Foram obtidos os vetores p α AI1tocs e p α AI1tpha, contendo os terminadores da octopina e fitohemaglutinina, respectivamente. O mapa de restrição das construções foi confirmado e os vetores foram então amplificados para o co-bombardamento, com vetores da série pCAMBIA, de calos embriogênicos tanto de *C. canephora* quanto *C. arabica*.

¹ Biologia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

010 - CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA LINHAGEM CELULAR ESTÁVEL, UFL-AG-PAC, CONTENDO O GENE INIBIDOR DE APOPTOSE *iap-3* DE *Orgyia pseudotsugata* nucleopolyhedrovirus (OpMNPV) [Construction and characterization of a stable cell line, UFL-AG-PAC, containing the apoptosis inhibitor gene *iap-3* of *Orgyia pseudotsugata* nucleopolyhedrovirus (OpMNPV)]

Andrade, M.A.¹, Ribeiro, B.M.², Castro, M.E.B.³

Os baculovírus são sistemas de expressão heterólogos, que podem atingir elevados níveis de expressão de proteínas recombinantes em células de insetos. Essa expressão, no entanto, é transiente e tardia nas células infectadas. Por outro lado, células estavelmente transformadas podem produzir o mesmo nível de proteína heteróloga, com a vantagem de a expressão ser contínua, o processamento mais rápido e eficiente do que células infectadas por baculovírus. Com base nisto, células de *Anticarsia gemmatalis* (UFL-AG-286) foram transformadas e então caracterizadas com o objetivo de obtenção de altos níveis de expressão de genes anti-apoptóticos de baculovírus. A linhagem celular estável construída UFL-AG-PAC foi obtida da transfecção pelo uso do plasmídeo pBSprAglE1OplAPIE1pac,, que contém um gene de resistência à puomicina, sob comando do promotor do gene *ie-1* de *Autographa californica* MNPV (AcMNPV), e o gene anti-apoptótico *iap-3* de *Orgyia pseudotsugata* MNPV (OpMNPV), sob comando do promotor do gene *ie-1* de *A. gemmatalis* MNPV (pAglE1). O gene *pac* foi usado como marca de seleção para identificação da linhagem celular estável. A confirmação da inserção do gene *iap* no genoma das células foi feita por meio de uma reação de PCR, utilizando primers específicos para o gene *iap-3* de OpMNPV. Células estáveis (UFL-AG-PAC) e células intactas (UFL-AG-286) foram, então, infectadas com o vírus mutante, vApAg (derivado de AgMNPV e capaz de induzir apoptose em células UFL-AG-286) e o vírus vp35D (derivado de AcMNPV tendo uma deleção no gene anti-apoptótico *p35*). A resistência à apoptose foi verificada pela análise, por microscopia de luz, das células infectadas a 24, 48 e 72 horas e pela fragmentação de DNA total detectada por eletroforese em gel de agarose 1,5%. Os passos necessários para construção de células estáveis foram realizados com sucesso e a inserção do gene *iap* no genoma celular foi confirmada por PCR. O índice de resistência das células estáveis à apoptose, UFL-AG-PAC, foi consideravelmente maior do que o das células utilizadas como controle. Não foi detectada fragmentação de DNA de células que continham o gene *iap-3* (UFL-AG-PAC), mostrando resistência ao estímulo apoptótico aplicado, enquanto que em células não transformadas (UFL-AG-286) verificou-se completa degradação do DNA analisado. Estes resultados indicam que a expressão do gene parece ser contínua, implicando que essas células poderão ser utilizadas como hospedeiras para baculovírus recombinantes contendo genes heterólogos de interesse, com a finalidade de maior expressão de proteínas heterólogas. Em continuidade a estes estudos, estão sendo realizados experimentos de expressão de genes virais monitorada pelo uso de RT-PCR (reverse transcription-PCR).

¹ Biologia, graduanda, UnB, PIBIC-CNPq.

² Biólogo, Ph.D., UnB.

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

011 - CULTIVO DE LINHAGENS CELULARES CLONES TRANSFECTADAS EM MDBK PARA ESTUDOS DO TRANSGENE (Cultive of transfected MDBK clones cell lines for transgene studies)

Lisauskas, S.¹, Rumpf, R.², Rech, E.L.³, Aragão, F.J.L.³

A transferência de genes exógenos em células eucarióticas, em particular células mamíferas, torna-se essencial para abertura de novas possibilidades na obtenção de animais transgênicos. Linhagens celulares transfetadas podem ser usadas como fontes doadoras de núcleos para transferência nuclear, expressando proteínas recombinantes de importância comercial e farmacêutica. A geração e caracterização de culturas de linhagens celulares transfetadas estáveis é dependente de um sistema eficiente de transferência gênica. Neste estudo, obteve-se linhagens celulares transgênicas estáveis provenientes de MDBK (Madin Darby Bovine Kidney), a partir de uma única célula. A cultura de MDBK foi previamente expandida em meio de cultura RPMI 1640 (Gibco), suplementado com 10% de soro fetal bovino. As células foram plaqueadas na concentração de 3×10^5 / mL em uma placa de 24 poços, e transfetadas com o vetor plasmidial pCneo- β , contendo os genes *neo* (neomicina) e β -gal (β -galactosidase) sob controle do promotor CMV (citomegalovírus), utilizando o reagente Lipofectamine™ (Invitrogen), de acordo com o protocolo estabelecido pelo fabricante. Vinte dias após a transfecção e seleção com o antibiótico geneticina (G418: 400 μ g/ml), trinta clones transgênicos estáveis foram isolados em placas 96 poços e expandidos até a quinta passagem em garrafas de cultivo celular. Durante cada passagem, as células foram testadas para a expressão estável de β -galactosidase, avaliadas por ensaios histoquímicos, após sua fixação em formaldeído 37% e glutaraldeído 25%. Para este propósito, as células clones foram plaqueadas em concentração de confluência (90-95%) em placa de 24 poços, selecionadas em meio de cultura (RPMI 1640) acrescido do antibiótico G418 durante 48 horas. A partir de então, foram fixadas, e incubadas com 5-bromo-4-cloro-3-indoil- β -D-galactopiranosose (X-gal) em concentração de 20 mg/mL por 48 horas. Os resultados demonstraram que todos os clones continham integração estável do DNA exógeno, por apresentarem expressão estável do gene da β -galactosidase. Estudos serão conduzidos no sentido de localização dos genes integrados no genoma bovino e caracterização destes locais de integração. A correlação entre a posição de integração e o nível de expressão de genes exógenos é uma informação fundamental no sentido de desenvolver sistemas eficientes de integração direcionada, a fim de se obter expressões estáveis e em altos níveis desejáveis.

¹ Med. Vet., mestranda, UnB, CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Med. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

012 - DETERMINAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS A PROMOTORES PÓLEN-ESPECÍFICOS DE *Arabidopsis thaliana* NA PRESENÇA DA PROTEÍNA RoIA E DO PADRÃO DE EXPRESSÃO DESSES PROMOTORES EM *Nicotiana tabacum* (Determination of the expression of *Arabidopsis thaliana* pollen-specific promoters associated genes in the presence of Rol A and expression pattern of these promoters in *Nicotiana tabacum*)

Thees, M.F.R.S.¹, Carneiro, M.²

A expressão do gene *rolA* de *Agrobacterium rhizogenes* em plantas é conhecida por provocar diversas modificações fenotípicas, como enrugamento da lâmina foliar, encurtamento dos entrenós, empobrecimento das raízes, retardo na floração e modificações no conteúdo hormonal. Estudos prévios identificaram, no genoma de *Arabidopsis thaliana*, 13 fragmentos de promotores com afinidade pela proteína RolA. Dois desses fragmentos, 1.38 e 2.5 dos cromossomos 3 e 5, respectivamente, possuem atividade pólen-específica. Analisando seqüências adjacentes a esses fragmentos, possíveis genes regulados por tais promotores foram identificados. Porém, ainda não se sabe se tais genes são expressos, onde e quando são expressos. Este trabalho visa, portanto, determinar se os genes putativos são expressos, se a proteína RolA de fato influencia nessa expressão e o quanto tais genes contribuem para o fenótipo de uma “planta RolA”; e determinar o padrão de expressão dos promotores completos, etapa que já teve início com a amplificação dos promotores completos (e o 5' UTR) por PCR e clonagem do gene GUS (gene repórter) ao pBluescript. Os promotores amplificados serão ligados ao pBS-GUS e a construção introduzida em plantas de tabaco, para avaliação espacial de sua expressão. Serão amplificados também fragmentos dos genes putativos a serem utilizados como sonda em um *Northern blotting* com RNA de plantas RolA e *wt*. Este trabalho possibilitará o esclarecimento de aspectos do desenvolvimento de plantas associados à fase pós-embrionária, permitindo que tais genes sejam manipulados em benefício de um melhor aproveitamento do espaço disponível para a agricultura, assim como a indução de características desejáveis a plantas comercialmente importantes. A obtenção de novos promotores também será útil na elaboração de estratégias biotecnológicas para a macho-esterilidade, além de baixar o custo de projetos de pesquisa em andamento no país que necessitem de promotores para genes de plantas.

¹ Biologia, graduanda, UnB, CNPq/PIBIC, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

013 - “DNA SHUFFLING” DE INIBIDORES DE α -AMILASE (DNA shuffling of α -amilase inhibitors)

Castro, F.C.¹, Grossi-de -Sá, M.F.², Da Silva, M.C.M.²

As duas formas ativas de inibidores de α -amilase (α Als) em *Phaseolus vulgaris*, α -AI-1 e α -AI-2, mostram diferentes especificidades para α -amilases. *Zabrotes subfasciatus* (ZSA) é inibido por α -AI-2, mas não por α -AI-1. Em contraste, a α -amilase pancreática de porco (PPA) é inibida por α -AI-1, mas não por α -AI-2. O entendimento das bases moleculares envolvidas nesta especificidade é o passo mais importante para desenhar proteínas com atividade inseticida distintas. Quatro mutantes de α -AI-2 foram criados usando mutagênese sítio dirigida com base nos dados dos modelos estruturais, previamente simulados (Da Silva e cols. *Protein Eng*, 13:167-177, 2000). Os estudos computacionais com os inibidores mutantes mostraram tamanho e complexidade de aminoácidos incomuns na interface dos complexos α -amilase-inibidor (Da Silva e cols. *Protein Eng*, 13:167-177, 2000). As análises bioquímicas das quatro proteínas recombinantes mostraram a importância de duas alças principais de interação na determinação da especificidade. Contudo as mutações realizadas não foram suficientes para a elucidação completa da questão, sugerindo a necessidade de mutantes adicionais contendo outras mutações na região de interação. DNA *shuffling* é uma ferramenta poderosa para gerar grande diversidade de transformantes. Nesse método um gene ou uma família de genes homólogos é submetido a mutações randômicas e posteriormente, recombinados ao acaso. Usou-se esta metodologia com os genes dos α -AI-1 e α -AI-2 para produzir um grande número de inibidores recombinantes. A mistura de mutantes foi clonada em vetor de expressão em fagos e transformada com *E. coli* para análises das mutações em micro escala. As análises de seqüências de alguns clones mostraram a eficiência do método. Esta mistura de recombinantes será utilizada para confecção de uma biblioteca de expressão em fagos. A seleção randômica de genes recombinantes com diferentes espectros de atividade poderá indicar aminoácidos essenciais para uma determinada atividade α -AI –amilase.

¹ Biologia, graduanda, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

014 - ESTABELECIMENTO DE UM PROTOCOLO PARA TRANSFORMAÇÃO DE CULTIVARES BRASILEIRAS DE ALGODOEIRO (Establishment of a novel transformation protocol for brazilian cotton varieties)

Evangelista, I.B.R.¹, Lacerda, H.M.², Almeida, S.D.S.³, Oliveira-Neto, O.B.⁴, Paes, N.S.⁵, Grossi-de-Sá, M.F.⁶

A cultura do algodoeiro está classificada entre as dez principais culturas agrícolas do Brasil, ocupando o sexto lugar mundial em superfície cultivada. No Brasil, o melhoramento genético do algodoeiro vem sendo utilizado para o desenvolvimento de variedades mais adaptadas às diferentes regiões do país, em busca de maior produtividade e resistência a pragas e doenças. Os danos causados por insetos-praga podem variar de uma região para outra, podendo o seu controle chegar até 25% do custo da produção. Entretanto, o uso do melhoramento limita-se ao intercâmbio genético dentro e entre espécies do mesmo gênero. Com o advento da engenharia genética e a cultura de tecidos tornou-se possível a transferência de características importantes de uma espécie para outra, visando a obtenção de plantas resistentes às pragas agrícolas. O algodão é notoriamente uma das espécies mais recalcitrantes devido, principalmente, a sua baixa capacidade regenerativa. Devido a isto, torna-se essencial o desenvolvimento de um protocolo de regeneração independente do genótipo. Os métodos de transformação mais utilizados para o algodoeiro são a transformação via *Agrobacterium tumefaciens* e a biobalística. Neste trabalho, escolheu-se a transformação via *Agrobacterium* utilizando o sistema de regeneração por organogênese direta. O objetivo deste trabalho consistiu na adaptação do protocolo estabelecido por Satyavathi *et al.* (2002) às variedades nacionais de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). Inicialmente foram utilizadas sementes da cultivar BRS cedro, as quais após a desinfestação foram germinadas em meio MS (Murashige e Skoog, 1962), contendo 20g/L sacarose e 0.6% ágar, pH 5.8. Cinco dias após a germinação os epicótilos (1-2cm) foram pré-cultivados no meio MS0 (sais de MS, vitaminas B5, 30g/L glicose e 2g/L "phytagel", pH 5.8), durante 2 dias. Os explantes foram, então, cortados um pouco mais e co-cultivados com o *A. tumefaciens*, cepa LBA4404 (OD 0.6-1), durante 2 dias no escuro. Em seguida foram lavados em água estéril e transferidos para o meio de indução de brotos (MS1): MS, vit.B5, 30g/L glicose, 0.1mg/L ANA, 0.1mg/L BAP, 75mg/L canamicina, 400mg/L cefotaxima, 0.2g/L "phytagel", permanecendo neste meio por aproximadamente 30 dias. A etapa seguinte consistiu na proliferação e alongação de brotos no meio: ½MS, 0.3m/L AIB, 15g/L sac, 75 mg/L Kam, durante 60 dias e enraizamento após 20-30 dias. A otimização deste protocolo possibilitará a introdução de genes visando a resistência a insetos praga.

¹ Agronomia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biologia, graduando, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

015 - EXPRESSÃO DA REGIÃO PRO DA PROTEINASE CISTEÍNICA CPAO DE *Acanthoscelides obtectus* E ANÁLISE DA ATIVIDADE INIBITÓRIA SOBRE A PROTEÍNA COGNATA (Expression of the PRO region of CPAO cysteine proteinase from *Acanthoscelides obtectus* and analysis of its inhibitory activity over the cognate protein)

Del Sarto, R.P.¹, Silva, F.B.², Marra, B.M.³, Monteiro, A.C.S.⁴, Batista, J.A.N.⁵, Oliveira Neto, O.B.⁶, Paes, N. S.⁷, Grossi-de-Sá, M.F.⁸

O caruncho *Acanthoscelides obtectus* é uma importante praga do feijoeiro em campos comerciais e no armazenamento. O inseto adulto oviposita em vagens verdes ou entre os feijões armazenados e a larva recém eclodida perfura o feijão para completar seu desenvolvimento. Este ataque impossibilita a comercialização do feijão por ser impalatável e reduzir sua capacidade germinativa. A maioria das proteinases do *A. obtectus* são da classe cisteínica. Proteinases cisteínicas são expressas como zimógenos que compreendem a região pré, pro e madura. As principais funções da região pro são contribuir com o dobramento e inibir a atividade da enzima madura. Pela clivagem proteolítica da região pro (por reações intra ou intermolecular) as proteinases cisteínicas são ativadas. Como as enzimas proteolíticas são essenciais no processo de alimentação desta praga, elas são alvos potenciais no seu controle. O objetivo foi expressar e avaliar a atividade inibitória da região-pro da proteinase cisteínica CPAO de *A. obtectus* sobre a enzima cognata. O gene da proteinase cisteínica CPAO foi amplificado pela combinação das técnicas de RT-PCR, 5' e 3' RACE a partir de RNA total extraído do intestino de larvas. A região pro foi subclonada no vetor pQE40 (QIAGEN®) e a pro-madura no vetor pET 102D TOPO® (Invitrogen). Tanto a região pro (PCPAO) como a pro-madura foram expressas em sistema heterólogo de *Escherichia coli*. A PCPAO foi purificada em cromatografia de afinidade em resina de Ni-NTA. Ensaios de atividade inibitória utilizando substratos fluorogênicos foram conduzidos utilizando a PCPAO e a CPAO. A atividade proteolítica da CPAO recombinante foi inibida em 95% pela sua região pro. Como próximo passo, estão sendo realizados bioensaios para avaliar o potencial da PCPAO no controle deste inseto-praga.

¹ Biologia, graduando, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Química, doutoranda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., mestrando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Farmacêutica, Ph.D., UFRJ.

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

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

⁷ Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

016 - EXPRESSÃO DO GENE *GUS* EM DIFERENTES EXPLANTES DE *Brachiaria brizantha* CV. MARANDU (Expression of *gus* gene in different explantes of *Brachiaria brizantha*)

Pires, M.V.V.¹, Cabral, G.B.², Lacerda, A.L.³, Rodrigues, J.C.M.⁴, Carneiro, V.T.C.⁵

A transformação genética de plantas é uma das técnicas de engenharia genética usada como ferramenta para o melhoramento genético que amplia as possibilidades de introdução de novas características. Em plantas apomíticas, ou seja, de reprodução assexual por sementes, esta técnica viabiliza 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 seja, como fornecedores de pólen para fertilização de plantas sexuais. Visando otimizar a metodologia de transformação genética de braquiária por biobalística, desenvolvida no laboratório, foi testado o bombardeamento de calos embriogênicos e de calos friáveis de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Os calos foram obtidos a partir de embriões de sementes maduras em meios de indução de embriogênese somática, M1 ou M1.2, e após 30 dias, bombardeados e transferidos para o meio MS1 ou MS2, respectivamente. 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 psi para a pressão de gás hélio e a distância da placa contendo os explantes em relação a membrana carreadora foi 6 cm. A eficiência do bombardeamento foi analisada nos calos friáveis e embriogênicos pela contagem de pontos ou áreas azuis obtidos após incubação dos explantes bombardeados em solução de X-Glu. Foram obtidos vários brotos nos meios de regeneração MS1 ou MS2, e estão sendo cultivados na presença de higromicina.

¹ Eng. Agr., graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

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

017 - GENE DA DNA POLIMERASE DE *Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus E SUAS RELAÇÕES FILOGENÉTICAS (*Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus DNA polymerase gene and its phylogenetic relationship)

Dalmolin, C.C.¹, da Silva, F.R.², Castro, M.E.B.³

Dentre os vírus entomopatogênicos pertencentes a família *Baculoviridae*, pode-se destacar o *Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) que devido ao seu potencial inseticida vem sendo utilizado com sucesso para o controle da lagarta *A. gemmatalis*, principal praga da soja no Brasil. Entretanto, atualmente pouco se conhece sobre os mecanismos de replicação genômica do AgMNPV e suas relações filogenéticas com o hospedeiro. Os baculovirus caracterizam-se por um complexo ciclo de replicação, no qual a DNA polimerase viral assume um papel significativo na determinação do nível de replicação. Visando compreender mais sobre a estrutura genômica do AgMNPV e suas relações filogenéticas, o gene da DNA polimerase (DNApol) foi identificado, sequenciado e com base nesta seqüência a árvore filogenética de AgMNPV foi reconstruída. A localização do gene foi determinada por hibridização Southern blot, utilizando uma sonda preparada a partir do gene da DNApol de *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus, indicando a presença do gene na região que corresponde aos fragmentos *Hind*III-Q e *Hind*III-U de uma biblioteca genômica de AgMNPV/*Hind*III. Como esperado, a análise da seqüência de DNA revelou alta identidade com o gene da DNApol de *Orgyia pseudotsugata* nucleopolyhedrovirus, *Choristoneura fumiferana* nucleopolyhedrovirus e *Epiphyas postvittana* nucleopolyhedrovirus. A árvore filogenética de 23 baculovirus foi reconstruída usando o algoritmo de "neighbor-joining", revelando a presença de quatro principais grupos representados pelos gêneros *Granulovirus*, *Nucleopolyhedrovirus* de Lepidoptera, grupo I e grupo II e *Nucleopolyhedrovirus* de Diptera. Segundo estes resultados, AgMNPV pertence ao grupo I dos *Nucleopolyhedrovirus* de Lepidoptera, estando mais proximamente relacionado com *Orgyia pseudotsugata* NPV, *Choristoneura fumiferana* NPV e *Epiphyas postvittana* NPV.

¹ Bióloga, mestranda, UnB, CAPES, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

018 - IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE SEQUÊNCIAS NBS-RGA DE *Coffea canephora* (Identification and analysis of *Coffea canephora* NBS-RGA sequences)

Machado, F.R.B.¹, Barros, E.V.S.A.², Fragoso, R.R.³, Barbosa, M.F.F.⁴, Bertioli, D.⁵, Grossi-de-Sá, M.F.⁶

O Brasil é o maior produtor mundial de café, gerando uma média de 1,7 bilhões de dólares anuais em divisas nos últimos 10 anos. Contudo, uma das principais dificuldades agrônômicas do plantio de café é a presença dos nematóides nas lavouras brasileiras. Para o cafeeiro, um dos gêneros mais danosos é o *Meloidogyne* spp. (nematóide das galhas) que vem afetando as plantações e inviabilizando o sistema de produção em áreas infestadas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é estudar RGAs (Resistance Genes Analogues) de uma linhagem da espécie *Coffea canephora* resistente ao *M. paranaensis*, contendo os motivos conservados NBS e LRR, que são descritos como relacionados à expressão de fatores protetores contra nematóides. “Primers” degenerados desenhados a partir de motivos conservados do domínio NBS são usados para amplificação das seqüências de interesse via PCR (Polimerase Chain Reaction). Quatro pares de “primers” (A, X, Y e Z) foram utilizados para amplificar domínios NBS de RGAs do DNA de um genótipo *C. canephora* via PCR. Em seguida fez-se o isolamento dos fragmentos gerados, a inserção destes no vetor pGEM-T easy e subsequente transformação em *E. coli* por eletroporação. Posteriormente, DNAs plasmidiais de 24 clones dos respectivos fragmentos de cada par de “primers” foram sequenciados. As seqüências obtidas foram analisadas através dos programas Blast-x e Clustal para se verificar a homologia com seqüências depositadas no banco de dados de várias espécies de plantas e de café. Os resultados indicam que foram isoladas seqüências muito próximas aos RGAs descritos na literatura, inclusive de genes que já foram demonstrados como relacionados à resistência aos nematóides (*Mil-2* de Tomate – AF 039682). Assim, estas seqüências poderão futuramente ser utilizadas. Os RGAs obtidos poderão ser utilizados na obtenção de marcadores moleculares ou na transformação genética para o melhoramento genético de café, com a finalidade futura de desenvolver genótipos elite de *C. arabica* resistentes aos nematóides.

¹ Biologia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Biólogo, doutorando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Biologia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Bióloga, Ph.D., Universidade Católica de Brasília.

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

019 - ISOLAMENTO DE RGAs (ANÁLOGOS A GENES DE RESISTÊNCIA) DE UMA BIBLIOTECA GENÔMICA DE *Arachis* SILVESTRE (Search for RGAs in a genomic library of wild *Arachis*)

Proite, K.¹, Menezes, L.A.², Leal-Bertioli, S.C.M.³, Bertioli, D.⁴, Guimarães, P.M.⁵

Um dos principais objetivos do melhoramento genético é a incorporação de genes de resistência a doenças e pragas em cultivares de interesse. As espécies silvestres de amendoim têm sido usadas como fonte natural de genes de resistência. A análise de seqüências de genes de resistência já clonados, revelou vários domínios conservados. Tem-se usado tal conservação para amplificar seqüências de diferentes genomas análogas a genes de resistência (RGAs). Em várias espécies, os genes de resistência têm sido descritos em famílias gênicas e ocorrem em tandem. Desta forma, o isolamento de um RGA poderá permitir a identificação de *loci* de resistências a doenças. Estes RGAs podem então ser usados como marcadores genéticos ligados aos genes de resistência. Foram isoladas 33 regiões análogas a genes de resistência de quatro espécies silvestres de *Arachis* amplificadas através da técnica de PCR com *primers* degenerados. O sequenciamento mostrou analogias com genes de resistência funcionais. Neste trabalho, é mostrada a construção de uma biblioteca genômica de uma espécie silvestre de *Arachis*, *A. stenosperma*, acesso V10309. Este acesso apresentou em diversos bioensaios resistência aos fungos foliares, *Cercospora arachidicola*, *Cercosporidium personatum* e *Phoma arachidicola* e aos nematóides da galha, *Meloidogyne javanica* raça 4, *M. hapla*, *M. arenaria* raças 1 e 2. O DNA genômico foi parcialmente digerido com a enzima de restrição *Sau3AI* e os fragmentos foram clonados no bacteriófago λ através do Lambda Dash II kit. Em um primeiro *screening* parcial da biblioteca (200 000 clones), utilizou-se como sonda dois conjuntos, cada um com cinco seqüências de RGAs, isoladas das diferentes espécies de *Arachis*. Foram isolados cerca de 60 clones positivos, os quais estão sendo submetidos a um segundo *screening* para identificação da sonda específica. Os clones de RGAs isolados terão suas extremidades sequenciadas e serão utilizados como sondas em experimentos de FISH para o mapeamento físico e transformados em marcadores AFLP para o mapeamento genético. Além disso, estes potenciais genes de resistência serão caracterizados quanto a sua expressão e funcionalidade.

¹ Bióloga, doutoranda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Bióloga, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

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

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

020 - OBTENÇÃO DE EMBRIÕES DE *Coffea canephora* TRANSFORMADOS ATRAVÉS DO CO-CULTIVO COM *Agrobacterium* (Transformed *Coffea canephora* embryos obtained through via the *Agrobacterium* method)

Paixão, A.L.D.¹, Cruz, A.R.R.², Machado, F.R.B.³, Barbosa, M.F.F.⁴, Soares, F.Q.¹, Cabral G.B.⁵, Barros, E.V.S.A.²

O sistema cafeeiro brasileiro é um dos mais importantes complexos agroindustriais do país, abrangendo aproximadamente 300 mil unidades produtivas que geram 7 milhões de empregos diretos e indiretos. Entretanto, a cafeicultura brasileira sofre enormes prejuízos causados pela Broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) que ataca as espécies de *C. canephora* e *C. arabica* em todos os estádios de maturação. A busca por novos materiais genéticos que respondam às necessidades de controle de pragas tem sido um constante desafio para os melhoristas. A transformação genética surge como uma nova ferramenta do melhoramento do cafeeiro permitindo a introdução de genes de interesse em um menor espaço de tempo. Este trabalho apresenta os resultados do estabelecimento de um protocolo de co-cultivo de massa embriogênica de *C. canephora*. As folhas foram inoculadas em meio de crescimento C com 10 μ M 2,4D, 5 μ M 2iP, 5 μ M de AIB, 2% de sacarose (denominado C10) de onde foram obtidos calos friáveis. Estes calos foram co-cultivados com a linhagem de *A. tumefaciens* EHA 105 contendo vetor binário pCAMBIA 3301. Os calos permaneceram em co-cultivo sólido por 4 dias, sendo então transferidos para meio C10 sem seleção para células vegetais. Posteriormente o material foi selecionado em C10 contendo 10 μ M de glufosinato de amônio (PPT). Após 2 meses de sub-cultivo obtivemos calos embriogênicos expressando o gene indicador *gus*. Os calos foram transferidos para meio líquido de regeneração "R" + PPT 10 μ M sob agitação na luz. Após 2 meses de cultivo, obtivemos embriões de *C. canephora* em estágio de torpedo e desenvolvendo cotilédones que expressam o gene *gus*. Estes resultados indicam o estabelecimento de uma metodologia de transformação genética de *C. canephora*. O método aqui descrito já está sendo utilizado em experimentos para introdução do gene da α -A11, um inibidor natural das amilases digestivas da broca-do-café.

¹ Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Biologia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Biologia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

021 - O GENE *iap-3* DE *Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus INIBE APOPTOSE NA PRESENÇA DO VÍRUS INDUTOR vApAg (*Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus *iap-3* gene inhibits apoptosis in the presence of the vApAg inducer)

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

Espécies da família Baculoviridae possuem genes inibidores de apoptose, como o gene *iap-3* de *Anticarsia gemmatalis* multiple nucleopolyhedrovirus (AgMNPV), que permite sua replicação em células hospedeiras sem que as células sejam levadas à morte prematuramente. Esse gene já foi localizado, clonado e seqüenciado. Recentemente foi isolado um mutante de AgMNPV capaz de lisar células de *A. gemmatalis* (UFL-AG-286). Nos estudos de caracterização desse mutante (vApAg), o fragmento correspondente ao gene *iap-3* foi amplificado por PCR e a análise da seqüência mostrou a inserção de um transposon de células de *A. gemmatalis* com uma ORF com homologia de seqüência a uma ORF de transposon de células de *Trichoplusia ni*. Em continuidade, para identificar a atividade anti-apoptótica do gene *iap-3* de AgMNPV, experimentos de expressão transiente foram conduzidos na presença do vírus mutante vApAg, indutor de apoptose. Um plasmídeo recombinante (pBSplE1AglAP3) foi construído contendo o gene *iap-3* sob o controle do promotor *ie-1* de AgMNPV e usado, em diferentes concentrações, para transfecção em células UFL-AG-286; o vírus vApAg foi adicionado 24h pós-transfecção. As células transfectadas foram observadas por microscopia óptica e exibiram características morfológicas nitidamente detectáveis a 48h pós-infecção, pela presença de corpos apoptóticos ou pela presença de poliedros nos núcleos. A inibição de apoptose foi determinada pelo número de células viáveis quantificadas pela coloração com trypan blue e os níveis de atividade apoptótica nos sistemas celulares testados apresentaram redução progressiva à medida que a concentração de DNA foi aumentada. A viabilidade celular foi de 12,1%, 18,9% e 26,7% para as concentrações de 2, 5 e 7 µg de DNA; em relação a 100% de viabilidade do controle negativo (células UFL-AG-286) e 7,3% do controle positivo (células infectadas com vApAg). A inibição de apoptose também foi determinada através da análise da fragmentação do DNA internucleossomal. Células transfectadas com pBSplE1AglAP3 e infectadas com vApAg apresentaram um perfil de fragmentação menos acentuado do que o controle positivo, que apresentou um padrão típico de fragmentação causada por apoptose em altos níveis, exibindo fragmentos de tamanhos oligonucleossomais. Esses dados demonstram que o gene *iap-3* foi capaz de inibir parcialmente a apoptose em células UFL-AG-286 mesmo na presença do indutor de apoptose vApAg.

¹ Bióloga, mestranda, UnB, CAPES, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, Ph.D., UnB.

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

022 - O USO DE ANCHOR-MARKERS NA CONSTRUÇÃO DE UM MAPA GENÉTICO DE *Arachis* (*The development of a genetic map for using anchor markers*)

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

A utilização de parentes silvestres do amendoim cultivado (*Arachis hypogaea*) na busca de genes de resistência a pragas é uma importante alternativa para o desenvolvimento de variedades resistentes de amendoim, visto que *A. hypogaea* possui estreita base genética e alta suscetibilidade a doenças. Para tal, se faz necessário a construção de um mapa genético, que possibilite tanto o isolamento destes genes quanto a sua introgressão em cultivares economicamente interessantes. Espécies de *Arachis* têm genomas muito grandes. Isto dificulta a identificação e o mapeamento direto de genes de interesse. Uma outra espécie da família das leguminosas, *Lotus japonicus*, que tem um genoma bem menor, tem um mapa genético de alta resolução já disponível e os projetos de seqüenciamento de ESTs (expressed sequenced tags) e do genoma estrutural estão quase completos. Por isso, *L. japonicus* tem sido considerada uma planta modelo para todas as leguminosas, auxiliando no entendimento de outras espécies de genoma mais complexos. A comparação entre estes dois gêneros e a análise da ordem dos genes nos cromossomos possibilitará a identificação de regiões correlatas entre os dois genomas (chamada sintenia), ou seja, o mapeamento comparativo. Neste processo, são identificados marcadores moleculares comuns aos diversos genomas, chamados marcadores-âncoras. Neste trabalho, objetivou-se identificar marcadores produzidos a partir do genoma de *L. japonicus*, que também ocorrem no genoma de *Arachis*. Para tal, utilizou-se diferentes conjuntos de primers de PCR construídos a partir destes marcadores e uma população F2 de cerca de 100 indivíduos, resultante do cruzamento entre as espécies selvagens *A. duranensis* e *A. stenosperma*. Até o momento, 11 pares de primers apresentaram polimorfismo entre os parentais, e foram então, utilizados para o mapeamento da F2. Estes primers são os primeiros anchor-markers descritos entre a planta-modelo *L. japonicus* e *Arachis* spp.

¹ Eng. Florestal, mestranda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

023 - PROTOCOLO OTIMIZADO DA REAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO DE DNA (Optimized protocol of PCR sequencing reaction)

Castro, A.S.¹, Bisol, T.B.², Borges Neto, C.R.³

Uma das etapas mais caras no sequenciamento de DNA é a reação de sequenciamento. Esta reação é similar a uma reação de PCR, onde uma pequena amostra de DNA é amplificada milhares de vezes *in vitro*. São adicionados na reação de sequenciamento, os fragmentos de DNA a serem amplificados, um primer, e um kit contendo nucleotídeos livres, nucleotídeos marcados com fluorescência, e a enzima Taq polimerase. Durante a reação, o primer irá se ligar à seqüência complementar, e os nucleotídeos serão incorporados de acordo com a fita molde. Haverá tanto a incorporação dos nucleotídeos livres não marcados, como a dos nucleotídeos marcados com fluorescência. Estes nucleotídeos são chamados de nucleotídeos de terminação. Isso porque, cada vez que um nucleotídeo de terminação é incorporado, a leitura da fita molde é interrompida, gerando um fragmento de tamanho respectivo ao local onde o nucleotídeo de terminação foi incorporado. No final, serão gerados fragmentos de vários tamanhos que serão lidos por um feixe de laser num aparelho chamado de seqüenciador automático de DNA. Um dos fatores que torna o serviço de sequenciamento em larga escala bastante oneroso é o preço dos reagentes, principalmente dos kits usados na reação de sequenciamento. Neste trabalho, foram avaliados dois aspectos: a redução da concentração do kit “Big Dye Terminator” (BDT) na reação de sequenciamento e o impacto final desta redução na qualidade das seqüências e na redução dos custos. O volume de BDT recomendado pelo fabricante é de 40% do volume total da reação. Tal volume foi reduzido de 40% para 20% e 10%. Não houve diferença significativa de qualidade entre as seqüências produzidas e os custos foram reduzidos de US\$ 2,00 por reação, para US\$ 0,50 e US\$ 0,25, respectivamente. Totalizando uma economia de US\$ 168,00 e US\$ 144,00, respectivamente, por placas formato 96.

¹ Farmácia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia,

² Química, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia,

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

024 - PURIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA - PROTOCOLOS OTIMIZADOS (Purification and sequencing of DNA – optimized protocols)

Figueiredo, G.S.F.¹, Reis, A.C.de M.², Castro, A.S.³, Borges Neto, C.R.⁴

No seqüenciamento de DNA várias etapas são indispensáveis para obtenção de seqüências de qualidade. Uma delas é a purificação do DNA que tem a função de remover sais, primers, ddNTPs entre outros resíduos provenientes da reação de PCR. Anteriormente à purificação temos as etapas seguintes: transformação, onde o DNA desejado é inserido em um vetor, geralmente em plasmídeos da bactéria *E. coli*. O arranjo é a etapa que consiste na organização de clones transformados. Cada clone é distribuído em um dos 96 poços da placa de cultura permanente. A minipreparação consiste na amplificação e extração do DNA de interesse. A quantificação é um método de controle da quantidade do DNA extraído na minipreparação. A reação de PCR amplifica ainda mais o DNA e incorpora os compostos fluorescentes para posterior seqüenciamento automático. A purificação é a etapa final antes da injeção no Seqüenciador Automático ABI 3700. Após a reação, as placas de PCR que foram retiradas dos termocicladores, recebem isopropanol (65%), são seladas com adesivo resistente à álcool e invertidas três vezes, a seguir permanecem, protegidas da luz, à temperatura ambiente, durante 15 minutos, logo após são centrifugadas por 45 minutos à 3400rpm, o excesso de isopropanol é descartado e as placas invertidas em papel toalha. No passo seguinte, acrescenta-se etanol (60%) e centrifuga-se à mesma velocidade citada, por 10 minutos, novamente, descarta-se o excesso e inverte-se as placas sobre o papel toalha, esta etapa é repetida por mais uma vez. Em seguida, o excesso de etanol é removido através de um “spin” (máximo de 300 rpm) e posteriormente são submetidas à secagem em estufa (37°C) durante 15 minutos. Após a secagem as amostras são ressuspendidas em 10µL de formamida e seguem para desnaturação à temperatura de 96°C durante 5 minutos. O procedimento de purificação é de fundamental importância para preservação dos capilares do Seqüenciador Automático de DNA, aumentando a vida útil do mesmo. Além do exposto, a purificação está diretamente ligada à qualidade dos dados produzidos no seqüenciamento.

¹ Biologia, graduanda, UniCEUB, CNPq/RHAE-ITI, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biologia, graduanda, FTB, CNPq/RHAE-ITI, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Farmácia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

025 - REGENERAÇÃO DE PLANTAS DE FEIJÃO AZUKI (*Vigna angularis*) ATRAVÉS DE ORGANOGÊNESE DIRETA (Regeneration of Azuki bean plants (*Vigna angularis*) by direct organogenesis)

Costa, M.F.¹, Osório, R.², Coutinho, M.V.³, Paes, N.S.⁴, Cabral, G.B.⁵, Lima, J.N.⁶, Grossi-de-Sá, M.F.⁷

O feijão constitui uma importante fonte de alimento da população brasileira devido a riqueza de nutrientes e a fácil adaptação às mais variadas condições de clima e solo. A susceptibilidade dessa cultura ao ataque de inúmeros insetos-praga que atacam os grãos durante o período de armazenamento acumula perdas consideráveis na produção total de feijão no Brasil. Através do melhoramento genético e de técnicas de cultura de tecidos tem sido possível o desenvolvimento de cultivares resistentes a doenças e pragas. No Brasil, o feijão mais consumido pertence ao gênero *Phaseolus*. Entretanto, o seu potencial de regeneração *in vitro* e de transformação é considerado bastante limitado. A produção de feijão azuki (*Vigna angularis*) no Brasil não é significativa, porém esta espécie é menos recalcitrante à regeneração e transformação, e devido a isto o laboratório está desenvolvendo o sistema de regeneração desta espécie visando estender as mesmas condições para *Phaseolus vulgaris* e *Vigna unguiculata*, baseado em protocolo de regeneração de plantas de feijão azuki (*Vigna angularis*) de Ishimoto (2002). Sementes de feijão azuki comercial de cultivar desconhecida foram germinadas em meio MS (Murashige e Skoog, 1962) contendo a metade dos sais, 1μM 2,4D e 0,8% de ágar, e mantidas no escuro por 7 dias, seguido de 3 dias na presença de luz. Os epicótilos foram cortados em partes de aproximadamente 10 mm, e distribuídos em placas de petri contendo meio MS, 2mg/L cinetina e 0,8% agar. Os explantes foram para novas placas contendo o mesmo meio a cada 15 dias. Após os 40 dias de germinação início-se o surgimento de multibrotações, os quais são mantidos em meio de desenvolvimento (MS, 0,2mg/L ANA, 0,2mg/L GA3 e 100mg/L caseína hidrolisada) para posterior enraizamento. A eficácia deste protocolo de regeneração contribuirá para o desenvolvimento de plantas de feijão azuki resistentes aos insetos-praga de armazenamento, assim como contribuirá para os avanços no sistema de regeneração de plantas de feijão comum (*P. vulgaris*) e feijão de corda (*V. unguiculata*).

¹ Biologia, graduanda, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

⁵ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁶ Biologia, graduanda, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

026 - SUPER-EXPRESSÃO DE TRANSGENE QUE CONFERE TOLERÂNCIA A ESTRESSE HÍDRICO EM *Arabidopsis thaliana* (Over expression of transgene confers tolerance to water stress in *Arabidopsis thaliana*)

Lisboa, E.D.¹, Romano, E.²

A escassez de água é fator limitante na produção de diversas culturas agrícolas resultando em enormes quedas na produção e tendo profundas implicações socio-econômicas. Por outro lado, a super expressão de BiP (proteína de ligação) em tabaco conferiu alta tolerância quando submetida a estresse hídrico, demonstrando o potencial deste gene para o desenvolvimento de plantas transgênicas tolerantes à seca em culturas importantes para o agronegócio e agricultura familiar. No entanto, os mecanismos moleculares pelos quais BIP confere tolerância não são conhecidos. Por outro lado, o uso da transgenia tem levantado uma série de questões a respeito de possíveis efeitos pleiotrópicos que podem resultar da expressão de transgenes. Para entender os mecanismos moleculares envolvidos na super-expressão do gene BIP e detectar possíveis efeitos pleiotrópicos advindos da expressão de BIP, plantas modelo (*Arabidopsis thaliana*) foram transformadas com este gene através do método de infiltração por botão floral mediado por *Agrobacterium tumefaciens*. As plantas submetidas ao tratamento de transformação foram autopolinizadas em casa de vegetação e as sementes resultantes foram coletadas, esterilizadas e semeadas em placas de Petri contendo meio MS acrescido de antibiótico (fator de seleção). Os possíveis transformantes foram transferidos para meio de enraizamento e aclimatados. O gene nptII (resistência ao antibiótico) foi detectado através de reação de PCR utilizando DNA genômico das plantas confirmando que vários eventos transgênicos foram obtidos. Os transformantes agora estão sendo submetidos a estresse hídrico e RNA destas plantas e de plantas sem tratamento serão utilizados como sonda em experimentos de microarrays em chips comerciais contendo todos os 27.000 genes de *A. thaliana*.

¹ Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

027 - TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE PLANTAS DE SOJA [*Glycine max* L.(MERRIL)] VISANDO A PRODUÇÃO DO ANTICORPO scFvDIR83D4, ANTI-ANTÍGENO TUMORAL Tn. (Genetic transformation of soybean plants to production of the scFvDIR83D4 antibody, an anti- tumoral Tn antigen)

Cunha, N.B.¹, Jungmann, L.², Cipriano, T.M.¹, Póvoa, A.M.³, de Lucca, P.C.⁴, Leite, A.⁵, Vianna, G.R.⁶, Aragão, F.J.L.⁶, Rech, E.L.

A crescente demanda por biomoléculas de interesse farmacológico, tem induzido o desenvolvimento de sistemas alternativos para a produção em larga escala e custos mais reduzidos. A produção de biomoléculas em sistema vegetal, com seu acúmulo direcionado às sementes, tem apresentado características interessantes em relação ao processo de síntese, secreção e compartimentalização, modificações pós-traducionais e purificação aplicadas a diferentes proteínas recombinantes. A expressão em sementes tem demonstrado evidências como: expressão estável dos genes de interesse integrados ao genoma vegetal, ausência de contaminantes e patógenos comuns aos humanos e utilização de práticas de cultivo, colheita, transporte, estocagem e processamento conhecidos. No presente trabalho foram geradas plantas transgênicas de soja cultivar Conquista, via biobalística, utilizando co-transformação com plasmídeo pAG1, contendo gene marcador de seleção AHAS, e o plasmídeo pSscFvDIR, contendo o gene do anticorpo sob controle do promotor tecido-específico da β -phaseolina, objetivando a expressão do anticorpo scFvDIR83D4 anti-antígeno tumoral Tn, bem como o seu acúmulo em tecidos de reserva em sementes de soja. A presença do transgene ScFv em plantas de soja foi detectada por PCR na geração F1. Análises do padrão de segregação das inserções gênicas nas gerações subseqüentes e níveis de expressão do transgene em sementes de soja, estão sendo conduzidas através de análises moleculares e bioquímicas. Os resultados obtidos deverão formar a base para a avaliação da potencial utilização de sementes de soja como bioreatores para a produção de anticorpos.

¹ Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Bióloga, M.Sc., Embrapa Gado de Corte.

³ Biólogo, mestrando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr., Ph.D., UNICAMP.

⁵ Biólogo, Ph.D., UNICAMP.

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

028 - USO DE MARCADORES SCAR-RAPD EM MULTIPLEX-PCR PARA DETECÇÃO DE ESPÉCIES DE *Meloidogyne*, PARASITAS DO CAFEEIRO (Application of SCAR-RAPD markers in multiplex-PCR to detect coffee-damaging species of *Meloidogyne*)

Souza, H.J.M.¹, Randig, O.², Carneiro, R.M.D.G.³

Os nematóides das galhas, gênero *Meloidogyne*, representam um dos principais inimigos para as culturas agrícolas no Brasil e no mundo. Na cultura do café, uns dos principais produtos de exportação do país, ocorrem três espécies principais (*M. exigua*, *M. incognita* e *M. paranaensis*), responsáveis por importantes reduções na produção global de café. A identificação correta da(s) espécie(s) presente é de fundamental importância para a escolha de métodos de controle mais adequados. Recentemente, marcadores espécie – específicos do tipo SCAR (Sequence Characterized Amplified Region), foram desenvolvidos para *M. exigua* (ex-D15-F/R), *M. incognita* (inc-K14-F/R) e *M. paranaensis* (par-C09-F/R). O objetivo deste trabalho foi de testar esses marcadores SCAR em reação de multiplex-PCR, e avaliar o poder de detecção dessa técnica em uma situação onde duas ou três espécies estivessem misturadas em diferentes proporções, situação que pode ocorrer com certa frequência no campo. Um mix contendo os primers SCAR, em quantidade equimolar, foi utilizado em reação de PCR para amplificar o DNA de 16 populações de *Meloidogyne* spp., incluindo espécies parasitas do cafeiro no Brasil e América Central: *M. exigua* (4), *M. incognita*(4), *M. paranaensis* (4); *M. arabicida* (1), *M. arenaria* (1) e duas espécies não identificadas (*Meloidogyne* sp 1 e sp2). A utilização dos primers SCAR em condição multiplex-PCR não altera os resultados de especificidade obtidos com o uso dos primers individualmente, permitindo assim a detecção de cada uma das três espécies a partir da amplificação de um fragmento de tamanho específico para cada espécie: 560pb para *M. exigua*, 400pb para *M. incognita* e 200pb para *M. paranaensis*. Nenhuma amplificação foi observada para as outras espécies utilizadas. Os mesmos fragmentos também foram amplificados de maneira específica quando o DNA das três espécies foi misturado em proporções de 1 a 5%. O nível mínimo para detecção de misturas foi estimado em 1%. A técnica SCAR multiplex-PCR apresenta interesse para identificação de espécies em laboratório de rotina permitindo um diagnostico preciso, relativamente rápido e de fácil interpretação.

¹ Biologia, graduando, UCB, CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

029 - USO DE RADIAÇÃO GAMA NA ELIMINAÇÃO DE GENES MARCADORES DE SOJA GENETICAMENTE MODIFICADA (Gamma radiation as a tool to remove marker genes from transgenic soybean plants)

Tinoco, M.L.P.¹, Reis, M.B.A.², Abud, S.³, Souza, P.I.M.³, Vianna, G.R.⁴, Rech, E.L.⁴, Aragão, F.J.L.⁴

O uso de um gene marcador no processo de transformação confere uma vantagem seletiva às células transformadas. Este é introduzido no genoma da planta junto com os genes de interesse. Genes marcadores podem conferir à planta resistência a antibióticos, a herbicidas ou ainda tornar possível a identificação e seleção das células modificadas geneticamente sem causar injúrias ou morte à população de células não-transformadas. No último caso, os genes marcadores de seleção podem conferir às células transformadas a capacidade de metabolizar alguns compostos que não são usualmente metabolizados. O gene *gus* que codifica a enzima β-glucosidase (GUS), é amplamente utilizado como gene marcador devido, principalmente, à simplicidade, à rapidez e à versatilidade dos métodos de detecção da atividade enzimática e ao fato de que a maioria das plantas não apresenta atividade endógena significativa. Devido às preocupações com biossegurança, avaliações complexas têm sido realizadas com o objetivo de estudar o potencial impacto de genes marcadores presentes em plantas transgênicas para a saúde humana e para o meio ambiente. Apesar de não existirem evidências do efeito nocivo do uso de plantas transgênicas com genes marcadores, a sua remoção já está declarada como “boa prática de laboratório” por vários comitês de biossegurança. Conseqüentemente várias estratégias para remover os genes marcadores de seleção têm sido desenvolvidas. Visando a mutação e conseqüente eliminação por agente físico do gene *gus*, neste trabalho sementes de soja transgênicas, variedade 8/19, foram irradiadas com raios gamas (⁶⁰Co 225, 250, 275, 300 e 350 Gy). A população M₂ destas plantas foi submetida ao ensaio histoquímico para detecção da atividade da β-glucuronidase. Das plantas analisadas 36 apresentaram resultado negativo para o gene *gus* indicando sua inativação. Foram realizadas PCR utilizando iniciadores para os genes *ahas* e *gus* a fim de conferir a integridade do gene de interesse que confere resistência ao herbicida. Uma planta apresentou a eliminação do gene *gus*, tendo o gene *ahas* permanecido funcional. Estes resultados demonstram que é factível a eliminação de genes marcadores através de tratamento das sementes com agentes físicos mutagênicos.

¹ Bióloga, mestranda, UnB, CAPES, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biologia, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Cerrados.

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

030 - UTILIZAÇÃO DA REGIÃO-PRO DE PROTEINASE CISTEÍNICA HGCP-I COMO FATOR DE DEFESA NO CONTROLE DO NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA *Heterodera glycines* (Use of cysteine proteinase pro-region as defense factor the control of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines*)

Marra, B.M.¹, Batista, J.A.N.², Silva, F.B.³, Figueira, E.L.Z.⁴, Cares, J.E.⁵, Grossi-de-Sá, M.F.⁶

A cultura da soja é severamente atacada por diversas pragas e patógenos, incluindo o nematóide de cisto *Heterodera glycines*. Como as enzimas proteolíticas são essenciais no processo de alimentação deste nematóide, estas são potenciais-alvo no controle deste patógeno. Com o objetivo de avaliar o potencial da região-pro da proteinase cisteínica HGCP-I como alternativa de controle do nematóide de cisto da soja, o gene HGCP-I foi isolado de uma biblioteca de cDNA de *H. glycines* com uma sonda homóloga, previamente amplificada por PCR, usando primers degenerados baseados nas regiões conservadas de proteinases cisteínicas de nematóide. A sequência da região-pro foi expressa em sistema heterólogo *Escherichia coli* e a proteína recombinante mostrou-se ativa *in vitro*, inibindo 95% da atividade da proteinase cognata. A sequência de região-pro foi então subclonada no vetor pGPTV-Kan sob o controle do promotor CaMV35S (p100HG) e do promotor CaMV35S modificado 4xB5 + A (p54HG). Os vetores foram utilizados na transformação de raízes de soja (cultivar: Br16 e Mandarin) via *Agrobacterium rhizogenes* ("strain" 2659 e LBA 9402) mostrando eficiência de transformação de até 32%. As raízes transformadas expressando a região-pro foram detectadas pelo ensaio imunológico (western-blot) utilizando anticorpo policlonal anti região-pro e os bioensaios avaliando a infecção, desenvolvimento e reprodução do nematóide sobre as raízes transformadas expressando a região-pro estão em andamento.

¹ Eng. Agr., mestrando, UnB, CAPES, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Química, doutoranda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

⁵ Eng. Agr., Ph.D., UnB.

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



031 - ANÁLISE DA DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE LINHAGENS DE MELÃO UTILIZANDO MARCADORES RAPD (Analysis of genetic divergence among melon lines using RAPD markers)

Cerqueira, A.A.¹, Amorim, J.C.², Paiva, M.R.¹, Souza, Z.P.³, Paiva, W.O.⁴, Vieira, J.V.⁵, Buso, A.J.⁶, Buso, G.S.C.

Estima-se que a produção de melão, no Brasil, tenha aumentado cerca de 67% no período compreendido entre 1999 e 2000. Existe a preocupação dentre os exportadores com satisfatório teor de açúcares, expresso como teor de sólidos solúveis (medidos em graus-brix) presente no fruto no momento da comercialização. Uma das formas de se melhorar esta característica é através do melhoramento genético. Para se ter ganho genético é preciso se conhecer a distribuição da variabilidade genética entre as linhagens dos programas de melhoramento. Uma forma eficiente de se estudar a variabilidade genética é através da utilização de marcadores moleculares. Assim, 34 linhagens do programa de melhoramento da Embrapa Hortaliças e outras 54 linhagens da Embrapa Agroindústria Tropical foram analisadas utilizando-se RAPD. A análise de similaridade genética permitiu identificar 76 marcadores moleculares polimórficos, viabilizando a construção de um dendrograma, que mostra graficamente a variabilidade entre as linhagens dos programas de melhoramento. A análise indicou a formação de cinco grandes grupos, sendo que os três primeiros formaram um grupo de linhagens do tipo Amarelo originadas da cultivar Eldorado 300, enquanto os dois últimos grupos são linhagens de melão do tipo Amarelo (Gold mine, ML e L50), Cantaloupe (MR) e Tupã (MT) que tem polpa salmão característica do Cantaloupe. Entre as linhagens de melão do tipo Amarelo, derivadas de Eldorado, encontrou-se similaridade de até 0,57. Entre as linhagens MT, tipo Tupã, a similaridade foi de no mínimo 0,86 e entre as ML, tipo Amarelo, com contribuição da cultivar Gold Mine, foi de no mínimo 0.84. Estes resultados indicam que existe pouca variabilidade entre as linhagens MT e ML. Por outro lado, pode-se indicar divergência entre linhagens S₈ originadas de uma cultivar de polinização aberta (Eldorado 300). Pode-se prever, ainda, a obtenção de híbridos potencialmente heteróticos pela combinação de linhagens do tipo Amarelo ou do tipo Tupã dos dois diferentes programas.

¹ Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Técnica de laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Agroindústria.

⁵ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças.

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

032 - ANÁLISE DA ESTRUTURA GENÉTICA E TAXA DE CRUZAMENTO DE *Cedrela fissilis* – CEDRO (MELIACEAE) UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES (Genetic structure analysis and outcrossing rate of *Cedrela fissilis* based on microsatellites markers)

Nakasu, E.Y.T.¹, Ciampi, A.Y.²

A técnica de utilização de marcadores moleculares trouxe a possibilidade de gerar grandes quantidades de segmentos polimórficos de DNA. Os marcadores microsatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) são pequenas seqüências de 1 a 4 nucleotídeos de comprimento, repetidos em tandem, amplamente distribuídos no genoma de eucariotos. Estes são ideais para o estudo de diversidade genética, fluxo gênico e relações de parentesco por serem multialélicos, codominantes e amplificados via PCR (*Polymerase Chain Reaction*) utilizando pouca quantidade de DNA. Tendo como objetivo o entendimento dos parâmetros genéticos populacionais fundamentais para se definir estratégias de coleta e conservação, vem sendo realizada a análise genômica da espécie *Cedrela fissilis* – Meliaceae (Cedro) provenientes das Florestas Estacionais Decíduas da Região do Vale do Paranã (GO). A espécie apresenta baixa ocorrência pela grande exploração devido ao grande valor comercial da madeira e, portanto, corre risco de extinção. Após a prospecção da espécie nas Florestas Estacionais Decíduas da Região do Vale do Paranã (GO), foram coletadas folhas de 132 indivíduos adultos e sementes de 6 acessos de cedro. Estas 6 famílias, com 15 descendentes cada, foram utilizadas para determinação da taxa de cruzamento. O DNA genômico foi extraído a partir de folhas, segundo o protocolo CTAB 2%. A genotipagem vem sendo realizada utilizando cinco locos SSR desenvolvidos na Embrapa – Cenargen para cedro. A detecção do polimorfismo foi observada em gel desnaturante de poli(acrilamida 4% corado com nitrato de prata. A análise de dados foi realizada pelos programas GDA (Genetic Data Analysis, versão 1.0) e MLDT (Multilocus Estimation of Outcrossing With Dominant Markers). Em análises preliminares de estrutura genética de outras populações de cedro utilizando quatro locos verificou-se alta diversidade genética ($He = 0,8235$) e coeficiente de endogamia ($F_{IS} = 0,33$) significativo (CI 95%), indicando alta taxa de acasalamento entre indivíduos aparentados, revelando possível perturbação dos habitats de onde provieram os genótipos. A taxa de cruzamento avaliada foi de 98% indicando que a espécie é preferencialmente alógama.

¹ Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

033 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE CEREJEIRA *Amburana cearensis* UTILIZANDO MARCADOR MOLECULAR RAPD (Analysys of the genetic variability of cerejeira *Amburana cearensis* using RAPD molecular marker)

Catelan, R.C.¹, Nakasu, E. Y. T.², Vieira, D.L.M.³, Ciampi, A.Y.⁴, Scariot, A.⁵

A *Amburana cearensis* (Leguminosae-Papilionoideae), conhecida como cerejeira ou amburana, encontra-se na lista de espécies ameaçadas de extinção devido à exploração excessiva de sua madeira por parte de indústrias carvoeiras, construções e fabricação de móveis, bem como pela forte pressão antrópica exercida na expansão do setor agropecuário. Com objetivo de avaliar a variabilidade genética entre e dentro das populações naturais de cerejeira, a análise genômica foi realizada para fornecer subsídios aos programas de conservação, indicando estratégias e ações necessárias ao manejo de espécies ameaçadas de extinção. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) é uma técnica amplamente utilizada para análise da variabilidade genética, apresentando vantagens como simplicidade e obtenção de alto grau de polimorfismo com baixo custo em curto prazo. Esta técnica utiliza primers curtos e de seqüência arbitrária, sendo os marcadores do tipo dominante e o polimorfismo se apresenta de forma binária, pela ausência ou presença de banda. Foram analisadas 4 populações das Florestas Estacionais Decíduas da região do Vale do Paranã (GO), totalizando 96 indivíduos. Dos 80 primers foram selecionados 30 primers que apresentaram no mínimo 2 bandas polimórficas por indivíduo, obtendo um total de 123 marcadores RAPD polimórficos. As análises foram obtidas a partir do programa NTSYS utilizando o coeficiente DICE pelo método de agrupamento UPGMA, e a análise de variância molecular (Amova) para quantificar a variabilidade genética das populações da espécie. O dendrograma não apresentou agrupamentos consistentes relativos às 4 regiões de acordo com a localização nas Florestas Estacionais Decíduas da Região do Vale do Paranã (GO). Onze indivíduos entre os 24 da população 3 apresentaram um agrupamento de similaridade de 82%. Esses dados de similaridade genética cruzados com a matriz de distancia geográfica contribuirão na definição de critérios a serem utilizados para a conservação "*in situ*" da espécie.

¹ Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Fundação Dalmo Giacometti/Probio MMA.

² Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Ecólogo, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Fundação Dalmo Giacometti/ Probio MMA.

034 - AVALIAÇÃO DE ACESSOS DE MELÃO VISANDO IDENTIFICAR FONTES DE RESISTÊNCIA A *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Evaluation of melon accessions for resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*)

José Jr., G.¹, Melo, L.A.¹, Marques, A.S.A.², Lopes, C.A.³, Buso, G.S.C.², Nass, L.L.²

A produção de melão (*Cucumis melo*) no Brasil, em 2002, foi de 283,3 mil t ocupando 14,1 mil ha. Desse total foram exportadas 99 mil t, correspondendo a cerca de 16% das exportações brasileiras de frutas frescas. É uma cultura que apresenta uma grande importância social, principalmente em regiões carentes que necessitam de novas oportunidades econômicas. A mancha aquosa, causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, foi detectada pela primeira vez no Brasil em 1997, no Rio Grande do Norte, tornando-se uma séria ameaça ao cultivo de melão na Região Nordeste, causando perdas de até 100%, principalmente no melão Valenciano Amarelo, o tipo mais cultivado na região. Na Embrapa Hortaliças, existe uma coleção de germoplasma de melão com 531 acessos de diferentes origens, envolvendo cultivares, variedades de polinização aberta, híbridos, linhagens e espécies silvestres. Com o objetivo de identificar fontes de resistência a *A. avenae* subsp. *citrulli* foram iniciadas avaliações em condições de telado. A primeira avaliação incluiu 76 acessos da coleção, sendo que os acessos com o maior grau de resistência, foram selecionados para nova avaliação juntamente com outros materiais. Na segunda avaliação foram utilizados 43 acessos. Para tanto foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições. A inoculação foi efetuada em plantas com quatro folhas definitivas pela pulverização da suspensão bacteriana contendo aproximadamente 10^8 ucf/ml do isolado "CNPH Maísa 2" da bactéria. As plantas inoculadas foram submetidas à câmara úmida por 48h. O desenvolvimento de sintomas foi observado cinco dias após a pulverização e a avaliação da resistência foi feita sete dias após a inoculação, utilizando escala de notas de 1 (ausência de sintomas) a 5 (queima total das folhas inoculadas). Foram observadas diferenças entre e dentro dos acessos indicando alta variabilidade genética para a resistência à mancha aquosa. Deve-se enfatizar que nenhum acesso foi classificado como totalmente resistente, entretanto, 23% dos acessos apresentaram média $\leq 2,5$. Tais acessos mostraram-se promissores e, oportunamente, serão multiplicados e submetidos a uma nova avaliação.

¹ Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças.

035 - BUSCA E SELEÇÃO DE GENES EM QTLs RELACIONADOS À TOLERÂNCIA A SECA PARA IDENTIFICAÇÃO DE SNPs EM ARROZ (*Oryza sativa* L.) (Search and selection of genes in QTLs linked to drought tolerance in rice [*Oryza sativa* L.] for SnPs discovery)

Pessoa-Filho, M.A.C.P.¹, Ferreira, M.E.²

Os dados de seqüência de DNA cobrindo os aproximadamente 430 milhões de pares de base dos 12 cromossomos de arroz (*Oryza sativa* L.) representam um marco no desenvolvimento científico. Grande parte da informação sobre seqüências, mapas genéticos, mutantes, ou características fenotípicas de arroz pode ser acessada em bancos de dados mantidos em diferentes países. No Brasil, o plantio de gramíneas é fortemente influenciado por fatores abióticos, e a disponibilidade de água é um dos que mais se destacam. Várias regiões do genoma do arroz associadas ao controle da tolerância a seca foram identificadas. Este trabalho teve como objetivo a varredura de regiões cromossômicas associadas a tolerância a seca, visando a seleção de genes relacionados a este caráter, baseando-se em informações de bancos de dados genômicos de arroz. Tendo como referência diferentes mapas genéticos e estudos de detecção de *QTLs*, foram selecionados ao longo do genoma locos associados ao controle de tolerância à seca. Regiões genômicas delimitadas pelos marcadores microssatélites RG257-BCD3086 (cromossomo 10) e RZ337-RG351 (cromossomo 7) foram analisadas visando a identificação de ORFs relacionadas a mecanismos de ajuste osmótico (proteínas de membrana, transporte celular), desenvolvimento de raiz, vias metabólicas associadas a estresse hídrico, bem como genes expressos diferencialmente em gramíneas em bioensaios de tolerância à seca. Um total de 24 genes candidatos foi identificado nas regiões mapeadas. Oligonucleotídeos iniciadores foram desenhados para éxons nas porções 5' e 3' dos genes, assim como em éxons internos, de acordo com o tamanho e estrutura do gene. Os resultados iniciais confirmam a existência de genes potencialmente associados a mecanismos de tolerância a seca nas regiões cromossômicas previamente mapeadas. Os dados possibilitam a elaboração de rotinas para busca automatizada de genes de interesse em regiões que controlam características quantitativas. Este trabalho constitui a fase inicial de um projeto de estudo de variação alélica em genes de características quantitativas e sua relação com variação fenotípica em arroz.

¹ Biólogo, mestrando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília.

036 - CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS DE GERMOPLASMA DE *Arachis* QUANTO À RESISTÊNCIA AO *Aspergillus flavus* (characterization of *Arachis* germplasm accessions to *Aspergillus flavus* resistance)

Martino, L.A.¹, Ribeiro, V.S.², Cardoso, T.O.³, Fávero, A.P.⁴, Ramos, V.R.⁵

O Brasil produziu, em 2002, aproximadamente 175 mil t de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), sendo 80% destinado ao consumo in natura, na forma de doces caseiros ou confeitos industrializados. Grãos de amendoim armazenados em condições de umidade e/ou temperatura altas ou oscilantes estão mais vulneráveis a infecções por fungos como os dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Aflatoxinas são metabólitos produzidos por *Aspergillus* spp., fungos do solo que podem contaminar vagens no campo, grãos armazenados ou processados (com exceção do óleo), tornando o amendoim impróprio para o consumo. Diversas espécies silvestres apresentam resistência a doenças, inclusive ao *Aspergillus flavus*. O objetivo deste trabalho foi caracterizar acessos de espécies silvestres e de *A. hypogaea*, quanto à resistência ao fungo *A. flavus*. Foram avaliados sete acessos de espécies silvestres e cinco de *A. hypogaea* em condições de laboratório em experimento inteiramente casualizado. Usou-se bandeja de isopor com 10 sementes de cada acesso, onde metade foi mantida com testa e a outra metade sem testa. Estas sementes foram inoculadas com uma solução de 4×10^6 esporos por ml de água destilada e Tween 20 a 0,1%. Após oito dias, foi feita a avaliação do nível de contaminação das sementes através do uso de uma escala de um a cinco. Foi feita análise de variância e utilizou-se o Teste de Tukey a 5% de significância como teste de médias. Os resultados indicaram que todos os tratamentos com sementes sem testa mostraram os maiores níveis de contaminação pelo fungo e não apresentaram diferenças significativas entre os acessos a 5% de probabilidade. Houve diferenças significativas entre os tratamentos com testa e sem testa. As sementes com testa mostraram maior resistência à entrada do fungo do que aquelas sem testa, sugerindo que a testa é uma importante barreira física à penetração pelo fungo. No tratamento com testa, houve diferença significativa entre as espécies e aquelas que apresentaram maior resistência foram *A. hypogaea* subsp. *hypogaea*, *A. kuhlmannii*, *A. stenoperma* e *A. cruziana*.

¹ Biologia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Nível médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Biologia, graduanda, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Eng. Agr., doutoranda, UNESP/Botucatu, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

037 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DAS PRINCIPAIS RAÇAS DE OVINOS DESLANADOS DO BRASIL A PARTIR DE MARCADORES MOLECULARES RAPD-PCR (Characterization of the principal breeds of brazilian hair sheep using rapd-pcr molecular markers)

Silvério, V.C.¹, Paiva, S.T.R.², Egito, A.A.³, McManus, C.⁴, Faria, D.A.⁵, Mariante, A.S.⁶, Castro, S.R.³, Albuquerque, M.S.M., Dergam, J.A.⁷

O Brasil possui raças de ovinos que foram naturalizadas. Algumas destas raças são tratadas como mestiças, como a Santa Inês, que é considerada um cruzamento da raça naturalizada Morada Nova e a raça exótica Bergamácia. Para testar a veracidade dessa origem, bem como avaliar a unicidade das populações das raças naturalizadas brasileiras, foi feito um estudo dos padrões de semelhança molecular obtidos a partir de marcadores RAPD-PCR. Foram utilizados 238 indivíduos provenientes de diferentes estados e distribuídos entre as raças Santa Inês, Bergamácia, Rabo Largo, Morada Nova e Somalis. Ao final da triagem de 140 *primers* foram selecionados 54 *loci* a partir de 19 *primers*. A Rabo Largo apresentou a maior diversidade gênica em relação às demais raças. Nas análises inter-raciais, baseadas na frequência de bandas presentes, todas as raças foram significativamente diferentes entre si (Teste Exato de Fisher $p < 0,000001$). Foi observado pela análise de variância molecular (AMOVA), que 14,92% da variação total ($p < 0,000001$) foi em razão de diferenças inter-raciais. A AMOVA também sugere que existe uma estruturação genética significativa nas populações contidas dentro de cada raça, visto que a diferença entre as populações de uma mesma raça foi de 9,27% ($p < 0,000001$). Valor este muito similar aos 9,54% ($p < 0,00098$) da variação total encontrado entre as raças. O dendrograma obtido pela distância gênica de Nei e o algoritmo Neighbor-joining mostrou que a Santa Inês ficou mais próxima da Bergamácia (97% bootstrapping) e que os mesmos ficaram mais próximos da Rabo Largo do que a morada Nova (81% bootstrapping). Os resultados sugerem que a baixa variação genética entre as raças pode ser em virtude do alto índice de cruzamentos absorventes realizado pelos criadores, ou por efeitos de deriva gênica ao longo dos anos, porém as diferenças observadas são significativas.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Veterinária, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr., Ph.D., UnB.

⁵ Zootecnista, M.Sc., UFV.

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

⁷ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

038 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE SACOS EMBRIONÁRIOS DE ACESSOS APOMÍTICOS FACULTATIVOS DE *Brachiaria brizantha* (Morphological characterization of embryo sacs in facultative apomictic accessions of *Brachiaria brizantha*)

Simões, K.C.C.¹, Falcão, R.², Araújo, A.C.G.³

O gênero *Brachiaria* compreende cerca de 100 espécies de gramíneas, das quais algumas são economicamente importantes como pastagens. Uma análise do modo de reprodução indicou a ocorrência de apomixia e sexualidade dentro da mesma espécie, para várias espécies de *Brachiaria*. A sexualidade em *Brachiaria* é caracterizada pela presença de um saco embrionário meioticamente reduzido do tipo Polygonum e pela dupla fertilização. Esse saco embrionário apresenta oito núcleos em sete células. A apomixia é um modo assexual de reprodução, representando uma forma natural de clonagem através de sementes, onde o embrião desenvolve-se autonomamente. Na apomixia gametofítica, esse embrião origina-se à partir de um saco embrionário não reduzido. Nos acessos apomícticos de *Brachiaria*, os sacos embrionários são apospóricos e do tipo Panicum, apresentando quatro células e seus respectivos núcleos. Entretanto, sacos embrionários do tipo Polygonum também são observados em plantas apomícticas de *Brachiaria*, em diferentes frequências e quase sempre associados a um ou múltiplos sacos embrionários apospóricos, indício de que a apomixia é facultativa. Mas ainda não se sabe realmente se os sacos embrionários meióticos presentes nos óvulos de plantas apomícticas podem ser fertilizados e dar origem a sementes. Para melhor compreender a apomixia facultativa, fez-se análises morfológicas em óvulos dos acessos apomícticos BRA 002232, BRA 003450 e cv. Marandu. As observações sugerem que deve-se prosseguir os estudos sobre a possível ocorrência e indução da reprodução sexual em acessos apomícticos de *B. brizantha* utilizando o acesso BRA002232, que apesar de originar um pequeno número de sementes, apresenta poucos óvulos abortados, baixa embrionia precoce e uma alta frequência de sacos embrionários do tipo Polygonum, inclusive com alguns situados na região micropilar do óvulo.

¹ Biologia, graduanda, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

039 - CONTAGEM DE CROMOSSOMOS DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *Arachis* (Chromossome counting of *Arachis* interspecific hybrids)

Fonseca, F.C.A.¹, Santos, R.F.², Fávero, A.P.³, Valls, J.F.M.⁴

O gênero *Arachis* possui 69 espécies descritas, sendo 27 da Seção *Arachis*, na qual se situa o amendoim, *A. hypogaea*. Os principais problemas da cultura no Brasil são doenças fúngicas como a mancha preta (*Cercosporidium personatum*), mancha castanha (*Cercospora arachidicola*) e ferrugem (*Puccinia arachidis*), às quais várias espécies silvestres possuem resistência. O projeto visa a levar genes de resistência às cercosporioses e ferrugem, de espécies silvestres para o amendoim cultivado, através do cruzamento entre *A. hypogaea* e anfidiplóides sintéticos obtidos via hibridações entre espécies silvestres de *Arachis*. O objetivo deste estudo foi contar o número de cromossomos de indivíduos de progênies oriundas dos cruzamentos entre *A. hypogaea* e os anfidiplóides sintéticos visando a programar retrocruzamentos com *A. hypogaea*, com vistas ao melhoramento do amendoim. Foram analisadas progênies oriundas de 9 combinações híbridas que envolveram *A. hypogaea* cvs. BR1, IAC-Caiapó, IAC-Runner 886 e IAC-Tatu-ST e as espécies silvestres *A. aff. magna*, *A. cardenasii*, *A. duranensis*, *A. hoehnei*, *A. ipaënsis* e *A. villosa*. Folhas coletadas foram colocadas em placas de Petri com algodão e papel de filtro umedecido, uma lâmina e um chumaço de algodão úmido no pecíolo. As raízes foram coletadas e colocadas em hidroxiquinoleína (4h) e posteriormente em Carnoy (24h). Acrescentou-se HCl 5N (20 min), seguindo de coloração com reativo de Schiff (2h). Prepararam-se lâminas, em que adicionou-se carmin acético 2%. Das 9 progênies avaliadas, 7 mostraram 40 cromossomos (tetraplóides) e em duas progênies observou-se 30 cromossomos (triplóide). As progênies confirmadas com 40 cromossomos serão utilizadas no retrocruzamento com *A. hypogaea*, podendo gerar novos híbridos férteis e com a incorporação de genes de resistência oriundos das espécies silvestres. As progênies com 30 cromossomos serão tratadas de forma diferenciada das demais, procurando-se desenvolver os retrocruzamentos com *A. hypogaea*, sendo esta espécie usada como genitor feminino ou masculino. Outro enfoque importante será a duplicação de cromossomos de plantas triplóides pelo uso da colchicina.

¹ Biologia, graduando, UnB, CNPq/PIBIC, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

040 - CRUZABILIDADE INTERSECCIONAL EM *Arachis* (LEGUMINOSAE) (Intersectional crossability in *Arachis* (Leguminosae))

Rodrigues, L.S.¹, Valls, J.F.M.²

Em *Arachis*, cruzamentos interseccionais podem ser viáveis, mas os híbridos são estéreis. As espécies da secção *Erectoides* despontam pela resistência a pragas, pela alta capacidade regenerativa de *A. paraguariensis* e por sua cruzabilidade interseccional. Em 1997, foi realizada a hibridação entre *A. paraguariensis* (V 7677) e *A. pflugeae* (V 13589-secção *Procumbentes*), com eficiência de 34,21%. A colheita de dezenas de sementes dos 13 indivíduos F₁ comprova a primeira hibridação interseccional fértil no gênero. Em 2002, fez-se cruzamentos envolvendo as secções *Erectoides*, *Procumbentes* e *Arachis*, para análise do comportamento de híbridos entre o acesso usado de *A. paraguariensis* e outros dois acessos da espécie; de *A. pflugeae* com os mesmos representantes de *A. paraguariensis*, e do acesso inicial de *A. paraguariensis* com espécies da secção *Arachis*. Houve 19 combinações entre 15 espécies, sendo 4 de *Erectoides*, 2 de *Procumbentes* e 9 de *Arachis*. Espécies de *Erectoides* foram cruzadas entre si e com *A. pflugeae*, e o acesso V 7677 com todas as espécies envolvidas, sempre como planta mãe. *Arachis stenophylla* (*Erectoides*), *A. pflugeae* e as espécies da secção *Arachis* foram doadoras de pólen. A alta germinação do pólen, à exceção de *A. stenophylla* (5%), indica não haver impedimento para a fertilização. Foram 1616 polinizações, variando o número entre as combinações, conforme a floração dos genitores. Os primeiros resultados mostram que, à exceção da combinação que envolveu *A. stenophylla*, todas formaram frutos. Mas, dos 1012 segmentos de frutos, apenas 415 tinham sementes. A maioria dos frutos vazios foi observada nos cruzamentos com espécies da secção *Arachis*. A cruzabilidade real será constatada após a germinação das sementes, pela análise morfológica, citológica e da viabilidade de pólen dos possíveis F₁. Busca-se uma cadeia de espécies-ponte, que permita a transferência de genes de membros das secções primitivas de *Arachis* ao amendoim, por via sexual.

¹ Eng. Agr., doutoranda, UNESP, CAPES, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

041 - DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA *Symphonia globulifera* (CLUSIACEAE) E *Carapa guianensis* (MELIACEAE) (Development and optimization of microsatellite for *Symphonia globulifera* (Clusiaceae) and *Carapa guianensis* (Meliaceae))

Vinson, C.C.¹, Azevedo, V.C.R.², Almeida, T.N.S.³, Ciampi, A.Y.⁴, Sampaio, I.⁵

Symphonia globulifera (anani) e *Carapa guianensis* (andiroba), são árvores da floresta amazônica, que se destacam na economia madeireira. Estas espécies estão sob monitoramento em 500 hectares em uma área manejada em Santarém-PA. No estudo da sustentabilidade destas espécies, as variáveis genéticas e ecológicas são importantes para estimar os impactos causados pela exploração. Para isso os SSR (*Simple Sequence Repeats*) ou microsatélites são uma ferramenta importante, pois pode-se analisar a diversidade genética, estrutura de populações e fluxo gênico. O objetivo deste trabalho foi desenvolver novos marcadores SSR para as espécies no sentido de obter análises genéticas significativas. A biblioteca genômica foi enriquecida com "motifs" de poli AG, ligada ao plasmídeo pGEM-T e transformada em *E. coli*, cepa XL1-Blue. Foram seqüenciados 290 clones de *C. guianensis*. Os clones positivos de *S. globulifera* foram confirmados por hibridização com sondas poli AG/TC e 183 clones foram seqüenciados. Foram desenhados para *C. guianensis* e *S. globulifera*, 17 e 20 pares de primers, dos quais 14 primers (82,3%) e 19 primers (95%) tiveram os fragmentos robustos amplificados, visualizados em gel de agarose 3,5% na presença de brometo de etídio e luz UV. Na detecção de polimorfismo por meio do gel desnaturante de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata, 10 e 05 primers apresentaram-se polimórficos, sendo verificada a média de 4,5 alelos/locos e $He = 0,63$ para *C. guianensis* e 5,8 alelos/locos e $He = 0,75$ para *S. globulifera* em 12 indivíduos. Estes locos juntos com os 03 marcadores obtidos previamente serão caracterizados para cada espécie e utilizados para um estudo genético que fornecerá subsídios para um plano de manejo sustentável.

¹ Bióloga, mestranda, UFPA, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Bióloga, B.Sc., FUNTEC/IBAMA/DFID, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

⁵ Bióloga, Ph.D., UFPA.

042 - DETECÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA, VIA MARCADORES MOLECULARES RAPD, EM POPULAÇÕES BRASILEIRAS, ARGENTINAS E PARAGUAIAS DE *Bemisia tabaci* (Detection of genetic variability of brazilian, argentinean and paraguaian whitefly populations based on RAPD markers)

Lago, W.N.M.¹, Queiroz, P.R.², Truol, G.³, Lima, L.H.C.⁴, Oliveira, M.R.V.⁴

A recente explosão populacional de moscas-brancas em diversas regiões do mundo, causando elevados danos econômicos à cadeia produtiva de diversas culturas, trouxe à tona a complexidade do gênero *Bemisia*, como praga e como vetor de fitoviroses. Para o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle se faz necessária à identificação das populações desta praga existentes no Brasil e em outros países, uma vez que estudos recentes sugerem que a espécie *Bemisia tabaci* representa um complexo de numerosos biótipos, cada qual com suas peculiaridades adaptativas e disruptivas, exigindo manejos fitossanitários mais específicos e eficazes. O presente trabalho teve como base a variabilidade genética das amostras populacionais de *B. tabaci*, coletadas em três países sul-americanos – Brasil, Argentina e Paraguai – tendo como suporte procedimentos moleculares baseados em RAPD, utilizando-se cinco primers aleatórios. Os resultados demonstram a variabilidade genética entre as populações estudadas, confirmando o domínio do biótipo B, mais agressivo, no Brasil e detectando a presença do biótipo BR na Argentina e Paraguai, resistindo ao domínio das correntes populacionais invasoras do biótipo B. Tais resultados sugerem falhas nos processos adaptativos do biótipo B no domínio dos nichos agroecológicos do biótipo BR na Argentina e no Paraguai, configurando ferramentas valiosas para o monitoramento da dispersão deste biótipo e para investigações futuras dos fatores inibitórios intrínsecos necessários ao controle do seu estabelecimento.

¹ Agronomia, graduando, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, doutorando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., Ph.D., INTA-Argentina.

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

043 - DETECÇÃO DE NOVOS BIÓTIPOS PENTAPLÓIDES NO GRUPO DILATATA DE *Paspalum* (GRAMINEAE) (Detection of new pentaploid biotypes in the group Dilatata of *Paspalum* (Gramineae))

Machado, A.C.C.¹, Valls, J.F.M.², Santos, S.³

O grupo Dilatata de *Paspalum* L. reúne 4 espécies. Destas, *P. dilatatum* Poiret mostra ampla variabilidade, com sete biótipos descritos, com atributos morfológicos, citológicos e reprodutivos peculiares. Presume-se que o biótipo pentaplóide “Comum” tenha-se originado de um cruzamento natural entre o tetraplóide sexual “Flavescens” e o hexaplóide apomítico “Uruguaio”. A distribuição dos biótipos 4x e 6x sugere que tal evento tenha ocorrido na área hoje correspondente ao Uruguai. O valor das espécies de *Paspalum* nas pastagens naturais estimula contínuo interesse por sua utilização em cultivo. Com isto, a busca de germoplasma dessas espécies vem crescendo, bem como os estudos de caracterização. A análise mitótica de novos acessos levou à detecção de dois novos citotipos pentaplóides, com origem distinta do “Comum”. O primeiro (V14285), associa-se geográfica e morfológicamente ao biótipo hexaplóide “Torres”, mas tem inflorescências mais longas e ramosas. Infere-se a possibilidade de origem por hibridação entre o biótipo hexaplóide *P. dilatatum* “Torres” e *P. urvillei* Steud., tetraplóide sexual, simpátrico na área de coleta. O segundo novo pentaplóide, V14253, resulta, provavelmente, da hibridação entre os biótipos “Virasoro” (sexual, 4x) e “Uruguaiana” (apomítico, 6x) de *P. dilatatum*, mostrando características morfológicas e citológicas intermediárias entre tais biótipos. A mais distintiva é a presença de 7 ou mais nervuras no lema estéril, típica do “Virasoro”, em espiguetas muito menores, que reportam ao “Uruguaiana”. A simpatria com ambos reforça a hipótese. Relata-se o encontro, no Brasil, de dois biótipos pentaplóides adicionais em Dilatata, e sugere-se a semelhança de origem dos três pentaplóides, pelo cruzamento natural entre tetraplóides sexuais e hexaplóides apomíticos, todos distintos. Acrescenta-se, aos processos de evolução do grupo, a possibilidade de cruzamentos naturais interespecíficos.

¹ Bióloga, mestranda, UnB, CAPES, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Assistente de operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

044 - DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE BÚFALOS USANDO MARCADORES RAPD (Genetic distance among buffalo populations using RAPD markers)

Silva, A.C.M.¹, Albuquerque, M.S.M.², Egito, A.A.³, Paiva, S.R.⁴, Castro, S.T.R.³, Marques, J.R.F.⁵, Costa, M.R.⁶, Mariante, A.S.⁷

A caracterização genética permite estimar a variabilidade dentro e entre as populações, fornecendo subsídios para os programas de melhoramento e de conservação. Utilizando a técnica de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), foram analisados dados genéticos de cinco grupos de búfalos: Murrah (1), Jafarabadi (2), Mediterrâneo (3), Carabao (4) e Tipo Baio (5) de rebanhos da Embrapa, Universidades e propriedades particulares. O DNA foi extraído de linfócitos, utilizando protocolo não orgânico. Na triagem dos primers foi usado um animal de cada grupo. Os *primers* polimórficos foram amplificados em 48 animais de cada grupo, exceto do Mediterrâneo, com 43 animais. O volume da reação a ser amplificada foi de 13¼l, contendo 20 mM Tris-HCl (pH 8,4); 50mM KCl; 2,5mM MgCl₂; 200¼M de cada dNTP; 8% de BSA a 2,5 mg/ml; 0,4µM de *primer* arbitrário; 1,5 U de Taq DNA polimerase e 10ng de DNA genômico, na seguinte programação: 5' a 94°C, seguidos de 40 ciclos de 1' a 94°C, 1' a 36°C e 2' a 72°C. Os produtos da reação foram separados por eletroforese, em gel de agarose a 1,4% em um tampão de corrida (TBE 1x), corado com brometo de etídio e observados sob luz ultravioleta. Dos 147 *primers* testados 72 foram polimórficos. Destes, foram escolhidos, a princípio, 12, que geraram 50 marcadores. Foi utilizado o programa NTSYS - PC (versão 2.0). Com base no dendrograma gerado pelo método de UPGMA, a partir da matriz de similaridade utilizando o índice de Jaccard, observou-se que o grupo 3 formou um cluster separado dos demais, demonstrando identidade genética própria. Em um cluster maior reuniram-se os demais grupos, sendo que os animais do grupo 4 formaram um subcluster diferenciado. O grupo 2 distribuiu-se em grupamentos menores ao longo do dendrograma, o que prova a importância do uso de um número maior de marcadores, na tentativa de melhor resolução do quadro de diversidade genética dos grupos em questão.

¹ Biologia, graduanda, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Veterinária, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

⁵ Zootecnista, Ph.D., Embrapa Amazônia Oriental.

⁶ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Amazônia Oriental.

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

045 - ESTIMATIVA DE FREQUENCIA DE ALELOS NULOS EM PRIMERS MICROSSATÉLITES DE *Eucalyptus* UTILIZANDO DETECÇÃO FLUORESCENTE (Frequency estimation of null alleles with *Eucalyptus* microsatellite markers using fluorescent detection)

Bueno, N.W.¹, Missiaggia, A.A.², Grattapaglia, D.³

Uma bateria de locos microssatélites desenvolvidos para eucalipto em nosso laboratório, têm sido amplamente explorados para o desenvolvimento de mapas genéticos. A genotipagem correta de genitores e sua progênie é uma etapa essencial para a elaboração de um mapa genético. Essa informação pode também ser aproveitada para confirmar a constituição genotípica dos genitores, principalmente para indivíduos que são caracterizados *a priori* como homozigotos. Se um indivíduo homozigoto A_1A_1 para um loco A for cruzado com um indivíduo heterozigoto A_2A_3 para o mesmo loco, a progênie irá constar apenas de indivíduos A_1A_2 e A_1A_3 . Porém, se junto com essas duas classes de genótipos forem encontrados indivíduos apresentando apenas o alelo A_2 ou o alelo A_3 em sua constituição genética, pode-se inferir que o parental apresentado como A_1A_1 não gera apenas gametas A_1 . Na verdade, este indivíduo transmite o alelo A_1 a partir de um cromossomo e um outro alelo nulo a partir do outro cromossomo. O alelo nulo é originado por uma mutação (*indel* ou SNP) no sítio de anelamento de pelo menos um dos *primers* na região amplificada do microssatélite. Este alelo nulo só pode ser detectado através da análise de transmissão alélica entre duas gerações. O conhecimento desta informação é de extrema importância para estudos de genética de populações, em que o alelo nulo leva à produção de excesso de aparentes homozigotos, resultando em estimativas de frequência alélica incorreta e superestimando coeficientes de endocruzamento. Este trabalho teve como objetivo fazer um levantamento da frequência de locos microssatélites que apresentam alelos nulos em eucalipto. Este levantamento está sendo realizado a partir da análise da genotipagem com detecção fluorescente em plataforma ABI3100 de uma progênie gerada para a construção de um mapa genético. Dentre os 133 locos analisados até o momento, 21 apresentaram alelos nulos. Outros cruzamentos foram analisados para estender esta análise. A observação desses alelos nos mesmos locos em indivíduos geneticamente não aparentados indica que o sítio no qual os *primers* foram desenhados originalmente são sujeitos a mutações, demandando o re-desenho de *primers*.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Florestal, doutorando, ESALQ/USP, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

046 - ESTRUTURA GENÔMICA DE TRÊS MEGABASES DE DNA GENÔMICO "SHOTGUN" DE *Eucalyptus*: CONTEÚDO NUCLEOTÍDICO, SEQUÊNCIAS REPETITIVAS E GENES (Genomic structure of 3 Mbp of *Eucalyptus* genomic DNA obtained by shotgun: nucleotide content, repetitive sequences and genes)

Lourenço, R.T.¹, Pappas, G.J.², Cunha, A.F.³, Pereira, G.A.G.⁴, Grattapaglia, D.⁵

Com o intuito de obter uma visão da estrutura e composição do genoma de *Eucalyptus*, seqüenciamos aleatoriamente cerca de 10.000 fragmentos de DNA genômico de *Eucalyptus grandis* obtidos através de "shotgun" de uma biblioteca genômica, totalizando mais de 3,0 Mb válidos, aproximadamente 0,5% do genoma (640 Mb). Depois de selecionadas quanto a qualidade, estas seqüências foram analisadas em termos do seu conteúdo nucleotídico, presença de regiões repetitivas e genes putativos. Na análise do conteúdo GC e de seqüências repetitivas, com o RepeatMasker, verificamos que estas seqüências de DNA genômico continham, em média, 40,15% de GC. Aproximadamente 3,9% das bases estavam em regiões repetitivas, distribuídas em 310 elementos genéticos repetitivos interespersados, a maior parte retroelementos LTR ("Long Terminal Repeat"). Foram identificados 806 microssatélites e 1636 seqüências de baixa complexidade. As mesmas análises para identificação de seqüências repetitivas foram feitas para um conjunto de 7 mil ESTs ("Expressed Sequence Tag") de *Eucalyptus grandis*. Para identificação de genes putativos presentes, utilizou-se uma estratégia baseada na comparação deste banco genômico com ESTs de *Eucalyptus*. Agruparam-se as seqüências obtendo 5429 singlets e 766 contigs. Os 766 contigs foram comparados com mais de 11 mil ESTs de *E. grandis* e *E. urophylla*. Também comparou-se todas seqüências obtidas com seqüências depositadas no "GenBank" através da rotina Gene Projects, do LGE/Unicamp. No total, cerca de 2% do total de pares de bases seqüenciadas estavam em regiões codificantes. É importante ressaltar a identificação de introns e exons, além de regiões promotoras, a partir destas análises, visto que estas estruturas não podem ser identificadas em ESTs. Também identificaram-se genes putativos para 16 tRNAs utilizando o programa tRNAscan-SE. Este banco de dados genômico está sendo utilizado no âmbito do Projeto Genolytplus no processo de ancoragem do mapa genético com mapa físico, no desenvolvimento de novos marcadores microssatélites e na identificação de regiões promotoras.

¹ Eng. Agr., mestrando, Unicamp, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, Ph.D., Universidade Católica de Brasília.

³ Biólogo, doutorando, Unicamp.

⁴ Eng. Agr., Ph.D., Unicamp.

⁵ Eng. Florestal, Ph.D., UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

047 - EXTENSÃO DO MAPA GENÉTICO REFERÊNCIA DE EUCALIPTO UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES COM DETECÇÃO FLUORESCENTE E MAPEAMENTO DE QTL PARA CARACTERÍSTICAS DE INTERESSE COMERCIAL (Extension of the reference genetic map for eucalypt using fluorescently labeled microsatellite markers and QTL mapping of characters with economic importance)

Missiaggia, A.A.¹, Bueno, N.W.², Rezende, G. D.³, Grattapaglia, D.⁴

A linha de construção de mapas de ligação e a localização de QTL (Quantitative Trait Loci) economicamente relevantes tem sido uma estratégia bastante explorada por grupos de pesquisa em associação com empresas privadas. Mapas genéticos de primeira geração, baseados em marcadores dominantes RAPD e AFLP apresentam sérias limitações quanto à transferibilidade de marcas entre diferentes pedigrees e conseqüentemente não permitem estudos comparativos e validações de posicionamento de QTL. O nosso grupo desenvolveu as primeiras versões de mapas genéticos de segunda geração baseados exclusivamente em marcadores microsatélites. Esta classe de marcador apresenta uma fidelidade na transferência de locos para outros cruzamentos permitindo assim validação e estudos detalhados de variabilidade alélica a QTL. Este trabalho visa estender a cobertura e densidade do mapa genético referência para eucalipto, utilizando 300 marcadores microsatélites e detecção de QTL para teor de pentosana, diâmetro da madeira e densidade. A construção do mapa genético está sendo realizada a partir da genotipagem de uma progênie de 188 indivíduos de um cruzamento entre dois clones elite geneticamente contrastantes. A genotipagem desses indivíduos via detecção fluorescente em sistemas triplex está sendo realizada na plataforma ABI 3100 em formato 384. Até o momento, foram genotipados 170 microsatélites nos 11 grupos de ligação. Para a construção do mapa de ligação, foi utilizado o software Outmap desenvolvido pelo CSIRO para lidar com misturas de razões de segregação em cruzamentos entre indivíduos heterozigotos. Para a detecção dos QTL, foi utilizado o software Mapmaker/QTL. Foram encontrados QTL para teor de pentosana (LOD 4,00), diâmetro (LOD 4,244), e densidade (LOD 3,945 e LOD 5,864) para o genitor 1 e QTL para diâmetro (LOD 3,05) e densidade (LOD 2,98) para o genitor 2. Este novo mapa gerado, além de ser utilizado para validar o mapa desenvolvido anteriormente, servirá de mapa-referência para o projeto Genolyptus.

¹ Eng. Florestal, doutorando, ESALQ/USP, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., Ph.D., ARACRUZ S.A.

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

048 - IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES RAPD PARA UTILIZAÇÃO NO CONTROLE DE QUALIDADE DE PRODUÇÃO DE ALHO-SEMENTE DA CULTIVAR AMARANTE (RAPD markers identification for the utilization on the quality production control of garlic cloves of the Amarante cultivar)

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

A produção mundial de alho é de aproximadamente 12 milhões de toneladas. No Brasil, o alho é uma das principais hortaliças em área cultivada (14.353 ha), detendo também expressivo volume de produção, cerca de 101 mil toneladas anuais. Sendo o alho uma espécie propagada vegetativamente, as viroses assumem um papel preponderante na redução da produção e qualidade do alho produzido, acarretando uma perda gradual da capacidade produtiva da planta e na longevidade dos bulbos em armazenamento. Praticamente todo o alho-semente utilizado no Brasil está contaminado com um ou mais patógenos, notadamente vírus. Objetivando um melhoramento da qualidade sanitária do alho-semente, foram obtidos estoques de material livre de vírus da cultivar Amarante (aproximadamente 25.000 bulbilhos). A capacidade de distinção de cultivares de alho, visando a detecção de mistura varietal após multiplicação *in vitro* é extremamente importante. No segundo ciclo de multiplicação, em casa de vegetação, a correta identificação da cultivar não é possível até que os bulbos sejam produzidos. Marcadores obtidos através da amplificação ao acaso de DNA polimórfico (RAPD) podem ser utilizados para diferenciar cultivares quando estas não são ou não estão em uma fase morfológicamente distinguíveis. Estes marcadores são rápidos de se obter, podendo ser uma alternativa para uso em controle de qualidade de lotes iniciais após a fase de termoterapia e cultura de ápices caulinares. Foram comparados conjuntos de cinco plantas de algumas cultivares: Mossoró, Quitéria, Chonan, Caçador, Amarante (este último infectado com vírus), com cinco conjuntos de 20 indivíduos cada de plantas da cultivar Amarante comprovadamente livres de vírus. Foram identificados dezesseis marcadores RAPD que só foram amplificados nas amostras da cultivar Amarante, distinguindo-as das demais cultivares. Além disso, nenhuma diferença foi constatada entre o perfil das amostras livres de vírus e infectadas, na cultivar Amarante. Confirmou-se que não houve mistura varietal na manipulação do material na fase de limpeza clonal. Os dezesseis marcadores RAPD são adequados para a identificação da cultivar Amarante quando comparado com as cultivares avaliadas, todas sendo manipuladas em laboratório de biologia celular no processo de erradicação de vírus.

¹ Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Técnica de laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças.

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

049 - INFECTIVIDADE DO ISOLADO I-01 DE *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus EM LINHAGENS CELULARES DE INSETOS (Infectivity of the *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus I-01 isolate in insect cell lines)

Santos, A.C.B.¹, Ribeiro, Z.M.A.², Dalmolin, C. C.³, Castro, M.E.B.⁴.

Em estudos prévios, isolados de *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) foram identificados em lagartas *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) causando sérios danos à produção de seda no estado do Paraná. Dentre os isolados virais identificados, o BmMNPV I-01 tem sido utilizado para estudos de caracterização do vírus. Para verificar a especificidade deste isolado viral, os efeitos de infecção em diferentes linhagens celulares de insetos foram avaliados pelo monitoramento de alterações morfológicas das células, pela produção de corpos de oclusão observados por microscopia de contraste de fase e por análise da síntese de proteínas virais em eletroforese de gel de poliacrilamida (PAGE-SDS). Para o procedimento de infecção, células hospedeiras (BM-5) foram transfectadas com o DNA de BmMNPV utilizando cellfectin, e o sobrenadante obtido, contendo vírus extracelulares ("budded virus" - BV), foi utilizado como inóculo. Entre as cinco linhagens celulares testadas (SF-9, SF-21, UFL-AG-286, BM-5, BTI Tn-5B1-4), somente a BM-5 foi susceptível ao isolado BmMNPV I-01, exibindo uma infecção produtiva, facilmente visualizada pelo grande número de poliedros nos núcleos das células (72 horas pós-infecção). Contudo as células UFL-AG-286 em 48hp.i. apresentaram lise celular sugerindo a ocorrência de apoptose. Para investigar a síntese de proteínas virais, células de BM-5 e UFL-AG-286 infectadas por BmMNPV I-01 foram marcadas com ³⁵S-metionina em 24, 48 e 72h p.i., e analisadas em PAGE-SDS. Em tempos tardios de infecção, células BM-5 apresentaram perfil de proteínas diferente do observado em células controle. Uma forte banda de 30kDa, correspondendo a poliedrina, a principal proteína dos baculovirus, foi detectada. Entretanto, o mesmo não ocorreu em células UFL-AG-286 infectadas com esse mesmo vírus. Os perfis eletroforéticos nas diferentes horas pós-infecção foram semelhantes ao exibido de células não infectadas (controle). Os resultados sugerem que BmMNPV possui alta especificidade com espectro de hospedeiro *in vitro* muito restrito, e infecção produtiva apenas em células *B. mori*.

¹Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³Bióloga, mestranda, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

050 - MARCADORES MICROSSATÉLITES (SSR) PARA A ESPÉCIE MADEIREIRA AMAZÔNICA *Manilkara huberi* – MAÇARANDUBA (Microsatellite markers for the timber Amazonian species *Manilkara huberi* - Maçaranduba)

Azevedo, V.C.R.¹, Vinson, C.C.², Silva, V.P.³, Ciampi, A.Y.⁴

A floresta amazônica abriga uma enorme riqueza de essências florestais, além de suas propriedades madeireiras. A maçaranduba (Sapotaceae) é uma espécie amazônica madeireira intensamente explorada. Devido a essa exploração, estudos de análise genômica têm sido realizados, pois fornecem informações sobre diversidade, sendo de fundamental importância para a definição de estratégias adequadas para o manejo e a conservação das espécies nativas como a maçaranduba. Para análises nesse nível os marcadores SSR são uma ferramenta importante. Esses marcadores têm herança co-dominante, são multi-alélicos, abundantes e distribuídos por todo o genoma. O DNA total foi extraído segundo o protocolo de CTAB 2%, e digerido com a enzima TSP 509 I. Após o processo de enriquecimento da biblioteca genômica, o DNA foi ligado ao vetor pGEM-T e transformado em *E. coli*, cepa XL1-Blue. Na seleção por hibridização com sonda poli AG/TC, foram obtidos 271 clones positivos. Um total de 251 clones foram seqüenciados, e 29 primers foram desenhados utilizando o software Primer 3. No processo de otimização, os fragmentos amplificados foram analisados em gel de agarose 3,5%, corado com brometo de etídio e visualizados em UV. Do total, 7 não amplificaram e 22 amplificaram em temperaturas que variaram desde 52°C à 62°C. Estes foram analisados quanto ao número de alelos polimórficos/loco em gel desnaturante de poliacrilamida 4%, corado com nitrato de prata. Apresentaram polimorfismo satisfatório, 14 primers, 5 apresentaram monomorfismo, e 3 não amplificaram fragmentos nítidos. Os 12 locos mais polimórficos foram selecionados para os estudos populacionais. Em análises prévias com 12 indivíduos adultos provenientes da região Amazônica, local de estudo para manejo, foi obtida uma média de 6,1 alelos/loco, $He = 0,79$ e $Ho = 0,71$. Esses locos SSRs estão sendo utilizados nos estudos genéticos da população de *Manilkara huberi* para avaliar os impactos da exploração madeireira, em 500 hectares sob monitoramento em Santarém-PA.

¹ Bióloga, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, FUNTEC/IBAMA/DFID.

² Bióloga, mestranda, UFPA, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Nível médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, FUNTEC/IBAMA/DFID.

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

051 - NOVOS MICROSSATÉLITES PARA *Eucalyptus* A PARTIR DE CLONES "SHOTGUN" (New approach for microsatellite development in *Eucalyptus* using shotgun clones)

Batista, A.R.S.¹, Lourenço, R. T.², Pereira, G.A.G.³, Grattapaglia, D.⁴

No Brasil, espécies de *Eucalyptus* são amplamente utilizadas na obtenção de papel e celulose, e nos últimos 30 anos o gênero foi melhorado a ponto de aumentar consideravelmente a produção e a produtividade. O Projeto Genolyptus surgiu com o intuito de ampliar ainda mais as possibilidades de melhoramento, integrando ferramentas clássicas e moleculares de genética. Dentre as ferramentas moleculares de ampla aplicabilidade estão os marcadores microsatélites, que permitem desde análises populacionais até o mapeamento genético detalhado de QTLs. Neste trabalho, utilizou-se uma forma alternativa de desenvolvimento de marcadores microsatélites, através de seqüenciamento aleatório de DNA e identificação de microsatélites. Seqüências de DNA obtidas por sonicação foram clonadas, seqüenciadas e analisadas pelo programa TROLL para identificação de microsatélites. Os parâmetros de busca incluíram repetições de di a pentanucleotídeos, com um tamanho mínimo da região microsatélite igual a 18 pb. Dentre 6675 seqüências válidas, foram encontradas 321 seqüências microsatélites, e para 156 destas foram desenhados pares de primers flanqueadores. Foi selecionado um subconjunto de 18 pares de primers derivados de seqüências genômicas para testes de amplificação e de polimorfismo. Destes 18, 15 apresentaram polimorfismo e robustez e foram imediatamente acrescentados ao conjunto de marcadores para mapeamento genético. Outros 138 pares de primers estão sendo otimizados, a partir dos quais espera-se um aproveitamento equivalente. Esta técnica de obtenção de microsatélites é eficiente e apresenta pelo menos quatro vantagens: (1) fornece marcadores com distribuição aleatória no genoma sem nenhum "bias" derivado da distribuição dos sítios de restrição das enzimas utilizadas no processo de construção de bibliotecas enriquecidas; (2) permite o desenvolvimento de microsatélites baseados em repetições AT; (3) a taxa de novidade de marcadores é muito alta, pois a biblioteca genômica é naturalmente normalizada; (4) permite a identificação e desenvolvimento de microsatélites baseados em tri e tetranucleotídeos.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., mestrando, Unicamp, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., Ph.D., Unicamp.

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

052 - NÚMEROS CROMOSSÔMICOS EM ESPÉCIES E CULTIVARES DE DUAS SECÇÕES TAXONÔMICAS DO GÊNERO *Arachis* L. (LEGUMINOSAE) [Chromosome numbers in species and cultivars from two taxonomic sections of genus *Arachis* L. (Leguminosae)]

Lima, J.G.A.¹, Peñaloza, A.P.S.², Santos, S.³, Valls, J.F.M.²

O número cromossômico é um importante parâmetro na caracterização de uma espécie, auxiliando nos estudos taxonômicos de diversas famílias e grupos vegetais, constituindo-se numa ferramenta útil para programas de melhoramento que utilizam germoplasma de espécies silvestres. No gênero *Arachis* L., a maioria das 81 espécies é diplóide com $2n = 20$ cromossomos. Uma planta triplóide de *A. pintoi* Krapov. & W. C. Gregory (Argel 2) surgiu durante a multiplicação do acesso diplóide num Banco de Germoplasma. O amendoim (*A. hypogaea* L.), é uma das poucas espécies tetraplóides ($2n = 40$) de *Arachis*. O gênero inclui quatro espécies recentemente relatadas como diplóides, com $2n = 18$, número não conhecido para o gênero até 1996, das quais algumas haviam sido cogitadas para uso em programas de melhoramento do amendoim. Neste trabalho, determinou-se o número cromossômico de 12 acessos de germoplasma e quatro cultivares de *A. pintoi* (Secção *Caulorrhizae*), e de quatro acessos de *A. decora* Krapov., W. C. Gregory & Valls, da secção *Arachis*, todos nativos do Brasil. Para tanto, pontas de raiz do material em estudo foram coletadas em α -bromonaftaleno, fixadas em solução Carnoy, seguida de hidrólise em HCl 5N, por vinte minutos, e de coloração em reativo de Schiff por uma hora, ambas à temperatura ambiente. Os meristemas radiculares foram macerados em carmim acético 2%. Para os acessos e cultivares de *A. pintoi* observou-se apenas $2n = 20$, número previamente determinado para 16 outros acessos da espécie, não tendo sido encontrados triplóides. Os acessos Valls et al. 9955, Werneck & Pinheiro 133 e 171 e Werneck & Martins 674 de *A. decora* apresentaram $2n = 18$, resultado compatível com o registrado para a espécie. No entanto, uma planta do acesso Valls et al. 9955 apresentou $2n = 27$ cromossomos. Tal fato pode ter sido originado pela fusão de um gameta normal e outro não reduzido. Alterações meióticas em plantas autógamas e prolíficas, como *A. decora*, podem ser originadas por fatores abióticos, ocorridos durante a formação dos gametas. Este é o segundo registro de autotriploides para espécies do gênero, ambos observados durante a multiplicação do germoplasma em Bancos Ativos, alertando para a importância da determinação do número cromossômico em espécies e acessos mantidos nos Bancos de Germoplasma, principalmente em materiais de grande interesse para o melhoramento da espécie cultivada.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Bolsista CNPq.

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

³ Ass. Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

053 - SELEÇÃO DE ACESSOS DE *Arachis* SILVESTRES RESISTENTES AOS FITONEMATÓIDES *Meloidogyne arenaria* raça 1 e 2, *M. javanica* raça 4 E PRODUÇÃO DE UMA POPULAÇÃO F2 PARA O MAPEAMENTO GENÉTICO E ESTUDO DA EXPRESSÃO GÊNICA (Identification of wild *Arachis* accessions resistant to *Meloidogyne arenaria* race 1 and 2, *M. javanica* race 4 and the development of a F2 segregant population to genetic mapping and gene expression studies)

Proite, K.¹, Dias, J.G.O.², Bertoli, D.J.³, Leal-Bertoli, S.C.M.⁴, Guimarães, P.M.⁵

Os nematóides formadores de galhas causam perdas economicamente significantes em muitas culturas. *Meloidogyne arenaria* raça 1 é o principal fitonematóide do amendoim cultivado. Já foi descrito na literatura que várias espécies silvestres de *Arachis* possuem resistência aos nematóides *Meloidogyne*, incluindo *M. arenaria* raça 1. Previamente, testamos diversos acessos do Banco de Germoplasma de *Arachis* da EMBRAPA para resistência aos fitonematóides, *M. arenaria* raça 1 e 2, *M. javanica* raça 4. Encontramos acessos contrastantes quanto à resistência. De acordo com o fator de reprodução calculado em bioensaios em casa de vegetação, um acesso de *A. stenosperma* (V10309) foi considerado imune e um acesso de *A. duranensis* (K7988) foi considerado moderadamente susceptível a *M. arenaria* raça 2 e *M. javanica* raça 4. Já em relação a *M. arenaria* raça 1, os acessos citados mostraram um contraste bastante evidenciado, sendo o acesso *A. duranensis* (K7988) altamente susceptível. Estes acessos contrastantes foram cruzados e uma população F₂ gerada. Esta população segregante para resistência, no momento, está sendo reproduzida por estaquia para futuros bioensaios. Será objeto de estudo para o mapeamento genético de resistências, de regiões análogas a genes de resistência (RGAs), marcadores do tipo microssatélite, marcadores-âncora e RAPD, bem como para estudos de expressão gênica.

¹ Bióloga, doutoranda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Prestadora de Serviços, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

054 - TRANSFERABILIDADE E CONTEÚDO INFORMATIVO DE MICROSSATÉLITES PARA CONSTRUÇÃO DE MÚLTIPLOS MAPAS GENÉTICOS ENTRE CINCO ESPÉCIES DO GÊNERO *Eucalyptus* (Transferability and informative content of microsatellite markers to develop multiple genetic maps among five species of *Eucalyptus* genera)

Mamaní, E.M.¹, Missiaggia, A.², Grattapaglia, D.³

Em *Eucalyptus*, a estratégia de hibridação interespecífica tem resultado em um aumento do ganho de produção como consequência da exploração do vigor híbrido, resultante da combinação de *pools* gênicos diferentes. A construção de mapas de ligação a partir destes cruzamentos torna-se uma ferramenta eficiente para a localização de QTLs. No âmbito do projeto Genolyptus foram realizadas dezenas de cruzamentos interespecíficos com a finalidade de maximizar a segregação e variabilidade nas descendências e amostrar ampla variabilidade alélica a QTLs. Os 12 parentais selecionados para estes cruzamentos, realizados em um delineamento de dialelo incompleto, envolvem dois híbridos interespecíficos e indivíduos puros de diferentes procedências de cinco espécies do gênero *Eucalyptus*. Em preparação ao desenvolvimento de mapas genéticos para estes cruzamentos, este trabalho tem como foco a análise de transferibilidade e conteúdo informativo de uma bateria de cerca de 400 microssatélites entre estes parentais. A triagem e análise dos microssatélites estão sendo conduzidas em sistemas triplex com marcação fluorescente em plataforma ABI 3100, formato 384. Na análise dos primeiros 152 locos, apenas oito não foram transferíveis entre os 12 indivíduos das cinco espécies, indicando aproximadamente 95% de homologia para as regiões flangeadoras dos locos microssatélites. A genotipagem dos 12 parentais permitiu inferir as razões de segregação esperadas em 11 dos cruzamentos já realizados dentro do projeto. As possíveis razões de segregação incluem 1:1, 1:2:1 e marcadores totalmente informativos segregando 1:1:1:1. Esta análise discriminou 101 marcadores (90%) transferíveis a todos os cruzamentos e uma média de 128 marcadores (88%) que são informativos dentro de cada cruzamentos. A simulação das configurações genotípicas de segregação ofereceu uma discriminação refinada da bateria de locos de microssatélites amplificados; indicando que uma alta porcentagem dos locos analisados poderão ser usados na construção de múltiplos mapas envolvendo as cinco espécies do gênero *Eucalyptus*.

¹ Lic. em Genética, M. Sc., Embrapa de Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Florestal, doutorando, ESALQ/USP, Embrapa de Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Florestal, Ph.D., Embrapa de Recursos Genéticos e Biotecnologia.



055 - CALENDÁRIO SAZONAL KRAHÔ: LEVANTAMENTO PRELIMINAR DA ÉPOCA DE COLETA DAS FRUTAS NATIVAS (Krahô calendar season: preliminary survey of collecting period of native fruits)

Alencar, C.¹, Camargo, N.F.², Machado, A.P.S.³, Dias, T.A.B.⁴

O povo Krahô é um grupo indígena que vive no nordeste do Estado do Tocantins, bioma Cerrado, com cerca de 2.000 pessoas, distribuídas em 17 aldeias. Têm como fonte de subsistência a agricultura, a caça, a pesca e a coleta de frutos silvestres. Possuem complexo sistema de metades que refletem sua organização social, eles dividem o ano em duas épocas, wakmeye (verão) que tem os meses com menos e/ou nenhuma chuva de maio a setembro e katameye (inverno), quando chove de outubro a abril. O objetivo desse trabalho foi identificar a relação das frutas nativas e a época de maior disponibilidade, ou seja calendário sazonal de etnia Krahô. Adotou-se a abordagem êmica, a observação participante, entrevistas abertas e semi-estruturadas e escuta sensível (com entrevistados de diversas faixas etárias). Os dados coletados são referentes a três aldeias Krahôs; Cachoeira (S 08° 15' 25,6" / W 47° 30' 50,8"), Aldeia Nova (S 08° 13' 11,7" / W 47° 11' 57,5") e Rio Vermelho (S 08° 02' 49,8" / W 47 15 28,0") e as fontes são homens, mulheres e crianças. O conjunto de dados anotados foi triado e organizado o que permitiu identificar as variedades de fruteiras nativas utilizadas pelo povo Krahô e a época de maior disponibilidade. Assim podemos disponibilizar um calendário Sazonal Preliminar da Etnia Krahô. Frutas do verão: pucha, tucum da mata (Rõntirô), tucum da chapada, caju (ahkryt), maraçanduba, paumeri, taturuba, jatobá (pôj), xicha, ingá. Frutas do inverno: buriti (crow), bacaba (capêr), puçá (Khôhtot) cajá, najá, cagaita, buritirana, bacuri, araca, (Cúmcê), macaúba, maracujá da chapada, murici, oiti (Capôeti), pequi (prin), pitomba (Pinhôtôiré Xô), sapucaia do cerrado (Côiti Xô), piaçava (Itunin Xô). No levantamento não foi possível ter a escrita indígena de todas as variedades de frutíferas. O intuito dessas informações é orientar e estimular o processo de coleta e armazenamento dos frutos como uma alternativa de sustentabilidade alimentícia e econômica.

¹ Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biologia, graduando, UCB, Universidade Católica de Brasília.

³ Geografia, graduanda, UEG, Universidade Estadual de Goiás.

⁴ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

056 - CONSERVAÇÃO DE POLÍNEA DE *Oncidium fuscopetalum* LINDL., UMA ALTERNATIVA NA PRESERVAÇÃO DAS ORQUÍDEAS DO CERRADO (*Oncidium fuscopetalum* Lindl. pollinia conservation; an alternative for the preservation of Cerrado's orchids)

Rodrigues Jr., C.E.¹, Mendes, R.A.²

O Cerrado, segundo maior bioma da América do Sul, ocupa 25% do território nacional, porém sua riquíssima flora vem sofrendo interferências pela ação antrópica nas últimas décadas. Devido a sua exuberância e seu grande potencial como plantas ornamentais as orquídeas têm sido um dos grupos vegetais mais ameaçados desse bioma. Para evitar a perda de informações florísticas, ecológicas e genéticas, faz-se necessária a criação de estratégias de preservação dessas plantas. Este trabalho teve como principal objetivo analisar a eficácia da conservação de políneas de *Oncidium fuscopetalum*, durante o período de um ano utilizando três tratamentos: geladeira (5°C), freezer (-20°C) e nitrogênio líquido (-196°C). Antes do resfriamento as políneas foram desidratadas utilizando solução saturada de CaCl₂ · 6H₂O (Cloreto de cálcio hexahidratado). A viabilidade das políneas foi testada por meio² de corante de Alexander, teste de tetrazólio, e polinização artificial. Foi realizada ainda uma análise comparativa da eficácia desses dois métodos indiretos como indicadores da viabilidade das políneas. O teste de tetrazólio não demonstrou ser um bom indicador de viabilidade de políneas da espécie estudada, apresentando diferenças em relação à polinização artificial e ao corante de Alexander. As políneas testadas com corante de Alexander apresentaram resultados iguais aos da polinização artificial, demonstrando uma boa eficácia desse corante como indicador de viabilidade de políneas e comprovando os excelentes resultados dos diferentes tipos de armazenamento. Os resultados mostraram que o resfriamento sob as três temperaturas foi um método eficiente e economicamente viável na conservação das políneas.

¹ Biólogo, B.Sc., IBAMA, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

057 - CONSERVAÇÃO “ON FARM”: LEVANTAMENTO DE ETNOVARIEDADES DE BATATA-DOCE JUNTO AO POVO INDÍGENA KRAHÔ (On-farm conservation: Survey of sweet potato etnovarieties from Krahô’s community)

Alencar, C.¹, Camargo, N.F.², Machado, A.P.S.³, Krahô, T.⁴, Dias, T.A.B.⁵

A conservação de recursos genéticos através de cultivos de variedades tradicionais pelos agricultores, em agroecossistemas, denomina-se conservação *on-farm*. Mundialmente, existem poucas experiências ou atividades relacionadas a esta prática, embora a literatura enfatize muito sua importância com relação à economia local e à manutenção da diversidade. A experiência pioneira da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia nesta linha foi a ação de reintrodução de variedades do milho tradicional “Pôhypey”, nas roças do povo indígena Krahô, em 1996, que propiciou a recuperação da cultura relacionada a este recurso genético (mitos, ritos, músicas etc.). Desde o ano 2000, a Embrapa desenvolve ações de conservação “on farm”, junto ao povo indígena Krahô, buscando conhecer as etnovarieties cultivadas e sensibilizar a comunidade para a manutenção da variabilidade genética. O povo Krahô possui cerca de 2000 pessoas, um grupo Timbira da família lingüística Macro – jê que vive em 320.000 ha no nordeste do estado do Tocantins, municípios de Itacajá e Goiatins. Os levantamentos realizados até agora por técnicos da Embrapa, usando metodologias que adotam a visão ética eêmica têm identificado a batata-doce como principal germoplasma demandado por este povo. Atualmente perderam esse costume, porém podemos encontrar alguns velhos índios que sabem descrever com detalhes o processo de fabricação da farinha da batata-doce, e ainda sabem tecer a esteira e o pakutu (bolsa para armazenamento e transporte desta farinha). O objetivo deste trabalho foi identificar as etnovarieties de batata-doce demandadas pelos Krahô da aldeia Santa Cruz e as características morfológicas relacionadas. Foram utilizadas entrevista semi-estruturada e observação participante, buscando conhecer o nome indígena, o nome em português e as características relacionadas. Os entrevistados não souberam informar o nome em português destas variedades. Foram assim relacionadas: ját jakare / Branco, grande e mais enxuto, jâtcráre / Branco, grande e mais molhado, jât pônti / Branco e o maior de todos, jât caprântere / amarelo, jât jô tottepre / vermelho e Jât tycre / azul. Os Krahô comentaram que perderam muitas variedades de batata-doce, sendo necessário a reintrodução, considerando a grande importância desta espécie no sistema simbólico, transcendendo a questão alimentar.

¹ Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biologia, graduando, UCB, Universidade Católica de Brasília.

³ Geografia, graduanda, UEG, Universidade do Estado de Goiás.

⁴ Professor indígena, aldeia Santa Cruz.

⁵ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

058 - CONSTRUÇÃO DO PROCESSO DE ANUÊNCIA PRÉVIA INFORMADA JUNTO À COMUNIDADE INDÍGENA KRAHÔ (Construction of the Prior Informed Approval Process of Krahô Indigenous Community)

Camargo, N.F.¹, Machado, A.P.S.², Alencar, C.³, Ferreira, S.N.⁴, Bueno, Y.M.⁵,
Moreira, L.⁶, Dias, T.A.B.⁷

O acesso ao patrimônio genético e ao conhecimento tradicional associado, bem como a repartição dos benefícios derivados de sua exploração estão regulamentados no Brasil pela Medida Provisória 2186-16/01 e pelo Decreto 3945/01. Esta legislação determina que o acesso a componente do patrimônio genético localizado em terras indígenas e o acesso ao conhecimento tradicional associado sejam precedidos por um processo de esclarecimento às comunidades locais ou indígenas, denominado Anuência Prévia Informada, firmado pelas entidades representativas da comunidade. Em 2000, a Embrapa e a Associação União das Aldeias Krahô-Kapèy assinaram Contrato de Cooperação Técnica prevendo, dentre outras atividades, levantamento florístico, coleta de germoplasma (alimentação e agricultura) e acesso às informações tradicionais relacionadas. Como o Contrato é anterior à edição da Medida Provisória, não havia a necessidade da Anuência. O objetivo deste trabalho foi acompanhar e relatar o processo de construção da Anuência pelos técnicos da Embrapa junto à comunidade Krahô. Foi realizada uma viagem ao território Krahô, de 06/09/03 a 28/09/03, realizando reuniões em cada uma das aldeias para explicar detalhadamente as pesquisas desenvolvidas pela Embrapa no território, a necessidade do instrumento de Anuência e da renovação contratual. Cumpre salientar que a comunidade foi indagada se gostaria que o trabalho da Embrapa continuasse e quais seriam os seus representantes. A comunidade se manifestou favorável à continuidade dos trabalhos e relacionou cinco Associações para representá-la: União das Aldeias Krahô-Kapèy, Mãkrare, Awkêre, Inxê-Cati e Wõkram. Nos dias 02 e 03/10/03, os presidentes das associações citadas, alguns pais e técnicos da Fundação Nacional do Índio – FUNAI visitaram Unidades da Embrapa em Brasília e firmaram o Termo de Anuência Prévia para Acesso a Componente do Patrimônio Genético e ao Conhecimento Tradicional Associado, para fins de pesquisa científica sem potencial ou perspectiva de uso comercial, na comunidade indígena Krahô.

¹ Biologia, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Geografia, graduanda, UEG, Universidade do Estado de Goiás.

³ Biologia, graduando, UniCEUB, Centro de Ensino Unificado de Brasília.

⁴ Advogada, Embrapa Transferência de Tecnologia.

⁵ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Transferência de Tecnologia.

⁶ Geógrafa, M.Sc., Embrapa Cerrados.

⁷ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

059 - GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Ananas ananassoides* (BAKER L. B. SM.) (BROMELIACEAE) IN VITRO (*Ananas ananassoides* (Baker L. B. Sm.) (Bromeliaceae) *in vitro* seeds germination)

Figueiredo, G.S. F.¹, Nunes, A.C.G. da S.¹, Mendes, R.A.², Cardoso, L.D.³

Ananas ananassoides é uma espécie silvestre de bromélia espinhosa, cujo fruto ornamental varia de 4 a 10cm de comprimento, assemelhando-se a um mini- abacaxi que é utilizado em arranjos florais em diversas partes do mundo. É planta nativa da América do Sul, sendo encontrada principalmente no cerrado brasileiro, norte da Argentina e Paraguai. O cultivo *in vitro* desta bromeliácea tem como objetivo maior produção de mudas e melhor desempenho nutricional das mesmas já que o meio de cultura fornece nutrientes em concentração que nem sempre é encontrada na natureza. Além disto, o cultivo desta *in vitro* evita que plantas silvestres sejam retiradas do seu habitat natural em uma atividade extrativista predatória de exploração ilegal. Para a germinação *in vitro*, 66 sementes foram desinfestadas com uma solução de hipoclorito de sódio a 2%, utilizando uma seringa descartável de 10mL. Após 20 minutos de imersão, as sementes foram enxaguadas três vezes com água esterilizada (destilada e autoclavada) e foram semeadas em tubos de ensaio de 2,5cm de diâmetro contendo meio de cultura MS na metade de sua concentração. Foram colocadas em média três sementes por tubo. As sementes foram incubadas em uma câmara com temperatura $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de $56,5 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. A germinação *in vitro* de *Ananas ananassoides* demonstrou ser bastante eficiente, uma vez que seu desenvolvimento partindo de sementes gerou plântulas saudáveis e vistosas no período de dois meses. As mudas neste período apresentaram o tamanho médio de 4cm de altura e a porcentagem de mudas germinadas foi de 91,2%. Do ponto de vista comercial, a germinação das sementes *in vitro* possibilitaria a obtenção de grande número de plantas híbridas, bem como viabilizaria a obtenção de plantas com características mais ornamentais e de maior valor econômico.

¹ Biologia, graduanda, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

060 - GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Schlumbergera truncata*. (HAW.) MORAN (CACTACEAE) IN VITRO. (*Schlumbergera truncata*. (Haw.) Moran (Cactaceae) in vitro seed germination)

Nunes, A.C.G.da S.¹, Figueiredo, G.S.F.¹, Mendes, R. A.², Cardoso, L. D.³

Planta ornamental, a *Schlumbergera truncata*, é uma herbácea epífita da família das cactáceas, com 30-60 cm de altura, muito ramificada, nativa do Brasil. O caule é formado por artigos suculentos, achatados, pendentes e sem espinhos, com flores concentradas nas extremidades destes artigos. As pétalas recurvadas das flores variam entre as cores púrpura, rosa, amarelo e branco. Floresce no Hemisfério Sul de maio até o fim do inverno, sendo por isso popularmente chamada de flor-de-maio. No Hemisfério Norte, especificamente na Europa e EUA, sua floração coincide com a época do Natal até fevereiro, recebendo o nome de flor-de-natal, cactos-de-natal e ainda flor-de-cetim ou flor-de-seda, graças ao aspecto acetinado das flores. De cultivo fácil e com boa disponibilidade no mercado, esta cactácea pode ser propagada através de estacas de caule na primavera e verão, sendo que estas novas mudas serão clones da planta mãe. O objetivo da propagação de sementes *in vitro* visa maior produção de plantas, uma vez que o meio de cultura empregado fornece todos os nutrientes necessários para um melhor desenvolvimento das plântulas. Além disso, o uso de sementes viabiliza a produção de híbridos saudáveis provenientes da polinização de duas espécies do mesmo gênero. Isso também possibilita uma maior variabilidade genética das plantas obtidas, permitindo o aparecimento de fenótipos mais ornamentais. Para a desinfestação das sementes da *Schlumbergera truncata*, foi utilizada uma seringa descartável de 10mL, hipoclorito de sódio a 2 % e água esterilizada (destilada e autoclavada). As 430 sementes foram introduzidas na seringa juntamente com a solução de hipoclorito de sódio a 2%. Após 20 minutos de imersão, elas foram enxaguadas três vezes com água esterilizada e, posteriormente, inoculadas em tubos de ensaio de 2,5cm de diâmetro por 15cm de altura, contendo 10mL de meio MS na metade da sua concentração. Devido ao pequeno tamanho das sementes, foram colocadas uma média de 16 unidades por tubo. A incubação se deu em câmara com temperatura constante de 25°C, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de $56,5\frac{1}{4}\text{mol.m}^{-2}\text{.s}^{-1}$. O início da germinação aconteceu após três semanas da sementeira. Aos 180 dias da inoculação, a porcentagem de germinação foi de 20,6%, e as plântulas atingiram tamanho médio de 2,87 cm.

¹ Biologia, graduanda, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

061 - LEVANTAMENTO PRELIMINAR DAS ETNOVARIEDADES DE ARROZ DEMANDADAS PELO POVO KRAHÔ (Preliminary Survey of rice ethnovarieties required by Indigenous Krahô People)

Alencar, C.¹, Camargo, N.F.², Machado, A.P.S.³, Krahô, T.⁴, Dias, T.A.B.⁵

O povo Krahô, ocupa um território de 320.000 ha, no bioma Cerrado, municípios de Itacajá e Goiatins, no Estado do Tocantins. Tradicionalmente eram caçadores e coletores, praticando também agricultura de subsistência que, até meados da década de 60, era bastante diversificada com um sistema agrícola ajustado as suas necessidades. Na década de 70, fez parte da política indigenista o estímulo a produção de grandes lavouras coletivas de arroz (monocultura), quando o modelo tradicional Krahô era o de lavouras familiares. Essa prática ocasionou o desmoronamento do sistema de produção tradicional, ocasionando a perda de sementes tradicionais e a desorganização de seu sistema milenar de segurança alimentar. O arroz (*Oryza sativa*), assim introduzido, passou a compor fortemente a dieta alimentar deste grupo indígena que, ao longo destes anos, tem conseguido reunir uma considerável diversidade genética desta espécie pelas trocas realizadas com sertanejos regionais e nas costumeira viagens aos parentes (indígenas de grupo afins) do sul do Maranhão e norte do Tocantins como Apinajé, Canela, Gavião entre outros. O objetivo deste trabalho foi realizar levantamento das etnovarietades de arroz escassas ou perdidas pela comunidade e das principais características morfológicas identificadoras. Na aldeia Santa-Cruz, uma das 17 aldeias Krahô, foram feitas entrevistas semi-estruturadas com indígenas jovens e idosos e observação participante (permanência na aldeia por uma semana, setembro/ 2003). Após a obtenção das informações a grafia foi corrigida por um indígena professor na própria aldeia. Assim foi constatado que eles consideram o tamanho e a cor como características identificadoras importantes, sendo as seguintes etnovarietades relacionadas: Arýjhy Awocêt- vermelho, Arýjhy Tycre – preto, Arýjhy cawarjapyre – branco médio, Arýjhy pãcti – marrom maior, Arýjhy jakare – branco médio, Arýjhy caprêcti - vermelho maior, Arýjhy cakôcurowre – arroz ponta preta, Arýjhy jôtotycti – arroz ponta preta maior. Considerando que o arroz já está bastante incorporado a dieta alimentar Krahô, a diversificação de variedades é importante, garantindo maior segurança alimentar.

¹ Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biologia, graduando, UCB, Universidade Católica de Brasília.

³ Geografia, graduanda, UEG, Universidade do Estado de Goiás.

⁴ Professor indígena, Aldeia Santa Cruz.

⁵ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

062 - MICROPROPAGAÇÃO DE *Melocactus violaceus ssp. margaritaceus* N. P. TAYLOR (CACTACEAE) IN VITRO (*Melocactus violaceus ssp. margaritaceus* N. P. Taylor (Cactaceae) *in vitro* micropropagation)

Nunes, A.C.G. da S.¹, Figueiredo, G.S.F.¹, Mendes, R.A.², Cardoso, L.D.³

O gênero *Melocactus*, conhecido como cabeça-de-frade ou coroa-de-frade, é caracterizado geralmente por ser solitário, globoso e quando maduro possuir em seu ápice um tampão denso, chamado de cefálio, onde florescem as flores geralmente rosa ou vermelho escuras e onde também são produzidos os frutos. Devido a grande exploração e desmatamento de áreas onde são encontrados esses cactus e a própria coleta dos mesmos para a comercialização, esse gênero vem sendo extinto em seu habitat natural no México, Índias Ocidentais e América do Sul. O cultivo da semente no solo tem sido empregado para a reprodução, mas não com muito sucesso pelo fato desta planta ter exigências muitas vezes complicadas para o seu crescimento. A germinação de sementes *in vitro* e a micropropagação vêm sendo uma alternativa para a reprodução em escala de plantas com dificuldades de cultivo por terem baixo poder de germinação, baixo poder de brotação ou até mesmo plantas com grandes exigências nutricionais, o que limita seu poder de disseminação na natureza. A micropropagação foi realizada a partir de plantas germinadas *in vitro*. Elas foram cortadas em pedaços contendo no mínimo 3-4 aréolas e inoculadas em tubos com 10mL de meio MS na metade de sua concentração com três diferentes níveis de BAP (Benzilaminopurina). Nos três tratamentos foram adicionados 0mg/L, 0,1mg/L e 1,0mg/L de BAP. Para cada tratamento foram realizadas 20 repetições em tubos de ensaio de 25x150mm. A incubação dos explantes se deu em câmara a 25°C com fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de $56,5 \frac{1}{4} \text{ mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Foi verificado que o tratamento mais eficaz para o enraizamento do cactus foi o tratamento 2 com 35% de 40% de tubos com plantas vivas, seguido pelo tratamento 1 com 1% de 45% das plantas vivas e por fim, o tratamento 3, no qual não houve enraizamento em 55% dos tubos com plantas vivas. Com relação ao enraizamento, a melhor concentração de BAP foi a de 0,1 mg/L embora tenha sido o tratamento com menor rendimento no número total de propágulos desenvolvidos.

¹ Biologia, graduanda, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

063 - QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS (Seeds sanitary quality of forest species)

Araújo, M.M.M.¹, Wetzell, M.M.V.S.², Ramos, V.R.³, Ribeiro, V.S.⁴

A preservação de recursos genéticos florestais tem sido foco de muitos estudos, no entanto informações sobre a qualidade sanitária do germoplasma-semente destas espécies são escassas. Dentre outras, *Dalbergia nigra* e *Caesalpinia microphylla* estão na lista das espécies florestais nativas com prioridade de conservação. Testes de sanidade foram feitos visando contribuir no conhecimento destas espécies florestais. As sementes foram conservadas em uma câmara de secagem com temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$ e $15 \pm 3\%$ de umidade. O método de detecção de fungos foi o "Blotter Test", utilizando-se 400 sementes de cada gênero, onde metade delas receberam um pré-tratamento de hipoclorito de sódio a 1% por três minutos e enxaguadas três vezes com água destilada e autoclavada. A outra metade não recebeu tratamento de assepsia. Foram distribuídas 25 sementes em cada caixa gerbox que foram previamente preparadas com duas folhas de papel de filtro esterilizadas e umedecidas com água destilada e autoclavada. A incubação das sementes foi feita em câmara Percival sob luz negra, em turnos de 12 horas luz e 12 horas escuro, e temperatura entre $20\text{-}23^\circ\text{C}$, por um período de oito dias. A avaliação foi feita sob microscópio estereoscópico e microscópio composto para a identificação dos patógenos. Os fungos detectados foram *Aspergillus flavus*, *Bipolaris* sp., *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp. *Epicoccum* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotia* sp., *Phoma* sp., *Rhizopus* sp. Entre os saprófitas que apareceram com maior frequência nas amostras não tratadas estão *Penicillium* sp., *Aspergillus flavus*, *Rhizopus* sp. e *Epicoccum* sp. Apesar de saprófitas, *Chaetomium* sp. e *Cladosporium* sp. tiveram baixa frequência. Entre os fungos patogênicos detectados, *Phoma* sp. e *Pestalotia* sp. apresentaram baixa frequência. Já *Curvularia* sp. e *Bipolaris* sp. foram detectados apenas em *Dalbergia nigra*, com uma incidência média de 0,5%. Uma alta incidência de bactéria foi observada em todas as amostras. Novos estudos devem ser conduzidos para melhor avaliar a qualidade sanitária das espécies florestais.

¹ Eng. Florestal, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Eng. Agr., doutoranda, UNESP/Botucatu, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Nível médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.



064 - AÇÃO CAIROMONAL DO COMPOSTO (E)-2-HEXENAL SOBRE PARASITÓIDES DE OVOS *Trissolcus* spp. (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) (Kairomonal action of the composition (E)-2-hexenal on parasitoid of eggs *Trissolcus* spp. (Hymenoptera: Scelionidae)

Alarcão, G.¹, Botelho, A.C.^{1'}, Laumann, R.A.², Moraes, M.C.B.³, Sujii, E.R.⁴, Pires, C.S.S.⁵, Borges, M.⁶

Os insetos parasitóides do Gênero *Trissolcus* são importantes agentes de controle biológico de percevejos-praga da soja e constituem uma alternativa ao uso de agrotóxicos. Uma maneira de tornar mais eficiente a ação destes inimigos naturais é a utilização de semioquímicos que atraiam ou retenham os parasitóides na cultura, incrementando as taxas de parasitismo natural. Os percevejos têm um complexo sistema de comunicação química que inclui feromônios sexuais e de alarme. Estes “cheiros” podem ser utilizados como cairomônios pelos parasitóides para localizar o hospedeiro no habitat. Neste trabalho foi avaliada a ação cairomonal de um componente do feromônio de alarme do percevejo *Piezodorus guildinii* (Westwood) sobre quatro espécies de parasitóides de ovos, *Trissolcus basal* (Wollaston), *T. brochymenae* (Ashmead) *T. teretis* Johnson e *T. urichi* Crawford. Foi utilizado um olfatômetro de dupla escolha no formato de Y, que testou o poder de atração do composto (E)-2-hexenal concentrado a 100 ppm sobre 20 fêmeas de cada espécie de parasitóide, testadas individualmente. Verificou-se que, exceto *T. basal*, as fêmeas destas espécies respondem positivamente ao composto, mostrando que este apresenta potencial para ser utilizado como atrativo destes parasitóides.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

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

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

065 - ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DE DUAS ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* CONTRA *Spodoptera frugiperda* (Analysis of the efficiency of two *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda*)

Silva, C.R.M.¹, Demo, C.², Batista, A.C.², Queiroz, R. M. V.³, Praça, L.B.⁴, Dias, D.G.S.⁵, Monnerat, R.G.⁶

O uso de *Bacillus thuringiensis*, bactérias capazes de produzir intoxicação em insetos, tem ganho notoriedade nos meios científico e industrial. Nos anos 60 foi isolada uma estirpe de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, chamada HD-1 que apresentou toxicidade de 2 a 200 vezes superior às estirpes normalmente utilizadas nos produtos comerciais. A partir de então, a procura por outras estirpes, possuidoras de novas toxinas foi estimulada. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia dispõe de uma coleção de trabalhos de *B. thuringiensis*, que entre outras atividades realiza bioensaios com estirpes de diversas instituições de pesquisa. Este trabalho teve como objetivo comparar a eficácia de uma estirpe que produz toxinas diferentes do padrão (Btk) contra *S. frugiperda*. Para determinação da CL foram feitas diluições seriadas decimais, utilizando-se para cada diluição uma placa⁵⁰ de cultivo de células. Em seguida aplicou-se 35µl nos 24 poços destas placas. Após a absorção da cultura bacteriana pela dieta foi introduzida uma larva de segundo ínstar em cada poço⁷. Determinou-se a CL através da análise de Probits, obtendo para o Btk $8,2 \times 10^7$ com intervalo de confiança de 0,09 – 30,4 e para a estirpe S166 CL de $45,0 \times 10^7$ e intervalo de 20,6 – 134,1. O padrão mostrou-se cinco vezes mais efetivo. A presença de dois genes a mais na S166 diferencia as duas estirpes, entretanto não demonstra modificação na efetividade das mesmas.

¹ Biologia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Biologia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr., mestranda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Eng. Agr., bolsista Bthek, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

066 - ATIVIDADE TÓXICA DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* contra a TRAÇA DAS CRUCÍFERAS (*Plutella xylostella*) (Activity toxic of *Bacillus thuringiensis* strains against Diamondback moth (*Plutella xylostella*))

Medeiros, P.T.¹, Barreto, E.G.S.², Dias, D.G.S.³, Monnerat, R.G.⁴

O controle microbiano de insetos tem demonstrado cada vez mais a sua importância para a agricultura, uma vez que este vem sendo utilizado com sucesso como forma alternativa de controle para diversas pragas agrícolas. *Plutella xylostella* é considerada a principal praga das Brássicas devido ao seu ciclo muito curto podendo ocorrer até mais de cinco gerações por ano e, principalmente, pelos sérios danos econômicos causados à cultura. Dentre os agentes de controle microbiano destaca-se o *Bacillus thuringiensis*, onde produtos à base desta bactéria representa cerca de 90% do mercado de bioinseticidas. O presente trabalho tem como objetivo selecionar as estirpes de *B. thuringiensis* tóxicas a *P. xylostella*. Foram testadas 103 estirpes em bioensaios seletivos, onde folhas de couve foram imersas por 10 minutos em solução contendo *B. thuringiensis*, crescido durante 48 horas em meio líquido. Essas folhas foram penduradas verticalmente para secar em temperatura ambiente por aproximadamente uma hora e, em seguida, colocadas em placa de Petri com dez larvas de terceiro ínstar constando de duas repetições para cada estirpe. Essas larvas foram provenientes de uma criação instalada e mantida em laboratório. Foi utilizado um controle positivo padrão e testemunha água. Observou-se que das estirpes testadas, 10 apresentaram alta toxicidade em relação ao padrão utilizado, *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (HD-1).

¹ Eng. Agr., mestranda, UFMT, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Agronomia, graduando, UFT, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., Bthek, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

067 - AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ESPÉCIES DE *Trissolcus* (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) COMO AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO DE *Euschistus heros* (F.) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) (Evaluation of *Trissolcus* species potencial (Hymenoptera: Scelionidae) as biological control agents of *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae)

Botelho, A.C.¹, Alarcão, G.¹, Laumann, R.A.², Moraes, M.C.B.³, Sujii, E.R.⁴, Pires, C.S.S.⁵, Borges, M.²

Os insetos parasitóides são importantes agentes de controle biológico e podem constituir-se em alternativas importantes para o manejo de pragas. Na região produtora de soja do Distrito Federal *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) é a principal espécie do complexo de percevejos-praga da cultura. O objetivo deste trabalho foi conhecer a biologia de *Trissolcus brochymeneae* (Ashmead), *T. teretis* Johnson, *T. urichi* Crawford e *T. basalisi* (Wollaston), espécies encontradas parasitando ovos de *E. heros* no DF. Utilizando metodologias de tabelas de vida foram avaliados parâmetros biológicos destas espécies ao parasitar ovos de *E. heros*. Também foi estudada a resposta funcional dos parasitóides. As espécies de parasitóides não têm grandes diferenças nos seus parâmetros biológicos. Todas apresentaram índices de parasitismo maiores de 60% e se desenvolveram satisfatoriamente no hospedeiro. A fecundidade das fêmeas (fêmeas/fêmea/dia), assim como os parâmetros calculados a partir da tabela de fecundidade, mostram um potencial para o rápido crescimento de populações destes parasitóides. A resposta funcional das espécies estudadas foi similar sendo caracterizada por um rápido aumento da porcentagem de hospedeiros parasitados em baixas densidades e uma diminuição em densidades maiores. Os resultados obtidos indicam que estes parasitóides podem ser agentes de controle eficientes, possuindo potencial para serem utilizados em programas de manejo dos percevejos-praga da soja no DF.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

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

068 - AVALIAÇÃO ECOLÓGICA DE RISCOS DO ALGODÃO *Bt*: EFEITO SOBRE LEPIDÓPTEROS NÃO-ALVO (Ecological risk assessment of *Bt* cotton: effects on non-target Lepidoptera)

Pinheiro, E.M.L.¹, Fontes, E.M.G.², Becker, V.O.³, Ávila, D.¹, Frizzas, M.R.⁴

Várias espécies de Lepidoptera visitam os campos de algodão em busca de néctar ou pólen. Com o intuito de avaliar o possível impacto do algodão geneticamente modificado (GM) expressando proteínas inseticidas para o controle de pragas, sobre a diversidade de lepidópteros não-alvo, foram realizadas coletas semanais em campo de algodão convencional visando capturar as espécies que visitam as flores e selecionar aquelas predominantes. Os adultos foram coletados com rede entomológica no período da manhã. Todas as espécies de plantas invasoras encontradas no campo de algodão e arredores foram também coletadas e catalogadas. A cada quinze dias, as plantas daninhas ocorrentes dentro do campo eram observadas à procura de lagartas. No total foram coletadas 40 espécies de lepidópteros distribuídas em 10 famílias e 39 espécies de plantas invasoras distribuídas em 9 famílias. Nenhuma destas espécies de lepidópteros está incluída na lista de animais brasileiros em risco de extinção. Apenas uma espécie de lepidóptera, *Chlosyne lacinia* (Geyer), foi encontrada se alimentando no estágio imaturo na planta invasora *Blainvillea biaristata* DC (picão-grande) dentro do campo de algodão. Tanto *C. lacinia* como *B. biaristata* foram as espécies mais freqüentes nas áreas de estudo. O projeto terá continuidade no decorrer do próximo ano, quando serão realizados estudos de toxicidade das proteínas inseticidas selecionadas sobre *C. lacinia*. Também serão realizadas coletas noturnas e observação das espécies que possam estar efetivamente alimentando-se do néctar ou pólen de algodão.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

069 - CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis* EFETIVOS CONTRA INSETOS DA ORDEM LEPIDOPTERA, COLEOPTERA E DIPTERA (Characterization of effective strains of *Bacillus thuringiensis* against insects of Lepidoptera, Coleoptera and Diptera orders)

Praça, L.B.¹, Batista, A.C.², Martins, E.S.³, Gomes, A.C.⁴, Falcão, R.⁴, Monnerat, R.G.⁵

Cresce em todo o mundo a preocupação com a saúde pública e com os impactos da agricultura no meio ambiente. O controle de pragas agrícolas e de doenças transmitidas por vetores através de inseticidas químicos, muitas vezes utilizados de forma inadequada, vem causando desequilíbrio nos ecossistemas por poluir o meio ambiente, por atuar sobre os inimigos naturais e por promover o surgimento de populações de insetos resistentes. Com isso, o controle biológico surge como uma alternativa importante para o controle destes insetos e o emprego de *Bacillus* spp. constitui uma ferramenta importante do ponto de vista técnico, econômico e ambiental. O presente trabalho teve como objetivo selecionar, dentro de 320 estirpes de *Bacillus thuringiensis*, aquelas ao mesmo tempo efetivas contra *Anticarsia gemmatalis*, *Spodoptera frugiperda*, *Anthonomus grandis*, *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*, para serem utilizadas na produção de bioinseticidas ou construção de plantas geneticamente modificadas. Duas delas, S234 e S997, mostraram-se ativas contra todos os insetos acima citados e foram caracterizadas em nível bioquímico, molecular e ultra-estrutural. Através da técnica de PCR, foram identificados os genes *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry1B* e *cry2* no DNA plasmidial das estirpes S234 e S997. As misturas esporos cristais analisadas através de eletroforese em gel de poli(acrilamida) SDS-PAGE apresentaram dois polipeptídeos principais de 130 e 65 kDa, que correspondem às proteínas Cry1 e Cry2, os quais apresentam atividade contra lepidópteros e coleópteros e contra dípteros e lepidópteros, respectivamente. Além disso, verificou-se que as estirpes S234 e S997 produzem grandes quantidade de cristais bipiramidais e em menor quantidade cristais quadrados e redondos.

¹ Eng. Agr., mestranda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Bióloga, Lic., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bióloga, mestranda, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Bióloga, Lic., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

070 - CARACTERIZAÇÃO DOS SINAIS VIBRACIONAIS DE DUAS ESPÉCIES DE PERCEVEJOS PRAGAS DA SOJA, *Euschistus heros* e *Piezodorus guildinii* (HEMÍPTERA: PENTATOMIDAE): SUA FUNÇÃO NO ACASALAMENTO E ISOLAMENTO REPRODUTIVO (Characterization of vibrational communication of two stink bug species soybean pests, *Euschistus heros* and *Piezodorus guildinii*: the function on mating and reproductive isolation)

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

Nos pentatomídeos o feromônio sexual, liberado pelos machos, é a principal ferramenta utilizada pelas fêmeas para encontrar o parceiro no início do comportamento reprodutivo. No entanto, quando estes insetos se encontram na mesma planta utilizam outros estímulos para localizar o parceiro, entre eles, sinais vibracionais (“cantos”). Neste trabalho, foi avaliada a comunicação vibracional de *Euschistus heros* e *Piezodorus guildinii*. Estes percevejos, apesar de serem de gêneros diferentes, apresentam a mesma composição do feromônio sexual, pelo que seu isolamento reprodutivo pode dever-se, em parte, a diferenças na comunicação vibracional. Foram registrados os cantos de chamamento e os cantos de acasalamento. Os sons foram registrados colocando os insetos na membrana de um alto-falante e posteriormente digitalizados. Para o estudo do comportamento foram analisados 30 casais de *E. heros* e 20 casais de *P. guildinii*. As fêmeas de *E. heros* e *P. guildinii* apresentaram o mesmo comportamento de chamamento, emitindo o canto de chamada (Canto de Chamamento da Fêmea, CCF) somente quando o macho está distante dela (> 5 cm) ou está fora do seu campo de visão. No caso da fêmea de *E. heros*, após aproximação do macho esta continua emitindo o canto, mesmo que o macho comece a cantar, já a fêmea de *P. guildinii* para de emitir o som de chamamento. Os machos de *E. heros* responderam à fêmea com dois tipos de canto de chamamento, o primeiro, CCM-1, é emitido quando a fêmea está fora do campo de visão do macho, e apresenta características físicas que permitem uma melhor propagação pelo substrato (alta frequência dominante e frequência modulada). O CCM-2, emitido quando há contato visual com a fêmea possui menor frequência dominante e não apresentou frequência modulada. Os machos *P. guildinii* raramente emitiram som de chamamento (CCM), na maior parte das vezes (80%) o macho se dirigiu em direção da fêmea e emitiu o som de acasalamento, CAM-1. Os cantos de acasalamento de *E. heros* e *P. guildinii* são distintos, com frequências dominantes, e tempo de duração dos pulsos diferentes e não apresentam frequência modulada.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, Ph.D., National Institute of Biology, Ljubljana, Slovenia.

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

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

071 - COMPARAÇÃO DE DOIS PRODUTOS COMERCIAIS COM FORMULAÇÃO NACIONAL À BASE DE *Bacillus thuringiensis* NO CONTROLE DE *Plutella xylostella* (LEP. PLUTELLIDAE) EM REPOLHO (Comparison of a national formulation and two *Bacillus thuringiensis* based products controlling *Plutella xylostella* (Lep. Plutellidae) on cabbage)

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

Plutella xylostella (L.) (Lep. Plutellidae), é a principal praga do repolho e vem sendo combatida com produtos à base de *Bacillus thuringiensis*. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de uma formulação nacional desenvolvida com base na mesma estirpe usada no produto Dipel® (S 1450), comparada com os produtos Xentari® e Dipel®. Para isto, a formulação nacional com S 1450 foi composta com mesma quantidade de princípio ativo presente no produto comercial Dipel®. O experimento foi conduzido em Brazlândia, DF, Brasil, em uma área comercial de produção de hortaliças durante os meses de julho a setembro de 2003. Foi utilizado o híbrido Itibam® (Hortec®). O parâmetro para determinar a aplicação dos bioinseticidas foi o limite de seis furos produzidos pela praga por planta. Devido à alta infestação, foram feitas duas avaliações por semana. Estes parâmetros são os recomendados para determinação do nível de dano no repolho e proporcionou redução de três aplicações com Xentari® e doze com os demais produtos. No final do ciclo da cultura, foram avaliados os diâmetros dos furos de 10 plantas escolhidas ao acaso em cada repetição e atribuídas notas de 1 a 4 (1: plantas sem furos; 2: plantas com furos menores que 2 mm; 3: plantas com furos maiores que 2 mm e 4: plantas com total perda). Quanto ao número de furos, o tratamento com Xentari® foi o menos atacado e diferiu significativamente dos demais. O tratamento com Dipel e S 1450 foram estatisticamente iguais e diferiram da testemunha. Com relação às notas, o único que diferiu significativamente da testemunha foi o Xentari®. Estes resultados indicam que a formulação nacional proporcionou atividade semelhante à do produto comercial Dipel® e que o resultado inferior desta estirpe em relação ao Xentari® pode tanto ser resultado da quantidade de princípio ativo espalhado na dose recomendada de Xentari®, que é o dobro do espalhado na dose recomendada de Dipel®, como resultado da resistência da população em campo.

¹ Agronomia, graduando, UFT, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., mestranda, UFMT, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., Bthek, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr. Ph.D., Bthek Biotecnologia Ltda.

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

072 - CRIAÇÃO MASSAL DA TRAÇA DAS CRUCÍFERAS EM DIETA NATURAL (Rearing massive of Diamondback moth.)

Souza, N.R.¹, Medeiros, P.T.², Barreto, E.G.S.³, Dias, D.G.S.⁴, Monnerat, R.G.⁵

A traça das crucíferas (*Plutella xylostella* (L.)) (Lepidoptera: Plutellidae) é um inseto cosmopolita considerado a principal praga da cultura das brássicas. Assim, com o intuito de estudar formas alternativas de controle deste inseto-praga, uma vez que o seu controle tem sido feito principalmente com o uso de inseticidas químicos, se fez necessária a instalação de uma criação massal deste em laboratório. Foram realizadas várias coletas em áreas de produção de repolho no Distrito Federal onde haviam sofrido o ataque da traça durante o período de julho a outubro de 2002. A triagem das cabeças de repolho foi realizada no laboratório procedendo-se a coleta de larvas e pupas e deixadas em quarentena. As pupas foram colocadas em gaiolas de acrílico medindo 90 x 80 cm, os adultos foram alimentados com solução de mel a 10% e água, e as larvas foram deixadas em gaiola de acrílico 28x28 cm e alimentadas diariamente com folhas de couve. A colônia foi mantida em sala climatizada com temperatura de 27°C, umidade relativa de 60% e fotoperíodo 12/12 h. A coleta de postura foi realizada diariamente e a de pupas três vezes por semana, fornecendo em torno de 6.000 lagartas por mês. Regularmente, são feitas coletas a campo para a manutenção da colônia.

¹ Nível médio, CEMAB Taguatinga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., mestranda, UFMT, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Agronomia, graduando, UFT, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr., Bthek, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

073 - ECOLOGIA DE POPULAÇÕES DE CRISOMELÍDEOS-PRAGA (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) NO DISTRITO FEDERAL (Population ecology of chrysomelids pests (Coleoptera: Chrysomelidae) in the Federal District)

Ramos, N.¹, Ribeiro P. H.², Laumann,⁷ R.³, Pires, C.S.S.⁴, Schmidt, F.G.V.⁵, Borges, M.³, Moraes, M.C.B.⁶, Sujii, E. R.

As vaquinhas compreendem um complexo de pelo menos seis espécies dos gêneros *Diabrotica* e *Cerotoma* pertencentes à tribo Galereucini. Estes insetos atacam numerosas culturas sendo, em ocasiões, pragas importantes. O objetivo deste trabalho foi conhecer a riqueza e abundância relativa de espécies de crisomelídeos em culturas de abóbora e milho do Distrito Federal (Brazlândia e PAD-DF). Foram realizadas amostragens quinzenais em áreas de produção orgânica do Distrito Federal. Os resultados obtidos indicam que a abundância dos insetos varia segundo a época do ano, planta hospedeira e seu estado fenológico, encontrando-se maior número de insetos em milho e abóbora de estado reprodutivo. A riqueza de espécies também foi influenciada pela planta hospedeira, a maior riqueza foi encontrada em abóbora (21 msp, 16 de Galereucini). No milho se apresentou uma situação diferente já que a riqueza de espécies foi menor (12 msp, 10 de Galereucini). A abundância relativa das espécies foi caracterizada pela falta de equitatividade com poucas espécies com muita abundância. Na abóbora 3 espécies (*D. bivitula*, *D. bruchi* e *D. speciosa*) representam mais de 80% dos insetos amostrados no PAD-DF e mais de 50% dos amostrados em Brazlândia e em milho 4 espécies (*Colaspes sp.*, *D. speciosa*, msp. 11 e *D. cf. amoena*) representam 90% dos insetos amostrados. Os resultados obtidos sugerem que os crisomelídeos encontrados no DF mostram preferência por diferentes plantas hospedeiras ou que as utilizam para obtenção de diferentes recursos.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biologia, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

⁵ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

074 - EFICIÊNCIA DE MEIOS DE CULTURA NO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Dicyma pulvinata* (Efficiency of cultural media for mycelium growth of *Dicyma pulvinata*)

Catalão, G.L.¹, Silva, J.B.T.², Mello, S.C.M.³, Melo, D.F.⁴, Pinho, D.S.⁵, Orioli, F.P.⁶, Frazão, H.⁷

Um dos fatores biológicos limitantes, tanto para a produção de látex natural, como para expansão da heveicultura no Brasil e em toda América Latina, é o fungo fitopatogênico *Microcyclus ulei*, causador do mal-das-folhas em seringueira (*Hevea spp.*) e responsável pela perda de até 100% das mudas de seringueira. Atualmente, o controle biológico deste patógeno vem despertando interesse, pela utilização de um outro fungo, *Dicyma pulvinata*. Este agente de biocontrole tem se mostrado eficiente na inibição da esporulação de *M. ulei*, pois com isso impede a disseminação e o desenvolvimento da doença. Entretanto, para uma maior eficiência do controle, é necessária o desenvolvimento de uma tecnologia eficiente para produção de inóculo do fungo antagonista. O objetivo deste trabalho foi determinar meios de cultura líquidos envolvendo componentes e concentrações ideais para a otimização da produção massal de micélio de um isolado de *D. pulvinata* altamente virulento ao *M. ulei*. Os meios inicialmente utilizados foram SDY (peptona + dextrose + extrato de levedura) e BD (batata + dextrose). Com base nos resultados, foram preparados meios variando suas combinações e concentrações de dextrose, sacarose, extrato de levedura e peptona. Enquanto a batata, quando utilizada, compreendeu foi adicionada pela filtração do caldo, após fervura, perfazendo uma solução com 20% de batata. A dextrose e o extrato de levedura foram utilizados em concentrações de 0% a 4%, a sacarose foi testada de 0% a 2%, a peptona de 0% a 1% e o extrato de levedura foi testado de 0% a 4%. Para cada meio de cultura, foram realizadas três repetições, cada uma composta por 50 mL de meio depositados em erlemeyers de 125 mL. Ao todo foram testados 29 meios, resultando em 87 parcelas. A determinação do peso da massa micelial para cada parcela foi obtida após após filtragem e secagem do material. Os resultados indicaram que os meios SDY (1% Peptona, 4% dextrose e 1% extrato) e BSY (20% batata, 2% sacarose e 1% extrato) foram mais eficientes na produção de *D. pulvinata*.

¹ Biologia, graduando, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

⁴ Biologia, graduanda, UCB, FINEP, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Eng. Florestal, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁶ Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁷ Administradora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

075 - ESTUDO DA ADAPTABILIDADE DO ISOLADO P10 DE *Pasteuria penetrans* AO NEMATÓIDE DO CAFÉ, *Meloidogyne paranaensis* (Adaptability study of *Pasteuria penetrans* on the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne paranaensis*)

Mesquita, L.F.G.¹, Neves, D.I.², Carneiro, R.M.D.G.³

Dentre os organismos antagonistas aos nematóides de galhas utilizados em controle biológico, a bactéria *Pasteuria penetrans* destaca-se por ser um agente de biocontrole eficiente e bastante resistente às intempéries, persistindo no solo por vários anos. Segundo dados da literatura a preferência hospedeira de um isolado particular da bactéria a uma espécie determinada de nematóide pode ser alterada através da propagação contínua da bactéria em uma outra espécie, ou seja, pode ocorrer adaptação da bactéria a um hospedeiro, inicialmente não preferencial. Em trabalhos recentes o isolado P10 de *P. penetrans* mostrou-se altamente virulento a *M. javanica* e *M. incognita* e medianamente virulento a *M. paranaensis*. Com o intuito de aumentar a patogenicidade desse isolado ao nematóide do cafeeiro, instalou-se um ensaio onde foram inoculadas plantas de tomate com 5000 juvenis de segundo estágio (J2) de *M. paranaensis*, contendo aproximadamente de 10 a 15 endósporos/J2. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperaturas variando de 25 a 30 °C. Essas plantas foram avaliadas em intervalos consecutivos de três meses (dois ciclos do nematóide), por um ano, ou seja, 8 ciclos do nematóide. Foram avaliados os seguintes parâmetros: índice de galhas, número total de ovos/planta, % de J2 infestados, número médio de endósporos/J2 e % de fêmeas infectadas com a bactéria. Durante esse período, não foi observado um aumento significativo no parasitismo do isolado P10 a *M. paranaensis*. Apenas, um ligeiro aumento foi observado após 6 meses e um posterior decréscimo nos próximos seis meses. O número de endósporos/J2 e a porcentagem de fêmeas parasitadas mantiveram-se em níveis baixos não caracterizando uma adaptação do isolado a essa espécie de nematóide. Há indícios do estabelecimento de um nível de equilíbrio entre a bactéria e o nematóide, nunca caracterizando supressividade induzida pela bactéria. Os níveis de infestação do nematóide nas raízes aumentaram significativamente cerca de 10 vezes após aproximadamente oito ciclos do nematóide.

¹ Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Café.

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

076 - ESTUDO DA PERCOLAÇÃO DE ENDÓSPOROS DE *Pasteuria penetrans* EM SUBSTRATOS PARA MUDAS DE CAFEIEIRO COM DIFERENTES TEXTURAS (Influence of different substrats on the percolation of *Pasteuria penetrans* endospores in coffee seedlings)

Mesquita, L.F.G.¹, Neves, D.I.², Carneiro, R.M.D.G.³

A bactéria *Pasteuria penetrans* tem sido investigada por muitos pesquisadores no controle de *Meloidogyne* spp. em diversas culturas. Além de ser considerada antagonista eficiente no controle de fitonematóides, essa bactéria apresenta atributos favoráveis de um bom agente de controle biológico: especificidade ao hospedeiro, resistência dos endósporos ao calor e à dessecação, inocuidade ao homem, aos animais e ao meio ambiente, viabilidade dos endósporos por longos períodos de tempo e compatibilidade com outras medidas fitossanitárias. Entretanto, parece que vários fatores têm interferido na sua eficiência. Dentre estes, o efeito de propriedades do solo atua decisivamente sobre o parasitismo de *P. penetrans* como é o caso da lixiviação dos endósporos. Um dos objetivos do subprojeto é introduzir a bactéria em mudas de cafeeiro em áreas infestadas pelo nematóide de galhas. Dessa maneira, um estudo da lixiviação desses endósporos em diferentes substratos para mudas é de fundamental importância. Foram avaliados substratos com diferentes texturas: Plant Max, solo muito argiloso; franco argiloso, argilo arenoso (38% de argila, 2 % de silte e 60 % de areia), franco arenoso e areia pura. O inóculo da bactéria utilizado foi de 5g/muda de pó de raiz, contendo 4×10^7 endósporos da bactéria/grama. Os substratos foram misturados ao pó de raiz, homogeneizados e colocados em saquinhos de plantio (10 cm de diâmetro por 20 cm de comprimento). Logo após, plântulas de cafeeiro contendo 2 pares de folhas foram plantadas nos saquinhos, sendo que bandejas para captação da água foram colocadas logo abaixo das mudas. O ensaio foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 6 repetições. Foram avaliados, semanalmente, durante 12 semanas, o número de endósporos perdidos através da lavagem dos pratos e contagens em câmara de Neubauer. Ocorreram grandes perdas de endósporos no substrato Plant Max e nos substratos com alta porcentagem de areia, sendo mais elevadas nos solos contendo areia pura e solo franco arenoso. Portanto o substrato ideal para mudas de café tratadas com *P. penetrans* deve conter altos teores de argila. Solos franco argilosos, muito argilosos e argilo arenosos foram ideais para veiculação de *P. penetrans* em mudas de café. As perdas de endósporos por lixiviação estão diretamente ligadas ao tamanho dos poros do substrato. É por essa razão que os substratos Plant Max e solos com altos teores de areia permitiram a percolação de grandes quantidades de endósporos e os substratos com altos teores de argila praticamente nenhuma percolação de endósporos.

¹ Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Café.

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

077 - ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE ACASALAMENTO DO PERCEVEJO PRAGA DA SOJA *Thyanta perditor* MEDIADO PELA COMUNICAÇÃO VIBRACIONAL (Study of Courtship behaviour of the stink bug soybean pest, *Thyanta perditor*, and its mediation by vibrational communication)

Passos, R.S.F.¹, Laumann, R.², Moraes, M.C.B.³, Çokl, A.⁴, Borges, M.²

Para localizar o parceiro sexual os percevejos além dos feromônios e dicas visuais, usam sinais vibracionais, “canções” para chamamento e acasalamento. Embora existam alguns registros mostrando a importância destes sinais para o acasalamento e que há uma especificidade da vibração emitida, dependendo das espécies e do habitat, não há nenhum estudo sobre a comunicação vibracional das espécies de pentatomídeos existentes no Brasil. Este trabalho registrou o comportamento de acasalamento e a comunicação vibracional do percevejo neotropical, praga da soja, *Thyanta perditor*. Os sinais foram gravados usando 30 casais sexualmente maduros (> 7 dias na fase adulta). Os insetos foram colocados sobre a membrana de um alto-falante, em uma sala acusticamente isolada. Os sinais emitidos foram amplificados e digitalizados por uma placa de som instalada em um PC. Os sons emitidos foram relacionados com o comportamento de acasalamento. Foi identificado 1 (um) som de chamamento do macho e um da fêmea, este som é emitido quando os insetos estão a uma distância mínima de 5 cm um do outro. Quando os insetos se aproximam e se tocam com as antenas começa a fase de acasalamento. Nesta etapa os insetos param de emitir o som de chamamento e passam a emitir sons de acasalamento. Foram identificados dois sons de acasalamento do macho, a fêmea não emitiu som de acasalamento. Comparando as frequências médias emitidas pelos sons do *T. perditor* com duas outras espécies neárticas de *Thyanta*, o *T. pallidovirens* e *T. acerra custator*, a espécie neotropical apresentou frequências mais altas e uma maior quantidade de harmônicos nos sons emitidos. Estes conhecimentos podem auxiliar no manejo de pragas modificando o comportamento de percevejos ou de seus inimigos.

¹ Biologia, graduando, UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

⁴ Biólogo, Ph.D., National Institute of Biology, Ljubljana – Slovenia.

078 - ESTUDO DO CRESCIMENTO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA (Studies in the growth of *Bacillus thuringiensis* strains in different culture)

Queiroz, R.M.V.¹, Batista, A.C.², Demo, C.³, Silva, C.R.M.⁴, Praça, L.B.⁵, Silva, S.F.⁶, Roberg, R.P.⁶, Soares, C.M.⁷, Monnerat, R.G.⁸

O controle biológico é um método eficaz de combate às pragas agrícolas. Uma das formas de controle é a utilização de bactérias entomopatogênicas, sendo o *Bacillus thuringiensis* notório pela sua toxicidade a insetos e pela sua atuação como princípio ativo de preparações industrializadas. O *B. thuringiensis* inicia a produção de toxinas com aproximadamente 15 horas de fermentação, concomitantemente à esporulação. Os processos de fermentação desses bacilos é descontínuo, com até 36 horas de fermentação. Diversos trabalhos utilizaram as estirpes S845 e S1450 devido à sua toxicidade contra *Spodoptera frugiperda*. Determinou-se o meio e o tempo em que ocorre a produção total de toxinas. As estirpes foram crescidas em dois meios de cultivo, NYSM e MS, e coletadas após 24, 48 e 72 horas. Realizou-se bioensaios de dose para a determinação da CL₅₀ através da análise de Probits. Concluiu-se que após 24h os resultados não foram significativos, com 48h as estirpes em NYSM apresentaram maior efetividade em relação ao meio MS, com 72h a estirpe mais efetiva foi a S845, em ambos os meios, sendo duas vezes mais eficaz no meio NYSM. Observou-se que em até 48h comprova-se a efetividade da estirpe relacionada ao meio de cultivo utilizado, sendo que o processo fermentativo em 48h permitiu a esporulação e a produção total de toxinas.

¹ Biologia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Bióloga, Lic., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

⁴ Biologia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Eng. Agr, mestranda, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁶ Bióloga, M.Sc., Bthek Biotecnologia.

⁷ Eng. Agr., Ph.D., Bthek Biotecnologia.

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

079 - FAUNA COMPARADA DE ARTRÓPODOS PREDADORES SOBRE O SOLO EM UMA LAVOURA DE ALGODÃO NO DISTRITO FEDERAL (Compared fauna of on the ground predatory arthropods in a cotton field on Distrito Federal)

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

Os insetos-praga do algodoeiro representam um dos principais obstáculos a produtividade. O conhecimento aprofundado de inimigos naturais pode vir a contribuir para um manejo diferenciado da cultura, garantindo-lhes um ambiente adequado para que exerçam efetiva pressão sobre populações de pragas. Levando-se em conta esse equilíbrio, fez-se um levantamento das espécies de artrópodes predadores que ocorrem sobre o solo em lavouras de algodão. Analisou-se o efeito de dois sistemas de manejo do algodão (com e sem inseticidas químicos) na comunidade destes artrópodes, avaliando-se a ocorrência de predadores que pudessem ser empregados como indicadores biológicos do efeito de práticas agrícolas sobre a referida comunidade. Através de amostragens com armadilhas tipo Pitfall fez-se o levantamento das morfo-espécie de artrópodes que freqüentam a superfície do solo em áreas com algodão. Os levantamentos foram realizados no Núcleo Rural de Tabatinga (DF) com coletas realizadas em quatro épocas distintas do ciclo da cultura. Os resultados apontaram a predominância de aranhas (31 morfo-espécie) e coleópteros (50 morfo-espécie), embora insetos das ordens Hemíptera, Himenóptera e Dermaptera tenham sido coletados. De maneira geral, tanto o número de morfo-espécie quanto o número de espécimes foi maior na área não tratada com inseticidas químicos. Uma morfo-espécie de aranhas (família Lycosidae) e duas de coleópteros (famílias Carabidae e Staphylinidae) ocorreram em quantidade significativamente maior na área sem inseticida, sugerindo que as mesmas possam ser empregadas em avaliações do impacto de práticas culturais sobre a comunidade de predadores do solo em lavouras de algodão.

¹ Biologia, graduando UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

080 - INVENTÁRIO DE ABELHAS VISITANTES DAS FLORES DE ALGODÃO, *Gossypium hirsutum*, NO DISTRITO FEDERAL (Survey of flower-visiting bees on cotton, *Gossypium hirsutum*, in the Distrito Federal)

Pereira, F.F.O.¹, Moreira, R.O.², Pinheiro, E.¹, Portilho, T.¹, Silveira, F.A.³, Pires, C.S.S.⁴

Este estudo é parte do projeto “Avaliação de segurança ambiental de algodoeiro geneticamente modificado para resistência a insetos”, coordenado pela equipe da Rede de Biossegurança [de OGMs] da Embrapa. Um dos objetivos do projeto é avaliar os efeitos do algodão geneticamente modificado (GM) resistente a insetos pragas sobre polinizadores, mais especificamente sobre as abelhas. Este trabalho teve como objetivo estabelecer metodologias de amostragem e obter informações sobre diversidade e abundância de abelhas encontradas nos campos de algodão convencional e em áreas próximas. Com base neste levantamento, espécies que potencialmente poderão ser afetadas pelo plantio de algodão GM serão selecionadas para futuras avaliações. O levantamento foi conduzido durante o ano agrícola 2002/2003 na Fazenda Cooperbrás, Núcleo Rural Tabatinga/Brasília – DF, com a variedade Delta Opal. Para a realização do inventário efetuaram-se coletas ao acaso em duas áreas, com e sem inseticida, de aproximadamente 2 hectares cada. Para a avaliação da abundância relativa das várias espécies de abelhas, foram demarcadas aleatoriamente 10 parcelas (quatro linhas de 20 plantas cada) nas duas áreas. As coletas ocorreram durante todo o período de floração do algodão, entre fevereiro e maio de 2003, no horário das 07:00 às 11:50. Durante o período de coleta, todas as flores abertas eram vistoriadas e as abelhas que se encontravam sobre ou sobrevoando as plantas eram coletadas. Nos estudos de densidade, cada parcela era vistoriada durante 10 minutos. No laboratório, as abelhas foram montadas em alfinete entomológico e enviadas para identificação taxonômica. Baseado nas características morfológicas, os indivíduos foram agrupados em vinte morfoespécies. A análise taxonômica preliminar identificou oito espécies – na família Apidae: *Apis mellifera*, *Paratrigona* sp., *Melissoptila* sp, *Eufriesea* sp, *Centris* sp., *Exomalopsis auropilosa*, *Trigona spinipes* e, em Andrenidae, *Oxaea flavescens*, além de mamangavas. As espécies mais abundantes nas duas áreas foram: *Apis mellifera* e *Paratrigona* sp. Foi registrada maior abundância de abelhas nos dias ensolarados e com temperaturas elevadas. Após esse levantamento preliminar, o inventário deverá ser repetido para a região do Distrito Federal e expandido para outras regiões produtoras de algodão.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr, Ph.D., UFMG.

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

081 - ISOLAMENTO DE UMA ESTIRPE DE *Bacillus sphaericus* ALTAMENTE TÓXICA A LARVAS DE *Culex quinquefasciatus* (Isolation of a *Bacillus sphaericus* strain high toxic against *Culex quinquefasciatus* larvae)

Silva, S.F.¹, Dias, D.G.S.², Martins, E.S.³, Soares, C.M.S.⁴, Dias, J.M.C.S.⁵, Monnerat, R. G.⁶

Bacillus sphaericus é uma bactéria utilizada para o controle de mosquitos dos gêneros *Culex* e *Anopheles*. Por ser inofensiva ao homem, animais e meio ambiente, o uso deste bacilo é recomendado pela Organização Mundial de Saúde para campanhas de combate a vetores. Neste trabalho foram realizados testes de patogenicidade com 246 estirpes de *Bacillus sphaericus* contra larvas de *Culex quinquefasciatus*, a fim de se determinar as mais eficazes para a formatação de um bioinseticida brasileiro. Estas estirpes foram isoladas de diversas regiões do Brasil e estão armazenadas na Coleção de *Bacillus spp.* da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. As estirpes selecionadas foram caracterizadas por métodos morfológicos, bioquímicos e moleculares. Foram selecionadas 87 estirpes entomopatogênicas de *B. sphaericus*. Todas elas contém genes que codificam proteínas de 42 e 51 kDa, que constituem a toxina binária e a proteína de 100 kDa, chamada Mtx1. A estirpe S201 foi selecionada como a melhor para ser utilizada como base de um produto para o controle de *C. quinquefasciatus*, pois apresentou CL₅₀ 4 vezes menor que a estirpe 2362, utilizada como base dos produtos comerciais atualmente disponíveis no mercado.

¹ Bióloga, mestranda, Bthek Biotecnologia Ltda., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., Bthek Biotecnologia Ltda., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bióloga, Lic., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr., Ph.D., Bthek Biotecnologia Ltda.

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

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

082 - ISOLAMENTO DE UMA ESTIRPE DE *Bacillus thuringiensis* ALTAMENTE TÓXICA A LARVAS DE *Aedes aegypti* (Isolation of *Bacillus thuringiensis* strain high toxic against *Aedes aegypti* larvae)

Barros, P.¹, Dias, D.G.S.², Silva, S.F.³, Martins, E.S.³, Praça, L.B.⁴, Soares, C.M.⁵, Dias, J.M.C.S.⁶, Monnerat, R.G.⁷

No Brasil, algumas espécies de insetos pertencentes às famílias Culicidae e Simuliidae têm grande importância na transmissão de agentes etiológicos de doenças humanas e animais. Como exemplo pode ser citado o mosquito *Aedes aegypti*, responsável por mais de 750.000 casos de dengue no último verão (2001/2002). Dentre as estratégias empregadas para o controle de vetores de endemias, a Organização Mundial de Saúde recomenda a utilização de bioinseticidas à base de *Bacillus thuringiensis*. As vantagens da utilização desse bacilo são a especificidade, o efeito não poluente, a inocuidade aos mamíferos e vertebrados e a ausência de toxicidade às plantas. Esta bactéria apresenta alta variabilidade genética, produzindo mais de 40 classes diferentes de proteínas tóxicas contra insetos das ordens Diptera, Lepidoptera e Coleoptera. Pesquisadores de várias partes do mundo buscam novas estirpes de *B. thuringiensis* capazes de produzir novas toxinas, ou que sejam eficazes para o controle de outros organismos. Neste trabalho, foram realizados testes de patogenicidade com 1375 estirpes de *B. thuringiensis* contra larvas de *A. aegypti*, a fim de se determinar as mais eficazes. Estas estirpes foram isoladas de diversas regiões do Brasil e estão armazenadas na Coleção de *Bacillus spp.* da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Bioensaios seletivos possibilitaram a seleção de 46 estirpes tóxicas. Dentre estas, uma estirpe apresentou CL₅₀ 5 vezes inferior ao *B. thuringiensis israelensis*, usado como base dos produtos comerciais atualmente disponíveis no mercado. Esta estirpe contém genes que codificam as proteínas Cry4A, Cry4B, Cry10, Cry11, cyt1 e cyt2 e será utilizada para a síntese de um produto nacional através de convênio com a iniciativa privada.

¹ Bióloga, Lic., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., Bthek Biotecnologia Ltda, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bióloga, mestranda, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr., mestranda, UnB, Bthek Biotecnologia Ltda.

⁵ Eng. Agr., Ph.D., Bthek Biotecnologia Ltda.

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

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

083 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* ENDOFÍTICAS DE ALGODÃO (Isolation and characterization of endophytic *Bacillus thuringiensis* strains from cotton)

Barros, P.C.¹, Santos, R.C.², Batista, A.C.³, Berry, C.⁴, Monnerat, R.G.⁵

Quinze estirpes de *Bacillus thuringiensis* foram isoladas de diferentes partes de algodão e uma estirpe a partir do solo onde estas plantas se encontravam. Dentre as estirpes isoladas da planta, seis mataram larvas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*. A estirpe isolada do solo também se mostrou tóxica aos dois lepidópteros testados. As proteínas encontradas nas estirpes tóxicas apresentaram tamanho compatível com as toxinas efetivas a lepidópteros (130 kDa.) e a análise molecular confirmou a presença dos genes do grupo *cry1*, codificadores dessas toxinas. As larvas de *S. frugiperda* colocadas sobre folhas de algodão provenientes da mesma plantação tiveram seu desenvolvimento alterado e morreram cinco dias após o início do ensaio. Foi detectada a presença de *B. thuringiensis* nas larvas após maceramento e isolamento. A estirpe encontrada também apresentou a proteína de 130 kDa e genes *cry1*. Nas lagartas utilizadas como controle, oriundas da criação de laboratório, não foi detectada a presença de *B. thuringiensis*. É provável que a planta tenha absorvido o *B. thuringiensis* do solo e que este tenha proliferado em seu interior, protegendo-a contra insetos. É possível que esses experimentos preliminares estejam abrindo a possibilidade de uma nova forma de utilização de *B. thuringiensis* no controle de insetos.

¹ Bióloga, Lic., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Algodão.

³ Biólogo, Lic., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Biólogo, Ph.D., Universidade de Cardiff.

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

084 - MORTALIDADE DE CARUNCHO DE FEIJÃO DE CORDA (*Callosobruchus maculatus*), CAUSADA PELOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Mortality of cowpea seed beetle (*Callosobruchus maculatus*), by entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*)

Sarmento, R.B.C.¹, Martins, I.², Laumann, R.³, Franco, O.L.⁴, Valadares-Inglis, M.C.⁵

O feijão de corda (*Vigna unguiculata*) é uma cultura de subsistência para grande parte dos pequenos agricultores da região Nordeste do Brasil. Essa cultura é severamente atacada pelo caruncho de feijão de corda (*Callosobruchus maculatus*) que causa perdas de até 40% da produção. Este bruquídeo penetra nas sementes em seu estágio larval, alimentando e nutrindo-se de seus tecidos. Uma resposta para esse problema é o controle biológico. Os fungos entomopatogênicos são um dos principais patógenos de insetos utilizados no controle microbiano, e a ocorrência desses fungos em condições naturais tem sido um fator importante na redução das populações de insetos pragas no Brasil. O objetivo desse trabalho é avaliar o índice de mortalidade, causado por tais fungos, em *C. maculatus*. Foram feitos bioensaios, utilizando a Torre de Potter (Potter Spray Tower) a uma pressão de 15PSI (libras/in²), com 10 linhagens de *Beauveria bassiana* e 10 de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. Das vinte linhagens, quatro apresentaram um bom índice de mortalidade. Dessas quatro, 3 são de *B. bassiana* (CG5 – 66,3%, CG7 – 54,5% e CG26 – 39,17%) e 1 de *M. anisopliae* var. *anisopliae* (CG34 – 23,3%). Novos ensaios estão sendo conduzidos, visando analisar diferentes dosagens das linhagens previamente selecionadas. Posteriormente, as linhagens mais eficazes para um controle biológico serão utilizadas para avaliação das enzimas responsáveis pelo processo patogênico.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

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

085 - OCORRÊNCIA DE INSETOS PRAGA E SEUS INIMIGOS NATURAIS EM PLANTAS DE ALGODÃO SOB DIFERENTE MANEJO DE PRAGAS, NO DISTRITO FEDERAL (Occurrence of pest insects and their natural enemies in cotton plants under different pest management in the Distrito Federal)

Portilho, T.¹, Pires, C.², Fontes, E.M.G.², Pereira, F.F.O.¹, Schmidt, F.G.V.³, Sujji, E.R.⁴

O estudo aqui apresentado é parte de um projeto que visa avaliar e comparar os impactos ambientais e agronômicos de diferentes métodos de manejo de pragas do algodão. As populações das principais espécies pragas e predadoras foram monitoradas em área tratada e não tratada com inseticidas químicos convencionais. O estudo foi conduzido na Fazenda Cooperbrás no Núcleo Rural de Tabatinga, DF. Foram realizados vinte e seis levantamentos com amostras de plantas que eram coletadas a cada 15 dias. As principais pragas do algodoeiro como o pulgão (*Aphis gossypii*), lagartas (*Alabama argillaceae* e *Spodoptera* spp.) e mosca branca (*Bemisia tabaci*) foram observadas ao longo do ciclo da cultura. Já o bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*) apareceu a partir da décima terceira coleta sendo observado com o surgimento dos primeiros botões florais. As espécies predadoras como aranhas, joaninhas, crisopídeos e tesourinhas apresentaram taxas de ocorrência mais elevadas nas áreas não tratadas com inseticidas convencionais. Mesmo com a ocorrência de parasitismo entre as colônias de pulgão, mosca branca e lagartas, o controle biológico não foi capaz de impedir que essas populações atingissem níveis de infestação próximos a 100%. A população de bicudo, apesar dos baixos níveis de infestação, produziu danos inaceitáveis nas duas áreas. A percentagem de ocorrência de pragas e inimigos naturais não apresentou diferenças na frequência de infestação de plantas sob as diferentes formas de manejo (tratadas e não-tratadas), quando comparados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. No entanto, as densidades de insetos pragas e seus inimigos naturais por planta foram diferentes em várias amostras consecutivas quando comparadas pelo teste de Mann-Whitney.

¹ Biologia, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

086 - OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE *Dicyma pulvinata* EM DIFERENTES SUBSTRATOS SÓLIDOS (Optimization of *Dicyma pulvinata* production in different solid substrats)

Melo, D.F.¹, Mello, S.C.M.², Silva, J.B.T.³, Catalão, G.L.⁴, Frazão, H.⁵

O fungo *Dicyma pulvinata* tem se mostrado promissor no controle do mal-das-folhas da seringueira (*Hevea* spp.) causado pelo fungo *Microcyclus ulei*, que se constitui no principal fator limitante da produção do látex e da expansão da cultura. O processo de produção existente deste agente de biocontrole é artesanal e ainda incipiente. O objetivo desse estudo foi otimizar a produção de esporos de *D. pulvinata*, avaliando a eficácia de vários substratos sólidos. Para tanto, foram realizados dois experimentos. No primeiro, a inoculação foi realizada com o micélio do isolado CG 772 cultivado em meio SDY, e no segundo com suspensão de esporos produzidos em BDA, ambos com sete dias de crescimento. Os substratos avaliados foram: arroz parboilizado, quirela de arroz, palha de arroz, grãos de milho e quirela de milho. Após a inoculação, os substratos foram transferidos para a sala de incubação e mantidos a 28°C. Foram realizadas avaliações da esporulação aos 8, 16, 24 e 32 dias de crescimento, por meio de contagem em câmara de Neubauer. De modo geral, o fungo produziu esporos em todos os substratos avaliados. No experimento que se realizou a inoculação com micélio, o substrato a base de milho se destacou entre os demais. Entretanto, quando se realizou a inoculação com suspensão de esporos, o substrato à base de arroz se mostrou mais eficiente. Observou-se, nos dois experimentos, que houve aumento da esporulação até o 16º dia, enquanto nas avaliações posteriores, constatou-se redução da quantidade de esporos. Verificou-se também uma tendência de maior obtenção de esporos nos tratamentos onde se utilizou micélio como fonte de inóculo.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Fundação “Dalmo Giacometti”, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

⁴ Biologia, graduando, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Administradora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

087 - PROSPECÇÃO DAS ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* EFETIVAS PARA O CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis* (Screening of *Bacillus thuringiensis* toxic against *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda*)

Batista, A.C.¹, Silva, C.R.M.², Demo, C.³, Queiroz, R.M.V.⁴, Praça L.B.⁵, Monnerat, R.G.⁶

A utilização de agentes de controle biológico é uma alternativa viável e bioinseticidas, formulados à base de *B. thuringiensis*, vêm apresentando resultados satisfatórios no controle de lepidópteros. Uma das vantagens do emprego desta bactéria é a sua ação restrita a insetos-alvo, não afetando o ser humano e não danificando o meio ambiente. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia conta com um Banco de Germoplasma de *Bacillus* Entomopatogênicos onde estão armazenadas 1375 estirpes de *B. thuringiensis* oriundas de diferentes regiões do Brasil. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia destas estirpes, através de testes de patogenicidade contra *Anticarsia gemmatalis* (Lep.: Noctuidae) e *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae), em bioensaios seletivos. As que apresentaram alta e dupla atividade contra ambos os insetos foram submetidas a novos bioensaios para determinação da CL₅₀. Das 1375 estirpes testadas, 31 causaram 100% de mortalidade em bioensaios seletivos. Destas, cinco estirpes apresentaram CL₅₀ inferiores ao padrão (Btk) contra *A. gemmatalis* e três estirpes contra *S. frugiperda*. A estirpe S 845 foi a mais eficaz aos dois insetos, apresentando maior toxicidade que o padrão Btk.

¹ Bióloga, Lic., UniCEUB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biologia, graduanda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

⁴ Biologia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Eng. Agr., mestranda, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

088 - PROSPECÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS AO BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1943) (Screening of *Bacillus thuringiensis* strains toxic to boll weevil - *Anthonomus grandis* Boheman, 1943)

Sone, E. H.¹, Waga, I. C.², Praça, L. B.³, Monnerat, R. G.⁴

A cotonicultura está classificada como uma das principais culturas agrícolas do Brasil, sendo que nos últimos anos, vem atendendo tanto o mercado interno quanto o externo. No entanto, a produção nacional de algodão vem sofrendo significativas perdas econômicas, principalmente pelo ataque de insetos. O principal inseto-praga dessa monocultura é o bicudo do algodoeiro *Anthonomus grandis* (Boheman, 1943) (Coleoptera: Curculionidae). Os principais problemas deste inseto são a sua rápida capacidade reprodutiva e de destruição. Tal inseto provoca a queda anormal de botões florais e flores que impedem a abertura dos frutos, destruindo-os internamente, pois uma única estrutura pode abrigar várias larvas. O controle desta praga é muito difícil, pois passa todo seu estágio larvário dentro dos botões florais e maçãs do algodoeiro. Entre as estratégias de controle encontra-se a utilização de algodoeiros resistentes a insetos. Neste contexto, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia conta com um banco de germoplasma de *Bacillus* entomopatogênicos onde estão armazenadas estirpes de *B. thuringiensis* oriundas de diferentes regiões do Brasil. Essas bactérias são capazes de produzir cristais durante sua esporulação, que podem agir como toxinas no intestino desses insetos. O presente trabalho tem como objetivo identificar estirpes de *B. thuringiensis* ativas contra o bicudo do algodoeiro. 97 isolados do banco foram testados contra o inseto. Dentre os isolados, 26 apresentaram eficácia acima de cinquenta por cento (50%) em bioensaios seletivos. Essas estirpes poderão ser utilizadas, futuramente, para a produção de plantas geneticamente modificadas que possam combater as perdas de produção causadas pelo bicudo do algodoeiro.

¹ Eng. Florestal, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Bióloga, mestranda, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

089 - RITMOS DIÁRIOS DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS DE *Diabrotica speciosa* (GERMAR, 1824) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) RELACIONADOS À TEMPERATURA E AO SEXO (Daily rhythms of behaviour activity of *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) related to temperature and sex)

Ribeiro, P. H.¹, Ramos, N.², Laumann, R.³, Pires, C.S.S.⁴, Schmidt, F.G.V.⁵, Borges, M.³, Moraes, M.C.B.⁶, Sujii, E. R.⁷

Diabrotica speciosa é a principal espécie de um complexo que é praga de numerosas culturas, como milho, feijão, soja e batata. O objetivo desse trabalho foi estudar o comportamento deste inseto, já que conhecimentos básicos sobre suas características biológicas subsidiam um manejo mais eficiente de suas populações. Foi realizado um estudo, em condições de campo, para determinar a distribuição do inseto em feijoeiro na fase vegetativa e seus hábitos comportamentais ao longo do dia. No laboratório foi feita uma avaliação do consumo foliar, comportamento de acasalamento e oviposição, durante 24 horas, para isto os insetos foram separados por sexo e confinados com folhas de feijão em gaiolas. No campo as atividades de movimentação, alimentação e vôo foram positivamente relacionadas com o aumento da temperatura. A localização da maioria dos insetos foi na parte superior da planta, ocupando as folhas superiores. O mesmo padrão foi observado no laboratório. Nos períodos em que a temperatura elevou-se acima dos 25° C os insetos mostraram atividade de alimentação e consumiram maior quantidade de área foliar no período inicial (7:00 às 13:00 hs). As fêmeas consumiram maior área foliar que os machos o que pode ter relação com seu maior tamanho corporal ou seus maiores requerimentos de energia destinados à reprodução.

¹ Biologia, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

⁵ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

090 - SPHAERUS[®], PRODUTO BIOLÓGICO NACIONAL PARA O CONTROLE DE *Aedes aegypti*, COMPARADO A PRODUTOS IMPORTADOS USADOS NO COMBATE AO VETOR (SPHAERUS[®], national biological product for *Aedes aegypti* control, compared to foreign products used on vector combat)

Dias, D.G.S.¹, Soares, C.M.S.², Monnerat, R.G.³

Aedes aegypti é antropofílico e vetor de várias doenças como dengue e febre amarela urbana. O aparecimento de populações resistentes e o comprometimento da saúde dos aplicadores, determinaram a substituição deste produto químico por bioinseticidas bacterianos. Este trabalho foi conduzido visando comparar a persistência de duas formulações comerciais importadas: VECTOBAC G[®] e WDG[®], aplicados nas doses 1g para 50 litros e 500 litros, respectivamente, com uma formulação nacional de apresentação granulada, liberação lenta e atrativo alimentar, denominada SPHAERUS[®], testada nas seguintes doses: 1 grânulo para 20 litros e 1 grânulo para 40 litros de água. Estas três formulações foram testadas em triplicata, sob quatro condições. Três condições foram simuladas em caixas d'água a campo: totalmente cobertas com a tampa, com sombrite 50% e completamente descobertas. Uma quarta condição foi simulada em ambiente fechado sem exposição solar direta. A avaliação dos tratamentos mantidos a campo foi realizada semanalmente com a coleta de água das caixas, à qual foram adicionadas 20 larvas de terceiro instar de *A. aegypti*, com avaliação da mortalidade após 24 horas de exposição. A avaliação da quarta condição foi realizada com adição semanal de 20 larvas de *A. aegypti* e posterior avaliação diária do número de pupas encontradas. Dos tratamentos expostos a pleno sol, apenas as duas doses de SPHAERUS[®] proporcionaram controle durante 1 (uma) semana. Os tratamentos expostos a 50% de incidência solar proporcionaram controle durante 1 (uma) semana, com exceção da formulação WDG[®], que proporcionou controle efetivo por 2 (duas) semanas. Os tratamentos protegidos da exposição ao sol apresentaram controle por 2 (duas) semanas, com exceção das formulações WDG[®] e SPHAERUS[®] 1/20, que proporcionaram controle por 3 (três) semanas. Os tratamentos mantidos em ambiente protegido proporcionaram controle durante 7 (sete) semanas. Nestas doses aplicadas, as concentrações finais de UTI/litro para VECTOBAC G[®], WDG[®] e SPHAERUS[®] 1/20 e 1/40 foram, respectivamente: 4000, 6000, 900 e 450, o que evidencia a eficiência da formulação de SPHAERUS[®], que proporcionou maior ou igual persistência que produtos com doses muito maiores de princípio ativo.

¹ Eng. Agr., Bthek, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., Ph.D., Bthek Biotecnologia Ltda.

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

091 - *Trichoderma* spp. ISOLADOS DE SOLOS DO CERRADO (*Trichoderma* spp. isolated from cerrado soil)

Braúna, L.M.¹, Mello, S.C.M.², Falcão, J.³, Silva, J.B.T.⁴

A partir do trabalho pioneiro desenvolvido por Wendling, onde foi constatada a capacidade de *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz (= *Trichoderma viride* Pers.:Fr.) de parasitar importantes patógenos de solo em cultura, vários estudos vêm sendo desenvolvidos visando à utilização de espécies de *Trichoderma* para fins de controle biológico. São inúmeros os relatos de sucesso com o uso de *Trichoderma* spp. no controle, sobretudo de patógenos do solo, tais como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum truncatum*. Este trabalho faz parte de um estudo que vem sendo desenvolvido visando à seleção de possíveis agentes a biofungicidas. Amostras de solo, procedentes do Estado de Tocantins e do Distrito Federal, foram processadas utilizando-se do método de diluições seriadas em meio Rosa de Bengala, sendo assim obtidos 14 isolados de *Trichoderma*. Utilizando-se das chaves de identificação de Bisset e Rifai, foram determinadas as seguintes espécies: *T. harzianum* (05 isolados), *T. koningii* (02), *T. viride* (01), *T. asperellum* (01). Os demais ainda estão sendo identificados. Esses isolados foram preservados em nitrogênio líquido e pelos métodos de congelamento e ultrabaixa temperatura, liofilização e Castellani, e estão depositados na Coleção de Fungos para o Controle Biológico de Fitopatógenos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Posteriormente, serão caracterizados quanto aos aspectos moleculares, pela técnica RFLP, bem como avaliados quanto ao potencial de uso agrícola.

¹ Biologia, graduando, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Agronomia, graduando, UnB, CNPq.

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

092 - VOLÁTEIS DE PLANTAS DE ALGODÃO INFESTADOS POR LAGARTAS DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE) ESTIMULAM A RESPOSTA DO PARASITÓIDE DE OVOS, *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) (Plant volatiles of cotton infested with caterpillar, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), elicit the response on egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

Pinheiro, P.V.², Jardim, D.P.¹, Cavalcante, C.³, Laumann, R.⁴, Borges, M.⁴, Moraes, M.C.B.⁵

A espécie *Spodoptera frugiperda*, é uma praga-chave da cultura do milho. Esta espécie tem causado, também, grandes reduções na produção de lavouras de algodão, passando de praga secundária para principal em várias regiões produtoras. Na maioria dessas regiões, o uso de inseticidas tem sido a única medida de controle utilizada para o manejo desta praga. No contexto do controle biológico os semioquímicos podem ser uma ferramenta alternativa ao uso de inseticidas. O objetivo deste trabalho foi analisar os voláteis liberados pelo algodão quando infestado por *S. frugiperda* e comparar as respostas comportamentais do parasitóide de ovos, *Trichogramma pretiosum*, aos voláteis. Foram feitas aerações, durante 4 dias consecutivos, de plantas de algodão infestadas com lagartas do 2º instar utilizando, como controle, plantas sem lagartas. Os voláteis das aerações (n = 90 para cada tratamento) foram coletados em adsorventes químicos, extraídos com hexano e analisados em um cromatógrafo gasoso. Foram realizados bioensaios em olfatômetro "Y" para verificar a possível atração dos extratos a fêmeas dos parasitóides. As plantas infestadas liberaram voláteis qualitativa e quantitativamente diferentes das plantas não infestadas. Nos quatro dias monitorados houve um significativo aumento na quantidade média de voláteis liberados pelas plantas infestadas (F = 4.602, gl = 13, p = 0.007). Os espectros de massas indicaram que os principais voláteis liberados pertencem a classe de aldeídos álcoois, nonoterpenos, diterpenos e sesquiterpenos. Os bioensaios com *T. pretiosum* mostraram uma significativa preferência dos parasitóides pelos voláteis das plantas infestadas (t = 2.246, df = 30, p = 0.001). Observou-se que os parasitóides respondem melhor aos estímulos olfativos no começo da manhã (entre 7 e 10 hs), e no final da tarde, entre às 16 e 19 horas.

¹ Farmácia-Bioquímica, graduando, Universidade Paulista.

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

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

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

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

093 - VOLÁTEIS DE SOJA (*Glycine max*) INDUZIDOS PELA ALIMENTAÇÃO DE *Euschistus heros* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) E SUA INFLUÊNCIA NO COMPORTAMENTO DO PARASITÓIDE *Telenomus podisi* (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) (Soybean's volatiles prompted by feeding of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) and its influence on the parasitoid's behavior *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae)

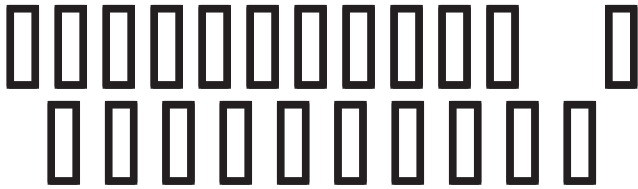
Sousa, L.M.P.¹, Moraes, M.C.B.², Laumann, R.³, Borges, M.³

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) a produção brasileira de soja ultrapassará o número de 52 milhões toneladas em 2003, com uma área estimada em 18 milhões de hectares. *Euschistus heros* é uma das principais pragas do complexo de percevejos da soja e seu controle é baseado, principalmente, no uso de agrotóxicos. Em termos de controle biológico, o uso de parasitóides já é uma realidade e a eficiência de sua ação pode ser manipulada através de semioquímicos. Nesse contexto, pretende-se avaliar o efeito de voláteis liberados pela soja quando infestadas por *E. heros* no comportamento do parasitóide de ovos de percevejos *Telenomus podisi*. As plantas possuem defesas induzidas por herbívoros que se classificam em diretas e indiretas. As defesas diretas são quaisquer mecanismos que as protegem das injúrias causadas pelas pragas; já as defesas indiretas estão relacionadas com as estratégias utilizadas para atrair inimigos naturais. Foram feitas aerações de plantas infestadas com *E. heros* em diferentes tratamentos: 1) 5 fêmeas virgens imaturas sexualmente; 2) 5 fêmeas virgens acasaladas; 3) 5 machos maduros sexualmente; e 4) Planta sadia (controle). Os voláteis dessas aerações foram coletados em adsorvente químico, extraídos com hexano e analisados em um cromatógrafo gasoso. Os bioensaios com os extratos foram realizados em olfatometros "Y" para verificar a possível atração desses às fêmeas dos parasitóides. A análise cromatográfica dos extratos mostrou uma diferença qualitativa e quantitativa entre os tratamentos nos 7 dias de aeração (teste Student-Newman-Keuls $p < 0,05$, Teste de Kruskal-Wallis $H = 20,691$, $gl = 6$, $p = 0,002$). As fêmeas do parasitóide responderam significativamente ($t = 5,224$, $gl = 16$, $p < 0,001$, Teste t-pareado) aos extratos do tratamento 1 em relação aos do tratamento 4.

¹ Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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



094 - *Alternaria chrysanthemi* INTERCEPTADO EM CRISÂNTEMO PELA QUARENTENA DE PÓS-ENTRADA (*Alternaria chrysanthemi* intercepted in *Chrysanthemum* by the post-entry quarantine service)

Mendes, P.D.¹, Mendes, M.A.S.², Urben, A.F.³, Oliveira, A.S.⁴

Plantas ornamentais vem aumentando o seu espaço no mercado agrícola, empregando um número considerável de pessoas e movimentando milhões de dólares em todo o mundo. No período de 2002/2003, no Laboratório de Quarentena Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foram analisados diversos materiais vegetais comerciais, apreendidos pela Delegacia Federal de Agricultura (DFA), de diversas espécies de flores, procedentes de vários países. Para a detecção de fungo em sementes utilizou-se o método de plaqueamento em papel de filtro ("Blotter Test"), incubação por 12 a 15 dias, a 20 °C, fotoperíodo de 12 horas de luz NUV e 12 horas escuro. A identificação do fungo foi baseada nas características morfológicas do fungo, sob microscópio estereoscópio e de luz. Sementes de crisântemo branco (*Chrysanthemum* sp.), importadas da Holanda, apresentaram alta incidência de infecção por *Alternaria chrysanthemi* E. Simmons & Crosier. Esta praga, segundo a literatura consultada, não se encontrada relatada no Brasil.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

⁴ Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

095 - BANCO DE DADOS DE FUNGOS EM VIDEIRA (Data base of fungi In grapevine)

Paulo, J.A.O.¹, Mendes, M.A.S.², Melo, L.A.M.P.³, Oliveira, M.R.V.⁴

A identificação das pragas quarentenárias é fundamental para manter e dar subsídio ao comércio internacional de commodities de forma segura, diminuindo os riscos de introdução de pragas exóticas. As restrições legais e os procedimentos fitossanitários aplicados no movimento internacional de commodities são processos dinâmicos e devem ser embasados em dados confiáveis de pesquisa e revisão de literatura. 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, devem ser incluídas na lista A1 de pragas quarentenárias para o Brasil. Assim, o banco de dados de fungos em videira tem como objetivo identificar organismos de impacto econômico que não ocorrem no país e que podem acompanhar commodities importadas. Essa base de dados contém informações sobre todos os gêneros/espécies de fungos relatados em videira no mundo, sinônimos, distribuição geográfica e referências bibliográficas. Foram catalogados 376 fungos, sendo que destes 241 são exóticos e 135 não estão relatadas no Brasil. Na segunda etapa deste trabalho, serão definidos os dados complementares sobre as condições edafoclimáticas, expressão econômica, parte(s) da planta afetada para cada fungo, entre outros, necessários para a sua inclusão na lista A1.

¹ Biologia, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

096 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIES EXÓTICAS DE MOSCAS-DAS-FRUTAS DO GÊNERO *Bactrocera* sp. POR RAPD - PCR (Molecular characterization the exotic species of genus *Bactrocera* sp. by RAPD - PCR)

Damacena, I. de S.¹, Queiroz, P.R.², Lima, L.H.C.³, Oliveira, M.R.V.³, Lopes, D.L. de M.⁴

As moscas-das-frutas são as pragas de maior expressão econômica na fruticultura mundial por atacarem órgãos de reprodução das plantas, frutas com polpas e flores. A introdução de uma espécie exótica de moscas-das-frutas em novas áreas causa, ainda, maiores prejuízos. Várias espécies dentro do gênero *Anastrepha* e ainda *Bactrocera* são exóticas ao país. Procedimentos de mitigação de risco para evitar a introdução de outras espécies pragas de moscas-das-frutas nas áreas de produção devem ser adotados, principalmente quando o governo deseja aumentar as exportações de frutas para mercados extremamente exigentes. Este trabalho foi elaborado para auxiliar no estabelecimento de marcadores moleculares para as moscas-das-frutas exóticas ao país do gênero *Bactrocera*, sendo elas *Bactrocera cacuminata*, *B. neohumeralis* e *B. tryoni*. Para identificação de populações de moscas-das-frutas exóticas utilizou-se de técnicas de marcadores moleculares RAPD-PCR. Utilizando-se primers de seqüências aleatórias, observou-se variações nos padrões de bandas entre as espécies em estudo. A obtenção de perfis moleculares é uma etapa importante no desenvolvimento de marcadores genéticos específicos para a detecção de espécies exóticas com interesse quarentenário.

¹ Biologia, graduanda, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, doutorando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

⁴ Administração, graduanda, UNEB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

097 - COMPÊNDIO NEMATOLÓGICO SOBRE ESPÉCIES DE *Xiphinema* TRANSMISSORES DE VÍRUS (Nematological compendium about virus vector *Xiphinema* species)

Encinas, V.B.¹, Tenente, G.C.M.V.², Tenente, R.C.V.³

Algumas espécies de nematóides do Grupo Dorylaimida (família Longidoridae) são conhecidas pela sua capacidade de transmitir vírus aos seus hospedeiros. Dentre essas espécies, se destacam as do gênero *Xiphinema*, que atacam principalmente videiras (*Vitis* spp.). Neste compêndio, desenvolvido pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estão listadas as 12 (doze) espécies do gênero *Xiphinema* que são vetores de vírus, além das fichas de cada uma dessas espécies, onde se encontram dados acerca de taxonomia (classe, ordem, família, gênero e espécie), hospedeiros (nomes científicos e vulgares), distribuição geográfica (continente, país, estado e cidades ou regiões), controle (químico e biológico), sintomas (nos principais hospedeiros), bioecologia (ciclo de vida e hábitos), morfometria (medidas de estruturas para diferenciação), importância econômica (danos causados na economia) e referências bibliográficas importantes (de acordo com o padrão da ABNT). Os dados levantados neste compêndio, foram obtidos principalmente através de pesquisas feitas pela Internet, sendo complementado pelo vasto acervo nematológico do laboratório de nematologia e da biblioteca da Embrapa. As doze espécies levantadas neste trabalho são: *Xiphinema americanum*, *Xiphinema bakeri*, *Xiphinema basiri*, *X. brevicolle*, *X. bricolensis*, *X. californicum*, *X. coxi*, *X. diversicaudatum*, *X. index*, *X. italiae*, *X. rivesi*, *X. vuittenezi*. Além de informação sobre os nematóides, esse levantamento traz também, importantes dados sobre os vírus transmitidos por estes fitonematóides.

¹ Eng. Florestal, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Bióloga, M.Sc., Fundação Educacional do Distrito Federal.

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

098 - EFEITO DA IDADE DAS FOLHAS DE PLANTAS DE MELÃO SOBRE O INCREMENTO POPULACIONAL DE *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Population increase of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as affected by melon leaf age)

Melo, L.A.¹, José Jr., G.¹, Santos, J.P.², Mendes, A.P.², Lopes, C.A.³, Marques, A.S.A.⁴

A mancha aquosa do melão causada por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, foi detectada no Brasil em 1997, na Região Nordeste (RN), a qual responde por 94% da produção nacional, tornando-se séria ameaça à cultura pelo seu potencial de causar perdas totais. Considerando que não há controle químico efetivo contra a bacteriose, as medidas preconizadas são preventivas, como o uso de sementes sadias e de variedades resistentes. Com o objetivo de identificar fontes de resistência estão sendo avaliados genótipos pela pulverização de suspensão bacteriana em plântulas com quatro folhas definitivas. Experimento piloto foi instalado objetivando avaliar o desenvolvimento da infecção em função da idade da folha, visando inocular plântulas precocemente. Utilizou-se o genótipo Valenciano Verde Redondo, e três diferentes idades de folha: a mais nova da haste, com no mínimo três centímetros de comprimento; a terceira e a quinta folhas seguintes. A avaliação foi feita em função do crescimento da população bacteriana três e sete dias após a inoculação. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo duas por folha. A inoculação foi feita pela deposição de 10 µl de suspensão do isolado "CNPH Maísa 2", na concentração de 10⁷ ufc/ml em fermentos de microalfinete, e as plantas submetidas a câmara úmida por 48 h. Como testemunha usou-se água estéril. Para as leituras, um retângulo em torno do ponto de inoculação foi recortado, pesado, esmagado em água destilada estéril e o extrato foi diluído, plaqueado e as placas incubadas em estufa a 28 °C. Efetuou-se a contagem de colônias com características culturais correspondentes às de *A. avenae* subsp. *citrulli*, confirmando-se posteriormente sua identificação. Os resultados mostram que para as três idades de folha houve desenvolvimento inicial da população bacteriana. Aos sete dias observou-se decréscimo na população das folhas mais velhas, a qual se manteve estável na folha de idade intermediária e foi maior nas folhas mais novas. Acredita-se ser conveniente realizar a avaliação de genótipos utilizando-se plântulas em estágio de primeira folha definitiva. Novos ensaios serão instalados para acompanhar a evolução da população bacteriana, em intervalos menores até o aparecimento dos sintomas.

¹ Agronomia, graduando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Assistente de pesquisa, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças.

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

099 - ERRADICAÇÃO DE *Fusarium moniliforme* EM SEMENTES DE MILHO UTILIZANDO TRATAMENTO TÉRMICO ÚMIDO (Eradication of seed-borne *Fusarium moniliforme* in corn seeds by wet-thermic treatment)

Rodrigues Jr., A.J.G.¹, Mendes, M.A.S.², Oliveira, A.S.³, Fonseca, J.N.L.⁴

Tratamentos alternativos, como o uso do calor seco ou úmido, têm sido utilizados com sucesso no controle e erradicação de fitopatógenos em sementes. O presente trabalho teve por objetivo verificar o efeito do calor úmido no controle e/ou erradicação de *Fusarium moniliforme* de sementes de milho (*Zea mays* L.). Sementes infectadas naturalmente (safra de 2000/2001) foram imersas em água por 4 horas, seguido da imersão em banho-maria, com agitação, a 40°C, para o pré-tratamento, durante 60 minutos, seguido de tratamentos a 50, 55, 57 e 60°C durante 0, 30, 60 e 90, minutos; 10, 15 e 20 minutos; 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos; 5, 10 e 15 minutos, respectivamente perfazendo um total de 16 tratamentos. Utilizou-se o método de "Blotter test" para detecção e identificação de fungos. O poder germinativo (PG) e o vigor (V) das sementes foram avaliados segundo regras de análises de sementes (Handbook of Vigour Test Methods, ISTA, 1981). As sementes de milho apresentaram 12% de contaminação. O tratamento a 57°C por 20 minutos erradicou o patógeno das sementes de milho, no entanto afetou significativamente o PG e o V, que foram reduzidos de 93% para 78,5% (PG) e de 92,5% para 74% (V). O tratamento 57°C por 15 minutos controlou o fungo sem afetar o PG e o V das sementes.

¹ Agronomia., graduando, UPIS, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

100 - FORMAÇÃO DE UM BANCO DE DADOS SOBRE PRAGAS EM BORBULHAS DE FRUTEIRAS, BASE PARA ELABORAÇÃO DE ARPQNR (Development of a Database about pests fruit tree in buds, base for ARPQNR elaboration)

Barros, T.O.¹, Mendes, M.A.S.², Oliveira, M.R.V.³, Martins, O.M.⁴, Batista, M.F.⁴, Fonseca, J.N.L.⁵, Felix, A.A.A.⁶

A base de dados dá início a um mapeamento de pragas fitopatogênicas, fundamental para a definição de pragas de ocorrência localizada. Este trabalho tem por objetivo facilitar e auxiliar a identificação das pragas ocorrentes em borbulhas de fruteiras, e com isso, a conseqüente tomada de decisão sobre o seu controle. Como base para elaboração de Análise de Risco de Pragas não Quarentenárias Regulamentadas (ARNQR), foram selecionadas 23 pragas nas seguintes culturas: ameixa (01 praga), pêssego (02 pragas), atemóia (01 praga), guaraná (01 praga), abacate (02 pragas), caju (01 praga), manga (03 pragas), nêspera (01 praga), uva (01 praga), goiaba (01 praga), maçã (04 pragas), pêra (01 praga) e caqui (01 praga). As pragas ocorrentes nestas culturas possuem grande expressão econômica, podendo causar grandes prejuízos ao agronegócio brasileiro se ocorrerem sob condições favoráveis ao patógeno e em cultivares suscetíveis. Podemos salientar algumas pragas de relevância como as bactérias *Xylella fastidiosa* em citros, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* em ameixa e *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* em citros, o vírus da tristeza dos citros (closterovirus) e o fungo *Botryosphaeria ribis* em pêra. É importante mencionar que estas informações contribuirão na atualização da lista de pragas não quarentenárias regulamentadas fiscalizadas pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento.

¹ Biologia, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

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

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

⁶ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

101 - FUNGOS DE EXPRESSÃO QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (Fungi of quarantine importance on fruit-plants in Brazil)

Felix, A.A.A.¹, Mendes, M.A.S.², Santos, M.F.², Paulo, J.A.O.³

O aumento do intercâmbio de vegetais entre as zonas de livre comércio legitimadas pela Organização Mundial do Comércio (OMC), exige um maior rigor no controle fitossanitário, para evitar a entrada e/ou disseminação de pragas entre os países. O presente trabalho teve por finalidade compilar e disponibilizar informações sobre fungos exóticos de expressão quarentenária para o Brasil. Os fungos identificados como pragas potencialmente quarentenárias e as respectivas plantas hospedeiras foram: *Acremonium cucurbitacearum* (melão e melancia), *Colletotrichum capsici* (manga, mamão, pimentão), *Cristulariella moricola* (uva, maçã, pêssego e florestais), *Guignardia musae* (banana), *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeoacremonium angustis*, *Phaeoacremonium chlamydosporum* (uva), *Phomopsis cucurbitae* (melão, pepino, melancia e esponja vegetal) e *Phytophthora katsurae* (coco e cacau). Os dados sobre essas pragas incluem informações sobre a taxonomia, plantas hospedeiras, bioecologia, formas de transmissão, sintomas, métodos de detecção, inspeção, distribuição geográfica, expressão econômica e controle, que devem ser disponibilizadas para dar suporte à comercialização desses produtos. A introdução desses fungos exóticos pode causar impacto econômico, social e ambiental para o agronegócio brasileiro.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Biologia, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

102 - IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DE RISCO DE INTRODUÇÃO DE INSETOS EXÓTICOS NO BRASIL ATRAVÉS DA IMPORTAÇÃO DE BONSAI (Identification and evaluation of risk on the introduction of exotic insects into Brazil through bonsai import)

Damacena, I. de S.¹, Oliveira, M.R.V.², Lopes, D.L. de M.³

O aumento do comércio internacional, o transporte e o intercâmbio de produtos agrícolas entre países tem levado à dispersão de pragas originalmente restritas às suas respectivas áreas de origem. A introdução de pragas exóticas em áreas de produção pode causar diversos problemas para a agricultura, entre eles, redução na produtividade e aumento nos custos de produção. O Brasil, por ser signatário da Organização Mundial do Comércio (OMC) e país membro da Convenção Internacional para Proteção dos Vegetais (CIPV) e da Organização de Alimentos para Agricultura (FAO), realiza a importação de material vegetal sob determinadas condições que levam em conta a Análise de Risco de Pragas (ARP), que estabelece os riscos que uma praga exótica pode causar em uma determinada área. Entre janeiro 1996 a agosto de 2002, o Brasil importou cerca de 225 toneladas de mudas de plantas ornamentais, entre estas, podem estar inclusas várias espécies de bonsai. Através do estágio I da ARP para Bonsai, observou-se que 47 pragas podem estar associadas a essa “commodities”. No estágio II, avaliar as pragas que são exóticas ao país que poderiam ter grande impacto na agricultura brasileira. Das análises realizadas para o estágio II, observou-se que todas as espécies listadas apresentaram alto risco quarentenário. Esses procedimentos são importantes para a avaliação do risco e do controle da dispersão e introdução de espécies exóticas dentro do território nacional.

¹Biologia, graduanda, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³Administração, graduanda, UNEB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

103 - IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE *Bactrocera carambolae* NO BRASIL (Molecular identification of the Brazilian population of *Bactrocera carambolae*)

Damacena, I. de S.¹, Queiroz, P.R.², Lima, L.H.C.³, Oliveira, M.R.V.³, Lopes, D.L. de M.⁴, Silva, R.A. da⁵

A mosca da carambola pertence à família Tephritidae de onde provêm as mais importantes pragas conhecidas como moscas-das-frutas. Sua expressão econômica refere-se aos danos diretos causados nos frutos e indireta às exigências quarentenárias para exportação de frutos aos principais mercados consumidores mundiais. Estima-se que as perdas globais na produção de frutas causadas pelas moscas-das-frutas, entre elas a da carambola, ultrapassem a dois bilhões de dólares anuais. Essas moscas representam o maior problema fitossanitário da fruticultura mundial, diminuindo a produção de várias espécies de frutíferas, aumentando os custos de controle e impacto ambiental e dificultando o comércio de frutas frescas entre os países, com conseqüente proibição das exportações dos países sul-americanos. Nativa da Ásia pertencente ao complexo *Bactrocera dorsalis*, foi introduzida no continente americano em 1975, em 1989 atingiu a Guiana Francesa e em 1996, chegou ao município do Oiapoque no Estado do Amapá, Brasil. A mosca-da-carambola é considerada a espécie que mais causa prejuízos à fruticultura. Devido a esse fato, este trabalho consiste na identificação molecular das populações de *B. carambolae* presentes no Brasil, por técnicas moleculares de RAPD-PCR, utilizando espécies de *Ceratitis capitata* como padrão, para estabelecimento de medidas quarentenárias de controle. Utilizando-se *primers* de seqüências aleatórias, observou-se variações nos padrões de bandas entre as espécies em estudo. A obtenção de perfis moleculares é uma etapa importante no desenvolvimento de marcadores genéticos específicos para a detecção de espécies de interesse quarentenário.

¹ Biologia, graduanda, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, doutorando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

⁴ Administração, graduanda, UNEB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Amapá.

104 - IMPLEMENTAÇÃO DA HOME PAGE PARA A DIVULGAÇÃO DA UNIDADE DE MICOLOGIA/LABORATÓRIO DE QUARENTENA VEGETAL (Development of homepage to divulge the mycological unity/laboratory of vegetal quarantine)

Barros, T.O.¹, Melo, L.A.M.P.², Mendes, M.A.S.³, Urben, A.F.⁴

Com o crescimento contínuo do intercâmbio de Germoplasma Vegetal no âmbito nacional, houve um aumento no número de acessos introduzidos. Com isso, o Laboratório de Quarentena Vegetal (LQV), Unidade de Micologia, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, conquistou grande importância no cenário da agricultura nacional, tendo assim a necessidade de disponibilizar através de meios alternativos na rede mundial de computadores (INTERNET), um site desenvolvido com recursos computacionais simples que iriam avançando de acordo com as necessidades de seus usuários. O objetivo do presente trabalho foi implementar um site para divulgar os trabalhos realizados pela Unidade de Micologia do LQV. Na primeira fase foram definidos os conteúdos e serviços e em seguida foi criado o visual do ambiente. A última fase preocupou-se com a programação computacional, onde foram utilizados recursos de interface HTML. As informações presentes na Home Page darão grande suporte ao trabalho de inspeção e quarentena vegetal, conferindo uma maior agilidade e transparência dos trabalhos de detecção, identificação e controle de fungos fitopatogênicos. É importante inferir que os dados apresentados serão constantemente revisados e atualizados, principalmente as informações sobre os Fungos Relatados em Plantas no Brasil.

¹ Biologia, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

105 - INFLUÊNCIA DOS CULTIVOS ORGÂNICO E CONVENCIONAL SOBRE A INCIDÊNCIA DE MOSCA BRANCA (*Bemisia tabaci*) EM BRÁSSICAS (Influence of organic and conventional plantations of *Brassicaceae* on *Bemisia tabaci* (Gen.) populations)

Oliveira, N.N.¹, Paula, S.V.², Oliveira, M.R.V.³

Bemisia tabaci (Hemiptera, Aleyrodidae), vulgarmente chamada de mosca-branca, é uma das pragas de grande expressão econômica no setor produtivo agrícola brasileiro. Em brássicas sua infestação tem apresentado uma influência significativa nos sistemas de cultivo orgânico e convencional. Em estudos realizados através de coletas de adultos, em plantas de repolho no período de 16 de julho a 17 de setembro de 2003, na Embrapa Sede, Vitrine de Tecnologia, Brasília – DF, observou-se diferença significativa da população de adultos de mosca branca, entre os sistemas de cultivo tradicional e orgânico apenas na segunda e quarta semana de avaliação. Na segunda semana, o cultivo tradicional apresentou menor ocorrência de adultos. Na quarta semana de avaliação, a população de adultos no sistema de cultivo tradicional foi superior ao do cultivo orgânico. A maior população de mosca branca no sistema de cultivo orgânico na segunda semana primeiramente indica o efeito residual de pulverizações protetoras das mudas, ainda no viveiro e no transplantio, para os canteiros que foram conduzidos no sistema tradicional de cultivo. A partir de então, a tendência foi de iguais populações de mosca branca nos dois sistemas de cultivos, o que pode ser atribuído ao favorecimento do controle biológico natural no sistema orgânico e na região é principalmente exercidos pelo parasitóide *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) e os predadores *Cycloneda* sp (Coleoptera, Coccinellidae), *Allograpta exótica* (Diptera: Syrphidae) e *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). A hipótese da eficiência do controle biológico natural é fortalecida pelo fato de na quarta semana, a população de mosca branca no sistema orgânico foi inferior que o sistema convencional, ou seja, mais eficiente que as pulverizações de agrotóxicos.

¹ Agronomia, graduanda, FTB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agr., M. Sc., Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

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

106 - MANCHA DE SEPTORIA EM *Pfaffia glomerata* NO DISTRITO FEDERAL (Septoria spot on *Pfaffia glomerata* in Distrito Federal)

Paulo, J.A.O.¹, Mendes, M.A.S.², Alves, R.B.N.², Vieira, R.F.³, Oliveira, A.S.⁴

Fáfia (*Pfaffia glomerata* Spreng.) é uma espécie medicinal que vem sendo largamente comercializada no Brasil e exportada para o Japão e Coréia do Sul, sendo que a maior parte da matéria prima é obtida por extrativismo. Um dos principais problemas para a domesticação e cultivo desta espécie é a grande susceptibilidade a fungos e nematóides, o que pode acarretar grande perda em sua produção. No Distrito Federal foram observadas plantas cultivadas com manchas nas folhas e hastes. Nas folhas, os sintomas iniciais são pequenas pontuações pardas ou avermelhadas, dependendo do acesso de germoplasma. Com a evolução da doença as lesões adquirem dimensões de 3-5 mm de diâmetro, com halo de 1-2 mm de coloração vinho amarronzado e com o centro deprimido de cor parda. As lesões aparecem espalhadas por todo o limbo e as folhas infectadas se desprendem facilmente da haste. Nas hastes os sintomas são pequenas lesões ovais no sentido das estrias, de 2-4 X 1-2 mm, com micro rachaduras no sentido das nervuras nos bordos e no centro das lesões. Procedeu-se o isolamento do fungo em meio de cultura BDA, incubação por 8 dias, sob luz fluorescente contínua e a identificação foi feita pelas características morfológicas. A patogenicidade de *Septoria* sp. Sacc. foi confirmada pela inoculação em folhas sadias destacadas de *P. glomerata* e reisolamento do fungo. Na literatura disponível não foi encontrado nenhum relato deste gênero de fungo causando sintomas em *Pfaffia* no Brasil ou no exterior.

¹ Biologia, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

⁴ Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

107 - PESQUISA EM ANDAMENTO: UMA METODOLOGIA PARA ERRADICAÇÃO DE NEMATÓIDES EM SEMENTES DE *Brachiaria decumbens* (Research in progress: Methodology for nematode eradication in *Brachiaria decumbens* seeds)

Rodrigues Jr., A.J.G.¹, Sousa, A.I.M.², Gomes, V.F.³, Lemos, A.P.⁴, Tenente, R.C.V.⁵

A introdução de materiais genéticos de outros países vem auxiliando muito os programas de melhoramento de plantas, com isso tem contribuído significativamente para o avanço da agricultura. Entretanto, a introdução desses materiais tem aumentado o risco de introdução de nematóides exóticos no país. Portanto, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, vem se organizando para efetuar as análises fitossanitárias desses materiais e na erradicação de nematóides detectados. O principal objetivo deste trabalho é encontrar um tratamento adequado para erradicação do nematóide *Aphelenchoides besseyi* de sementes de *Brachiaria decumbens* sem afetar a germinação e o vigor destas sementes. Os tratamentos aplicados foram: fumigação com Fosfina; Térmico Úmido (40°C/15min. - 57°C/15min.) e (40°C/30min. - 57°C/15min.); Térmico Seco (60°C/6hn - 95°C/3hn) e (60°C/3hn - 95°C/3hn) e Tratamento Químico (Na Ocl 2% + Formol 1%)/30min. A detecção de nematóides foi através do Funil de Baermann. Para o tratamento seco as sementes passaram por câmara de secagem 24°C(15%UR) - 8 dias para reduzir o teor de umidade. Para cada tratamento, o experimento apresentou testemunha. A avaliação do poder germinativo foi ao 7º dia após tratamento e o vigor e o crescimento da radícula, ao 14º dia. As avaliações estão em execução.

¹ Agronomia, graduando, UPIS, Bolsista da ABRASEM, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Secretariado, graduando, CECAP, Bolsista CNPq.

³ Eng. Ambiental, graduando, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Nível médio, Bolsista Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

108 - QUARENTENA DE GERMOPLASMA VEGETAL – PROCEDIMENTOS, MÉTODOS E INTERCEPTAÇÃO DE VÍRUS, VIROIDES E FITOPLASMAS (Quarantine of vegetal germoplasm – Procedures, methods and interception of vírus, viroids and phytoplasmas)

Silva, R.D.C.¹, Marinho, V.L.A.², Batista, M.de F.³

A introdução não controlada de germoplasma vegetal pode acarretar a entrada de pragas no país e, no Brasil, são inúmeros os exemplos de introdução de pragas exóticas que provocaram, e em alguns casos ainda provocam, sérios danos à agricultura. Para garantir a integridade do germoplasma vegetal introduzido, o laboratório de Quarentena da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, unidade de virologia, analisa todo o germoplasma introduzido para pesquisa utilizando diversas técnicas para a detecção e identificação de vírus, viróides e fitoplasmas nestes materiais. As metodologias mais utilizadas são: plantio do material vegetal introduzido em quarentenário e observação de sintomas nas plântulas, inoculação mecânica em plantas hospedeiras, teste sorológico (imuno-difusão-dupla em agar gel e ELISA), preparações rápidas para microscopia eletrônica (“leaf dip”), PCR e hibridização molecular com sondas específicas. De janeiro de 2002 a setembro de 2003, foram analisados, pelo laboratório de virologia, 48.025 acessos de germoplasma. No período foram detectados, o *Soybean mosaic virus* (vírus do mosaico comum da soja), em sementes de soja, provenientes dos Estados Unidos e o *Banana Streak virus* (vírus da risca da bananeira), em mudas de banana de Israel. Embora os dois vírus interceptados já ocorram no Brasil, ambos causam danos às culturas em questão. Começar uma lavoura com material vegetativo sabidamente infectado por vírus é arriscado devido a eficiência de transmissão e disseminação dos mesmos por insetos vetores. A quarentena de germoplasma vegetal possibilita a introdução segura de material genético, evitando a entrada de vírus exóticos e/ou quarentenários e de importância econômica para o Brasil. Deste modo, tanto os sistemas agrícolas estarão livres de perdas potenciais na produção quanto o meio ambiente do uso indiscriminado de defensivos.

¹ Biologia, graduanda, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

109 - SISTEMA DE INFORMAÇÕES DE GERMOPLASMA DÁ SUPORTE AOS PROCEDIMENTOS NEMATOLÓGICOS DIMINUINDO OS RISCOS DE PRAGAS EXÓTICAS (Germplasm Information System giving support to nematological procedures decreasing the risks of exotic pests)

Nascimento, H.I.¹, Rissoli, V.R.V.², Tenente, R.C.V.³, Cares, J.E.⁴

O Sistema de Informações de Germoplasma foi desenvolvido sobre uma base de dados das análises nematológicas de material importado, onde está incluído o período de 1981 a setembro de 2003 e os resultados deste trabalho correspondem somente aos últimos cinco anos. Esta base de dados contém descrições do material importado, país de origem, destino, número de acessos analisados e contaminados, e o nematóide identificado. Baseado neste sistema pode-se verificar que dos 28,898 acessos importados, de diversos produtos, 5.723 apresentaram-se com nematóides, perfazendo um total de 19,80% o que é uma alta percentagem. Os nematóides detectados foram: *Aphelenchoides* sp., *A. besseyi*, *A. bicaudatus*, *Aphelenchus* sp., *A. avenae*, *Coslenchus* sp., *Ditylenchus* sp., *D. equalis*, *D. dipsaci*, *D. emus*, *D. nortoni*, *D. obesus*, *D. parvus*, *D. terricolus*, *Ekataphelenchoides* sp., *Helicotylenchus* sp., *H. dihystra*, *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* sp., *Seinura* sp., *Tylaphelenchus* sp., *Tylenchus* sp. e nematóides pertencentes a família Hoplolaimidae e outros da Ordem Dorylaimida. Os resultados desta busca mostraram que nesses cinco anos e nove meses de análises nematológicas, a importância da interceptação de nematóides exóticos ao País, provocando diminuição do risco de introdução de novas espécies/raças no Brasil. Portanto, pelo Sistema de Informações de Germoplasma, demonstrou-se que o custo benefício dessas análises foi significativo, contribuindo muito para agricultura brasileira, podendo apresentar sempre os dados atualizados.

¹ Análise de Sistemas, graduando, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Analista de Sistemas, M.Sc., UCB.

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

⁴ Eng. Agr., Ph.D., UnB.

110 - SISTEMA DE INFORMAÇÕES DE INSETOS QUARENTENÁRIOS PARA O BRASIL (Systematic information of insects and mites of quarantine importance to Brazil)

Lopes, D.L.M.¹, Oliveira, M.R.V.², Paula, S.V.³

A intensificação do comércio internacional, que tende cada vez mais a globalizar os mercados, gerou como uma de suas conseqüências uma via de dispersão de espécies invasoras, que pode vir a se caracterizar como pragas, quando consideramos o trânsito de produtos agrícolas. As questões fitossanitárias constituem, desta forma, no momento atual um dos principais fatores que podem colocar em risco a troca de mercadorias agrícolas em nível internacional, bem como qualquer outro tipo de mercadoria, quando consideramos o sério problema de pragas de embalagem e suporte de madeira. Nesse contexto, a entomologia agrícola desempenham um papel fundamental. Os insetos são importantes organismos neste processo, porque ao se dispersarem para áreas isentas podem promover grandes impactos nos ecossistemas. Vários países tiveram suas economias profundamente abaladas pela presença de pragas em seus agroecossistemas. Muitas pragas com potencial de invasão, ainda ameaçam à nossa atividade econômica agrícola, florestal, pecuária e mesmo ecossistemas naturais. Em um trabalho de levantamento de insetos-pragas exóticas e com potencial quarentenário e de Análise de Risco de Pragas simplificada para o Brasil, observou-se que cerca de 1.000 espécies de insetos podem comprometer o nosso agronegócio. Cabe assim, estarmos estruturados não só para enfrentarmos os novos problemas fitossanitários que surgirem, mas também nos municiar de condições de forma a prevê-los e traçar estratégias que evitem o problema ou o minimize em caso de sua ocorrência. Esse trabalho foi elaborado para sistematizar informações rápidas e seguras sobre insetos quarentenários para o Brasil, de modo a facilitar as buscas sobre esses organismos durante a elaboração de planos de contingência e métodos avançados de diagnose. Buscas foram realizadas em diversas fontes de informações e 1758 *sites* de consulta aproximadamente, foram identificados e compilados. Isso permitirá desenvolver com rapidez e eficiência bancos de dados para insetos-pragas de grande relevância para o país.

¹ Administração, graduando, UNEB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Eng. Agr., M.Sc., Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

111 - UTILIZAÇÃO DA PCR EM ENSAIOS SOBRE A TRANSMISSÃO DE *Ralstonia solanacearum* POR SEMENTES DE TOMATE (Use of PCR technique for investigating seed transmission of *Ralstonia solanacearum* in plants)

Nogueira, S.B.¹, Martins, O.M.², Lopes, C. A.³

Existem informações contraditórias em relação à transmissão de *Ralstonia solanacearum* por sementes de tomate. Relativamente ao tema, iniciaram-se os seguintes ensaios: sementes de tomate de plantas apresentando sintomas severos de murcha foram coletadas em campo infestado naturalmente pela bactéria. As sementes foram testadas pela técnica da PCR com primers OLI1 e Y2 e pelo plaqueamento de alíquotas sobre o meio de cultura básico contendo tetrazólio. Como controle positivo, utilizaram-se sementes sadias infiltradas por pressão à vácuo com diferentes concentrações (10^3 à 10^7 UFC/ml). Ainda como controle positivo foram utilizados DNA purificado e suspensão bacteriana (10^8 UFC/ml). Fragmentos de 288 pb foram verificados para o DNA genômico e suspensão bacteriana. Amplificações de DNA não foram verificadas nem pelos extratos das sementes naturalmente infectadas nem pelas sementes infiltradas artificialmente. Estes dados indicam a necessidade de se elucidar o mecanismo inibitório do crescimento bacteriano existente na interação semente-bactéria.

¹ Biologia, graduanda,UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças.



112 - AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO* CULTIVADOS EM DIFERENTES SISTEMAS E VITRIFICADOS PELO MÉTODO OPS (Evaluation of the survival rate of *in vitro* produced bovine embryos cultured in different systems and vitrified by the OPS method)

Pereira, D.C.¹, Dode, M.A.N.², Corrêa, G.A.³, Rumpf, R.²

O presente estudo teve por objetivo avaliar a sobrevivência de embriões PIV produzidos em diferentes sistemas de cultivo após a vitrificação. Ovócitos bovinos foram obtidos de ovários de abatedouro. Após a maturação e fecundação *in vitro*, as estruturas foram cultivadas ou em gotas ou no sistema “well of the well” (WOW). Neste sistema o embrião é cultivado dentro de um pequeno poço cilíndrico em forma de “V” feito em uma placa e recoberto com meio de cultivo criando, desta forma, um microambiente para o embrião. Em todos os tratamentos os embriões foram cultivados em presença de células da granulosa, em meio SOFaa em 5% de CO₂ em ar, em três sistemas de cultivo: T1: Controle - cultivo em grupo de 20-30 embriões em gotas de 400 µl de meio; T2: - cultivo em grupo de 20-30 embriões em 400 µl de meio mas com 1 embrião em cada WOW e T3: cultivo individual em WOW em gotas de 20 µl de meio. No D6 e D7 do cultivo os blastocistos qualidade I de cada tratamento foram separados em dois grupos: controle e vitrificado. O grupo controle foi submetido aos mesmos stresses físicos que os vitrificados. A vitrificação foi realizada pelo método OPS. Após a desvitrificação, os embriões foram cultivados por mais 72 horas no mesmo sistema em que foram produzidos. A avaliação da taxa de eclosão foi realizada em 24, 48 e 72 horas pós-desvitrificação. Os dados foram analisados pelo teste χ^2 . Às 24 horas de cultivo as taxas de eclosão dos embriões controle D7 de T2 e T3 (40% 16/40 e 52,5% 21/40) foram superiores a dos embriões controle D6, (2,94% 1/34 e 6,45% 2/31) (P<0,001) e os embriões vitrificados D7 de T1 e T2 (29,73% 11/37 e 26,83% 11/41) foram superiores a dos embriões D6, (2,5% 1/40 e 6,06% 2/33) (P<0,05). Às 72 horas, para os embriões de D6, a taxa de eclosão entre os embriões vitrificados e controles de cada tratamento foi semelhante, sendo respectivamente, T1 (92,5% 37/40 e 97,4 % 38/39), T2 (96,9 % 32/33 e 88, 2% 30/34) e T3 (73,5% 25/34 e 77,4% 24/31) (P>0,05), porém a taxa de eclosão de T3 controle foi menor que T1 controle e T3 vitrificado foi menor que T2 vitrificado (P<0,05). Para os embriões de D7 a taxa de eclosão para vitrificado e controle de cada tratamento foi respectivamente, T1 (83,8% 31/37 e 88,9% 32/36), T2 (90, 2% 37/41 e 90,0 % 36/40) e T3 (70,0% 28/40 e 87,5 % 35/40) (P>0,05), sendo a taxa de eclosão de T3 vitrificado menor que T2 vitrificado (P< 0,05). Os resultados sugerem que os embriões cultivados em grupo, individualizados ou não, apresentaram uma melhor sobrevivência após a desvitrificação do que os cultivados isoladamente.

¹ Méd. Vet., mestranda, FAV, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bióloga, Téc. Visitante.

113 - AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE TÉCNICA DE PARTOS GEMELARES EM BOVINOS DE CORTE NO PLANALTO CENTRAL (Evaluation of feasibility of twinning in cattle for beef production in planalto central)

Lucas, L.A.¹, McManus, C.², Rumpf, R.³

Os índices zootécnicos da pecuária de corte nacional são, em geral, baixos. Pela utilização de novas biotecnologias, é possível aumentar a produtividade dos rebanhos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade técnica de produzir bezerros, oriundos de partos gemelares no sistema de criação extensiva no Planalto Central. Foram utilizadas cento e dezessete vacas cruzadas Simental x Nelore, sendo que no tratamento 1 (T1-controle), sessenta vacas foram inseminadas (I.A.), enquanto que no tratamento 2 (T2) cinqüenta e sete vacas foram inseminadas e 6 a 9 dias após a I.A., involuadas no corno contralateral. Foram utilizados embriões criopreservados em etileno glicol de doadoras Simental x Nelore inseminadas com sêmen do mesmo touro usado no T1 e T2. Ao exame ultra-sonográfico de gestação 35 a 45 dias após I.A. obteve-se 86,7% (n = 52) de prenhez em T1 e 77,19% (n = 44) em T2, sendo que 56,8% (n = 25) das gestações eram gemelares bilaterais. O período médio das gestações gemelares foi de 289 dias e de 294 dias para as simples. Os partos gemelares e simples foram todos normais. A taxa de natalidade em T1 foi de 80,00%. Já em T2 foi de 87,71%, porém a taxa de gemelaridade foi de apenas 48% sobre as 25 gemelares (56,8%) diagnosticadas inicialmente por ultra-sonografia. A percentagem de aborto observada em T1 foi de 5,00% (n = 3) e em T2 foi de 12,28% (n = 7), (p > 0,05). O peso médio ao nascimento foi em T1 de 33,38 kg e em T2 de 36,40 kg e 24,27kg para partos simples e gemelares, respectivamente (p < 0,0001). Aos noventa dias o peso médio dos bezerros do T1 foi de 111,21kg, o T2 parto simples foi de 124,64kg e o peso médio dos gêmeos foi de 93,31kg, (p < 0,0001). Embora exista viabilidade técnica para a produção de gêmeos em bovinos de corte, questões básicas relativas as perdas fetais/abortos e de manejo das vacas gestantes, bem como a relação custo/benefício, devem ser melhor estudadas para emprego desta tecnologia no setor produtivo.

¹ Méd. Vet., mestrando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Animal Science, Ph.D., UnB.

³ Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

114 - CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES DO EPIDÍDIMO DE ANIMAIS MORTOS E SUA UTILIZAÇÃO NA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES *IN VITRO*: UMA IMPORTANTE FERRAMENTA NA PRESERVAÇÃO DE GENES VALIOSOS (Cryopreservation of epididymal spermatozoa from dead animals and its use in the *in vitro* embryos production: a important tool in the preservation of valuable genes)

Martins, C.F.¹, Dode, M.², Pereira, D.C.³, Rumpf, R.²

A possibilidade de se coletar e criopreservar com sucesso espermatozóides de animais que morrem subitamente, pode ser uma importante abordagem para preservar genes valiosos. Desta forma, este trabalho objetivou avaliar a viabilidade da criopreservação de espermatozóides do epidídimo de animais mortos, bem como verificar o potencial de produção de embriões pela fecundação *in vitro*. Para isto foram coletados epidídimos de três touros (touros 1, 2 e 3) abatidos em frigoríficos da região para a obtenção dos espermatozóides. As características espermáticas (motilidade, vigor, morfologia, integridade da cromatina e do acrossoma) foram avaliadas antes e após a criopreservação. Posteriormente, espermatozóides congelados do epidídimo dos três touros foram utilizados para a fecundação *in vitro*, em que foi avaliada a taxa de clivagem (D2) e a taxa de blastocisto (D7). Os espermatozóides dos três touros apresentavam características dentro dos padrões exigidos para a criopreservação. Na avaliação pós-descongelamento essas características se mantiveram satisfatórias para todos os animais. As taxas de clivagem e de blastocisto do touro 1 (86,4% e 43,8%) e do touro 2 (89,7% e 47,4%) foram similares ($P > 0,01$) ao controle (92,9% e 47,9%), respectivamente. O touro 3 apesar de apresentar taxa de clivagem (42,02%) e taxa de blastocisto (26,08%) inferiores ao controle, conseguiu produzir um bom número de embriões. Estes resultados demonstram que espermatozóides do epidídimo de animais que já morreram podem ser criopreservados e utilizados com sucesso na produção de embriões *in vitro*. Sendo assim, quando machos valiosos morrem inexplicadamente, a criopreservação de sêmen do epidídimo é uma grande alternativa. Este procedimento também pode ser particularmente importante para espécies em risco de extinção.

¹ Méd.Vet., doutorando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Méd.Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Méd.Vet., mestranda, UnB.

115 - DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES CLONES A PARTIR DE FIBROBLASTOS DE BOVINO ADULTO TRANSFECTADOS OU NÃO (Development of cloned embryos from adult bovine fibroblasts transfected or not)

Iguma, L.T.¹, Sousa, R.V.², Melo, E.O.⁴, Campos, H.C.F.³, Franco, M.M.⁴, Dode, M.A.N.⁴, Rech, E.L.⁴, Rumpf, R.⁴

A associação das biotecnologias de transferência nuclear (TN) e transfecção de células animais apresenta aplicações potenciais de importante impacto, principalmente nas áreas de medicina e farmácia. Além de ser a maneira mais eficiente para produção de bovinos transgênicos. Para isto, as células doadoras de núcleos necessitam ser transfectadas e selecionadas durante o cultivo *in vitro* (CIV). Os efeitos do longo período de CIV e das manipulações genéticas dessas células foram pouco estudados até então. Este trabalho objetivou comparar a eficiência da TN utilizando fibroblastos da orelha de uma novilha clone de 14 meses de idade (FOC) vs. a mesma linhagem transfectada (TFOC). Ovócitos obtidos de abatedouro foram maturados *in vitro* por 19-21h e, posteriormente, enucleados. Seguiu-se a reconstrução embrionária utilizando-se FOC ou TFOC e a eletrofusão. Os TFOC foram lipofectados com vetor de expressão contendo seqüência codificadora da cadeia leve de um anticorpo monoclonal humano anti-câncer (scFv) e o gene de seleção *neo*, sob controle do promotor constitutivo CMV. Os TFOC foram selecionados em meio com antibiótico G418. De 3-5 h pós-eletrofusão, procedeu-se a ativação artificial com ionomicina e 6-DMAP. Os possíveis zigotos foram co-cultivados *in vitro* com células da granulosa em SOFaaci + 5% SFB. Foram transferidos 1, 2 ou 3 blastocistos por vaca sincronizada. As diferenças entre grupos foram verificadas pelo teste χ^2 . Para controle partenogenético, 246 ovócitos foram ativados, resultando em 69,10% de clivagem e 40,65% de blastocistos. Partindo de 239 e 409 ovócitos, foram reconstruídos 149 e 252 estruturas com FOC e TFOC, respectivamente. Destes, observou-se que 116 (77,85%) e 178 (70,63%) dos complexos se fusionaram, nos grupos FOC e TFOC, respectivamente. As taxas de clivagem e blastocisto foram de 67,24% (78/116) e 30,17% (35/116) para tratamento com FOC e de 67,97% (121/178) e 24,15% (43/178) quando utilizou-se TFOC, respectivamente. Ao ultrassom 30 dias pós-inovulação de embriões FOC, constatou-se: 14/17 (82,35%) receptoras vazias, 1/17 (5,88%) em reabsorção e 2/17 (11,76%) prenhes. Para embriões TFOC, foram avaliadas 15 vacas: 10 (66,66%) vazias, 3 (20%) em reabsorção e 2 (13,33%) prenhes. Não houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre dados nas TN's de FOC e TFOC. Esses resultados sugerem que, nas condições deste experimento, a transfecção não comprometeu o desenvolvimento de embriões TN. Pode-se ainda sugerir que o longo tempo e as muitas passagens no cultivo *in vitro* das células transfectadas não tiveram efeito adverso na eficiência *in vitro* e *in vivo* da TN.

¹ Méd. Vet., doutoranda, UnB, CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Méd. Vet., mestrando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

116 - INFLUÊNCIA DO ESTÁGIO E VELOCIDADE DE DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES PRODUZIDOS *IN VITRO* NA TAXA DE PREENHEZ (influence of the growth rate and stage of development of bovine embryos produced *in vitro* on the pregnancy rate)

Pereira, D.C.¹, Zucoloto, J.², Oliveira, M.A.F.³, Rumpf, R.⁴, Dode, M.A.N.⁴

Com o desenvolvimento das técnicas de reprodução assistida em animais, tornou-se possível otimizar a utilização de fêmeas de interesse. Dentre essas técnicas, a produção *in vitro* (PIV) de embriões bovinos tem mostrado avanços consideráveis e, está sendo gradualmente integrada aos programas de melhoramento animal, como uma complementação à inseminação artificial e à transferência de embriões. Apesar dos avanços obtidos, vários aspectos ainda precisam ser esclarecidos, visto que as taxas de prenhez obtidas com embriões PIV ainda são inferiores às obtidas com os produzidos *in vitro*, reduzindo a eficiência da técnica. Portanto, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito do estágio embrionário e da velocidade de desenvolvimento na taxa de gestação de embriões PIV. O experimento foi realizado na Agropecuária Nova Vida, Ariquemes, RO no período de outubro a dezembro de 2002. Ovócitos foram obtidos por punção folicular transvaginal, foram maturados, fecundados e cultivados *in vitro*, de acordo com o protocolo do Laboratório de Reprodução Animal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Um total de 1006 embriões foram avaliados em D6, D7 e D8, para determinação do estágio embrionário, e para cada um dos dias de avaliação embriões no estágio de blastocisto (BL) e blastocisto expandido (BX) foram transferidos para receptoras com sincronia de ± 24 horas. A gestação foi determinada pela avaliação ultra-sonográfica entre 45 e 60 dias pós-transferência. Os dados foram analisados pelo teste do χ^2 . Embriões transferidos em D6 tiveram taxa de gestação similar ($P > 0,05$) aos embriões de D7 (54,8% e 48,7%), sendo que ambos apresentaram taxas superiores ($P < 0,05$) aos de D8 (28,4%). Resultados semelhantes foram observados quando os dados foram analisados levando em conta a velocidade de desenvolvimento e o estágio do embrião. Os embriões BL (184) e BX (102) em D6 e os BL (159) e BX (387) em D7, apresentaram taxas de gestação similares ($P > 0,05$), de 54,3% e 55,5%, e 46,5% e 48,8%, respectivamente. Entretanto, a taxa de gestação para embriões de D8 no estágio de BL (40) foi de 20% e para e BE (134) foi de 29,1%, taxa essas inferiores ($P < 0,05$) aos demais grupos. Esses resultados sugerem que embriões BL/BE, produzidos *in vitro* e transferidos em D8 pós-fecundação, apresentam menores taxas de prenhez do que os transferidos em D6 ou D7.

¹ Méd. Vet., mestranda, FAV, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Bioquímica, Agropecuária Nova Vida, Ariquemes – RO.

³ Méd. Vet., Agropecuária Nova Vida, Ariquemes – RO.

⁴ Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

117 - LENDA DA EMBRAPA – BEZERRA CLONADA A PARTIR DE CÉLULAS DO CUMULUS DE VACA ADULTA MORTA. DADOS DA CONCEPÇÃO AO PERI-NATAL (Lenda da Embrapa – Calf Cloned from Cumulus Cells of a Dead Adult Cow. Data from Conception to Perinatal Period)

Iguma, L.T.¹, Pereira, D.C.², Sousa, R.V.³, Pivato, I.⁴, Melo, L.F.², Dresch, R.⁵, Campos, H.C.F.², Borges, J.R.J.⁶, Paludo, G.R.⁷, Grattapaglia, D.⁸, Ferreira, M.E.⁸, Dode, M.A.N.⁸, Rumpf, R.

A possibilidade de se gerar uma cópia genética de qualquer indivíduo, partindo-se apenas de uma célula somática deste, era uma hipótese remota até o nascimento da ovelha Dolly, em 1996. Este anúncio significou um marco para a ciência, quicá para a humanidade, destacando a técnica de transferência nuclear (TN) e suas importantes aplicações. Este trabalho objetivou relatar dados da concepção ao período peri-natal da bezerra clone Lenda da Embrapa. No dia 05/11/02, após um acidente, veio a óbito a vaca Holandesa T. Melo Lenda, aos 7,2 anos de idade. Por tratar-se de uma vaca de elevado mérito genético, logo após sua morte coletou-se seus ovários e um pedaço de pele. Os folículos ovarianos foram dissecados e os complexos cumulus-ovócitos (CCO's) isolados na tentativa da produção *in vitro* de embriões (PIV). No entanto, apesar da recuperação de 52 CCO's, nenhum embrião foi produzido. A viabilidade dos ovócitos pode ter sido prejudicada pela coleta dos ovários na fazenda, tempo e temperatura do transporte. Tentou-se isolar os fibroblastos da pele coletada para uso na TN. Contudo, a amostra foi contaminada na retirada. A última alternativa foi recuperar as células do cumulus, que circundam o ovócito, já que algumas destas mostraram-se viáveis durante o co-cultivo na PIV. Na manipulação TN de 20/11/02 foram reconstruídos 24 embriões a partir destas células, resultando em 8 blastocistos, transferidos para 5 receptoras sincronizadas. Destas, uma apresentou-se prenhe à ultrassonografia 30 dias pós-inovulação. Em 04/09/03 às 17:15h, após 287 dias de gestação monitorada, nasceu a bezerra Lenda da Embrapa, pesando 45 Kg. O parto normal foi assistido, a receptora expressou toda habilidade materna e a bezerra mamou o colostro 1h depois de nascida. A placenta, de aspecto normal e pesando 4,5 Kg foi completamente expulsa 5h após o parto. Desde o nascimento, a bezerra vem sendo monitorada nos parâmetros comportamentais, clínicos e de desenvolvimento. O teste de paternidade confirmou que a bezerra clone é geneticamente idêntica às células da T. Melo Lenda e diferente da mãe de aluguel. Como todas as etapas ocorreram dentro dos padrões normais, até o momento não foi necessário nenhum tipo de tratamento especial, portanto, mãe de aluguel e filha estão soltas no pasto. Aos 84 dias de vida, Lenda da Embrapa pesava 140 Kg.

¹ Méd. Vet., doutoranda, UnB, CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Méd. Vet., mestrando, UnB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Biólogo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Méd. Vet., Ph.D., CIDASC.

⁵ Méd. Vet., Téc. Visitante, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁶ Méd. Vet., Ph.D., UnB.

⁷ Méd. Vet., doutoranda, UnB.

⁸ Méd. Vet., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

ÍNDICE DOS AUTORES

(A numeração corresponde ao resumo)

Abud, S	029
Alarcão, G.	064, 067
Albuquerque, M.S.M	037, 044
Alencar, C	055, 057, 058, 061
Almeida, S.D.S	014
Almeida, T.N.S	041
Alves, R.B.N	106
Amaral, Z.P.S	048
Amorim, J.C	031, 048
Andrade, A.C.	004
Andrade, M.A	010
Andrade, V.N	005
Aragão, F.J.L.	011, 027, 029
Araújo, A. C. G.	001, 038
Araújo, M.M.M.	063
Ávila, D	068
Azevedo, V.C.R.	041, 050
Barbosa, M.F.F.	009, 018, 020
Barboza, S.B.S.C.	003
Barreto, E.G.S.	066, 071, 072
Barros, E.V.S.A.	009, 018, 020
Barros, P.C.	082, 083
Barros, T.O.	100, 104
Batista, A.C.....	065, 069, 078, 083, 087
Batista, A. R. S.	051
Batista, J.A.N.	015, 030
Batista, M. de F.	100, 108
Becker, V.O.	068
Berry, C.	083
Bertioli, D.J.	018, 019, 022, 053
Bisol, T.B.	023
Borges, J.R.J.	117
Borges Neto, C.R.	005, 023, 024
Borges, M.	064, 067, 070, 073, 077, 089, 092, 093
Botelho, A.C.	064, 067
Braúna, L.M.	091
Bueno, N.W.	045, 047
Bueno, Y.M.	058
Buso, G.S.C.	031, 034, 048

Buso, J. A.	031, 048
Cabral G.B.	002, 007, 016, 020, 025
Camargo, N.F.	055, 057, 058, 061
Campos, H.C.F.	115, 117
Cardoso, L.D.	059, 060, 062
Cardoso, T. O.	036
Cares, J.E.	030, 109
Carneiro, M.	012
Carneiro, R.M.D.G.	028, 075, 076
Carneiro, V. T. C.	001, 002, 007, 008, 016
Castro, A.S.	023, 024
Castro, F.C.	013
Castro, M.E.B.	010, 017, 021, 049
Castro, S.T.R.	037, 044
Catalão, G.L.	074, 086
Catelan, R.C.	033
Cavalcante, C.	092
Cerqueira, A. A.	031, 048
Ciampi, A.Y.	032, 033, 041, 050
Cipriano, T.M.	027
Çolk, A.	070, 077
Cordeiro, D.M.	070
Corrêa, G.A.	112
Costa, M.F.	025
Costa, M.R.	044
Coutinho, M.V.	025
Cruz, A.R.R.	020
Cunha, A.F.	046, 054
Cunha, N.B.	027
da Silva, F.R.	017
Da Silva, M.C.M.	013
Dalmolin, C.C.	017, 049
Damacena, I. de S.	096, 102, 103
de Lucca, P.C.	027
Del Sarto, R.P.	015
Demo, C.	065, 078, 087
Dergam, J.A.	037
Dias, D.G.S.	065, 066, 071, 072, 081, 082, 090
Dias, J.G.O.	053
Dias, J.M.C.S.	081, 082
Dias, T.A.B.	055, 057, 058, 061
Dode, M.A.N.	112, 114, 115, 116, 117
Dresch, R.	117
Dusi, A.N.	048

Dusi, D. A.	007
Egito, A.A.	037, 044
Encinas, V.B.	097
Evangelista, I.B.R.	014
Falcão, J.	091
Falcão, R.	002, 038, 069
Faria, D.A.	037
Faria, M.	079
Fávero, A.P.	036, 039
Felix, A.A.A.	100, 101
Ferreira, M.E.	035, 117
Ferreira, S.N.	058
Figueira, E.L.Z.	030
Figueiredo, G.S. F.	024, 059, 060, 062
Fonseca, F.C.A.	039
Fonseca, J.N.L.	099, 100
Fontes, E.M.G.	068, 079, 085
Fragoso, R.R.	018
Franco, M.M.	115
Franco, O.L.	084
Frazão, H.	074, 086
Frizzas, M.R.	068
Gander, E.S.	006
Gomes, A.C.	069
Gomes, A.C.M.M.G.	002
Gomes, V.F.	107
Grattapaglia, D.	045, 046, 047, 051, 054, 117
Grossi-de-Sá, M.F.	009, 013, 014, 015, 018, 025, 030
Guimarães, P.M.	019, 022, 053
Iguma, L.T.	115, 117
Jardim, D.P.	092
José, A.C.V.F.	022
José Jr., G.	034, 098
Jungmann, L.	027
Krahô, T.	057, 061
Labuto, L.B.D.	005
Lacerda, A. L.	007, 016
Lacerda, H.M.	014
Lago, W.N.M.	042
Laumann, R.A.	064, 067, 070, 073, 077, 084, 089, 092, 093
Leal-Bertioli, S.C.M.	019, 022, 053
Leite, A.	027
Lemos, A.P.	107
Lima, I.L.P.	006

Lima, J.G.A.	052
Lima, J.N.	025
Lima, L.H.C.	042, 096, 103
Lisauskas, S.	011
Lisboa, E.D.	026
Lopes, C. A.	034, 098, 111
Lopes, D. L. M.	096, 102, 103, 110
Lopes, F.F.R.	048
Lopes, J.M.P.	005
Lourenço, R. T.	046, 051, 054
Lucas, L.A.	113
Machado, A.C.C.	043, 055, 057, 058, 061
Machado, A.P.S.	057, 058
Machado, F.R.B.	009, 018, 020
Mamani, E.M.	054
Marcellino, L.H.	006
Mariante, A.S.	037, 044
Marinho, V.L.A.	108
Marques, A.S.A.	034, 098
Marques, J.R.F.	044
Marra, B.M.	015, 030
Martino, L.A.	036
Martins, C.F.	114
Martins, E.S.	069, 081, 082
Martins, I.	084
Martins, O.M.	100, 111
McManus, C.	037, 113
Medeiros, P.T.	066, 071, 072
Mello, S.C.M.	074, 086, 091
Melo, D.F.	074, 086
Melo, E.O.	115
Melo, L.A.	034, 098
Melo, L.A.M.P.	095, 104
Melo, L.F.	117
Mendes, A.P.	098
Mendes, M.A.S.	094, 095, 099, 100, 101, 104, 106
Mendes, P.D.	094
Mendes, R.A.	056, 059, 060, 062
Menezes, L.A.	019
Mesquita, L.F.G.	075, 076
Missiaggia, A.A.	045, 047, 054
Monnerat, R.G.	065, 066, 069, 071, 072, 078, 081, 082, 083, 087, 088, 090
Monteiro, A.C.S.	015
Moraes, M.C.B.	064, 067, 070, 073, 077, 089, 092, 093

Moreira, L.	058
Moreira, R.O.	080
Nakasu, E.Y. T.	032, 033
Nascimento, H.I.	109
Nass, L.L.	034
Neves, D.I.	075, 076
Nóbrega, J. M.	001
Nogueira, S.B.	111
Nunes, A.C.G. da S.	059, 060, 062
Oliveira, A.S.	094, 099, 106
Oliveira, M.A.F.	116
Oliveira, M.R.V.	042, 095, 096, 100, 102, 103, 105, 110
Oliveira, N.N.	105
Oliveira-Neto, O.B.	014, 015
Orioli, F.P.	074
Osório, R.	025
Paes, N.S.	014, 015, 025
Paiva, M.R.	031, 048
Paiva, S.R.	037, 044
Paiva, W.O.	031
Paixão, A.L.D.	009, 020
Paludo, G.R.	117
Pappas, G.J.	046, 054
Passos, R.S.F.	077
Paula, S.V.	105, 110
Paulo, J.A.O.	095, 101, 106
Peñaloza, A.P.S.	052
Pereira, D.C.	112, 114, 116, 117
Pereira, F.F.O.	080, 085
Pereira, G. A. G.	046, 051, 054
Pessoa-Filho, M.A.C.P.	035
Pinheiro, E.	080
Pinheiro, E.M.L.	068
Pinheiro, P.V.	092
Pinho, D.S.	074
Pires, C.S.S.	064, 067, 073, 079, 080, 085, 089
Pires, M.V.V.	007, 016
Pivato, I.	117
Plácido, J.C.P.P.	002
Portilho, T.	079, 080, 085
Póvoa, A.M.	027
Praça, L.B.	065, 069, 078, 082, 087, 088
Proite, K.	019, 053
Queiroz, P.R.	042, 096, 103

Queiroz, R.M. V.	065, 078, 087
Ramos, N.	073, 089
Ramos, V.R.	036, 063
Randig, O.	028
Rech, E.L.	011, 027, 029, 115
Reis, A.C.de M.	024
Reis, M.B.A.	029
Rezende, G. D.	047
Ribeiro, B.M.	010, 021
Ribeiro, P. H.	073, 089
Ribeiro, P. H.	089
Ribeiro, V.S.	036, 063
Ribeiro, Z. M. A.	049
Rissoli, V.R.V.	109
Roberg, R.P.	078
Rodrigues, G.C.	004
Rodrigues, J.C.M.	016
Rodrigues Jr., A.J.G.	099, 107
Rodrigues Jr., C.E.	056
Rodrigues. L.S.	040
Romano, E.	026
Rumpf, R.	011, 112, 113, 114, 115, 116, 117
Sampaio, I.	041
Santos, A.C.B.	049
Santos, J.P.	098
Santos, M.F.	101
Santos, R.C.	083
Santos, R.F.	039
Santos, S.	043, 052
Sarmento, R.B.C.	084
Scariot, A.	033
Schmidt , F.G.V.	073, 079, 085, 089
Silva, A.C.M.	044
Silva, C.R.M.	065, 078, 087
Silva, F.B.	015, 030
Silva, F. R. da.	004
Silva, J.B.T.	074, 086, 091
Silva, R.A. da	103
Silva, R.D.C.	108
Silva, S.F.	078, 081, 082
Silva, V.P.	050
Silveira, E. D.	008
Silveira, F.A.	080
Silvério, V.C.	037

Simões, K.C.C.	038
Soares, C.M.S.	071, 078, 081, 082, 090
Soares, E. F.	021
Soares, F.Q.	009, 020
Sone, E. H.	088
Sousa, A.I.M.	107
Sousa, L.M.P.	093
Sousa, R.V.	115, 117
Sousa, Z.A.R.	005
Souza, H.J.M.	028
Souza, L.A.C.	003
Souza, N.R.	072
Souza, P.I.M.	029
Souza, Z.P.	031
Sujii, E.R.	064, 067, 073, 079, 085, 089
Teixeira, J.B.	003
Tenente, G.C.M.V.	097
Tenente, R.C.V.	097, 107, 109
Thees, M.F.R.S.	012
Tinoco, M.L.P.	029
Truol, G.	042
Urban, A.F.	094, 104
Valadares-Inglis, M.C.	084
Valls, J.F.M.	039, 040, 043, 052
Vianna, G.R.	009, 027, 029
Vieira, D.L.M.	033
Vieira, J.V.	031
Vieira, R.F.	106
Vinecky, F.	004
Vinson, C.C.	041, 050
Waga, I. C.	088
Wetzel, M.M.V.S.	063
Zucoloto, J.	116

ÍNDICE DOS ORIENTADORES

(A numeração corresponde ao resumo)

Abi Soares dos Anjos Marques	098
Alan Carvalho Andrade	004
Alessandra Pereira Fávero	036
Ana Cláudia Guerra de Araújo	001, 038
Ana Yamagushi Ciampi	032, 033, 041, 050
Arailde Fontes Urben	094
Carlos Rodrigues Borges Neto	005, 023, 024
Carmen Sílvia Soares Pires	080
Dario Grattapaglia	045, 046, 047, 051, 054
Edison Ryoiti Sujii	073, 079, 085
Eduardo Romano	026
Eliana Maria Gouveia Fontes	068
Elíbio Leopoldo Rech	027
Érika Valéria Saliba Albuquerque de Barros	009, 018, 020
Francisco José Lima Aragão	011, 029
Gláucia Barbosa Cabral	007, 016
Gláucia Salles Cortopassi Buso	031, 048
João Batista Tavares da Silva	074
João Batista Teixeira	003
José Francisco Montenegro Valls	039, 040, 043, 052
Luciano Lourenço Nass	034
Lucília Helena Marcellino	006
Luzia Helena Correa Lima	042
Márcio Elias Ferreira	035
Maria Cléria Cordeiro Valadares-Inglis	084
Maria Cristina Mattar da Silva	013
Maria do Socorro Maués de Albuquerque	044
Maria Elita Batista de Castro	010, 017, 021, 049
Maria Fátima Grossi de Sá	015, 030
Maria Magaly Veloso da Silva Wetzel	063
Maria Regina Vilarinho de Oliveira	096, 102, 103, 105, 110
Marise Ventura Coutinho	025
Marta Aguiar Sabo Mendes	095, 099, 100, 101, 104, 106
Mauro Carneiro	012
Miguel Borges	064, 067, 070, 077, 092, 093
Norma Santo Paes	014
Olinda Maria Martins	111
Patrícia Messemberg Guimarães	019, 022, 053
Raul Laumann	084, 089
Regina Maria D. G. Carneiro	028, 075, 076

Renata Cesar Vilardi Tenente	097, 107, 109
Rodolfo Rumpf	112, 113, 114, 115, 116, 117
Rose Monnerat	065, 066, 069, 071, 072, 078, 081, 082, 083, 087, 088, 090
Rui Américo Mendes	056, 059, 060, 062
Samuel Rezende Paiva	037
Sueli Corrêa Marques de Mello	086, 091
Terezinha Aparecida Borges Dias	055, 057, 058, 061
Vera Lúcia de Almeida Marinho	108
Vera Tavares Campos Carneiro	002, 008