

# XI TALENTO ESTUDANTIL

RESUMOS DOS TRABALHOS



ANAIS  
2006

**Embrapa**







**XI ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL  
DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E  
BIOTECNOLOGIA  
2006**

**Anais**

***Resumos dos Trabalhos***

**Brasília, DF  
Embrapa Recursos Genéticos e  
Biotecnologia  
2006**

## **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Serviço de Atendimento ao Cidadão

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

CEP 70.770-900 - Caixa Postal 02372

PABX: (61) 3448-4600

Fax: (61) 3340-3624

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

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

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

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias

Secretária Executiva: Maria da Graça S. Pires Negrão

Membros: Luciano Lourenço Nass

Maurício Machaim Franco

Regina Maria Dechechi G. Carneiro

Sueli Corrêa 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: Raul César Pedroso da Silva

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

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

Editoração Eletrônica: Fabrício Lopes dos Reis Rodrigues

### **1ª edição**

1ª impressão (2006): tiragem 400 exemplares

### **Todos os direitos reservados.**

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

- 
- E 53 Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Encontro do Talento Estudantil (11. : 2006 : Brasília, DF)  
Anais: resumos dos trabalhos : XI Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.  
266 p.
- ISBN 978-85-87697-38-7  
Corpo editorial: Zilda Maria de Araújo Ribeiro e José Eustáquio Menezes
1. Recursos genéticos. 2. Biotecnologia. 3. Controle biológico. I. Título. II. Título: XI Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CDD 575.1

---

**XI ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS  
GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA - 2006**

**COMISSÃO ORGANIZADORA**

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

**COMISSÃO DE SELEÇÃO DOS TRABALHOS**

**COORDENADOR: Zilda Maria de Araújo Ribeiro  
Diva Maria de Alencar Dusi  
Gláucia Salles Cortopassi Buso  
Maria de Fátima Batista  
Maurício Machaim Franco  
Taciana Cavalcanti**

**COMISSÃO JULGADORA**

**Eliane Gonçalves Gomes - SGE/Embrapa  
Hildebrando de Miranda Flor - FTB  
José Flávio Lopes - CNPH  
Márcio Ramos de Oliveira - CNPq  
Maria Marta Rodrigues - UniCEUB  
Marília Santos Silva - CPAC  
Paulo Ramon Mocelin - Superintendência Federal  
da Agricultura  
Rosaura Gazzola - SGE/Embrapa  
Ruy Rezende Fontes - Assessor da Diretoria da  
Embrapa  
Silene de Paulino Lozzi - UnB  
Veslei da Rosa Caetano - SPD/Embrapa**

**CORPO EDITORIAL: Zilda Maria de Araújo Ribeiro  
José Eustáquio Menêzes**





## APRESENTAÇÃO

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia iniciou, em 1996, a realização do evento “Encontro do Talento Estudantil”, destinado ao congraçamento e valorização da atividade estudantil, através da exposição dos resultados de pesquisa realizados por estagiários, bolsistas e estudantes de graduação e pós-graduação, sob a orientação dos pesquisadores e técnicos deste Centro. No primeiro Encontro, foram apresentados 29 trabalhos, e, desde esse Primeiro Encontro, o interesse na participação tem sido crescente, principalmente entre os estudantes de iniciação científica, tendo sido apresentados já em 1999 mais de 100 trabalhos.

Os Anais dos dez primeiros Encontros foram organizados em uma coletânea, que foi editada e publicada em CD, que se encontra disponível para consulta e impressão em [www.cenargen.embrapa.br/publica/trabalhos/coletanea10anostalentoestudantil.pdf](http://www.cenargen.embrapa.br/publica/trabalhos/coletanea10anostalentoestudantil.pdf). e foi oficialmente lançado durante o XI Encontro do Talento Estudantil, realizado de 6 a 8 de dezembro de 2006.

Contando com o apoio e estímulo dos pesquisadores orientadores no ano de 2006 ocorreu o maior incremento relativo do número de inscrições tendo sido apresentados 185 trabalhos, dos quais 113 (61%) foram elaborados por estudantes de iniciação científica e 72 (39%) por estudantes graduados, sendo 9 (4,9%) de graduados, 38 (20,6%) de mestrandos e 25 (13,5%) de doutorandos.

Os Encontros do Talento Estudantil 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 formado por pesquisadores da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Já a apresentação do conteúdo pelo estudante, durante o Encontro propriamente dito, é avaliada por uma comissão julgadora, formada por pesquisadores de outras unidades da Embrapa e instituições de pesquisa, bem como de professores de universidades e faculdades do Distrito Federal. Os estudantes que demonstram melhor desempenho recebem uma premiação a título de incentivo.

É através da participação nesses eventos que o estudante pode complementar as suas atividades científicas, que tiveram início com a integração ao grupo de trabalho e orientação do seu desenvolvimento teórico-prático em pesquisa. Por outro lado, a presença de estudantes vinculados aos grupos de pesquisa possibilita o aumento da capacidade de produção científica do Centro.

É importante mencionar que a partir da 10ª edição, uma inovação foi a presença na comissão julgadora de profissionais que já tinham participado, enquanto estudantes, como apresentadores de trabalhos no Talento Estudantil, o que demonstra que os eventos cumprem bem o seu papel de auxiliar e estimular a formação de recursos humanos.

Parabenizamos e agradecemos 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 e instalações para exposição dos pôsteres, bem como à Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF), ao Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, às Faculdades Integradas da Terra de Brasília – FTB e à União Pioneira de Integração Social - Faculdades Integradas – UPIS, pelo patrocínio e apoio, que possibilitaram a realização deste Encontro.

Enfatizamos a grande contribuição que todos estão prestando ao desenvolvimento científico e tecnológico e à formação de profissionais nas importantes áreas de Recursos Genéticos, Biotecnologia, Controle Biológico e Segurança Biológica, bem como assinalamos a expectativa de que a Embrapa venha a realizar eventos como esse em todas as suas Unidades e a nível regional ou mesmo nacional, motivando ainda mais a participação e integração da comunidade técnico-científica com a acadêmica.

JOSÉ MANUEL CABRAL DE S. DIAS  
Chefe Geral da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## SUMÁRIO

<b>BIOTECNOLOGIA</b> .....	<b>39</b>
<b>Biologia Celular</b> .....	<b>41</b>
<b>001 - ANÁLISE DOS CROMOSSOMOS DE ACESSOS DE <i>Brachiaria brizantha</i> (POACEAE) APÓS TRATAMENTO COM FLUORÓFOROS E FISH (Chromosomes analysis of <i>Brachiaria brizantha</i> (Poaceae) accessions after fluophores and FISH treatment)</b>	
Almeida, L.M., Nielen, S., Carneiro, V.T.C., Araújo, A.C.G. ....	43
<b>002 - CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS HISTOLÓGICOS DA INFECÇÃO DE <i>Meloidogyne incognita</i> EM GENÓTIPOS SUSCETÍVEIS E RESISTENTES DE <i>Coffea arabica</i> (Characterization of histological effects of <i>Meloidogyne incognita</i> infection in resistant and susceptible <i>Coffea arabica</i> genotypes)</b>	
Barros, E.V.S.A., Costa, P.M., Gomes, A.C.M.M., Falcão, R., Ribeiro, V.S., Eira, M.T.S., Pereira, A.A., Nicole, M., Fernandez, D., Grossi-de-Sá, M.F., Carneiro, R.M.D.G. ....	44
<b>003 - CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA RESISTÊNCIA DE <i>Pfaffia glomerata</i> A <i>Meloidogyne incognita</i> (Histological characterization of <i>Pfaffia glomerata</i> resistance to <i>Meloidogyne incognita</i>)</b>	
Gomes, A.C.M.M., Carneiro, R.M.D.G., Capdeville, G., Mattos, J.K.A. ....	45
<b>004 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DURANTE O DESENVOLVIMENTO DOS ÓVULOS DE <i>Leandra australis</i> (CHAM.) [Morphological characterization of <i>Leandra australis</i> (Cham.) ovules]</b>	
Melo, T., Falcão, R., Goldemberg, R., Dusi, D.M.A. ....	46
<b>005 - DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA ESTUDOS MORFOLÓGICOS DE FUNGOS CULTIVADOS EM MEIO LÍQUIDO POR MEIO DE MICROSCOPIA DE VARREDURA (Development of a methodology for morphology studies of fungi cultivated in liquid culture media using scanning electron microscopy)</b>	
Fernandes, L.S., Estrela, A.B., Cesca, M.S., Menêzes, J.E., Inglis, P.W., Capdeville, G. ....	47
<b>006 - DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE REGENERAÇÃO IN VITRO DE EUCALIPTO (<i>Eucalyptus grandis</i>) (Development of an <i>in vitro</i> regeneration system of <i>Eucalyptus grandis</i>)</b>	
Araújo, G.F.P., Abreu, E.F.M., Aragão, F.J.L. ....	48

**007 - EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE PLANTAS DE *Gossypium hirsutum* E TRANSFORMAÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS VIA *Agrobacterium* (Somatic embryogenesis of plants *Gossypium hirsutum* and transformation of calos embryogenics by *Agrobacterium*)**

Bodens, F.W.P., Muchagata, I.S., Evangelista, I.B.R., Paes, N.S., Teixeira, J.B., Grossi-de-Sá, M.F. ....49

**008 - ESTUDOS ESTRUTURAIS DE SEGMENTOS BASAIS, CALOS EMBRIOGÊNICOS E SUSPENSÃO CELULAR VISANDO A TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE *Brachiaria brizantha* (A. RICH.) STAPF (POACEAE) (Structural studies of basal segments, embryogenic calli and cell culture aiming *Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf (Poaceae) genetic transformation)**

Lacerda, A.L.M., Carneiro, V.T.C., Dusi, D.M.A., Gomes, A.C.M.M., Falcão, R., Cabral, G.B. ....50

**009 - IMAGENS POR ESPECTROMETRIA DE MASSA COMO UMA NOVA FERRAMENTA PARA O ESTUDO INTEGRADO DE GENÔMICA E PROTEÔMICA DO CAFÉ (Imaging-mass spectrometry as an innovative tool for integrated genomic and proteomic studies in coffee)**

Barbosa, E.A., Silva, L.P., Vinecky, F., Andrade, A.C., Bloch Jr., C. ....51

**010 - PADRÃO DE EXPRESSÃO ESPACIAL DE SEQÜÊNCIAS DE cDNA EM OVÁRIOS DE *Brachiaria brizantha* SEXUAL E APOMÍTICA (Spatial expression pattern of cDNA sequences in ovaries of sexual and apomictic *Brachiaria brizantha*)**

Alves, E.R., Carneiro, V.T.C., Gomes, A.C.M.M., Dusi, D.M.A. ....52

**Biologia Molecular .....53**

**011 -  $\alpha$ -AMILASE DE *Acanthoscelides obtectus*: CLONAGEM E EXPRESSÃO HETERÓLOGA EM *Pichia pastoris* (*Acanthoscelides obtectus*  $\alpha$ -amylase: cloning and heterologous expression in *Pichia pastoris*)**

Átila-Santos, D., Mulinari, F., Chrispeels, M.J., Grossi-de-Sá, M.F. ....55

**012 - ALTA RESISTÊNCIA AO *Bean golden mosaic virus* MEDIADA POR RNA INTERFERENTE EM PLANTAS TRANSGÊNICAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*) [RNAi-mediated high resistance to *Bean golden mosaic virus* in transgenic common bean (*Phaseolus vulgaris*)]**

Bonfim, K., Faria, J.C., Mendes, E., Lima, N.I., Aragão, F.J.L. ....56

**013 - ANÁLISE COMPARATIVA DE GENES ASSOCIADOS A APOMIXIA E SEXUALIDADE EM *Brachiaria brizantha* E *Paspalum notatum* (Comparative analysis of genes associated with apomixis and sexuality in *Brachiaria brizantha* and *Paspalum notatum*)**

Silveira, E.D., Lacerda, A.L.M., Alves, E.R., Laspina, N.V., Pessino, S., Carneiro, V.T.C. ....57

**014 - ANÁLISE DE EST´S DE BIBLIOTECAS DE OVÁRIO DE *Brachiaria brizantha* APOMÍTICA E SEXUAL EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO (Analysis of est´s from libraries of apomictic and sexual *Brachiaria brizantha*'s ovaries in different developmental stages)**

Silveira, E.D., Guimarães, L.A., Martins, N.F., Silva, F.R., Carneiro, V.T.C. ....58

**015 - ANÁLISE FUNCIONAL DE GENES ENVOLVIDOS COM FITOPARASITISMO DE *Meloidogyne incognita* POR SILENCIAMENTO E SUPEREXPRESSION EM PLANTAS TRANSGÊNICAS DE GENES ESPECÍFICOS DE GLÂNDULAS ESOFAGIANAS (Functional analysis of *Meloidogyne incognita* phytoparasitism genes using silencing and superexpression of genes expressed in esophageal gland cells)**

Souza, D.S.L., Grossi-de-Sá, M., Romano, E., Teixeira, F.M., Pires, N., Rocha, T.L., Barbosa, A.E.A.D., Grossi-de-Sá, M.F. ....59

**016 - ANÁLISE FUNCIONAL DE GENES ENVOLVIDOS COM FITOPARASITISMO EM *Meloidogyne incognita* POR SOAKING RNAi (Functional analysis of pathogenicity genes of *Meloidogyne incognita* using soaking RNAi)**

Grossi-de-Sá, M., Souza, D.S.L., Romano, E., Teixeira, F.M., Araújo, B., Rocha, T.L., Barbosa, A.E.A.D., Grossi-de-Sá, M.F. ....60

**017 - ANÁLISE *IN SILICO* DE GENES DE DEFESA DO CAFÉ EXPRESSOS EM RAMOS INFECTADOS POR *Xylella fastidiosa* (*In silico* analysis of defense genes expressed in coffee stems infected with *Xylella fastidiosa*)**

Rabello, F.R., Carazzolle, M.F., Martins, N.F., Campos, M.A., Silva, M.S., Silva, A.C., Mehta, A. ....61

**018 - CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA 11S DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS E ENDOSPERMA EM SEMENTES DE CAFÉ (*Coffea arabica*) (Characterization of 11S protein in zygotic embryos and endosperm of coffee seeds)**

Koshino, L.L.N., Andrade, A.E., Ribeiro, V.S., Mundim, A.D., Silva, L.P., Bloch Jr., C., Franco, O.L., Eira, M.T.S., Teixeira, J.B., Mehta, A. ....62

**019 - CARACTERIZAÇÃO DE BLIBLIOTECAS SUBSTRATIVAS DE cDNA DE GENÓTIPOS SUSCETÍVEL E RESISTENTE DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum*) INFECTADOS COM *Meloidogyne incognita* (cDNA subtractive libraries of susceptible and resistant genotypes of cotton (*Gossypium hirsutum*) infected with *Meloidogyne incognita*)**

Rocha, S.R., Paes, N.S., Sales, R.M.O.B.G., Silva, F.R., Gurgel, F.L., Carneiro, R.M.D., Grossi-de-Sá, M.F., Mehta, A. ....63

**020 - CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE FILOGENÉTICA DE RETROTRANSPÓSONS LTR EM TRÊS DIFERENTES ESPÉCIES DE *Arachis* (Characterization and phylogenetic analysis of LTR retrotransposons in three different *Arachis* species)**

Fonseca, F.C.A., Nielen, S., Leal-Bertioli, S.C.M., Guimarães, P.M., Bertioli, D.J. ....64

**021 - CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE NOVOS PROMOTORES ISOLADOS DE SOJA E ALGODÃO (Functional characterization of new promoters from soybean and cotton)**

Guimarães, L.M., Pontes, N., Viana, A.A.B., Batista, J.A.N., Grossi-de-Sá, M.F.....65

**022 - CARACTERIZAÇÃO PROTEÔMICA DA CEPA S811 DE *Bacillus thuringiensis* E SUA RELAÇÃO COM A TOXICIDADE PARA *Anthonomus grandis* E *Spodoptera frugiperda* EM DIFERENTES ESTÁGIOS DO CICLO DE VIDA (Proteomic characterization of *Bacillus thuringiensis* S811 strain and its relation to the toxicity towards *Anthonomus grandis* and *Spodoptera frugiperda* in different stages of the life cycle)**

Silva, T.S., Vasconcelos, E.A.R., Magalhães, J.C.C., Rocha, T.L., Grossi-de-Sá, M.F.....66

**023 - CLONAGEM E CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO DO GENE MIPS DE MARACUJAZEIRO (*Passiflora edulis* F. *flavicarpa*) (Cloning and characterization of MIPS gene expression from *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)**

Abreu, E.F.M., Fischmann, G.P.A., Aragão, F.J.L. ....67

**024 - CONSTRUÇÃO DE BACULOVIRUS RECOMBINANTE OCLUSO POSITIVO CONTENDO O INIBIDOR ALPHA-AMILASE BIII DE CENTEIO (Construction of a occluded positive recombinant baculovirus with the BIII alpha-amylase inhibitor from rye)**

Sisson, D., Sihler, W., Dias, S.C., Souza, M.L. ....68

**025 - CONSTRUÇÃO DE BACULOVIRUS RECOMBINANTES CONTENDO O GENE DA RENINA (Construction of recombinant baculovirus with the renin gene)**

Mendes, D.N., Neves, F.A.R., Simeoni, L.A., Sihler, W., Souza, M.L. ....69

**026 - CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECA DE cDNA E CLONAGEM DO GENE DA ENZIMA Δ6-DESATURASE DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS ÔMEGA-3 DA MICROALGA MARINHA *Thalassiosira fluviatilis* (Gene cloning of omega-3 polyunsaturated fatty acid Δ6-desaturase enzyme of marine microalgae *Thalassiosira fluviatilis*)**

Citadin, C.T., Almeida, E.R.P., Derner, R.B., Martins, N.F., Monte, D.C.....70

**027 - CONSTRUÇÃO DE MACROARRANJOS DE DNA, A PARTIR DO UNIGENE CAFÉ, PARA A IDENTIFICAÇÃO DE GENES DE INTERESSE AGRONÔMICO (Construction of coffee macroarrays based on the coffee unigene set for identification of candidate genes of agricultural importance)**

Vinecky, F., Brito, K.M., Vieira, N.G., Ferreira, D.L.A., Sales, R.M.O.B., Silva, F.R., Andrade, A.C.....71

**028 - CONSTRUÇÃO DE VETORES PARA TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE ALGODOEIRO VISANDO RESISTÊNCIA À INSETOS-PRAGA (Vectors construction for genetic transformation of cotton plants aiming resistance against insects)**

Lourenço, I.T., Fragoso, R.R., Rocha, T.L., Elpidio, W., Grossi-de-Sá, M.F..... 72

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

Costa, P.M., Barros, E.V.S.A., Carneiro, R.M.D.G., Martins, N.F., Paes, N.S., Mehta, A., Grossi-de-Sá, M.F.....73

**030 - DESCRIÇÃO DE SEQÜÊNCIAS HOMÓLOGAS AO GENE HOMEÓTICO AGAMOUS EM *Brachiaria brizantha* (Description of homologs sequences of the homeotic genes Agamous in *Brachiaria brizantha*)**

Guimarães, L.A., Silveira, E.D., Dusi, D.M.A, Carneiro, V.T.C. ....74

**031 - DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE DE POLIMORFISMO DE MICROSSATÉLITES TETRA E PENTANUCLEOTÍDEOS EM TRÊS ESPÉCIES DE *Eucalyptus* (Development and analysis of polymorphism of tetra and pentanucleotide based microsatellites in three *Eucalyptus* species)**

Sansaloni, C.P., Pappas Júnior, G.J., Grattapaglia, D.....75

**032 - ESTUDO INTEGRADO DE GENÔMICA E PROTEÔMICA ASSOCIADOS À QUALIDADE DO CAFÉ (Integrated genomic and proteomic studies associated to coffee quality)**

Silva, V.C., Melo, J.A.T., Barbosa, E.A., Silva, L.P., Bloch Jr., C., Andrade, A.C. ... 76

**033 - EXPRESSÃO DIFERENCIAL EM GENÓTIPOS CONTRASTANTES DE *Oryza sativa* PARA A TOLERÂNCIA A SECA (Differential expression of contrasting genotypes of *Oryza sativa* in relation to drought tolerance)**

Rabello, A.R., Rangel, P.H.N., Guimarães, C.M., Sales, R.M.O.B., Silva, F.R., Costa, M.M.C., Togawa, R.C., Ferreira, M.E., Mehta, A. ....77

**034 - EXPRESSÃO HETERÓLOGA DE UM INIBIDOR DE SERINO  
PROTEINASE (BTCI) DE *Vigna unguiculata* EM PLANTAS DE *Nicotiana  
tabacum* (Heterologous expression of serine proteinase (BTCI) from  
*Vigna unguiculata* into *Nicotiana tabacum* plants)**

Bittar, P.D., Mulinari, F., Viana, A.A.B., Freitas, S.M., Grossi-de-Sá, M.F. ....78

**035 - EXPRESSÃO HETERÓLOGA DO INIBIDOR DE PROTEINASE BTCI  
EM *Escherichia coli* (Heterologous expression of proteinase inhibitor  
BTCI in *Escherichia coli*)**

Arantes, I.C., Mulinari, F., Quezado, M., Grossi-de-Sá, M.F. ....79

**036 - EVOLUÇÃO MOLECULAR IN VITRO: PROSPECÇÃO DE NOVAS  
TOXINAS CRY COM ATIVIDADE MELHORADA PARA O BICUDO-DO-  
ALGODOEIRO, *Anthonomus grandis* (*In vitro* molecular evolution:  
generation of new cry toxins with improved activity towards the cotton  
boll weevil, *Anthonomus grandis*)**

Ramos, H.B., Oliveira, G.R., Brunetta, P.S.F., Barbosa, A.E.A.D., Silva,  
M.C.M., Grossi-de-Sá, M.F. ....80

**037 - FREQUÊNCIA DE SNPS E EXTENSÃO DO DESEQUILÍBRIO DE  
LIGAÇÃO AO LONGO DOS GENES CCR E CAD EM *Eucalyptus grandis*,  
*E. globulus* E *E. urophylla* (SNP frequency and extent of linkage  
disequilibrium along the genes CCR and CAD in *Eucalyptus grandis*,  
*E. globulus* and *E. urophylla*)**

Faria, D.A., Alves, T.P.M., Pereira, R.W., Grattapaglia, D. ....81

**038 - IDENTIFICAÇÃO DE ESTS TECIDO-ESPECÍFICAS NO BANCO DE  
DADOS DO GENOMA FUNCIONAL DE *Coffea* SPP (Identification of tissue-  
specific ESTs in the *Coffea* spp. functional genomic database)**

Santos, D.B.M., Silva, F.R., Almeida, J.D., Barros, L.M.G., Sobral, L.T.  
Carneiro, M. ....82

**039 - IDENTIFICAÇÃO DE GENES DAS FAMÍLIAS PROTÉICAS CBL e  
CIPK A PARTIR DE ANÁLISES *IN SILICO* DA BASE DE DADOS DO  
GENOMA CAFÉ (Identification of genes encoding calcineurin B-like  
(CBL) proteins and CBL-interacting protein kinases by *in silico* analysis  
of the coffee-EST database)**

Carmo, J.R., Sales, R.M.O.B., Silva, F.R., Andrade, A.C. ....83

**040 - IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES RGA EM UMA BIBLIOTECA  
DE ESTS PARA ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* REPRESENTATIVAS  
DOS GENOMAS AA E BB DE AMENDOIM (Identification of RGA markers  
in an EST library for representative wild *Arachis* species of the AA  
and BB genomes of cultivated peanut)**

Ferraz, M.L., Alves, D.M.T., Pereira, R.W., Guimarães, P.M., Bertoli, D.J.,  
Leal-Bertoli, S.C.M. ....84



**041 - IDENTIFICAÇÃO DE MECANISMOS DE RESISTÊNCIA À *Meloidogyne incognita* EM FEIJÃO E ALGODÃO ATRAVÉS DA GENÔMICA COMPARATIVA (Identification of resistance mechanisms to *Meloidogyne incognita* in beans and cotton by comparative genomics)**

Santana, C.G., Andrade, A.E., Guimarães, L.M., Paes, N.S., Fragoso, R.R., Sales, R.M.O.B., Silva, F.R., Oliveira, J.T.A., Gurgel, F.L., Carneiro, R.M.D., Grossi-de-Sá, M.F., Mehta, A. ....85

**042 - IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HOMÓLOGOS DE GENES DE RESISTÊNCIA A ESTRESSES BIÓTICOS E ABIÓTICOS EM *Musa acuminata* (Identification and characterization of homologs of biotic and abiotic stress resistance genes in *Musa acuminata*)**

Santos, C.R., Martins, N.F., Araújo, M.M., Togawa, R.C., Buzar, A.G.R., Farias, M.P., Souza Júnior, M.T. ....86

**043 - INIBIDORES DE  $\alpha$ -AMILASE E SUA APLICAÇÃO NO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ (Alpha-amylase inhibitors and its application to control coffee-berry borer)**

Barbosa, A.E.A.D., Barros, E.V.S.A., Gomes Júnior, J.E., Grossi-de-Sá, M.F. .... 87

**044 - INTEGRAÇÃO DE LOCOS EST'S-SSR E LOCALIZAÇÃO DE QTLs PARA QUALIDADE DA MADEIRA EM UM MAPA GENÉTICO DE *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla* (Integration of EST derived microsatellites and mapping of QTLs for wood quality on a genetic map of *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla*)**

Mamaní, E.M., Grattapaglia, D.....88

**045 - MAPEAMENTO DE MICROSSATÉLITES DERIVADOS DE EST EM CRUZAMENTOS INTRA E INTERESPECÍFICOS DE *Eucalyptus* (Mapping EST derived microsatellites in intra and interspecific crosses of *Eucalyptus*)**

Sena, J.S., Pádua, J.G., Pappas Júnior, G.J., Grattapaglia, D. ....89

**046 - PEPTÍDEO INSETICIDA RECOMBINANTE DERIVADO DE UREASE DE *Canavalia ensiformis*: JABURETOX-2EC (Jaburetox-2Ec: an insecticidal peptide derived from an isoform of *Canavalia ensiformis* urease)**

Mulinari, F., Stanisçuaski, F., Bertholdo-Vargas, L.R., Oliveira-Neto, O.B., Rigden, D.J., Carlini, C.R., Grossi-de-Sá, M.F. ....90

**047 - PROMOTOR DO GENE WAXY DE MILHETO (*Pennisetum glaucum*): CONSTRUÇÃO DE UM VETOR PARA ESTUDOS FUNCIONAIS EM PLANTAS [Pearl millet (*Pennisetum glaucum*) waxy promoter: the construction of a vector for functional studies in plants]**

Monise, J.N.P., Gander, E.S., Marcellino, L.H.....91

**048 - TRANSFORMAÇÃO DE PLANTAS DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum* VAR. BRS CEDRO) RESISTENTE A INSETOS-PRAGA (Cotton plant transformation (*Gossypium hirsutum* var. BRS Cedro) resistant to insect-pests)**

Oliveira, R.S., Oliveira-Neto, O.B., Evangelista, I.B.R., Costa, P.H.A., Paes, N. S., Muchagata, I.S., Gurgel, F.L., Dias, S.C., Rocha, T.L., Lima, L.M., Mattar, M.C.S., Grossi-de-Sá, M.F. ....92

**049 - USO POTENCIAL DO INIBIDOR DE  $\alpha$ -AMILASE DE TRIGO 0.53 NO CONTROLE DE BRUQUÍDEOS (Potential use of wheat  $\alpha$ -amylase inhibitor 0.53 to control of bruchids)**

Lima, J.N., Mulinari, F., Oliveira-Neto, O.B., Valença, A.J., Arboleda, J.W., Grossi-de-Sá, M.F. ....93

**Reprodução Animal .....95**

**050 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO ESTRESSE OXIDATIVO EM EMBRIÕES CLONES E PARTENOGENÉTICOS BOVINOS (Expression analysis of oxidative stress related genes in bovine cloned and parthenogenetic embryos)**

Moura, M.T., Mundim, T.C.D., Dode, M.A.N., Franco, M.M., Rumpf, R. ....97

**051 - ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA EM EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO A PARTIR DE OVÓCITOS COLETADOS DE VACAS SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE INGESTÃO ALIMENTAR (Gene expression analysis on *in vitro* produced embryos from oocytes obtained of cows submitted to different levels of feed intake)**

Martins, A.C., Mundim, T.C.D., Melo, E.O., Dode, M.A.N., Rumpf, R., Franco, M.M., Sartori, R. ....98

**052 - AUMENTO DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA USANDO LAVAGEM UTERINA DUPLA EM BOVINOS, CORROBORANDO DADOS DE UM ESTUDO ANTERIOR (Improvement in embryo recovery using double uterine flushing in cattle, corroborating data from a previous study)**

Mollo, M.R., Ramos, A.F., Pivato, I., Guimarães Neto, A.G., Franco, M.M., Rumpf, R., Sartori, R. ....99

**053 - CINÉTICA DA CROMATINA NUCLEAR DURANTE A MATURAÇÃO EM OVÓCITOS BOVINOS MANTIDOS EM MEIO DE TRANSPORTE - MIV-T (Nuclear chromatin kinetics during *in vitro* maturation of bovine oocytes maintained in transportation medium - MIV-T)**

Leme, L.O., Rumpf, R., Dode, M.A.N. ....100

**054 - COMPARAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS PARA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO BOVINO EM TEMPO FIXO (Comparison of two different protocols of synchronization of recipients for timed embryo transfer in cattle)**

Mollo, M.R., Ramos, A.F., Siqueira Filho, E., Pivato, I., Saueressig, M.G., Rumpf, R., Sartori, R. .... 101

**055 - EFEITO DAS GONADOTROFINAS DURANTE A MATURAÇÃO IN VITRO NA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS (Effect of gonadotropins during *in vitro* maturation on bovine embryo production)**

Leme, L.O., Driessen, K., Rumpf, R., Dode, M.A.N..... 102

**056 - EVIDÊNCIA SOBRE A ORIGEM DAS RAÇAS NATURALIZADAS BRASILEIRAS DE OVINOS OBTIDA POR UM SNP LOCALIZADO NO GENE GDF-9 (Evidence of the origin of Brazilian naturalized sheep breeds obtained by a new snp of GDF-9 gene)**

Castro, E.A., Paiva, S.R., Franco, M.M., Souza, C.J.H., Melo, E.O. .... 103

**057 - EXPRESSÃO DIFERENCIAL DOS GENES *IMPRINTED* IGF2R E GRB10 EM EMBRIÕES CLONES BOVINOS PRODUZIDOS POR TRANSFERÊNCIA NUCLEAR (Differential expression of the imprinted genes IGF2R and GRB10 in bovine cloned embryos produced by nuclear transfer)**

Moura, M.T., Mundim, T.C.D., Sousa, R.V., Franco, M.M., Rumpf, R. .... 104

**058 - IDENTIFICAÇÃO DO SEXO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VIVO UTILIZANDO A TÉCNICA DE PCR A CAMPO (Sex identification of *in vivo* produced bovine embryos using PCR under field conditions)**

Sousa, R.V., Cardoso, C.R.S., Butzke, G., Franco, M.M., Rumpf, R. .... 105

**059 - INFLUÊNCIA DA ALTA OU BAIXA INGESTÃO ALIMENTAR NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS (Influence of high or low feed intake on *in vitro* embryo production in cattle)**

Martins, A.C., Ramos, A.F., Mollo, M.R., Pivato, I., Câmara, J.U., Carrijo, L.H.D., Driessen, K., Rumpf, R., Sartori, R. .... 106

**060 - TRANSPORTE DE OVÓCITOS IMATUROS E SEU EFEITO NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS (Immature oocytes transportation and its effect on *in vitro* production of bovine embryos)**

Leme, L.O., Marinheiro, G.M., Sousa, R.V., Dode, M.A.N., Rumpf, R. .... 107

**061 - UTILIZAÇÃO DO TESTE COM ACRIDINA LARANJA E TUNEL PARA AVALIAR A INTEGRIDADE DOS ESPERMATOZÓIDES LIOFILIZADOS DE BOVINOS (The use of acridine orange test and TUNEL assay to assess DNA integrity of bovine freeze-dried spermatozoa)**

Martins, C.F., Dode, M.N., Bão, S.N., Rumpf, R. .... 108

**CONTROLE BIOLÓGICO .....109**

**062 - ANÁLISE DE PROTEÍNAS ESTRUTURAIS E DE DNA DE UM BACULOVÍRUS PATOGENICO A *Pseudaletia* SP. (Structural proteins and DNA analysis of a baculovirus pathogenic to *Pseudaletia* sp.)**

Azevedo, F.I., Sihler, W., Ribeiro, Z.M.A., Pegoraro, R.A., Souza, M.L., Castro, M.E.B. ....111

**063 - ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE UMA BACTÉRIA ENDOFÍTICA DO CACAUEIRO (Analysis of the antifungal potencial of an endophytic bacteria of cocoa)**

Gomes, R. R., Oliveira Jr., G. P., Costa, R.L., Capdeville, G., Gander, E. S., Marcellino, L. H. ....112

**064 - APLICAÇÃO EM CAMPO DO *E*-(2)-HEXENAL, UM CAIRÔMONIO PARA MANEJO DE PARASITÓIDES DE OVOS (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) [Field application of *E*-(2)-hexenal, a kairomone for egg parasitoids (Hymenoptera: Scelionidae) management]**

Vieira, P.H.M., Laumann, R.A., Moraes, M.C.B., Caetano, L.D., Vieira, A.R.A., Ferreira, B.S.C., Sujii, E.R., Pires, C.S.S., Borges, M. ....113

**065 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CELULÁSICA E QUITINÁSICA DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS A *Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1843 (Chitinases and cellulases from *Bacillus thuringiensis* active against *Anthonomus grandis* Boheman, 1843)**

Dumas, V. F., Goldenberg, C. S., Melo, F. R., Martins, E. S., Praça, L. B., Monnerat, R. G. ....114

**066 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE QUITINÁSICA E CELULÁSICA DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS A *Spodoptera frugiperda* E *Anticarsia gemmatalis* [Evaluation of the activity of strains of *Bacillus thuringiensis* toxics to *Spodoptera frugiperda* and *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera, Noctuidae)]**

Goldenberg, C.S., Dumas, V.F., Melo, F.R., Martins, E.S., Ramos, F.R., Praça, L.B., Monnerat, R.G. ....115

**067 - AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA PROTEÍNA RECOMBINANTE INSETICIDA Cry2Ab DE *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* CONTRA LARVAS DE *Spodoptera frugiperda* (Evaluation of toxicity by recombinant pesticide protein Cry2Ab of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* against *Spodoptera frugiperda*)**

Aguiar, R.W.S.A., Martins, E.S., Fernandez, R.S., Melatti, V.M., Falcão, R., Monnerat, R.G., Ribeiro, B.M. ....116

**068 - AVALIAÇÃO DE RESPOSTAS DE *Diabrotica speciosa* A VOLÁTEIS DE *Lagenaria vulgaris* UTILIZANDO TÉCNICA DE ELETROANTENOGRRAFIA (EAG) (Elektroantennographic responses of *Diabrotica speciosa* to volatiles released by *Lagenaria vulgaris*)**

Vieira, H.G., Borges, M., Laumann, R. A., Cavalcante, C., Moraes, M.C.B. .... 117

**069 - AVALIAÇÃO DE SUBSTRATOS SÓLIDOS PARA A OTIMIZAÇÃO DA ESPORULAÇÃO DE *Dicyma pulvinata* (Evaluation of solid substrates to optimize *Dicyma pulvinata* sporulation)**

Almeida, A.M., Alvarenga, D.O., Menezes, J.E., Mello, S.C.M., Silva, J.B.T..... 118

**070 - AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ALGODÃO Bt NA BIONOMIA DE *Aphis gossypii* GLOVER (HEMIPTERA: APHIDIDAE) [Evaluation of Bt cotton effect on the bionomy of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)]**

Togni, P.H.B., Nakasu, E.Y.T., Macedo, T.R., Santos, P.H.R., Beserra, V.A., Fontes, E.M.G., Pires, C.S.S., Sujii, E.R. .... 119

**071 - A VARIABILIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* Smith (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) DA AMÉRICA LATINA ESTÁ ASSOCIADA A VARIAÇÕES DE SUCEPTIBILIDADE A TOXINAS Cry DE *Bacillus thuringiensis* [Genetic variability in *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera:Noctuidae) populations in Latin America is associated to variations in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry toxins]**

Martins, E.S., Monnerat, R.G., Queiroz, P.R., Orduz, S., Benintende, G., Cozzi, J., Real, M.D., Martinez-ramirez, A., Rausell, C., Cerón, J., Ibarra, J.E., Rincon-Castro, M.C.D., Espinoza, A.M., Meza-Basso, L., Cabrera, L., Sánchez, J., Soberon, M., Bravo, A. .... 120

**072 - BIOLOGIA DE POPULAÇÕES DE *Chinavia ubica* E *Chinavia impicticornis* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) DO DISTRITO FEDERAL [Population biology of *Chinavia ubica* and *Chinavia impicticornis* (Hemiptera: Pentatomidae) from Distrito Federal]**

Aquino, M.F.S., Motta, L.S.M., Laumann, R.A., Moraes, M.C.B., Borges, M. .... 121

**073 - BIOPROSPECÇÃO DE EXTRATOS DE PLANTAS DO BIOMA CERRADO (FAMÍLIA MELIACEAE) ATIVOS SOBRE *Meloidogyne incognita* [Screening of plant extracts (*Meliaceae* family) from Brazilian Savanna-Cerrado active against *Meloidogyne incognita*]**

Murad, A.M., Grossi-de-Sá, M.F., Rocha, T.L. .... 122

**074 - CAPACIDADE DE PREDÇÃO E POTENCIAL DE JOANINHAS (COLEOPTERA: COCCINELIDAE) PARA O CONTROLE DO PULGÃO *Aphis gossypii* NO ALGODOEIRO (Predatory capacity and potencial of lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) for control *Aphis gossypii* in cotton plants)**

Beserra, V.A., Santos, P.H.R., Togni, P.H.B., Pires, C.S.S., Fontes, E.M.G., Sujii, E.R. .... 123

**075 - COMPORTAMENTO DE BUSCA E SELEÇÃO DE HOSPEDEIROS DOS PARASITÓIDES *Telenomus podisi* E *Trissolcus basal* (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) [Host location and selection behaviours of the parasitoids *Telenomus podisi* and *Trissolcus basal* (Hymenoptera: Scelionidae)]**

Vieira, A.R.A., Laumann, R., Moraes, M.C.B., Borges, M. .... 124

**076 - COMPORTAMENTO DE FORRAGEAMENTO DE ABELHAS EM FLORES DO ALGODOEIRO, *Gossypium hirsutum latifolium* (MALVACEAE) [Foraging behavior of bees on cotton flowers, *Gossypium hirsutum latifolium* (Malvaceae)]**

Cardoso, C. F., Oliveira, G.M., Cavéchia, L.A., Almeida, J.P.S., Sujii, E. R., Fontes, E.M.G., Silveira, F.A., Pires, C.S.S. .... 125

**077 - COMPORTAMENTO REPRODUTIVO E COMUNICAÇÃO VIBRACIONAL DE *Chinavia ubica* E *Chinavia impicticornis* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) [Reproductive behaviour and vibratory communication of *Chinavia ubica* and *Chinavia impicticornis* (Hemiptera: Pentatomidae)]**

Lopes, A.P.S., Laumann, R.A., Motta, L.S.M., Moraes, M.C.B., Borges, M. .... 126

**078 - CONTROLE BIOLÓGICO DE *Meloidogyne incognita* EM CAFEEIROS USANDO O ISOLADO P10 DE *Pasteuria penetrans* (Biological control of *Meloidogyne incognita* on coffee using isolate p10 of *Pasteuria penetrans*)**

Cirotto, P.A.S., Mesquita, L.F.G., Mota, F.C., Carneiro, R.M.D.G. .... 127

**079 - DESEMPENHO DE *Cycloneda sanguinea* (COLEOPTERA: COCCINELIDAE) QUANDO ALIMENTADA COM *Uroleucon ambrosiae* (HEMIPTERA: APHIDIDAE) [Development of *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera:Coccinellidae) when fed with *Uroleucon ambrosiae* (Hemiptera:Aphididae)]**

Macedo, T. R., Jeger, C., Sujii, E. R., Pires, C. S. S., Fontes, E. M. G. ..128

**080 - DETERMINAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* UTILIZANDO MARCADORES RAPD (Genetics variability of populations of *Aedes aegypti* by RAPD markers)**

Hiragi, C. O., Martins, E. S., Simões, K. C. C.; Queiroz, P. R., Lima, L. H. C., Monnerat, R. G. .... 129

**081- DETERMINAÇÃO DE PERFIS DE MARCADORES RAPD PARA UMA POPULAÇÃO DE *Anticarsia gemmatalis* HUBNER, 1818 (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) [Determination of profiles of RAPD markers for *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) population]**

Hiragi, C. O., Martins, E. S., Queiroz, P. R., Lima, L. H. C., Monnerat, R.G. .... 130

**082 - DINÂMICA POPULACIONAL DE *Bemisia tabaci* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) EM CULTIVO DE TOMATE ORGÂNICO E CONVENCIONAL [Population dynamics of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in organic and conventional tomato crop]**

Togni, P. H. B., Erdmann, M., Cavalcante, K. R., Nakasu, E. Y. T., Medeiros, M. A., Sujii, E. R. .... 131

**083 - EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SULFATO DE AMÔNIO NA ESPORULAÇÃO DE *Dicyma pulvinata* (Effect of different ammonium sulphate concentrations in *Dicyma pulvinata* sporulation)**

Almeida, A.M., Alvarenga, D.O., Mello, S.C.M., Silva, J.B.T., Marques, G.A. .... 132

**084 - EFEITOS CAUSADOS POR HERBIVORIA E/OU OVIPOSIÇÃO DO PERCEVEJO MARROM DA SOJA *Euschistus heros* NO PERFIL DE VOLÁTEIS DA SOJA BR-16 E A INFLUÊNCIA DESTES VOLÁTEIS NO COMPORTAMENTO DO PARASITÓIDE DE OVOS, *Telenomus podisi* (Effect of herbivory and oviposition damage caused by *Euschistus heros* on volatile profile of soybean-BR16 and the influence of these volatiles on behaviour of *Telenomus podisi*)**

Gonzalez, S. P., Laumann, R. A., Borges, M., Moraes, M.C.B. .... 133

**085 - EFEITOS DA TOXINA Cry1Ac SOBRE *Cycloneda sanguinea* (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) ALIMENTADA COM *Aphis gossypii* (HEMIPTERA: APHIDIDAE) [Effects of Cry1Ac toxin on *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae) fed with *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae)]**

Nakasu, E.Y.T., Togni, P.H.B., Macedo, T.R. Ayres, K.F., Silva, I.S., Dias, S.C., Sujii, E.R., Pires, C.S.S., Grossi-de-Sá, M.F., Fontes, E.M.G. .... 134

**086 - EFICÁCIA DE LINHAGENS DE *Dicyma pulvinata* NO CONTROLE BIOLÓGICO DE *Microcyclus ulei* A CAMPO (Efficacy of *Dicyma pulvinata* for biological control of *Microcyclus ulei* in field conditions)**

Melo, D.F., Mello, S.C.M., Almeida, A.M., Mattos, C.R., Cardoso, S.E.A., Silva, J.B.T. .... 135

**087 - EFICIÊNCIA DE ISOLADOS DE *Beauveria bassiana* NO CONTROLE DE *Aphis gossypii* (HEMIPTERA: APHIDIDAE) [Efficiency of *Beauveria bassiana* isolates for control of *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae)]**

Souza, J.R.P., Souza, J.F., Sousa, F.R., Santos, P.H.R., Allam, T.D., Frazão, H.S., Michereff Filho, M., Faria, M.R., Sujii, E.R. .... 136

- 088 - ESTABILIDADE GENÉTICA DE LINHAGENS DO MICOPARASITA *Dicyma pulvinata* (Genetic stability of *Dicyma pulvinata*)**  
Melo, D.F., Mello, S.C.M., Almeida, A.M., Valadares-Ingles, M.C. ....137
- 089 - ESTRATÉGIA DE SOBREVIVÊNCIA DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO *Anthonomus grandis* NA ENTRESSAFRA DA CULTURA DO ALGODOEIRO NO CERRADO DE BRASÍLIA (Survival strategy of the boll weevil, *Anthonomus grandis*, in the cerrado of Brasilia)**  
Ribeiro, P. A., Diniz, I. R., Fontes, E. M. G., Sujii, E. R., Pires, C.S.S., Silva, I.S., Souza, K.F.A., Mota, V.A. ....138
- 090 - ESTUDO CITOGENÉTICO DE DIFERENTES POPULAÇÕES DE *Meloidogyne arenaria* (Cytogenetic study of different populations of *Meloidogyne arenaria*)**  
Mota, F.C., Carneiro, R.M.D.G. ....139
- 091 - INFLUÊNCIA DA DIETA NOS ESTÁGIOS IMATUROS DE *Chinavia impicticornis* (HEMIPTERA:PENTATOMIDAE) [Diet influence on immature stages of *Chinavia impicticornis* (Hemiptera:Pentatomidae)]**  
Paz, D.B., Laumann, R.A., Calvacante, C., Moraes, M.C.B., Borges, M. ....140
- 092 - ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE *Colletotrichum gloeosporioides* EM MARACUJAZEIRO (*Trichoderma* isolates for biological control of *Colletotrichum gloeosporioides* of passion fruit)**  
Martins, I., Peixoto, J.R., Mello, S.C.M., Ávila, Z.R., Junqueira, N.T.V., Silva, M.C.F. ....141
- 093 - ISOLAMENTO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS EM CULTURAS INFECTADAS POR NEMATÓIDES DAS GALHAS NO DISTRITO FEDERAL (Isolation of entomopathogenic fungi in crops infected by root knot nematodes in federal district)**  
Souza, J. F., Martins, I. , Frazão, H. S. , Carneiro, R. M. D. G., Tigano, M. S. ....142
- 094 - ISOLAMENTO DE NOVAS ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* E *Bacillus sphaericus* (Isolation of new strains of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus*)**  
Saraiva, M.R.M., Praça, L.B., Falcão, R., Monnerat, R.G. ....143
- 095 - METODOLOGIA DE BIOENSAIO DE *Bacillus thuringiensis* CONTRA O PULGÃO DO ALGODOEIRO (*Aphis gossypii*) [Metodology of *Bacillus thuringiensis* bioassay against cotton aphid (*Aphis gossypii*)]**  
Melatti, V.M., Praça, L.B., Sujii, E.R., Monnerat, R.G. ....144



- 096 - METODOLOGIAS DE BIOENSAIOS PARA ANÁLISE DE RISCO DE PROTEÍNAS ENTOMOTÓXICAS SOBRE *Trigona spinipes* (HYMENOPTERA: APIDAE) [Bioassay methodology for risk analysis of entomotoxic proteins on *Trigona spinipes* (Hymenoptera: Apidae)]**  
Lima, M.A.P., Campos, L.A.O., Lara, M.S., Nakasu, E.Y.T., Dias, S.C., Siqueira, C.B., Sujii, E.R., Fontes, E.M.G., Pires, C.S.S..... 145
- 097 - MOVIMENTAÇÃO E REFÚGIOS UTILIZADOS PELO BICUDO-DO-ALGODOEIRO *Anthonomus grandis* NA ENTRESSAFRA DA CULTURA DO ALGODÃO NO CERRADO DE BRASÍLIA (Movement and refuges used by the boll weevil *Anthonomus grandis* during the intervall between cotton cultivation seasons in Brasília)**  
Ribeiro, P.A., Diniz, I.R., Fontes, E.M.G., Sujii, E.R., Pires, C.S.S., Santos, P.H.R., Macedo, T.R., Togni, P.H.B. .... 146
- 098 - PATOGENICIDADE DO FUNGO *Beauveria bassiana* AO PULGÃO *Aphis gossypii* (HEMIPTERA: APHIDIDAE) [Pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* to the aphid *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae)]**  
Souza, J.F., Souza, J.R.P., Sousa, F.R., Santos, G.S., Frazão, H.S., Michereff Filho, M., Faria, M. R..... 147
- 099 - POTENCIAL ANTAGONISTA DE *Trichoderma* SPP. SOBRE *Sclerotinia sclerotiorum* IN VITRO (Antagonistic potential of *Trichoderma* spp. on *Sclerotinia sclerotiorum* in vitro)**  
Marques, G.A., Martins, I., Alvarenga, D.O., Silva, M.C.F., Mello, S.C.M. .... 148
- 100 - POTENCIAL DE *Trichoderma harzianum* PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DO MOFO BRANCO DA SOJA E DO FEIJÃO (Potential of *Trichoderma harzianum* for biological control against white mold of the soybean and bean crops)**  
Alvarenga, D.O., Almeida, A.M., Silva, J.B.T., Gomes, D.M.P.A., Mello, S.C.M. ... 149
- 101 - PRODUÇÃO DE MUTANTES *FEW POLYHEDRA* (FP) DEVIDO A PASSAGEM SERIAL DO *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus* EM CULTURA DE CÉLULAS (Production of few polyhedra mutants due to serial passage of *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus* in cell culture)**  
Rezende, S.H.M.S, Zimbres, B.Q .C., Castro, M.E.B., Souza, M.L. ... 150
- 102 - RESPOSTA FUNCIONAL E NUMÉRICA DA JOANINHA *Cycloneda sanguinea* (COLEOPTERA: COCCINELIDAE) PREDANDO O PULGÃO *Aphis gossypii* [Functional and numerical response of *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae) preying the aphid *Aphis gossypii*]**  
Santos, P.H.R., Beserra, V.A., Togni, P.H.B., Pires, C.S.S., Fontes, E.M.G., Sujii, E.R..... 151

**103 - SACAM: SOFTWARE PARA ANÁLISES DE COMPORTAMENTO DE INSETOS (SACAM: software for behavioural analyses of insects)**

Caetano, L. D., Laumann, R. A., Moraes, M.C.B., Jorge, L.A.C., Palhares, L.A., Borges, M.....152

**104 - SELEÇÃO DE SOROTIPOS DE *Bacillus thuringiensis* EFETIVOS NO CONTROLE BIOLÓGICO DE *Agrotis ipsilon* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) [Screening of *Bacillus thuringiensis* serotypes effective in biological control of *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera:Noctuidae)]**

Menezes, R.S., Melo, F.R., Praça, L.B., Dumas, V.F., Monnerat, R.G. ....153

**105 - SELEÇÃO DE SOROTIPOS DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICOS CONTRA *Simulium* SPP. (Screening of *Bacillus thuringiensis* sorotypes toxic to *Simulium* spp.)**

Dumas, V. F., Berry, C., Soares, C.M., Praça, L.B., Monnerat, R.G. ....154

**106 - *Trichoderma* SPP. COMO AGENTE DE BIOCONTROLE DA PODRIDÃO DO COLO DO FEIJOEIRO (*Trichoderma* as a biocontrol agent for *Sclerotium rolfsii*)**

Alvarenga, D.O., Queiroz, P.R., Almeida, A.M., Fernandes, A.F.A., Marques, G.A., Pádua, R.R., Silva, J.B.T., Mello, S.C.M. ....155

**107 - USO DO DNA MITOCONDRIAL PARA A IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* (Use of the mitochondrial DNA for molecular identification of *Spodoptera frugiperda* populations)**

Ramiro, C. A., Queiroz, P.R., Monnerat, R.G. ....156

**108 - USO SISTÊMICO DE *Bacillus thuringiensis*, UMA NOVA ALTERNATIVA PARA O CONTROLE DE INSETOS-PRAGA (Sistemic Use of *Bacillus thuringiensis*, a new alternative for the control of insects pest)**

Martins, E.S., Capdeville, G., Berry, C., Monnerat, R.G. ....157

**RECURSOS GENÉTICOS ..... 159**

**Caracterização..... 161**

**109 - ANÁLISE DA DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE *Arachis* VINCULADAS AO GENOMA “B” POR MARCADORES MICROSSATÉLITES (Diversity of wild *Arachis* species linked to the B genome using microsatellite markers)**

Custodio, A.R., Schmidt, A.B., Valls, J.F.M. ....163

**110 - ANÁLISE DA RESISTÊNCIA A *Spodoptera frugiperda* EM HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *Arachis* (Analysis of the *Spodoptera frugiperda* resistance in interspecific hybrids of *Arachis*)**

Martins, A.E., Fávero, A.P. .... 164

**111 - ANÁLISE DA TRANSFERIBILIDADE DE MARCADORES MICROSSATÉLITES DE MELÃO PARA MELANCIA (Analysis of microsatellite markers transferability from melon to watermelon)**

Lamas, N.S., Ferreira, M.A., Amaral, Z.P.S., Vieira, J.V., Ferreira, M.A.J.F., Buso, G.S.C. .... 165

**112 - ANÁLISE DO NÚMERO E TAMANHO DE ESTÔMATOS EM HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DIPLÓIDES E TETRAPLÓIDES DE *Arachis* (Analysis of stomatal number and size in interspecific diploid and tetraploid hybrids of *Arachis*)**

Giotto, A.C, Silva, W.S., Fávero, A.P., Valls, J.F.M. .... 166

**113 - ANÁLISE MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DIPLÓIDES E TETRAPLÓIDES DE *Arachis* (Morphological analysis of diploid and tetraploid interspecific hybrids of *Arachis*)**

Silva, P.A.P., Giotto, A.C., Silva, W.S., Valls, J.F.M., Fávero, A.P. .... 167

**114 - ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES MOLECULARES E CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS EM RAÇAS NATURALIZADAS DE OVINOS NO CENTRO-OESTE DO BRASIL (Association between molecular markers and production traits in naturalised sheep breeds in the Center-West Brazil)**

Petroli, C.D., Paiva, S.R., Faria, D.A., Landim, A., Silva, R.A.V., Egito, A.A., Albuquerque, M.S.M., Castro, S.T.R., Mariante, A. S., McManus, C. .... 168

**115 - AVALIAÇÃO DE PROGÊNIES DE MARACUJAZEIRO-AZEDO QUANTO À RESISTÊNCIA A ANTRACNOSE (Evaluation of progenies of sour passion fruit to *Colletotrichum gloeosporioides* resistance)**

Martins, I., Peixoto, J.R., Mello, S.C.M., Junqueira, N.T.V., Pádua, R.R. .... 169

**116 - AVALIAÇÃO REPRODUTIVA E MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS COMPLEXOS DE *Arachis* (Reproductive and morphological evaluation of complex hybrids of *Arachis*)**

Silva, P.A.P., Fávero, A.P. .... 170

**117 - BUSCA E OTIMIZAÇÃO DE PRIMERS MICROSSATÉLITES (SSR), DE GENES-CHAVE PARA CARACTERÍSTICAS BIÓTICAS E ABIÓTICAS DE FEIJÃO, MILHO E MANDIOCA (Search and optimization of microsatellite primers (SSR), of key genes for biotic and abiotic characteristic of beans, maize and cassava)**

Beltrão, L.H.B., Fontoura, T.B., Paiva, M.R., Cerqueira, A.A., Ciampi, A.Y., Buso, G.S.C. .... 171

**118 - CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE *Ananas bracteatus* E SUA IMPORTÂNCIA ORNAMENTAL (Characterization of the species *Ananas bracteatus* and its ornamental importance)**

Oliveira, J.R.P., Ferreira, F.R., Fávero, A.P. ....172

**119 - CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DO COQUINHO (*Butia capitata*) (Characterization of *Butia capitata* oil)**

Faria, J.P., Siqueira, E.M.A., Grimaldi, R., Barrera-Arellano, D., Vieira, R. F., Agostini-Costa, T.S. ....173

**120 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA PARCIAL DE ACESSOS DE GERMOPLASMA DE BUCHA VEGETAL (*Luffa* SP.) [Partial morphological characterization of germplasm accessions of luffa sponge (*Luffa* sp.)]**

Barrozo, L.V., Gomes, P.A., Silva, H.A., Nascimento, W.M., Ferreira, M.A.J.F. ...174

**121 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA PARCIAL DE ACESSOS DE GERMOPLASMA DE *Cucurbita* SP. (Partial morphological characterization of germplasm accessions of *Cucurbita* sp.)**

Gomes, P.A., Barrozo, L.V., Silva, H.A., Nascimento, W.M., Ferreira, M.A.J.F. ...175

**122 - CONSTRUÇÃO DE UM MAPA DE LIGAÇÃO PARA ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis*, POSSUIDORAS DE GENOMA BB, POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES (Construction of a linkage map for wild species of *Arachis* with BB genome using microsatellite markers)**

Silva, R.C., Luzzi, S.G., Gouvea, E.G., Teixeira, C.C., Guimarães, P.M., Leal-Bertioli, S.C.M., Bertioli, D.J., Moretzsohn, M.C. ....176

**123 - CONSTRUÇÃO DE UM MAPA GENÉTICO DE LIGAÇÃO PARA ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* COM GENOMA AA E SUA SINTENIA COM *Lotus japonicus* E *Medicago truncatula* (Construction of a genetic linkage map for wild species of *Arachis* with AA genome and its synteny with *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula*)**

Gouvea, E.G., Silva, R.C., Luzzi, S.G., Guimarães, P.M., Leal-Bertioli, S.C.M., Bertioli, D.J., Moretzsohn, M.C. ....177

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

Lamas, N.S., Ferreira, M.A., Junqueira, L.P., Ohse, B.J.G., Cerqueira, A.A., Cano, D.M., Santin, M.R., Amaral, Z.P.S., Buso, G.S.C. ....178

**125 - DETERMINAÇÃO DE CARATENÓIDES EM COQUINHO (*Butia capitata*) (Carotenoids determination of *Butia capitata* pulp)**

Faria, J.P., Vieira, R.F., Lima, L.H.C., Agostini-Costa, T.S. ....179

**126 - DETERMINAÇÃO DE MINERAIS E TEOR DE FIBRA DA POLPA E DA SEMENTE DO COQUINHO (*Butia capitata*) (Mineral and dietary fiber determination of *Butia capitata* pulp and seed)**

Faria, J.P., Siqueira, E.M.A., Almeida, F., Silva, L.C.R., Vieira, R. F., Agostini-Costa, T.S. ....180

**127 - DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE AS VARIEDADES VERMELHA E BRANCA DA RAÇA OVINA MORADA NOVA POR MEIO DE MARCADORES STRs (Genetic divergence between the varieties red and white of sheep breeds Morada Nova by means of STRs markers)**

Dias, C., Paiva, S.R., Faria, D.A., McManus, C.M., Silva, F.L.R., Facó, O., Villarroel, A.B.S., Castro, S.T.R., Egito, A.A., Albuquerque, M.S.M., Mariante, A. S. ....181

**128 - DIVERSIDADE GENÉTICA DE 23 LOCOS STRs EM CINCO POPULAÇÕES DE OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS (Genetic variation at 23 STRs loci in five Brazilian populations of Santa Inês hair sheep breed)**

Souza, C.A., Paiva, S.R., Faria, D. A., McManus, C.M., Oliveira, A.A., Grattapaglia, D., Castro, S.T.R., Egito, A.A., Albuquerque, M.S.M., Mariante, A. S. ....182

**129 - ESTRUTURA GENÉTICA DE CINCO RAÇAS NATURALIZADAS E COMERCIAIS DE SUÍNOS DO BRASIL (Genetic structure of five Brazilian naturalized and commercial pig breeds)**

Sollero, B.P., Paiva, S.R., Faria, D.A., Guimarães, S.E.F., Egito, A.A., Albuquerque, M.S.M., Castro, S.T.R., Murata, L.S., Mariante, A.S. ....183

**130 - ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL DE *Manilkara huberi* (DUCKE) A.CHEV. (SAPOTACEAE), MAÇARANDUBA, INFERIDA POR ANÁLISES DE cpSSR E SEQÜENCIAMENTO [Population genetic structure of *Manilkara huberi*- (Ducke) A.Chev. (Sapotaceae), maçaranduba, inferred from cpSSR and sequencing analysis]**

Azevedo, V.C.R., Kanashiro, M., Ciampi, A.Y., Grattapaglia, D. ....184

**131 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE 162 LINHAGENS DE MELÃO UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES RAPD (Genetic variability study of 162 melon lines using molecular markers)**

Gontijo, S.L., Amaral, Z.P.S., Paiva, W.O., Buso, J.A., Buso, G.S.C. ....185

**132 - ESTUDO DAS RELAÇÕES GENÉTICAS DE ACESSOS *Anthurium* E *Etilingera* USANDO MARCADORES (Study of the genetic relationship of *Anthurium* and *Etilingera* accessions using molecular markers)**

Carvalho, A.A.A.A., Diniz, B.T., Oliveira, D.S., Ferreira, M.A., Paiva, W.O., Buso, G.S.C. ....186

**133 - ESTUDO DE DIFERENÇAS GENOTÍPICAS ENTRE INDIVÍDUOS DE *Agaricus blazei* BASEADO EM MARCADORES RAPD (Study of genotypic differences between individuals of *Agaricus blazei* based on RAPD marbkers)**

Marques, J.M., Urben, A.F., Buso, G.S.C. ....187

**134 - IDENTIFICAÇÃO DA RESISTÊNCIA À LAGARTA DE CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*) EM ACESSOS DE ESPÉCIES SILVESTRES DO GÊNERO *Arachis* (Identification of the resistance of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in accessions of wild species of *Arachis*)**

Andrade, M.T., Martins, A. E., Alves, E. E. A., Silva, P. A. P., Ramos, V. R., Custodio, A.R., Valls, J.F.M., Fávero, A.P. ....188

**135 - MAPEAMENTO GENÉTICO DE UMA POPULAÇÃO DE *Capsicum annum* UTILIZANDO MARCADORES DOMINANTES E CO-DOMINANTES (Genetic mapping of a *Capsicum annum* population using dominants and co-dominants markers)**

Marques, J.M., Ferreira, M.A., Moretzsohn, M.C., Ribeiro, C.S.C., Buso, G.S.C. ....189

**136 - RECONSTRUINDO A HISTÓRIA DE CLONES ELITE DE *Eucalyptus* NO BRASIL COM BASE EM SNPS, MICROSSATÉLITES E MORFOMETRIA (Reconstructing the history of elite *Eucalyptus* clones in Brazil based on SNPs, SSR and morphometrics)**

Vieira, M.C., Pádua, J.G., Missiaggia, A.A., Grattapaglia, D. ....190

**137 - RESISTÊNCIA DE ACESSOS DE *Pfaffia glomerata* A *Meloidogyne incognita* (Resistance of *Paffia glomerata* lines to *Meloidogyne incognita*)**

Gomes, A.C.M.M., Carneiro, R.M.D.G., Cioto, P.A.S., Mattos, J.K.A. ....191

**138 - SELEÇÃO DE VARIEDADES DE ANANÁS COM POTENCIAL ORNAMENTAL (Selection of varieties of ananas with ornamental potential)**

Oliveira, J.R.P., Ferreira, F.R., Fávero, A.P., Teixeira, J.B., Cabral, J.R.S., Souza, F.V.D., Martins, V.A. ....192

**Conservação .....193**

**139 - ANÁLISE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE *Trithrinax brasiliensis* MART. (ARECACEAE) UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES RAPD (Genetic variability in populations of *Trithrinax brasiliensis* Mart. (Arecaceae) using RAPD markers)**

Sujii, P.S., Alegria, M.R.M., Ciampi, A.Y. ....195

**140 - AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DA PLANTAÇÃO TRADICIONAL DE MANDIOCA NA ALDEIA YAWALAPITI (Genetic variability of traditional cassava cultivation in a Yawalapiti indigenous tribes)**

Cavalcante, L.L.M., Freitas, F.O., Ciampi, A.Y. .... 196

**141 - CALENDÁRIO SAZONAL KRAHÔ: LEVANTAMENTO PRELIMINAR DA DISPONIBILIDADE DE VARIEDADES AGRÍCOLAS (Krahô season calendar: preliminary survey of agricultural varieties availability)**

Toledo, L.V., Kraho, F., Dias, T.A.B. .... 197

**142 - CONSERVAÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DE *Sinningia lineata* (HJELMQ.) CHAUTEMS, RAINHA-DO-ABISMO (GESNERIACEAE) [Conservation and multiplication of *Sinningia lineata* (Hjelmq.) Chautems, (Gesneriaceae)]**

Viana, C.R.B., Cardoso, L.D., Medeiros, M.B., Mendes, R.A. .... 198

**143 - CONSERVAÇÃO EX SITU DE *Gossypium mustelinum* L., UMA ESPÉCIE NATIVA BRASILEIRA (Ex situ conservation of *Gossypium mustelinum* L., a brazilian native specie)**

Bartos, P.M.C., Wetzel, M.M.V.S., Pereira Neto, L.G., Pais, V.O., Tiburcio, L.M., Mamão, J.B. .... 199

**144 - DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA MANUTENÇÃO IN VITRO DE ARNICA - *Lychnophora ericoides* MART. E *L. pinaster* MART. (ASTERACEAE) [Development of protocol for in vitro maintenance of *Lychnophora ericoides* Mart. and *L. pinaster* Mart. (Asteraceae)]**

Silva, A.A., Cardoso, L.D., Vieira, R.F., Mendes, R.A. .... 200

**145 - FORMAÇÃO DE CALOS EM *Manihot anomala* POHL (EUPHORBIACEAE) (*Manihot anomala* Pohl (Euphorbiaceae) callus formation)**

Santos, A.C.V., Cardoso, L.D., Mendes, R.A. .... 201

**146 - LEVANTAMENTO DE ACESSOS CONSERVADOS EM CÂMARAS DE MÉDIO PRAZO NA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA COLETADOS NAS REGIÕES NORTE, NORDESTE E CENTRO-OESTE DO BRASIL (Survey of germplasm conserved in cold chambers collected during field trips to the North, Northeast and Central West of Brazil in the 1980's)**

Bartos, P.M.C., Bustamante, P.G., Wetzel, M.M.V.S., Ferreira, F.R. .... 202

**147 - MATURAÇÃO FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Sinningia lineata* (HJELMQ.) CHAUTEMS (GESNERIACEAE) [Physiological maturation of *Sinningia lineata* (Hjelmq.) Chautems seeds (Gesneriaceae)]**

Viana, C.R.B., Cardoso, L.D., Medeiros, M.B., Mendes, R.A. .... 203

**148 - MICROPROPAGAÇÃO DE *Mammillaria glassii* R.A.FOSTER (CACTACEAE) [*Mammillaria glassii* R.A.Foster (Cactaceae) micropropagation]**

Laurindo, D.R., Cardoso, L.D., Mendes, R.A. ....204

**149 - RENOVAÇÃO DO CONSENTIMENTO PRÉVIO FUNDAMENTADO PARA PESQUISA NO TERRITÓRIO INDÍGENA KRAHÔ (Renovation of based informed approval process for research in Krahô indigenous territory)**

Toledo, L.V., Dias, T.A.B., Moreira, L.R., Bustamante, P.G. ....205

**150 - RESPOSTAS DE SEMENTES DE FLORESTA ESTACIONAL DECIDUAL AO CONGELAMENTO EM TEMPERATURAS SUBZERO (-20 e -196°C) (Seed from dry forest responses to exposure at -20°C and -196°C)**

Lima, V.V.F., Salomão, A.N., Vieira, D.L.M., Mundin, R.C., Sevilha, A.C. ....206

**151 - TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DA COLEÇÃO INTERNACIONAL DE INVERNO DE CEVADA (*Hordeum vulgare* L.) ARMAZENADA NA COLBASE (Tetrazolium test in long term seeds stored of the winter barley international collection)**

Carvalho, R.S, Goedert, C.O.....207

**152 - VARIABILIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE PINHEIRO-BRAVO (*Podocarpus lambertii*) NA AHE BARRA GRANDE, UTILIZANDO-SE MARCADOR RAPD (Genetic variability in populations of *Podocarpus lambertii* in a hydroelectric project area (Barra Grande), using RAPD markers)**

Alegria, M.R.M., Sujii, P.S., Ciampi, A.Y. ....208

**153 - VARIABILIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE XAXIM (*Dicksonia sellowiana*) NA AHE BARRA GRANDE, UTILIZANDO-SE MARCADOR RAPD [Genetic variability in populations of treefern (*Dicksonia sellowiana*) in a hydroelectric project area (Barra Grande), using RAPD marker]**

Alegria, M.R.M., Póvoa, J.S.R., Ciampi, A.Y. ....209

**SEGURANÇA BIOLÓGICA .....211**

**154 - ANÁLISE DE RISCO DE PRAGAS E RASTREABILIDADE FITOSSANITÁRIA PARA A CULTURA DA MAÇÃ (Pest risk analysis and traceability to apple culture)**

Silva, S.F., Gonçalves, G.C.P.C., Santos, A.C.A., Cruz, K.R.R., Vilarinho, K.R., Oliveira, M.R.V.....213



- 155 - BANCO DE DADOS DE ÁCAROS ASSOCIADOS A *COMMODITIES* DE IMPORTÂNCIA PARA O AGRONEGÓCIO BRASILEIRO (Database of mites associated with commodities of importance to the Brazilian agrobusiness)**  
 Reis, M.T., Navia, D. ....214
- 156 - BANCO DE DADOS DE INSETOS-PRAGAS (Insects-pests database)**  
 Santos, A.C.A., Gonçalves, G.C.P.C., Silva, S.F., Cruz, K.R.R., Vilarinho, K.R., Oliveira, M.R.V. ....215
- 157 - BANCO DE DADOS DOS FUNGOS NÃO RELATADOS NO BRASIL EM ESSÊNCIAS FLORESTAIS (Database of fungi not related to forestry in Brazil)**  
 Ribeiro, F. N., Simões, L. G., Santos, C. E. N., Auer, C. G., Melo, L.A.M.P., Mendes, M. A. S.....216
- 158 - BANCO DE IMAGENS COMO SUPORTE À IDENTIFICAÇÃO DE ÁCAROS DE EXPRESSÃO ECONÔMICA E QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (Image database as a support for identification of economic and quarantine expression mites in Brazil)**  
 Souza, A.P.D.B., Rissoli, V.R. , Passos, A.P., Navia, D. ....217
- 159 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO ÁCARO *Brevipalpus chilensis* BAKER, ESPÉCIE QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (Molecular characterization of the mite *Brevipalpus chilensis* Baker, a quarantine species to Brazil)**  
 Calvoso-Miranda, L., Monnerat, R. G., Navajas, M., Rodrigues, J.C.V., Navia, D. ....218
- 160 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES ESPECÍFICOS PARA A DETECÇÃO DE BIÓTIPOS DE *Bemisia tabaci* (Molecular characterization and development of specific markers for detection of biotypes of *Bemisia tabaci*)**  
 Queiroz, P. R., Guimarães, M.N.K., Oliveira, M.R.V., Lima, L. H. C.....219
- 161 - COMPARAÇÃO DA EVOLUÇÃO POPULACIONAL DE BACTÉRIAS DOS GÊNEROS *Erwinia*, *Pseudomonas* E *Xanthomonas* NO EXTRATO DE FOLHAS DA PLANTA HOSPEDEIRA (Populational evolution comparison of bactéria from genus *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas* in the host plant leaf extract)**  
 Fonseca, C.F., Damasceno, J.P.S., Marques, A.S.A. ....220
- 162 - DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS EM GERMOPLASMA VEGETAL IMPORTADO (Detection and identification of fungi in imported plant germoplasm)**  
 Silva, V. A. M., Oliveira, A. S., Santos, M. R., Urben, A. F., Mendes, M. A. S. ....221

**163 - EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO ÚMIDO DE SEMENTES DE *Triticum aestivum* (L.) THELL NA ERRADICAÇÃO DO NEMATÓIDE *Aphelenchoides blastophthorus* [Effect of wet thermal treatment of *Triticum aestivum* (L.) Thell seeds in eradication of the nematode *Aphelenchoides blastophthorus*]**

Silva, H.A.N.S., Pereira, J.C., Tenente, R.C.V. . . . . .222

**164 - ESTUDO PRELIMINAR DO POTENCIAL DE ESTABELECIMENTO DE *Anguina tritici* NO BRASIL (Preliminary study of the potential establishment of *Anguina tritici* in Brazil)**

Souza, W.R., Carrijo, T.S., Melo, L.A.M.P., Silva, H.R.F., Tenente, R. C. V. ....223

**165 - IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE 22 POPULAÇÕES DE *Bemisia tabaci* DA ARGENTINA POR MEIO DE MARCADORES RAPD-PCR (Molecular identification and characterization of 22 populations of *Bemisia tabaci* from Argentina by RAPD-PCR markers)**

Fragoso, V.M., Hiragi , C.O., Queiroz, P.R., Truol, G.A.M., Zerbini Junior, F.M., Oliveira, M.R.V., Lima, L.H.C. ....224

**166 - INSETOS-PRAGA DA ORDEM COLEOPTERA COM POTENCIAL QUARENTENÁRIO PARA O BRASIL (Insects-pests of Coleoptera Order with quarantine potencial to Brazil)**

Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Gonçalves, G.C.P.C., Santos, A.C.A., Cruz, K.R.R. Paula-Moraes, S.V., Oliveira, M.R.V. ....225

**167 - INSETOS-PRAGA DA ORDEM HEMIPTERA COM POTENCIAL QUARENTENÁRIO PARA O BRASIL (Insects-pests of Hemiptera Order with quarantine potencial to Brazil)**

Gonçalves, G.C.P.C., Santos, A.C.A., Cruz, K.R.R., Silva, S.F., Vilarinho, K.R., Paula-Moraes, S.V., Oliveira, M.R.V. ....226

**168 - INSETOS-PRAGA DA ORDEM LEPIDOPTERA COM POTENCIAL QUARENTENÁRIO PARA O BRASIL (Insects-pests of Lepidoptera Order with quarantine potencial to Brazil)**

Silva, S.F., Vilarinho, K.R., Gonçalves, G.C.P.C., Santos, A.C.A., Cruz, K.R.R., Paula-Moraes, S.V., Oliveira, M.R.V. ....227

**169 - INSPEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO ENTOMOLÓGICA NA QUARENTENA DE GERMOPLASMA VEGETAL DE 2004 A AGOSTO DE 2006 (Inspection and entomological identification on plant germplasm quarantine from 2004 to August of 2006)**

Gonçalves, G.C.P.C., Cruz, K.R.R., Santos, A.C.A., Silva, S.F., Vilarinho, K.R., Oliveira, M.R.V. ....228

**170 - INTERCEPTAÇÃO DE NEMATÓIDES EXÓTICOS AO BRASIL EM MATERIAL VEGETAL DE IMPORTAÇÃO (Interception of exotic nematodes to Brazil in imported Plant material)**

Gomes-Silva, E., Sousa, A.I.M., Ciriaco, J.P., Tenente, R.C.V., Cares, J.E., Prates, M. ....229

**171 - INTERCEPTAÇÃO DO ÁCARO QUARENTENÁRIO PARA O BRASIL, *Brevipalpus chilensis* (BAKER) (TENUIPALPIDAE), EM UVAS FRESCAS DO CHILE (Interception of the mite *Brevipalpus chilensis* (Baker) (Tenuipalpidae), a quarantine species to Brazil, in fresh grapes from Chile)**

Gonçalves, G.C.P., Reis, M.T., Návia, D. ....230

**172 - LEVANTAMENTO DE INSETOS-PRAGA DAS ORDENS DIPTERA, HYMENOPTERA E THYSANOPTERA COM POTENCIAL QUARENTENÁRIO PARA O BRASIL (Survey of insects pests of the Orders Diptera, Hymenoptera and Thysanoptera with quarantine potencial to Brazil)**

Santos, A.C.A., Gonçalves, G.C.P.C., Silva, S.F., Vilarinho, K.R., Cruz, K.R.R., Paula-Moraes, S.V., Oliveira, M.R.V. ....231

**173 - MONITORAMENTO DAS POPULAÇÕES DE *Anthonomus grandis* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE), NA CULTURA DO ALGODOEIRO EM BRASÍLIA-DF [*Anthonomus grandis* (Coleoptera, Cucurlionidae) population´s survey in cotton crop in Brasília-DF]**

Vilarinho, K.R., Silva, S.F., Oliveira, M.R.V., Monnerat, R.G. ....232

**174 - OCORRÊNCIA DE *Colletotrichum* SP. EM PITOMBEIRA (*Talisia esculenta*, SAPINDACEAE) (Ocurrance of *Colletotrichum* sp. in Pitombeira)**

Ferreira, R. A. M., Santos, M. R., Oliveira, A. S., Mendes, M. A. S. ....233

**175 - OCORRÊNCIA DE *Tylenchocriconema alleni* E *Ditylenchus khani* NO BRASIL EM MATERIAL VEGETAL ANALIZADO PARA EXPORTAÇÃO (Occurrence of *Tylenchocriconema alleni* and *Ditylenchus Khani* in Brazil in analysed plant material for exportation)**

Gomes-Silva, E., Sousa, A.I.M., Ciriaco, J.P., Tenente, R.C.V., Cares, J.E., Prates, M. .... 234

**176 - RASTREABILIDADE DE GERMOPLASMA VEGETAL INTERCEPTADO USANDO A BASE DE DADOS DAS ANÁLISES NEMATOLÓGICAS ATRAVÉS DO SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE GERMOPLASMA (Traceability of intercepted plant germplasm using the database of nematological analysis by germplasm information system)**

Ireno, H.N., Rissoli, V.R.V., Cares, J. E., Tenente, R.C.V. ....235

**177 - RASTREABILIDADE DE PRAGAS EXÓTICAS POTENCIAIS PARA OS PAÍSES QUE COMPÕEM A REGIÃO DO COSAVE (Traceability of potential exotic pests for the Cosave region)**

Santos, A.C.A., Gonçalves, G.C.P.C., Silva, S.F., Vilarinho, K.R., Cruz, K.R.R., Oliveira, M.R.V. ....236

**178 - RASTREABILIDADE FITOSSANITÁRIA DE PRAGAS EXÓTICAS POTENCIAIS NAS CULTURAS DE MELÃO, MAÇÃ, UVA, CRAVO E BONSAI (Traceability of potential exotic pests to melon, apple, grape, carnation and bonsai)**

Silva, S.F., Gonçalves, G.C.P.C., Santos, A.C.A., Cruz, K.R.R., Vilarinho, K.R., Paula-Moraes, S.V., Oliveira, M.R.V. ....237

**179 - REAÇÃO DE DIFERENTES CLONES DE BANANA NO DESENVOLVIMENTO DE DUAS RAÇAS DE *Meloidogyne incognita* (The reaction of different banana clones on the development of two *Meloidogyne incognita* races)**

Sousa, A.I.M., Silva, E.G., Tenente, R.C.V., Fonsêca Junior, M.B. ....238

**180 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA PARA ATUALIZAÇÃO DA BASE DE DADOS “FUNGOS EM PLANTAS DO BRASIL” (Bibliographic revision to bring up-to-date the database of plant fungi in Brazil)**

Simões, L.G., Guerra, V.C.A., Silva, V.A.M., Oliveira, A.S., Santos, M.R., Melo, L.A.M.P., Mendes, M.A.S. ....239

**181 - SISTEMA DE INFORMAÇÕES PARA MANIPULAÇÃO DOS DADOS DAS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS BRASILEIRAS, DA EMBRAPA/ CENARGEN COM A COOPERAÇÃO DA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA (Information system for database manipulation of brazilian bibliographical references, of Embrapa/Cenargen with the cooperation of Catholic University of Brasília)**

Passos, A. P., Rissoli, V. R. V., Tenente, R. C. V. ....240

**182 - UMA NOVA FERRAMENTA PARA DAR SUPORTE À IDENTIFICAÇÃO DE NEMATOÍDES DE EXPRESSÃO ECONÔMICA E QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (A New tool to support the identification of nematodes of economic and quarantine expression for Brazil)**

Souza, A. P. D.B., Passos, A. P., Tenente, R. C. V., Rissoli, V. R. V., Cares, J. E., Hiragi, G. O. ....241

**183 - USO DO MARCADOR SCAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE DIFERENTES POPULAÇÕES DE *Meloidogyne arenaria* (Use of scar marker to identify *Meloidogyne arenaria* populations)**

Santos, M.F.A., Tigano, M., Carneiro, R.M.D.G. ....242

**184 - VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne arenaria* ATRAVÉS DA ANÁLISE DE MARCADORES RAPD (Genetic variability of *Meloidogyne arenaria* through rapd analysis)**

Santos, M.F.A., Tigano, M.S., Almeida, M.R.A., Randig, O., Carneiro, R.M.D.G. ....243

**OUTROS .....245**

**185 - O ESTAGIÁRIO E A IMPLANTAÇÃO DO SISTEMA DE QUALIDADE NA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA (The trainee and the implementation of a quality system in the Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia)**

Galiza, V.S., Castro, C.S.P., Coutinho, M.V., Frazão, H.S., Marques, A.S.A., Santana, E.F., Amaral, Z.P.S. ....247

**ÍNDICE DE AUTORES .....249**

**ÍNDICE DE ORIENTADORES .....260**

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



# **BIOTECNOLOGIA**





# **Biologia Celular**



**001 - ANÁLISE DOS CROMOSSOMOS DE ACESSOS DE *Brachiaria brizantha* (POACEAE) APÓS TRATAMENTO COM FLUORÓFOROS E FISH (Chromosomes analysis of *Brachiaria brizantha* (Poaceae) accessions after fluorphores and FISH treatment)**

Almeida, L.M.<sup>1</sup>, Nielen, S.<sup>2</sup>, Carneiro, V.T.<sup>3</sup>, Araújo, A.C.G.<sup>3</sup>

Muitas espécies do gênero *Brachiaria* apresentam apomixia, modo assexual de reprodução e sexualidade. A apomixia está associada à poliploidia e a sexualidade, à diploidia. Na coleção de *B. brizantha* foi identificado apenas um acesso diplóide sexual e os demais 274 poliplóides apomíticos. A citogenética pode auxiliar na identificação de marcadores cariomorfológicos que distingam plantas apomíticas e sexuais, na determinação da posição de genes, no estabelecimento da origem de poliplóides e de relações filogenéticas. Este trabalho apresenta análises da estrutura cromossômica de *B. brizantha* BRA-002747, acesso diplóide sexual e de BRA-000591, acesso tetraplóide apomítico, através de tratamento com fluoróforos e hibridização in situ por fluorescência (FISH). Lâminas contendo cromossomos metafásicos foram selecionadas e coradas com DAPI, CMA<sub>3</sub> ou submetidas a FISH com sonda 18S-25S e 5S de DNAr de trigo. Regiões heterocromáticas nos telômeros dos acessos foram evidenciadas com DAPI enquanto com CMA<sub>3</sub>, nenhuma região específica foi detectada. Sondas de DNAr 5S hibridizaram com um par de cromossomos do acesso diplóide e com três pares do acesso tetraplóide. Neste acesso, dois sinais de hibridização foram evidenciados com a sonda 18S-25S, sendo um em região de satélite e outro em região telomérica de outro par de cromossomos. Com esta sonda foi também evidenciado um sítio no par de satélites de BRA-002747. A ausência de bandas após tratamento com fluoróforos sugere que regiões de heterocromatina C são pequenas ou que não foram devidamente expostas. O número de sítios de hibridização nos acessos corrobora a hipótese de origem alopoliplóide de BRA-000591. A detecção de sítios 18S-25S em satélites dos dois acessos sugere que possa ter havido conservação de regiões do genoma durante processos de hibridização e tetraploidização. A extensão do uso destas técnicas para acessos e outras espécies do gênero contribuirão para maior compreensão da organização do genoma de plantas sexuais e apomíticas e futuramente, auxiliará na localização de características específicas no genoma.

Apoio: CNPq/ CBAB.

---

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

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

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

**002 - CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS HISTOLÓGICOS DA INFECÇÃO DE *Meloidogyne incognita* EM GENÓTIPOS SUSCETÍVEIS E RESISTENTES DE *Coffea arabica* (Characterization of histological effects of *Meloidogyne incognita* infection in resistant and susceptible *Coffea arabica* genotypes)**

Barros, E.V.S.A.<sup>1</sup>, Costa, P.M.<sup>2</sup>, Gomes, A.C.M.M.<sup>3</sup>, Falcão, R.<sup>4</sup>, Ribeiro, V.S.<sup>5</sup>, Eira, M.T.S.<sup>6</sup>, Pereira, A.A.<sup>7</sup>, Nicole, M.<sup>8</sup>, Fernandez, D.<sup>8</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>9</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>6</sup>

A infecção por nematóides-da-galha é responsável por muitas perdas em áreas de plantação de café infestadas. *Coffea arabica* é a espécie mais cultivada e a mais suscetível aos nematóides. Foram estudados cortes histológicos de dois genótipos de cafeeiro resistentes (Paraíso - MGH 419-2 e UFV 408-28) e um suscetível (Catuaí vermelho – IAC 15) em relação ao desenvolvimento do *M. incognita*. Os fenótipos resistentes foram previamente testados para *M. exigua* e *M. incognita*. Neste trabalho, foi apresentada resposta da planta no nível histológico com uma população altamente patogênica de *M. incognita* raça 1. Durante um período de cinco dias, observou-se a penetração, migração e estabelecimento de sítios de alimentação correspondentes aos estádios precoces do ciclo de vida do parasita. As secções de raízes infectadas foram analisadas por microscopia óptica sob luz UV de forma a detectar a autofluorescência relacionada à presença de compostos aromáticos. A acumulação de compostos fenólicos foi registrada nas proximidades dos nematóides em fase de penetração da epiderme das raízes de plantas resistentes. Nematóides em migração também foram observados no córtex e sistema vascular das plantas resistentes, cercados de células necróticas. Não foi observada necrose ou autofluorescência nas raízes suscetível, enquanto que a presença de nematóides e iniciação de sítios de alimentação foi registrada nas mesmas. As porções de raízes infectadas foram coradas com azul de toluidina, revelando a presença dos nematóides e estrutura do tecido vegetal adjacente. A formação de células gigantes não foi observada nos estádios prematuros da infecção em um dos genótipos resistentes, enquanto que no outro houve a formação inicial de sítios de alimentação. Na planta suscetível, no mesmo período de tempo pós-infecção, foram observadas células altamente vacuolizadas e com citoplasma denso. Os resultados indicaram que o mecanismo de resistência envolveu resposta hipersensitiva, bloqueando assim o desenvolvimento de *M. incognita* nos acessos resistentes. A confirmação das respostas histológicas dos genótipos contrastantes será utilizada para a construção de bibliotecas de ESTs em diferentes fases da infecção por *M. incognita*.

Apoio: EMBRAPA e Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café.

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

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

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

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

<sup>5</sup>Estudante Nível Médio, PNP&D/Café

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

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., EPAMIG

<sup>8</sup>Biólogo, Ph.D., IRD-Montpellier, France.

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

### **003 - CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA RESISTÊNCIA DE *Pfaffia glomerata* A *Meloidogyne incognita* (Histological characterization of *Pfaffia glomerata* resistance to *Meloidogyne incognita*)**

Gomes, A.C.M.M.<sup>1</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>2</sup>, Capdeville, G.<sup>2</sup>, Mattos, J.K.A.<sup>3</sup>

O ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*), planta medicinal utilizada há séculos pelos índios brasileiros, tem seu princípio ativo concentrado no extrato das raízes, que apresenta propriedades terapêuticas no tratamento de diabetes, hemorróidas, além de ser, bioenergético, tônico, afrodisíaco e antidiarréico. A resistência e suscetibilidade de acessos de *P. glomerata* a *Meloidogyne incognita* raça 1, recentemente estudada e detectada, permitiu a investigação do mecanismo de resistência com o objetivo de caracterizar histologicamente a resposta dessa planta em dois acessos: resistente (UFV, Viçosa/MG) e suscetível (Farmacotécnica, Vargem Bonita/DF). As plantas obtidas por mini estaquia foram inoculadas aos 72 dias com 20.000 juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita* e avaliadas aos 4, 10, 20, 28, 34, 39 e 41 dias após a inoculação, utilizando-se a técnica modificada (Gomes, A.C.M.M, 2005), descrita por Pegard, A. *et al.*, 1995 (Phytopathology 95:158-165). Nas plantas suscetíveis foi observado grande número de J2 migrando (4dias). Aos 19 dias foram observados J3/J4 junto às células gigantes bem formadas, localizadas próximas ao cilindro vascular. Enquanto aos 28 dias fêmeas adultas foram observadas em ovoposição. No acesso UFV a resistência esteve associada primeiramente a um mecanismo não identificado que limitou a penetração dos nematóides nas raízes. Posteriormente, ocorreu uma resposta pós-infectiva bioquímica que incluiu às vezes uma resposta de hipersensibilidade, aparentemente bloqueando o desenvolvimento de alguns juvenis. Outras vezes ocorreu uma tardia formação de células gigantes, menores e em menor número, muitas vezes mal formadas associadas a nematóides J3/J4 (34-41 dias), que se apresentavam autofluorescentes, indicando degeneração citoplasmática, devido à presença de compostos fenólicos em seu interior; não sendo observada, no entanto, a formação de fêmeas adultas.

---

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

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

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

## 004 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DURANTE O DESENVOLVIMENTO DOS ÓVULOS DE *Leandra australis* (CHAM.) [Morphological characterization of *Leandra australis* (Cham.) ovules]

Melo, T.<sup>1</sup>, Falcão, R.<sup>2</sup>, Goldemberg, R.<sup>3</sup>, Dusi, D.M.A.<sup>4</sup>

A família Melastomataceae é composta por cerca de 4.200-4.500 espécies, espalhadas pelas regiões tropicais do planeta, com diversos representantes no Brasil. Uma característica marcante dessa família é o grande número de espécies que apresentam a apomixia como forma de reprodução. Apomixia é um fenômeno no qual uma planta produz embriões e sementes sem haver fusão de gametas e formação de zigoto. A apomixia ainda pode se apresentar na forma de embrionia adventícia, quando o embrião é formado de uma célula do nucelo ou tegumento do óvulo ou como apomixia gametofítica onde o embrião advém de uma célula do saco embrionário não reduzido que não é um produto da meiose. Dentre as várias espécies que compõem essa família destacamos *Leandra australis* que é nativa do Brasil e vem tendo suas propriedades farmacológicas estudadas nos últimos tempos. Tal espécie é considerada apomítica apresentando, mais especificamente a embrionia adventícia. Este trabalho tem como objetivo analisar o desenvolvimento de óvulos de *Leandra australis* visando assim contribuir para o melhor entendimento de seu modo de reprodução. Óvulos foram analisados em quatro fases de desenvolvimento ao longo do amadurecimento da flor até a formação de sementes (fase 5), por métodos de diafanização e secção. Flores e frutos foram coletados e armazenados em FAA, seus óvulos e sementes foram extraídos com bisturi e colocados em etanol 70% e em seguida desidratados em série crescente de etanol (80, 90, 95 e 100%). Metade do material foi tratada por diafanização com xilol e salicinato de metila e a outra incluída em Paraplast ou resina SPURR e os ovúlos seccionados em micrótomo, com secções de 7µm e 1µm, respectivamente. Os óvulos diafanizados foram observados em microscópios de luz AXIOPHOT sob Contraste de Interferência Diferencial (DIC), as secções coradas com azul de toluidina ou safranina e fastgreen, observadas em microscópios de luz sob campo claro. Nas fases iniciais do desenvolvimento das flores foram encontrados sacos embrionários binucleados e tetranucleados. Em estágios posteriores foram observados sacos embrionários celularizados.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduando, Faculdades JK

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

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade Federal do Paraná

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

**005 - DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA ESTUDOS MORFOLÓGICOS DE FUNGOS CULTIVADOS EM MEIO LÍQUIDO POR MEIO DE MICROSCOPIA DE VARREDURA (Development of a methodology for morphology studies of fungi cultivated in liquid culture media using scanning electron microscopy)**

Fernandes, L.S.<sup>1</sup>, Estrela, A.B.<sup>2</sup>, Cesca, M.S.<sup>3</sup>, Menêzes, J.E.<sup>4</sup>, Inglis, P.W.<sup>5</sup>, Capdeville, G.<sup>6</sup>

Um dos desafios que muitos microscopistas que atuam na área da fitopatologia enfrentam é o estudo morfológico e reprodutivo de fungos cultivados em meio líquido. Portanto, desafios como os surgidos no estudo da conidiogênese de fungos crescidos em meio de cultura líquido demandam, muitas vezes, o uso da imaginação para se propor protocolos alternativos aos preconizados na literatura pertinente (Bozzola and Russell, 1999; Hayat, 2000). O presente trabalho teve por objetivo desenvolver uma metodologia eficiente para estudar aspectos da morfologia e conidiogênese de fungos cultivados em meio de cultura líquido. Para tanto, foram preparados meios de culturas em erlenmeyers de 250 ml contendo um dos seguintes tipos de tecido: crepon, crepe, TNT, vual, papel de filtro, papel celofane e cortiça para funcionarem como suporte para o micélio fúngico de forma a facilitar sua retirada do meio e garantir que esporos ainda estivessem aderidos às suas células conidiogênicas. Os frascos contendo as amostras foram incubados em câmara BOD a 25 °C e, em diferentes tempos após a incubação (0, 24, 48, 72 e 96 horas), foram retiradas amostras para processamento e análise com microscopia eletrônica de varredura. Os resultados indicaram que dentre os tecidos utilizados como suporte, os mais eficientes e que retiveram maior quantidade e qualidade de micélio foram o crepe, o TNT, a cortiça, o vual, e o papel de filtro, respectivamente. O papel celofane e o crepon, por ser muito liso, não reteve o micélio fúngico. Metodologias desta natureza são muito úteis para o desenvolvimento de estudos de sistemática de fungos, de controle biológico, entre outros. Diferentes materiais estão sendo testados para avaliar sua utilidade comparativamente aos testados neste trabalho.

---

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

<sup>2</sup>Bióloga, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

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

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

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

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

## **006 - DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE REGENERAÇÃO *IN VITRO* DE EUCALIPTO (*Eucalyptus grandis*) (Development of an *in vitro* regeneration system of *Eucalyptus grandis*)**

Araújo, G.F.P.<sup>1</sup>, Abreu, E.F.M.<sup>2</sup>, Aragão, F.J.L.<sup>3</sup>

A cultura do eucalipto vem se expandindo em muitas regiões do mundo, por ser considerada de grande importância econômica, devido a sua alta capacidade de produção de fibra de celulose, e por possuir algumas substâncias que são utilizadas como matéria prima em muitas indústrias. As técnicas de transformação genética, que consiste basicamente na introdução controlada de genes no genoma de uma célula, combinadas as técnicas de regeneração de plantas transgênicas a partir de células e tecidos transformados, podem contribuir significativamente para a introdução de genes com características de interesse agrônomo que permitam melhorias na qualidade da madeira, resistência a determinadas pragas e herbicidas, contribuindo assim, para os programas de melhoramento genético e conseqüente aumento da produtividade da cultura. O presente trabalho tem o objetivo de estabelecer um protocolo de regeneração *in vitro* e transformação genética de *E. grandis*. Para realização do presente trabalho, sementes de um clone de *E. grandis* foram devidamente esterilizadas com hipoclorito de sódio 1% e etanol 70%, lavadas com água autoclavada e inoculadas em meio de germinação constituído de sais e vitaminas MS suplementado com 3% de sacarose. Os nós das plântulas germinadas, foram posteriormente inoculados em meio de micropropagação contendo sais e vitaminas MS suplementado com 3% de sacarose, 0,3 mg/L de BAP e 0,01 mg/L de ANA. Os explantes foram sub-cultivados a cada vinte dias por dois meses, observando-se em 100% dos nós inoculados uma alta freqüência de multibrotação. Os nós, internós e folhas originadas de brotos micropropagados foram usados como explantes para a regeneração de plantas por organogênese. A regeneração obtida apresentou eficiência de aproximadamente 30%. Os resultados obtidos servirão de base para o desenvolvimento de um protocolo de transformação genética de eucalipto.

Apoio: CNPq e FINEP.

---

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

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

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



**007 - EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE PLANTAS DE *Gossypium hirsutum* E TRANSFORMAÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS VIA *Agrobacterium* (Somatic embryogenesis of plants *Gossypium hirsutum* and transformation of calos embryogenics by *Agrobacterium*)**

Bodens, F.W.P.<sup>1</sup>, Muchagata, I.S.<sup>2</sup>, Evangelista, I.B.R.<sup>3</sup>, Paes, N.S.<sup>4</sup>, Teixeira, J.B.<sup>5</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>6</sup>

O algodão transgênico é uma alternativa no manejo integrado de pragas que visa contribuir para a redução dos custos dos produtores, diminuindo o uso de defensivos agrícolas. O algodão transgênico também visa aumentar a eficiência do controle de pragas de hábito endofítico, principalmente quanto à contenção do bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*). O objetivo desse trabalho é obter plantas transgênicas adaptadas às necessidades brasileiras utilizando as técnicas de cultura de tecido já estabelecidas em países como Índia e USA. Utilizando procedimentos descritos na literatura, foram obtidos embriões somáticos que regeneraram plantas completas da variedade Coker 312, comprovando assim a viabilidade da técnica para as nossas condições laboratoriais. A metodologia básica utilizada foi descrita por Kumria et al. (2003), consistindo na utilização de pedaços de hipocótilos como explantes para produção de calos induzidos por 0,1 mg/L de 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e 0,5 mg/L de cinetina (CIN) em meio MS contendo 3% de maltose. Os calos produziram embriões no estágio globular quando foram transferidos para meio MS sem hormônios, suplementado com alta concentração de KNO<sub>3</sub>. Foi utilizado meio 1/5 MS com 1% de maltose sob papel de filtro para multiplicação do material contendo embriões globulares. O desenvolvimento e a maturação dos embriões foi realizado sobre papel de filtro colocado em meio MS contendo 1% de maltose. As placas de Petri de ambas as etapas, multiplicação e maturação, foram seladas com fita Micropore. A germinação foi concluída em meio MS contendo 0,05 mg/L de ácido giberélico por uma semana, e posteriormente em meio MS básico. O tempo necessário para duração do protocolo de regeneração é de oito meses. Foi constatada embriogênese secundária em embrião anormal que resultou em embriões normais. Setores embriogênicos estão sendo transformados via *Agrobacterium* LBA 4404 contendo os genes cry e vip de acordo com Leelavathi et al. (2004). O co-cultivo é realizado em meio YMB líquido quando a cultura atinge a fase de crescimento A<sub>600</sub> = 0,3 a 0,4 em agitação vigorosa por 20 minutos e posteriormente em meio MS básico sólido por 36h no escuro. Após o co-cultivo, o material foi transferido para meio MS com papel de filtro contendo 3% de maltose, 50 mg/L de Canamicina e 500 mg/L de Cefotaxima.

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

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

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

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

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

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

**008 - ESTUDOS ESTRUTURAIS DE SEGMENTOS BASAIS, CALOS EMBRIOGÊNICOS E SUSPENSÃO CELULAR VISANDO A TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE *Brachiaria brizantha* (A. RICH.) STAPF (POACEAE) (Structural studies of basal segments, embryogenic calli and cell culture aiming *Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf (Poaceae) genetic transformation)**

Lacerda, A.L.M.<sup>1</sup>, Carneiro, V.T.C, Dusi, D.M.A.<sup>3</sup>, Gomes, A.C.M.M.<sup>4</sup>, Falcão, R.<sup>4</sup>, Cabral, G.B.<sup>5</sup>

*Brachiaria* apresenta plantas de modo de reprodução sexual e apomítico. Na apomixia ocorre clonagem natural por sementes. A transformação genética pode gerar novas variedades com características de interesse ao programa de melhoramento. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes explantes como segmentos basais, calos embriogênicos e células em suspensão para transformação via biobalística. Plantas de *B. brizantha* apomítica cv. Marandu e do acesso sexual, foram cultivadas in vitro e selecionadas para excisão dos segmentos basais (base estolonífera). Estes foram divididos em três partes: basal, mediano e apical, e cultivados em meio de micropropagação, coletados em diferentes períodos e processados para microscopia de luz e eletrônica de varredura. Calos embriogênicos e células em suspensão obtidos de sementes maduras de cv. Marandu foram bombardeados, e após ensaio histoquímico para o gene *gus*, processados para microscopia de luz e varredura. Nos acessos analisados observaram-se mais gemas do que primórdios nos segmentos basais e medianos após quatorze dias de cultura na presença de citocininas, indicando proliferação de gemas adventícias; nos segmentos apicais só foram observados feixes vasculares nas secções. Como no dia zero foi observada a presença de gemas e primórdios nos segmentos basais e medianos pode-se inferir que nessa região encontram-se meristemas adventícios pré-formados. Nas secções e varredura verificou-se que os meristemas das gemas são inacessíveis ao processo de transformação genética. Secções de embriões somáticos regenerados de calos embriogênicos bombardeados mostraram que a expressão do gene *gus* estava presente apenas nas folhas mais externas sugerindo a obtenção de quimeras. No caso de células em suspensão foram observados embriões somáticos sem formação do escutelo, de forma mais sincronizada, além do teste histoquímico para o gene *gus* ter mostrado expressão, indicando a viabilidade deste sistema.

Apoio: EMBRAPA, CNPq e CBAB-MCT.

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

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

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

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

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

## **009 - IMAGENS POR ESPECTROMETRIA DE MASSA COMO UMA NOVA FERRAMENTA PARA O ESTUDO INTEGRADO DE GENÔMICA E PROTEÔMICA DO CAFÉ (Imaging-mass spectrometry as an innovative tool for integrated genomic and proteomic studies in coffee)**

Barbosa, E.A.<sup>1</sup>, Silva, L.P.<sup>2</sup>, Vinecky, F.<sup>3</sup>, Andrade, A.C.<sup>4</sup>, Bloch Jr., C.<sup>2</sup>

Com a conclusão do projeto Genoma Café, está disponível para pesquisa um banco de dados contendo uma parcela significativa dos genes expressos em café (transcriptoma). Após a construção do Unigene do Café, mais de 30 mil seqüências protéicas distintas, codificadas pelos cDNAs seqüenciados são conhecidas e podem ser pesquisadas nesta base de dados. A obtenção de imagens moleculares por espectrometria de massa (*MALDI imaging*) criou uma nova perspectiva para detecção de moléculas em secções de tecidos e vem sendo utilizada com sucesso para o mapeamento de peptídeos e proteínas. Com a Base de Dados do Genoma Café, torna-se possível a identificação das proteínas detectadas, a partir da busca de seqüências protéicas que correspondam aos peptídeos tripticos detectados por espectrometria de massa. Dessa forma, estudos da expressão de proteínas assim como as suas localizações espaciais nos diferentes tecidos podem facilitar a identificação de moléculas chave dos diferentes processos fisiológicos do café, a partir de análises integradas de genômica e proteômica. Neste estudo, foi demonstrado o mapeamento de íons durante vários estágios de desenvolvimento do fruto do café. Embriões e endospermas de *C. arabica* foram coletados e congelados em nitrogênio líquido. Depois deste procedimento, cada tecido foi imediatamente colocado em matriz (ácido alfa-ciano-4-hydroxicinâmico). Depois de 20 minutos, e deixados secar a temperatura ambiente por 10 minutos, fixados em placa por meio de fita adesiva dupla face, e submetidos à análise em espectrômetro de massa. A obtenção dos íons foi feita utilizando um UltraFlex II TOF/TOF operando em modo positivo. Os passos de varredura automática foram controlados por meio do software FlexImaging. A superfície de cada amostra foi rastreada em passos de 100 µm. Espectros foram obtidos a partir de 50 disparos de laser em cada posição do mapa global, consistindo 3000-6000 posições. O mapeamento dos componentes moleculares da superfície das amostras foi em uma faixa entre  $m/z$  4000 a 15000. Apesar da presença de vários componentes moleculares exibindo distribuição similar durante os diferentes estágios de desenvolvimento, outros componentes parecem ser expressos apenas em fases específicas. A caracterização desses íons e a sua possível co-localização espacial, podem ser usadas como pontos de partida para o direcionamento de estudos funcionais com vistas à elucidação de vias metabólicas importantes durante o desenvolvimento dos frutos de café.

Apoio: CBP&D-Café e FINEP.

---

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

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

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

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

## **010 - PADRÃO DE EXPRESSÃO ESPACIAL DE SEQÜÊNCIAS DE cDNA EM OVÁRIOS DE *Brachiaria brizantha* SEXUAL E APOMÍTICA (Spatial expression pattern of cDNA sequences in ovaries of sexual and apomictic *Brachiaria brizantha*)**

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

Apomixia é um modo de reprodução assexual em plantas. *Brachiaria brizantha* contém plantas sexuais e apomíticas com saco embrionário (SE) apospórico. Nesse trabalho foram caracterizadas sete seqüências de cDNA específicas de ovários de plantas apomíticas (clones 7, 10, 18, 20, 29, 30, 34), por hibridização *in situ*, durante o desenvolvimento de ovários de *B. brizantha* sexual e apomítica. Pistilos foram fixados, desidratados e incluídos. Sondas de RNA, senso e anti-senso, foram sintetizadas com "DIG RNA labeling kit - Roche". A sonda senso não apresentou sinal de hibridização. A sonda 07 apresentou sinais em todos os estágios de desenvolvimento de ovários de planta sexual e apomítica. Enquanto um forte sinal foi detectado no aparato da oosfera e na célula central de SE das plantas sexuais, nas plantas apomíticas o sinal foi restrito ao nucelo e tegumentos. A sonda 10 foi detectada apenas em ovários de plantas apomíticas antes da antese, no estágio maduro a detecção foi restrita às sinérgides. Sonda 18 hibridizou em óvulos de planta sexual e apomítica. Nos SE maduros de plantas apomíticas o sinal não foi detectado, enquanto em plantas sexuais ele estava presente em óvulos no mesmo estágio. Hibridização da sonda 20 foi restrita a óvulos de plantas apomíticas durante a megasporogênese. Sonda 29 mostrou sinal de hibridização durante o desenvolvimento do óvulo de planta apomítica. O sinal de hibridização da sonda 30 foi restrito às sinérgides de SE apospóricos antes da antese. O sinal da sonda 34 foi detectado em todas as células do SE apenas em óvulos maduros de plantas apomíticas. Estes modelos de expressão poderão ajudar na seleção de seqüências relacionadas ao início do desenvolvimento do SE apospórico, como o clone 20 e o clone 29 e ao desenvolvimento autônomo do embrião, como os clones 30 e 34. Os resultados obtidos nesse trabalho juntamente com o isolamento da seqüência de cDNA completa e determinação da sua identidade molecular poderão esclarecer o seu papel durante o desenvolvimento do óvulo e do saco embrionário.

Apoio: EMBRAPA, CAPES e CNPq.

---

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

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

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

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

# **Biologia Molecular**



**011 -  $\alpha$ -AMILASE DE *Acanthoscelides obtectus*: CLONAGEM E EXPRESSÃO HETERÓLOGA EM *Pichia pastoris* (*Acanthoscelides obtectus* a-amylase: cloning and heterologous expression in *Pichia pastoris*)**

Átila-Santos, D. <sup>1</sup>, Mulinari, F. <sup>2</sup>, Chrispeels, M.J. <sup>3</sup>, Grossi-de-Sá, M.F. <sup>4</sup>

Alfa amilases ( $\alpha$ -1,4-glucan-4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1) é um grupo de enzimas altamente distribuídas em microorganismos, plantas e animais que catalisa a hidrólise de ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 em amido e outros oligossacarídeos. Larvas de insetos como bruquídeos, que se alimentam de sementes, são extremamente dependentes de amido e utilizam  $\alpha$ -amilases para sobreviver. Desta forma, o estudo destas indispensáveis enzimas torna-se uma importante forma de melhor compreender e controlar estas pragas. Neste trabalho foi realizada a clonagem de um cDNA para a  $\alpha$ -amilase larval de *Acanthoscelides obtectus* por meio das técnicas de RACE-PCR. Foram desenhados oligonucleotídeos, a partir da seqüência de amilases de insetos, disponíveis no banco de dados e o cDNA foi amplificado, utilizando cDNA de larvas como molde. Obteve-se amplificação de fragmento de cerca de 1,5 Kb, seguido da clonagem em vetor pCR2.1 (Invitrogen) e seqüenciamento. Realizou-se então, a subclonagem do gene em vetor pPicZ aB sob controle do promotor AOX 1, para expressão heteróloga da  $\alpha$ -amilase em células de levedura *Pichia pastoris* GS 115. A transformação das células foi realizada com vetor digerido com Sac I e confirmada através de PCR de colônia utilizando oligonucleotídeos específicos do vetor pPicZ. A presença de duas bandas, uma indicando a inserção do gene (1,5 Kb) e outra correspondente ao gene AOX1 endógeno (2,2 Kb), indicam que os clones obtidos são Mut<sup>+</sup>. Foram realizados ensaios de detecção de atividade em meio de cultura sólido contendo amido e observou-se atividade de algumas colônias isoladas. Ensaios preliminares utilizando amido no meio de indução de culturas de leveduras mostraram degradação, detectada através de coloração do amido residual com iodo. A expressão heteróloga desta enzima visa auxiliar a detecção de inibidores específicos, bem como realizar estudos de estrutura, interação com substrato e/ou inibidores, buscando novas ferramentas de controle deste inseto-praga e melhor compreensão da sua fisiologia.

Apoio: EMBRAPA, PRONEX, CNPq, FAPERGS, CAPES e PROCAD.

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

<sup>2</sup>Farmacêutica, doutoranda, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., University of California San Diego, USA

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

**012 - ALTA RESISTÊNCIA AO *Bean golden mosaic virus* MEDIADA POR RNA INTERFERENTE EM PLANTAS TRANSGÊNICAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*) [RNAi-mediated high resistance to *Bean golden mosaic virus* in transgenic common bean (*Phaseolus vulgaris*)]**

Bonfim, K.<sup>1</sup>, Faria, J.C.<sup>2</sup>, Mendes, E.<sup>3</sup>, Lima, N.I.<sup>4</sup>, Aragão, F.J.L.<sup>5</sup>

A produção mundial de feijão dos gêneros *Phaseolus* e *Vigna* é superior a 12 milhões de toneladas, ocupando o Brasil o segundo lugar e o primeiro quando se trata apenas de *Phaseolus*. Entretanto, sua produção ainda está aquém do necessário para suprir a demanda interna. Dentre os principais problemas relacionados com a baixa produção de feijão no Brasil estão a competição com plantas daninhas, estresse hídrico e o ataque de pragas e doenças como o mosaico dourado do feijoeiro causado por um geminivírus. Este vírus é o mais importante economicamente, constituindo fator limitante para a produção de feijão, com perdas de 40 a 100%. Este trabalho propõe a construção de um vetor para transformação genética via biobalística utilizando a estratégia de RNA interferente (RNAi), para o desenvolvimento de linhagens resistentes ao *Bean golden mosaic virus* (BGMV). O gene da replicase (*AC1*) viral foi escolhido para a construção do vetor de transformação uma vez que a proteína (REP) exerce uma função essencial no ciclo de infecção viral. Uma seqüência de 411 pb do gene *AC1* foi escolhida por ser uma região conservada em geminivírus que infectam o feijoeiro e por ter baixa energia livre para formação de estruturas secundárias (usando o programa Mfold). O vetor pBGMVRNAiAHAS foi construído para expressão de um grampo com um íntron (hpRNA) e utilizado para transformação do feijoeiro através do processo de biobalística. Dezoito linhagens transgênicas foram obtidas, (utilizando-se um novo sistema de seleção que se mostrou mais eficiente, por meio do uso do herbicida sistêmico imazapyr). Uma linhagem se mostrou altamente resistente ao BGMV quando inoculado com mais de 300 moscas brancas virulíferas por planta. Essa linhagem foi caracterizada e revelou a presença de um único locus contendo os transgenes e a presença dos siRNA, mostrando que a resistência é mediada por RNA complementares aos RNA virais. Devido à sua importância social e econômica na América Latina e a falta de genes para resistência a doenças nos bancos de germoplasma, faz-se necessário o desenvolvimento de um programa de melhoramento associado à engenharia genética para o lançamento de novas variedades, que possibilitará a diminuição dos principais problemas relacionados com a produção de feijão.

Apoio: CAPES e FINEP

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

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph D., Embrapa Arroz e Feijão

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

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

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



**013 - ANÁLISE COMPARATIVA DE GENES ASSOCIADOS A APOMIXIA E SEXUALIDADE EM *Brachiaria brizantha* E *Paspalum notatum* (Comparative analysis of genes associated with apomixis and sexuality in *Brachiaria brizantha* and *Paspalum notatum*)**

Silveira, E.D.<sup>1</sup>, Lacerda, A.L.M.<sup>2</sup>, Alves, E.R.<sup>2</sup>, Laspina, N.V.<sup>3</sup>, Pessino, S.<sup>3</sup>, Carneiro, V.T.C.<sup>4</sup>

*Brachiaria* e *Paspalum* são forrageiras da família *Poaceae* e compreende diversas espécies organizadas em complexos agâmicos, incluindo espécies sexuais diplóides e apomíticas poliplóides. A apomixia é o modo de reprodução assexual por sementes. A identificação dos genes responsáveis pelo desenvolvimento apomítico tornaria possível a clonagem de híbridos por sementes, podendo aumentar a diversidade de plantas naturalmente apomíticas. A comparação de transcritos expressos em ovários e flores de *B. brizantha* e *P. notatum* apomíticos e sexuais permite a associação de genes relacionados aos dois modos de reprodução em ambas espécies. Já foram identificadas 11 cDNAs de *Brachiaria* e 11 de *Paspalum* diferencialmente expressos em plantas apomíticas e sexuais. Este trabalho visou comparar as sequências de *Brachiaria* e *Paspalum*, para determinar se existem sequências em comum e analisar a expressão dos genes diferencialmente expressos em uma espécie na outra. A comparação de sequências foi feita utilizando o BLAST e os estudos de expressão foram feitos utilizando northern reverso. A amplificação por RACE foi utilizada para isolar a sequência completa dos transcritos. Uma comparação inicial entre os dois grupos de sequências não revelou nenhuma homologia entre elas, podendo ser devido as seguintes hipóteses: 1) Os fragmentos de RNA estão em regiões diferentes do mesmo transcrito; 2) Os fragmentos foram isolados de estágios de desenvolvimento distintos; 3) O transcriptoma ainda não está completo; 4) Vias moleculares envolvidas no processo de reprodução apomítica nas duas espécies não estão diretamente relacionadas. Para descartar a hipótese 1, BLAST contra o banco nr foi feito e não foram identificados sequências comuns entre os dois bancos. Porém, foram identificadas uma MAPK (ID = 30979473) com maior expressão em ovários de *Brachiaria* apomítica e outra MAPK (ID = AK120290.1) com expressão reduzida em ovários de *Paspalum* apomítico. Também foram identificadas proteínas do citoesqueleto-proteínas alvo de MAPK- com expressão alterada. Os fragmentos isolados por RACE de dois clones de *Paspalum* foram clonados e estão sendo seqüenciados e analisados. Northern reverso foi feito para identificar transcritos expressos diferencialmente nas duas espécies. Essas análises irão permitir comparações entre os mecanismos de apomixia em *Paspalum* e *Brachiaria*.

Apoio: EMBRAPA, CNPq, CABBIO/CBAB – MCT e ANPCyT.

<sup>1</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, CNPq

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

<sup>3</sup>Bióloga, Universidad Nacional de Rosário, Argentina

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

## 014 - ANÁLISE DE EST'S DE BIBLIOTECAS DE OVÁRIO DE *Brachiaria brizantha* APOMÍTICA E SEXUAL EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO (Analysis of est's from libraries of apomictic and sexual *Brachiaria brizantha*'s ovaries in different developmental stages)

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

Apomixia é um modo de reprodução assexual por sementes, caracterizado pelo desenvolvimento autônomo do embrião, gerando uma progênie idêntica a planta mãe. Esta característica difere do modo de reprodução sexual em dois pontos: o saco embrionário é formado sem ocorrência de meiose e a diferenciação da oosfera é ativada para formação do embrião sem necessidade de fertilização pelo gameta masculino. A apomixia raramente é obrigatória e geralmente coexiste com a sexualidade na mesma espécie. Sugere-se que ela é a consequência de alteração nos mecanismos moleculares responsáveis pelo desenvolvimento do gameta feminino de plantas sexuais. Análises comparativas entre plantas sexuais e apomíticas estão sendo feitas, usando *Brachiaria* como modelo, uma vez que cerca de 85% de suas espécies reproduzem por apomixia. Em *B. brizantha*, de 275 acessos caracterizados somente um foi descrito como sexual diplóide, sendo os demais poliplóides apomíticos. EST's (*expressed sequence tags*) de quatro bibliotecas de cDNA de ovário de *B. brizantha* apomítica e sexual na megasporogênese e megagametogênese foram isolados, seqüenciados e anotados. Essas bibliotecas foram construídas usando o sistema SMART (Clontech®) e seqüenciados pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Após a análise de qualidade e trimagem, 1.430 seqüências de alta qualidade resultantes das quatro bibliotecas foram agrupadas em 1.228 transcritos putativos: 147 clusters e 1.081 singletons. Para anotação das seqüências, os transcritos resultantes foram comparados utilizando BLASTX contra seqüências disponíveis nos seguintes bancos de dados: nr, MIPS, SWISSPRO, KOG e o banco de *Zea mays*. A categorização funcional dos transcritos foi determinada baseando-se no GO (Gene Ontology) e na classificação feita pelo SUCEST. Os transcritos foram divididos em 19 classes funcionais, de acordo com o resultado das anotações. Alguns apresentaram alta homologia com seqüências já descritas na literatura, envolvidas no desenvolvimento reprodutivo de plantas. Dentre elas, proteínas do tipo agamous, fatores de transcrição do tipo MYB, proteína meiótica DMC, SKP1 e ARGONAUTA. Os resultados estão sendo utilizados em experimentos de expressão gênica, como northern reverso, RT-PCR em tempo real e hibridização in situ para a identificação e caracterização de transcritos relacionados ao modo de reprodução apomítico de *B. brizantha*.

<sup>1</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, CNPq

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

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

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

**015 - ANÁLISE FUNCIONAL DE GENES ENVOLVIDOS COM FITOPARASITISMO DE *Meloidogyne incognita* POR SILENCIAMENTO E SUPEREXPRESSIONE EM PLANTAS TRANSGÊNICAS DE GENES ESPECÍFICOS DE GLÂNDULAS ESOFAGIANAS (Functional analysis of *Meloidogyne incognita* phytoparasitism genes using silencing and superexpression of genes expressed in esophageal gland cells)**

Souza, D.S.L.<sup>1</sup>, Grossi-de-Sá, M.<sup>2</sup>, Romano, E.<sup>3</sup>, Teixeira, F.M.<sup>1</sup>, Pires, N.<sup>4</sup>, Rocha, T.L.<sup>3</sup>, Barbosa, A.E.A.D.<sup>5</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>6</sup>

Os fitonematóides do gênero *Meloidogyne* estão entre os mais prejudiciais para a economia agrícola mundial. Estes fitoparasitas são responsáveis por 95% de todas as infestações por nematóides das galhas no mundo e por perdas estimadas em mais de 80 bilhões/ano. A gravidade das perdas causadas por meloidoginoses tem estimulado há décadas programas de melhoramento direcionados na obtenção de variedades resistentes sem que, no entanto resultados satisfatórios tenham sido atingidos. Por outro lado, as técnicas de genômica funcional se constituem em importantes ferramentas na descoberta de função e identificação de genes essenciais para o fitoparasitismo, cujos produtos gênicos podem ser utilizados como moléculas alvo para o controle de fitonematóides. O presente estudo tem como objetivo avaliar a função de proteínas pioneiras e conservadas em diferentes espécies de *Meloidogyne* e identificar moléculas alvos para controle. Para isso, foram isolados 3 genes, X1, X2 e X3, expressos exclusivamente em glândulas esofagianas de *M. incognita*. Estes genes foram subclonados em vetores GATEWAY para expressão de RNAi e superexpressão de proteínas fusionadas a GFP. As construções foram utilizadas em transformação por *Agrobacterium tumefaciens* e as plântulas transgênicas expressando as proteínas de *M. incognita* em fusão com GFP foram analisadas quanto ao fenótipo e expressão de GFP em microscópio de fluorescência. As plântulas expressando a proteína X1 apresentaram fenótipo alterado em relação aos controles, caracterizado por um alongamento prematuro do caule anterior ao enraizamento. As plantas transgênicas, para a expressão de RNAi, foram inoculadas com ovos de *M. incognita* para avaliação de alterações do desenvolvimento de nematóides e potencial uso como estratégia de controle. As alterações resultantes do *knockout* gênico foram avaliadas por contagem de galhas, número de fêmeas, massa e número de ovos.

Apoio: EMBRAPA, FAPDF, CNPq e CAPES.

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

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

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

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

<sup>5</sup>Biólogo, doutorando, Universidade Católica de Brasília-UCB

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

## 016 - ANÁLISE FUNCIONAL DE GENES ENVOLVIDOS COM FITOPARASITISMO EM *Meloidogyne incognita* POR SOAKING RNAi (Functional analysis of pathogenicity genes of *Meloidogyne incognita* using soaking RNAi)

Grossi-de-Sá, M.<sup>1</sup>, Souza, D.S.L.<sup>2</sup>, Romano, E.<sup>3</sup>, Teixeira, F.M.<sup>2</sup>, Araújo, B.<sup>4</sup>, Rocha, T.L.<sup>3</sup>, Barbosa, A.E.A.D.<sup>5</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>6</sup>

Os fitonematóides dos gêneros *Heterodera*, *Globodera* e *Meloidogyne* configuram entre os patógenos mais danosos para a agricultura mundial, sendo responsáveis por perdas estimadas de 126 bilhões de dólares/ano. Desta forma, o desenvolvimento de variedades resistentes a estes fitoparasitas tem sido um objetivo perseguido há décadas pelo melhoramento genético sem que, no entanto resultados satisfatórios tenham sido atingidos. Por outro lado, a genômica funcional pode ser utilizada na identificação de genes essenciais para o fitoparasitismo cujos produtos gênicos podem ser utilizados como moléculas-alvo para o desenho de estratégias biotecnológicas de controle. No presente trabalho, estamos utilizando a técnica de RNA interferente para nocaute de expressão de genes conservados entre os gêneros *Heterodera*, *Globodera* e *Meloidogyne* e específicos de glândulas esofagianas (corismato mutase, calreticulina, *2E07*, *7E12* e *17H02*) com o objetivo de determinação da função e identificação de alvos potenciais para controle. Considerando que estes gêneros são fitoparasitas obrigatórios e, portanto refratários a qualquer ingestão oral fora de cistos vegetais, foi desenvolvida uma metodologia de *soaking* para induzir a ingestão de RNA dupla fita (dsRNA) baseada no uso de resorcinol como indutor de ingestão e FITC como marcador visual. Os dsRNAs correspondentes aos genes estudados foram sintetizados *in vitro* e a metodologia de *soaking* desenvolvida foi empregada para estimular a incorporação de dsRNAs por indivíduos J2 de *M. incognita*. O grau de silenciamento gênico foi avaliado por PCR em tempo real e hibridização *in situ*, conduzidos em nematóides recuperados de raízes. Alterações no desenvolvimento dos nematóides resultantes do *knockout* gênico foram avaliadas por contagem de galhas, número de fêmeas, massa e número de ovos.

Apoio: EMBRAPA, FAPDF, CNPq, CAPES.

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

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

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

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

<sup>5</sup>Biólogo, doutorando, Universidade Católica de Brasília- UCB

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

**017 - ANÁLISE *IN SILICO* DE GENES DE DEFESA DO CAFÉ EXPRESSOS EM RAMOS INFECTADOS POR *Xylella fastidiosa* (*In silico* analysis of defense genes expressed in coffee stems infected with *Xylella fastidiosa*)**

Rabello, F.R.<sup>1</sup>, Carazzolle, M.F.<sup>2</sup>, Martins, N.F.<sup>3</sup>, Campos, M.A.<sup>4</sup>, Silva, M.S.<sup>5</sup>, Silva, A.C.<sup>6</sup>, Mehta, A.<sup>3</sup>

Um dos problemas que afetam a cultura do café é o depauperamento da folha do cafeeiro (“Coffee Leaf Scorch” - CLS), causado pela bactéria *Xylella fastidiosa*. Esta bactéria forma agregados no xilema da planta, impossibilitando a passagem de água e nutrientes. Em virtude da importância econômica da cultura do café para o Brasil e das perdas causadas por *X. fastidiosa*, uma biblioteca de cDNA (RX1) foi construída utilizando ramos de cafeeiro infectados com esta bactéria e os ESTs foram incluídos no banco de dados do CafEST (Genoma Funcional de Café). Com o objetivo de identificar genes envolvidos nos processos de defesa de cafeeiro infectado com *X. fastidiosa*, foi realizada uma análise *in silico* dos ESTs de RX1. Foi analisado um total de 7.502 seqüências, que foram agrupadas em 5.523 clusters. A análise global desses clusters mostrou que a maior parte dos genes (cerca de 70%) está envolvida com metabolismo e processos fisiológicos celulares. Aproximadamente 1% dos ESTs está envolvido com estresse biótico e 2% com estresse abiótico. Foram encontrados ainda genes relacionados com a resposta a estímulos externos e ao estresse, diferenciação celular, entre outras funções. Dos 5.523 clusters da biblioteca RX1, 2.254 representam possivelmente genes únicos, pois não foram encontrados nas outras 32 bibliotecas do CafEST, construídas a partir de diferentes tecidos e condições biológicas. Muitos destes genes estão envolvidos com os processos de defesa da planta, incluindo aqueles que codificam oxidases, peroxidases, lipoxigenases, proteínas de resistência, entre outros.

Apoio: EMBRAPA.

---

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

<sup>2</sup>Físico, Ph.D., Universidade de Campinas-Unicamp

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

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade Federal de Lavras-UFLA

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Cerrados

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Café

## **018 - CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA 11S DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS E ENDOSPERMA EM SEMENTES DE CAFÉ (*Coffea arabica*) (Characterization of 11S protein in zygotic embryos and endosperm of coffee seeds)**

Koshino, L.L.N.<sup>1</sup>, Andrade, A.E.<sup>2</sup>, Ribeiro, V.S.<sup>3</sup>, Mundim, A.D.<sup>3</sup>, Silva, L.P.<sup>4</sup>, Bloch Jr., C.<sup>5</sup>, Franco, O.L.<sup>6</sup>, Eira, M.T.S.<sup>7</sup>, Teixeira, J.B.<sup>8</sup>, Mehta, A.<sup>9</sup>

Durante o desenvolvimento da semente de café, proteínas vão sendo depositadas, predominantemente nos cotilédones e no endosperma. As proteínas de reserva 11S são as globulinas mais abundantes na semente de café agindo como fonte de nitrogênio nas reações de torra e garantindo o sabor e aroma característicos. Este estudo teve como objetivo analisar a proteína 11S de estoque presente na semente de café. Proteínas foram extraídas da semente inteira, e também do endosperma e embrião de café, isoladamente. Em seguida, as proteínas foram analisadas por eletroforese bidimensional (2-DE) e posteriormente por espectrometria de massa. O mapa 2-DE da semente inteira revelou aproximadamente 70 proteínas. Os géis de embrião e endosperma revelaram aproximadamente 120 e 80 proteínas, respectivamente. Os spots mais abundantes observados no gel de proteínas de semente inteira foram excisados, tripsinizados e identificados como subunidades da proteína 11S através de espectrometria de massa. Foi obtida uma cobertura de seqüência de peptídeos de aproximadamente 20% de toda a proteína 11S. Spots com o mesmo pI e massa molecular foram também observados no perfil de proteínas do endosperma e embrião, indicando que a proteína 11S é também muito expressa nesses tecidos. Foi possível identificar algumas destas proteínas, que mostraram identidade com a proteína de reserva 11S de café. Duas proteínas diferenciais presentes apenas no endosperma foram analisadas por espectrometria de massa e identificadas através de seqüenciamento de novo como uma globulina da mesma família da 11S (Cupin superfamily) e uma proteína alergênica (Pru ar 1).

Apoio: Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café.

---

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

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

<sup>3</sup>Estudante Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

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

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

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Café

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

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

**019 - CARACTERIZAÇÃO DE BIBLIOTECAS SUBSTRATIVAS DE cDNA DE GENÓTIPOS SUSCETÍVEL E RESISTENTE DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum*) INFECTADOS COM *Meloidogyne incognita* (cDNA subtractive libraries of susceptible and resistant genotypes of cotton (*Gossypium hirsutum*) infected with *Meloidogyne incognita*)**

Rocha, S.R.<sup>1</sup>, Paes, N.S.<sup>2</sup>, Sales, R.M.O.B.<sup>3</sup>, Silva, F.R.<sup>4</sup>, Gurgel, F.L.<sup>5</sup>, Carneiro, R.M.D.<sup>5</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>6</sup>, Mehta, A.<sup>6</sup>

A produção de algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum*) no Brasil concentra-se nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Nordeste, e é de grande expressão socioeconômica para os setores primário e secundário. Entretanto, as pragas e doenças, incluindo a infecção pelo nematóide de galhas *Meloidogyne incognita*, representam um fator limitante para a sua exploração. O objetivo deste estudo foi construir bibliotecas substrativas utilizando o cDNA de raízes do genótipo suscetível e resistente de algodão infectados com *M. incognita*. As raízes das plantas foram inoculadas com aproximadamente 4.000 larvas de *M. incognita* e coletadas 3, 6 e 9 dias após a infecção. Foi realizada extração de RNA utilizando-se Concert Plant RNA Reagent (Invitrogen) e construção das bibliotecas de cDNA utilizando o kit PCR-Select cDNA Subtraction (Clontech). As seqüências de cDNA diferenciais, obtidas após as etapas de PCR primário e PCR secundário foram visualizadas em gel de agarose. A maioria dos fragmentos apresentou tamanhos de 0.1 a 1.5 Kb e foram clonados em vetor pGem-T-Easy (Promega). Um total de 628 seqüências válidas foram obtidas, considerando-se a ocorrência de insertos maiores que 30 pb, e com no mínimo 20 nucleotídeos com qualidade phred maior que 20. O agrupamento das seqüências revelou 284 *clusters* e um índice de novidade de aproximadamente 45%. Deste total, 169 *clusters* foram formados por uma única seqüência e o maior cluster agrupou 25 seqüências. O cluster mais populoso mostrou similaridade com a proteína RNase S-like protein, envolvida na defesa contra patógenos. Outros genes envolvidos com a interação planta-patógeno foram identificadas incluindo oxidase, metiltransferase e cisteína-protease.

Apoio: EMBRAPA e FAPDF/CNPq.

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

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

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

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

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

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



## 020 - CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE FILOGENÉTICA DE RETROTRANSPOSONS LTR EM TRÊS DIFERENTES ESPÉCIES DE *Arachis* (Characterization and phylogenetic analysis of LTR retrotransposons in three different *Arachis* species)

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

Retrotransposons são elementos que se movem no interior das células de diversos organismos podendo constituir cerca de 70% do genoma de espécies vegetais. Podem servir como agentes mutagênicos e também participar de rearranjos e eventos de recombinação. Normalmente esses elementos estão inativos, mas podem retomar a atividade a partir de eventos como hibridização interespecífica e poliploidização. As espécies de *Arachis* são divididas em 9 seções taxonômicas apresentando três diferentes genomas A, B e D sendo que na seção *Arachis* existem cerca de 27 espécies, 25 diplóides com genomas AA e BB e duas tetraplóides com genomas AABB. O objetivo deste trabalho foi o de analisar a distribuição e relações filogenéticas de retrotransposons nos genomas de três espécies da seção *Arachis*: *A. hypogaea* (AABB) e as espécies parentais *A. ipaënsis* (BB) e *A. duranensis* (AA), visando determinar espécies com genomas mais compatíveis com o do amendoim e guiar cruzamentos em programas de melhoramento genético. Foram desenhados primers específicos para a amplificação da seqüência da enzima transcriptase reversa nas três espécies e os fragmentos obtidos clonados e seqüenciados, sua homologia foi determinada por BLASTn e BLASTx. Através de Genome Walking, foi possível montar um contig de aproximadamente 5Kb e dar início ao conhecimento da organização da seqüência do Retrotransposon. A análise filogenética mostrou que a maior parte das seqüências de aminoácidos da transcriptase reversa se agrupou de acordo com a espécie de origem, com exceção daquelas originadas de *A. hypogaea*, que se distribuíram uniformemente nas diferentes clades. A distribuição das seqüências das espécies silvestres indica que o elemento repetitivo pode ter perdido sua atividade anteriormente no genoma de *A. ipaënsis*, tendo tido uma ação mais prolongada no genoma de *A. duranensis*. Além disso, a distância média entre os grupos de aminoácidos indica que o genoma de *A. ipaënsis* vem sofrendo mais mutações não-sinônimas ao longo do tempo se comparada com *A. duranensis* sugerindo que houve perda de função da proteína.

Apoio financeiro: CAPES, União Européia (ARAMAP).

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

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

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

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

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



## 021 - CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE NOVOS PROMOTORES ISOLADOS DE SOJA E ALGODÃO (Functional characterization of new promoters from soybean and cotton)

Guimarães, L.M.<sup>1</sup>, Pontes, N.<sup>2</sup>, Viana, A.A.B.<sup>3</sup>, Batista, J.A.N.<sup>4</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>

O algodão (*Gossypium* sp.) é uma das mais importantes culturas mundiais, considerada a mais importante das fibras têxteis. O Brasil é um dos maiores produtores de algodão do mundo. No entanto, o seu nível de produtividade é altamente influenciado por problemas na agricultura, como o controle de insetos-praga, que gera custos de cerca de 25% do valor total do custo de produção. Dentre os insetos-praga, o bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*) é o causador de maiores danos e, devido ao seu hábito alimentar endofítico em botões florais, seu controle pelo uso de inseticidas torna-se ineficiente. A produção de plantas geneticamente modificadas, expressando proteínas que confirmam à planta resistência aos insetos-praga vem sendo utilizada com bastante sucesso. Porém, para a obtenção de plantas transgênicas com níveis adequados de proteínas entomotóxicas que confirmam resistência à planta, a utilização de promotores que promovam a expressão em locais específicos da planta é extremamente importante. Poucos promotores efetivos para expressão no botão floral de plantas de algodão são disponíveis atualmente. Com o objetivo de obter seqüências capazes de possibilitar a expressão de proteínas heterólogas no algodoeiro, foram isoladas as regiões promotoras de duas proteínas que se expressam com níveis elevados no botão floral de plantas de algodão e soja, por meio da técnica de Tail-PCR. Essas seqüências foram subclonadas nos vetores pCAMBIA associados ao gene repórter *gus*, para a posterior transformação das plantas de *Arabidopsis thaliana*. A expressão temporal e espacial em diferentes partes dos transformantes foi analisada e quantificada através de ensaios histoquímicos e fluorimétricos. Os resultados mostraram que os promotores isolados promoveram níveis elevados de expressão em todos os tecidos avaliados, destacando-se a alta expressão no botão floral, quando comparado ao promotor constitutivo 35S duplicado, atualmente disponível. Desta forma, estes promotores constituem uma importante ferramenta biotecnológica para a geração de variedades de algodoeiro transgênico resistente ao *A.grandis*. Recentemente, esses promotores foram introduzidos em plantas de soja e algodão, através da técnica de biobalística, para verificar o padrão de expressão do gene repórter nestas culturas. Os possíveis transformantes estão em fase de desenvolvimento em casa de vegetação para posterior análise.

Apoio: EMBRAPA, CNPq, CAPES, FACUAL e FIALGO.

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

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

<sup>3</sup>Biólogo, M.Sc., Universidade de Brasília-UnB

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

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

**022 - CARACTERIZAÇÃO PROTEÔMICA DA CEPA S811 DE *Bacillus thuringiensis* E SUA RELAÇÃO COM A TOXICIDADE PARA *Anthonomus grandis* E *Spodoptera frugiperda* EM DIFERENTES ESTÁGIOS DO CICLO DE VIDA (Proteomic characterization of *Bacillus thuringiensis* S811 strain and its relation to the toxicity towards *Anthonomus grandis* and *Spodoptera frugiperda* in different stages of the life cycle)**

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

O *Bacillus thuringiensis* (Bt) é uma bactéria esporulante que possui propriedade conhecida de produção de proteínas com atividade entomopatogênica, tais como  $\delta$ -endotoxinas, toxinas Cry, VIPs (Vegetative Inseticidal Proteins), Cyt,  $\alpha$ -exotoxinas que conferem a toxicidade desta bactéria contra diversas ordens de insetos. No intuito de se encontrar novas proteínas entomopatogênicas, foi realizado o cultivo da bactéria e análise por microscopia de contraste de fase para a determinação de estágios vegetativos e de esporulação, sendo estes estágios: 8 horas após a inoculação (HAI) (período de crescimento exponencial no qual há predominância de proteínas vegetativas); 16 HAI (início da formação de esporos); 24 HAI (onde é possível observar esporos e cristais intracelulares) e 32 HAI (período de esporulação onde conseguimos observar esporos e cristais livres no meio). Proteínas intracelulares e do sobrenadante da cultura de Bt em cada um dos estágios analisados foram utilizados em bioensaio contra larvas de *Anthonomus grandis* e *Spodoptera frugiperda*, bem como para a obtenção de mapas de referências por eletroforese bidimensional. Proteínas específicas dos estágios (8h intracelular e 32h extracelular) que apresentavam maior toxicidade contra *Anthonomus grandis* foram excisadas dos géis e identificadas por espectrometria de massa. Até o momento foram identificadas nove proteínas sendo quatro da fração intracelular e cinco do sobrenadante da cultura. Dentre as proteínas identificadas destaca-se uma proteína de ligação à quitina a qual pode estar relacionada com a toxicidade da cepa.

---

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

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

<sup>3</sup>Auxiliar de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

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

## **023 - CLONAGEM E CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO DO GENE *MIPS* DE MARACUJAZEIRO (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) (Cloning and characterization of *MIPS* gene expression from *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)**

Abreu, E.F.M.<sup>1</sup>, Fischmann, G.P.A.<sup>2</sup>, Aragão, F.J.L.<sup>3</sup>

A mio-inositol-1L-fosfato sintase (MIPS) é a enzima responsável pela conversão de D-glucose 6-fosfato a 1-L-mio-inositol-1-fosfato, primeiro e limitante passo na via de síntese de todos os compostos derivados do inositol. Os inositol-fosfolipídios, assim como outros compostos derivados do inositol, têm um papel fundamental no tráfico de membrana e rotas de sinalização, estocagem e transportes de auxinas, biossíntese de ácido fítico e parede celular, e produção de moléculas relacionadas ao estresse. No presente trabalho, foi caracterizado um cDNA do gene *MIPS* de sementes de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (*PeMIPS*) e investigado a sua expressão espacial, bem como mudanças na transcrição em plantas submetidas ao estresse causado pelo frio e calor. Para estas análises, uma seqüência do gene *MIPS* foi isolada por PCR e os níveis dos transcritos foram analisados usando RT-PCR semi-quantitativo durante o desenvolvimento da semente, óvulo, grão-de-pólen, folha, caule, pétala, glândula foliar e em resposta ao estresse. A seqüência completa do cDNA do gene *PeMIPS* foi isolada, clonada e caracterizada. Adicionalmente, o número de cópias do gene *PeMIPS* clonado foi determinado por análise de Southern blot no genoma de *Passiflora edulis*, *Passiflora eichleriana*, *Passiflora caerulea*, *Passiflora nitida* e *Passiflora coccinea*. Estas análises indicaram que o DNA genômico pode conter diversas seqüências de outros genes *MIPS*, mas uma única cópia do gene *PeMIPS* clonado foi encontrado no genoma de *P. edulis*, *P. eichleriana*, *P. caerulea*, *P. nitida* e *P. coccinea*. A análise da expressão por RT-PCR revelou a presença de transcritos de *PeMIPS* em óvulos, grãos-de-pólen, folhas e durante os estágios do desenvolvimento da semente, com um pico nove dias após a polinização. Verificou-se, ainda, que o gene *PeMIPS* é diferencialmente regulado sob condições de estresse causado pelo frio e calor em resposta a presença ou ausência de luz. Portanto, o presente trabalho sugeri que o *PeMIPS* tem um importante papel no estabelecimento de programas de desenvolvimento e na resposta das plantas a mudanças ambientais.

---

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

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

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

## 024 - CONSTRUÇÃO DE BACULOVIRUS RECOMBINANTE OCLUSO POSITIVO CONTENDO O INIBIDOR ALPHA-AMILASE BIII DE CENTEIO (Construction of a occluded positive recombinant baculovirus with the BIII alpha-amylase inhibitor from rye)

Sisson, D.<sup>1</sup>, Sihler, W.<sup>2</sup>, Dias, S.C.<sup>3</sup>, Souza, M.L.<sup>4</sup>

O bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*) é uma das pragas mais importantes da cultura do algodão. A principal forma de controle desta praga tem sido feita pela utilização de produtos químicos, que além de caros, causam danos ao meio ambiente e a saúde humana. As  $\alpha$ -amilases são enzimas monoméricas, essenciais ao crescimento e ao desenvolvimento de muitos insetos, especialmente daqueles que vivem em sementes e grãos ricos em amido. Um inibidor de  $\alpha$ -amilase denominado BIII foi isolado de sementes de centeio (*Secale cereale*) e ensaios de atividade inibitória in vitro detectaram a capacidade de inibir 90% das  $\alpha$ -amilases no intestino de larvas de *A. grandis*. Utilizando a técnica de PCR um fragmento de 311pb deste gene foi amplificado codificando um peptídeo de 103 aminoácidos contendo motivos de interação da enzima. Neste trabalho, foi apresentada a subclonagem deste fragmento gênico referente ao BIII e sua expressão em sistema baculovírus, que permite a produção de grandes quantidades de proteína em ambiente eucariótico. O fragmento de DNA contendo o gene BIII foi subclonado no vetor de transferência pSynXIV VI<sup>+</sup>X3, contendo promotores de regulação para expressão da poliedrina e de gene heterólogo. A construção obtida foi recombinada com o vírus parental vSyn VI gal, originalmente ocluso negativo (sem formação do cristal poliedrico), com marcador de seleção colorimétrica sobre a b-galactosidase. O recombinante obtido apresenta um fenótipo ocluso positivo, branco (com o gene *lac-z* interrompido). Um clone viral, denominado vBII, foi obtido após três purificações em placa ("plaque assay"). A presença do inserto no vírus foi confirmada através de PCR obtido da amplificação do DNA do vírus recombinante com os oligonucleotídeos específicos (BIII FOR2 e BIII VER) foi de aproximadamente 300 pb, condizente com o valor de 311 pb esperado. As alterações morfológicas celulares após infecção com o recombinante revelaram a formação do vírus ocluso (poliedros) no núcleo da célula. Testes de expressão da proteína foram conduzidos para detecção da mesma em infecções em cultura de células de inseto (Tn 5B14). Análise por eletroforese em gel de poliacrilamida revelou a presença de uma banda de cerca de 11 KDa, embora fraca, correspondendo ao peso molecular da proteína BIII. Como esperado, devido a presença do gene *polh*, uma banda de 30 KDa equivalente ao peso molecular da poliedrina foi visualizada. Após sua produção e purificação, o inibidor BIII deverá ser utilizado em estudos bioquímicos e na realização de bioensaios contra bicudo.

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

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

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

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

## 025 - CONSTRUÇÃO DE BACULOVIRUS RECOMBINANTES CONTENDO O GENE DA RENINA (Construction of recombinant baculovirus with the renin gene)

Mendes, D.N.<sup>1</sup>, Neves, F.A.R.<sup>2</sup>, Simeoni, L.A.<sup>3</sup>, Sihler, W.<sup>4</sup>, Souza, M.L.<sup>5</sup>

Baculovirus é empregado como ferramenta biotecnológica para expressão de grande quantidade de proteínas heterólogas capazes de fazer mudanças pós-traducionais que ocorrem em eucariotos superiores. A renina humana é uma enzima circulante produzida principalmente pelos rins em resposta a estímulos tais como queda da pressão arterial e estimulação simpática. Neste trabalho, dois diferentes sistemas de expressão que utilizam baculovirus foram empregados para produção dessa proteína. A renina é uma glicoproteína e a escolha do vetor baculovirus foi pelo fato desse sistema ser capaz de promover uma glicosilação similar à de mamíferos. Inicialmente, um fragmento de 1,4 Kb, contendo o gene da preprorenina, foi inserido no plasmídeo pSynXIV VI<sup>+</sup>X3. Este plasmídeo foi cotransfectado com o DNA do vSyn VI-gal em células de insetos para gerar, por recombinação homóloga, um vírus ocluso positivo. O novo vírus denominado vRen contém o gene da renina bem como o gene da poliedrina, o principal componente do corpo de oclusão (poliedro). Utilizando um segundo vetor de expressão, *Bac-to-bac system* (Invitrogen), o qual encontra-se comercialmente disponível, um vírus recombinante ocluso negativo foi gerado e chamado de vRenbac. A análise das proteínas virais sintetizadas foi feita por eletroforese em gel de poliacrilamida-SDS após pulso radioativo com <sup>35</sup>S-metionina em diferentes tempos pós-infecção (0h, 24h, 48h, 72h). Como esperado, o perfil protéico mudou durante a infecção, levando a um desligamento da síntese de proteínas da célula hospedeira e ao aumento da síntese das proteínas virais. Em estágios tardios da infecção com o vírus recombinante ocluso positivo vRen, além da banda de 30 kDa (poliedrina) uma banda de cerca de 35 kDa esteve presente nas células infectadas. Entretanto, nos estágios tardios da infecção com o vírus ocluso negativo (vRenbac), duas proteínas de aproximadamente 35 e 50 kDa estiveram presentes. Sabe-se que o tamanho da renina, por ser uma glicoproteína, pode ser modificado pela adição de cadeias laterais de carboidratos. Estudos, utilizando análises imunológicas, estão sendo feitos para confirmar se as bandas encontradas correspondem à renina. Além disso, para análise de virulência dos vírus obtidos foi feita infecção de larvas de *Anticarsia gemmatalis* e de *Spodoptera frugiperda* por ingestão oral e por injeção do inseto. Ensaio com larvas de *S. frugiperda* mostrou 100% de mortalidade para os dois recombinantes. No caso das larvas de *A. gemmatalis* o vírus não ocluso (vRenbac) causou mortalidade de 67%, enquanto que o vírus ocluso (vRen) causou mortalidade de 62% e houve mudança de coloração da cutícula do inseto de verde para cor rosa.

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

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

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

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

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

**026 - CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECA DE CDNA E CLONAGEM DO GENE DA ENZIMA Δ6-DESATURASE DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS ÔMEGA-3 DA MICROALGA MARINHA *Thalassiosira fluviatilis* (Gene cloning of omega-3 polyunsaturated fatty acid Δ6-desaturase enzyme of marine microalgae *Thalassiosira fluviatilis*)**

Citadin, C.T.<sup>1</sup>, Almeida, E.R.P.<sup>2</sup>, Derner, R.B.<sup>3</sup>, Martins, N.F.<sup>2</sup>, Monte, D.C.<sup>4</sup>

Estudos têm demonstrado que os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), principalmente os ácidos graxos ômega-3, como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), são componentes de fundamental importância na dieta humana. Seu consumo tem sido associado a diversos benefícios à saúde, em especial, melhor desenvolvimento do cérebro e da capacidade cognitiva, melhor desenvolvimento da retina e redução significativa dos riscos de doenças cardiovasculares e degenerativas do cérebro. Esses ácidos graxos são encontrados principalmente em peixes de águas frias, mas vários estudos indicam que provêm da ingestão de organismos do zooplâncton, os quais têm as microalgas como seu principal alimento. Nos últimos anos observou-se grande interesse no estudo de organismos ricos em PUFAs, como as microalgas marinhas. Abordagens bioquímicas e genômicas vêm sendo utilizadas, sendo que foram clonados alguns genes codificadores para enzimas importantes da sua rota biossintética e reportadas algumas iniciativas de reproduzir essa via através da engenharia genética de plantas. Este trabalho visou construir biblioteca de cDNA da microalga marinha *Thalassiosira fluviatilis*, alta produtora de EPA e DHA e de clonar o gene da Δ6-desaturase, uma importante enzima da rota biossintética. A biblioteca de cDNA foi construída no vetor DNRLib (*Creator SMART cDNA Library Construction Kit - Clontech*), validada e os clones se encontram em fase de sequenciamento. Utilizando-se a técnica de PCR aliada a primers específicos desenhados com base na seqüência gênica de uma Δ6-desaturase de *T. pseudonana* obtida no *Genbank*, um fragmento de DNA de aproximadamente 670 bp foi amplificado, a partir do cDNA de *T. fluviatilis*. Este fragmento foi clonado no vetor TOPO 2.1 TA. O DNA plasmidial foi extraído utilizando o *Kit FlexiPrep* da *Amersham Biosciences* e o sequenciamento foi realizado em sequenciador automático ABI 377 da *Applied Biosystems*. Muito embora não tenham sido encontrados valores similaridade da seqüência nucleotídica obtida com outras seqüências do *Genbank*, quando utilizado o programa *tblastx*, encontrou-se 97% de identidade com a seqüência protéica da Δ6-desaturase de *T. pseudonana*. Esse fragmento gênico está sendo utilizado como sonda na busca do gene completo através das técnicas de RACE e de hibridização de colônias da biblioteca de cDNA. O sequenciamento em larga escala da biblioteca de cDNA permitirá a identificação de vários genes envolvidos na síntese de PUFAs, gerando ferramentas moleculares para melhoramento de sementes oleaginosas e outros alimentos, em seus teores de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3.

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

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

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC

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

## **027 - CONSTRUÇÃO DE MACROARRANJOS DE DNA, A PARTIR DO UNIGENE CAFÉ, PARA A IDENTIFICAÇÃO DE GENES DE INTERESSE AGRONÔMICO (Construction of coffee macroarrays based on the coffee unigene set for identification of candidate genes of agricultural importance)**

Vinecky, F.<sup>1</sup>, Brito, K.M.<sup>2</sup>, Vieira, N.G.<sup>3</sup>, Ferreira, D.L.A.<sup>3</sup>, Sales, R.M.O.B.<sup>4</sup>, Silva, F.R.<sup>5</sup>, Andrade, A.C.<sup>6</sup>

Com a conclusão do projeto Genoma Café, está disponível um banco de dados contendo uma parcela significativa dos genes expressos em café (transcriptoma), relacionados às diversas condições de estresse submetidas e aos órgãos/tecidos utilizados na construção das bibliotecas. No entanto, além da geração de um banco de ESTs, torna-se necessário a realização de uma análise prospectiva e discriminatória dos fatores genéticos determinantes ou associados com determinadas características fenotípicas de interesse agronômico. Este trabalho tem como principal objetivo realizar esta análise através da comparação dos transcriptomas de café associados a um determinado fenótipo de interesse. Para isto, um conjunto "Unigene" contendo apenas o clone mais significativo de um determinado grupo de transcritos altamente similares (normalmente alelos) foi construído a partir da análise dos dados do projeto Genoma Café. O Unigene Café contendo cerca de 30 mil genes, será arranjado em membranas de nylon (Macroarranjos) que serão utilizadas em experimentos de hibridização com sondas marcadas radioativamente, sintetizadas a partir de mRNA obtido de genótipos contrastantes ou submetidos a diferentes tratamentos. Estes experimentos serão realizados por grupos de pesquisadores distribuídos em pólos de pesquisa em melhoramento genético e biotecnologia do cafeeiro, com membros situados em quatro estados: MG, SP, PR e DF. Todos os resultados das análises serão centralizados e organizados em uma base de dados única, facilitando a integração e o acesso às informações geradas durante a execução do projeto. Neste projeto serão identificados novos genes com potencial utilização como marcadores em programas de seleção assistida, ou com potencial aplicação em biotecnologia. O conhecimento gerado terá, sem dúvida, impacto em outras áreas do conhecimento tais como fisiologia e bioquímica vegetal, resultando em maior entendimento da biologia e bases moleculares das interações agronômicas de uma das mais importantes espécies cultivadas da agricultura brasileira. Mais importante, o aparelhamento das equipes, seu treinamento em genômica e a consolidação da rede de colaboração técnico-científica levará a um salto qualitativo na pesquisa genética do cafeeiro no Brasil.

Apoio: CBP&D/Café e FINEP.

---

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

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Faculdades JK

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

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

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

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



## 028 - CONSTRUÇÃO DE VETORES PARA TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE ALGODOEIRO VISANDO RESISTÊNCIA À INSETOS-PRAGA (Vectors construction for genetic transformation of cotton plants aiming resistance against insects)

Lourenço, I.T.<sup>1</sup>, Fragoso, R.R.<sup>2</sup>, Rocha, T.L.<sup>3</sup>, Elpídio, W.<sup>4</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>

A cultura do algodão é uma das principais atividades agrícolas no Brasil. No entanto, sua susceptibilidade à insetos-praga gera perdas na produção, que representam um grande problema econômico. A estratégia mais promissora para o controle dos insetos-praga, *Anthonomus grandis* e *Spodoptera frugiperda* é o desenvolvimento de uma variedade de algodoeiro geneticamente modificado expressando proteínas entomotóxicas. Os transgenes escolhidos para a transformação de algodoeiro foram *cry1la12* e *cry8Ha*, que codificam proteínas cristais de *Bacillus thuringiensis*, e *btcii*, isolado de *Vigna unguiculata* e codificador de um potente inibidor de serino proteinases. Primeiramente, um cassete de expressão foi clonado no vetor de transformação de plantas pCAMBIA2300. Esse cassete foi gerado pela fusão de um promotor viral duplicado (35Sd CaMV), um sítio múltiplo de clonagem (pUC19), uma região 5'UTR de vírus (AMV), com potencial de aumentar a taxa de tradução, seguido de uma região terminadora de transcrição (tNOS). Três vetores foram construídos clonando cada transgene individualmente. Adicionalmente, foi construído um quarto vetor dotado de dois cassetes de expressão, codificadores de *btcii* e *cry1la12*. Esses vetores estão sendo utilizados na transformação de algodão via tubo polínico e via *Agrobacterium tumefaciens* para futuros testes *in planta*, através de bioensaios, de eficiência dos transgenes no controle dos insetos-praga.

---

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

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

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

<sup>4</sup>Biologia, graduando, Faculdade Integradas da Terra de Brasília-FTB

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



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

Costa, P.M.<sup>1</sup>, Barros, E.V.S.A.<sup>2</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>3</sup>, Martins, N.F.<sup>4</sup>, Paes, N.S.<sup>5</sup>, Mehta, A.<sup>4</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>4</sup>

O café é um dos principais produtos do agronegócio na pauta de exportação. Do total da produção nacional, 76,4% corresponde ao tipo *Coffea arabica*, a qual é altamente suscetível a pragas, doenças e fitonematóides. Uma das espécies mais impactantes sobre esta cultura é o *Meloidogyne paranaensis*, que causa grandes perdas devido a depauperização da planta, pois o patógeno induz as células do hospedeiro a funcionarem continuamente como fonte de nutrientes para os estágios de parasitismo. O propósito do trabalho foi realizar uma análise molecular da interação cafeeiro-nematóide utilizando a genômica funcional. Foram isoladas seqüências gênicas referentes à expressão diferencial em resposta à infecção de *M. paranaensis*. Plantas suscetíveis e resistentes de *C. arabica* foram submetidas ao inóculo de *M. paranaensis*. A partir dos RNAs contrastantes isolados na condição do estresse biótico causado pelo patógeno, foi confeccionada uma biblioteca subtrativa de cDNA. Os cDNAs diferenciais foram clonados e seqüenciados. De acordo com a análise dessa biblioteca, obteve-se 128 seqüências de clones, sendo que destes 80 formaram 21 contigs, enquanto que os 48 restantes permaneceram singletons. Foram encontrados alguns genes relacionados à resposta de estresse biótico, assim como seqüências sem homólogos conhecidos. Após a análise destes genes no Gene Ontology (GO), foram verificadas as proteínas associadas à suscetibilidade, como por exemplo, o sintoma da oncogênese (formação de células gigantes). E as proteínas relacionadas à resistência, tal como a proteína G que acarreta a resposta de hipersensibilidade (HR).

Apoio: EMBRAPA, Consórcio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Pronex e FAD-DF.

---

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

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

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

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

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

### 030 - DESCRIÇÃO DE SEQÜÊNCIAS HOMÓLOGAS AO GENE HOMEÓTICO AGAMOUS EM *Brachiaria brizantha* (Description of homologs sequences of the homeotic genes Agamous in *Brachiaria brizantha*)

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

Os genes AGAMOUS pertencem à família dos fatores transcricionais do tipo MADS-box e já foi demonstrada sua relação com o desenvolvimento de órgãos florais de plantas. Portanto, a caracterização desses genes homeóticos é importante para o entendimento dos processos envolvidos na diferenciação dos órgãos reprodutivos. *Brachiaria brizantha* constitui um complexo agâmico com plantas de reprodução sexual e apomítica. A apomixia é o modo de reprodução assexual por meio de sementes, em que o saco embrionário é formado de uma célula não reduzida. O desenvolvimento do embrião se dá de modo autônomo, ou seja, sem fertilização da oosfera. O objetivo deste trabalho foi analisar o perfil de expressão de genes AGAMOUS em *B. brizantha*, visando relacionar a atuação destes genes com a sexualidade e a apomixia, que é encontrada em mais de 300 espécies de angiospermas. Foram identificadas EST's (*expressed sequence tags*) que apresentavam similaridade a proteínas AGAMOUS em bibliotecas de cDNA de ovários em megasporogênese e megagametogênese de *B. brizantha* apomítica (BRA00591) e sexual (BRA002747). Para análise do perfil de expressão dos contigs resultantes (denominados 38 e 119) em diferentes órgãos e momentos do desenvolvimento reprodutivo foi realizado macroarranjo, desenhados iniciadores específicos e realizada reação de RT-PCR. Foi verificado que os contigs 38 e 119 apresentam o domínio K, que pode estar envolvido na interação proteína-proteína. O contig 38, que possui a região codante completa, apresenta identidade com dois genes de milho, ZAG3 (AAB00078) e ZAG5 (AAB00079), e domínio MADS-box de ligação ao DNA. O contig 119 apresenta identidade com proteínas MADS-box de milho, arroz e com AGL9 de *Hordeum vulgare* (AAS48129). Resultados de macroarranjo e RT-PCR demonstraram a expressão do contig 38 em folhas e ovários de plantas apomíticas e sexuais. Reação de PCR foi feita para ampliar o contig 119. Para determinação do papel destes fatores de transcrição no desenvolvimento de tecidos reprodutivos de *B. brizantha* apomítica e sexual e para análise de uma possível função regulatória da diferenciação dos dois modos de reprodução, hibridização *in situ* também está sendo realizada.

Apoio: EMBRAPA e CNPq.

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

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

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

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

### 031 - DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE DE POLIMORFISMO DE MICROSSATÉLITES TETRA E PENTANUCLEOTÍDEOS EM TRÊS ESPÉCIES DE *Eucalyptus* (Development and analysis of polymorphism of tetra and pentanucleotide based microsatellites in three *Eucalyptus* species)

Sansaloni, C.P.<sup>1</sup>, Pappas Júnior, G.J.<sup>2</sup>, Grattapaglia, D.<sup>3</sup>

Espécies do gênero *Eucalyptus* apresentam rápido crescimento e suprem, de forma sustentável, a demanda por biomassa lenhosa. O melhoramento genético é componente chave no processo de manutenção da sustentabilidade de florestas plantadas. Marcadores microsatélites podem ser usados de forma eficiente para resolver questões de gerenciamento da variabilidade genética e identificação individual em populações de melhoramento e produção. A análise de locos microsatélites em sistemas “multiplex” (i.e. vários locos analisados simultaneamente) se baseia em microsatélites dinucleotídeos. No entanto, há necessidade de um conjunto de locos de maior robustez e de mais fácil interpretação, o que permitiria uniformizar e comparar perfis genotípicos entre laboratórios e plataformas de análise. Este estudo visa desenvolver um sistema robusto de genotipagem baseado em microsatélites de tetra e pentanucleotídeos que permitem uma genotipagem mais precisa pelo fato dos alelos diferirem por um maior número de pares de bases. Um banco de dados de cerca de 25 mil sequências de pontas de BAC de *E. grandis* foram mineradas para tetra e pentanucleotídeos perfeitos e pares de primers desenhados automaticamente com um *pipeline* de bioinformática do Sistema Genoma. Dos 304 tetra e 196 pentanucleotídeos para os quais pares de primers foram desenhados, foram selecionados 80 tetra e 30 penta com base em maior tamanho total do microsatélite. DNA de oito plantas geneticamente não relacionadas de cada uma das três espécies mais plantadas no Brasil e no mundo (*E. grandis*, *E. globulus* e *E. urophylla*) foi utilizado para uma triagem de amplificação e avaliação de polimorfismo intraespecífico. Dos 80 locos tetranucleotídeos 42,5 % foram polimórficos com boa resolução, 6,3% monomórficos, 16,3% apresentaram duplicação de loco e os restantes apresentaram amplificação inespecífica e demandam mais otimização. Dos 30 locos pentanucleotídeos, 30% apresentaram polimorfismo, 6,7% foram monomórficos, 40% apresentaram duplicação e 23,3% não apresentaram boa amplificação na condição de PCR utilizada. Interessante observar que 90% dos locos que apresentaram polimorfismo apresentaram 100% de transferibilidade interespecífica. Os cerca de 40 locos selecionados serão testados com detecção fluorescente, visando a otimização de sistema de genotipagem de alto desempenho.

<sup>1</sup>Bióloga, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Bolsista DTI/CNPq

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

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

## **032 - ESTUDO INTEGRADO DE GENÔMICA E PROTEÔMICA ASSOCIADOS À QUALIDADE DO CAFÉ (Integrated genomic and proteomic studies associated to coffee quality)**

Silva, V.C.<sup>1</sup>, Melo, J.A.T.<sup>2</sup>, Barbosa, E.A.<sup>3</sup>, Silva, L.P.<sup>4</sup>, Bloch Jr., C.<sup>4</sup>, Andrade, A.C.<sup>5</sup>

O café brasileiro contribui hoje com mais de 30% da produção mundial em um mercado grandioso, altamente competitivo e cada vez mais preocupado com a qualidade. Apesar de vários estudos sobre a composição de metabólitos no grão verde e torrado e dos efeitos do processamento na qualidade final do produto, pouco se sabe sobre os fatores genéticos associados à qualidade do café. O presente trabalho tem por finalidade a análise integrada de genômica e proteômica do café, com vistas à identificação dos determinantes moleculares da qualidade do café. A comparação de perfis proteômicos de grãos de qualidade diferenciada poderá fornecer indicadores para os determinantes genéticos associados a essa característica. Para isto, amostras representativas de grãos de café verde com qualidade diferenciada, determinado a partir de análise sensorial convencional, foram pulverizadas para extração de proteínas totais. Após separação por cromatografia líquida de alto desempenho e análises por espectrometria de massa MALDI-TOF/TOF, os íons diferenciais foram caracterizados. Cada fração do extrato bruto dos constituintes separados por HPLC e identificados por espectrometria de massa foi submetida a tratamento de alquilação de pontes de sulfeto e digestão com proteases, seguida de fragmentação e caracterização por MALDI-TOF/TOF MS/MS. As seqüências dos fragmentos trípticos geradas pelos espectros de MS/MS, permitem a identificação das proteínas através de análises de tBlastn na base de dados do Genoma Café. Com isso, todas as informações já disponíveis na Base de dados, tais como os dados de expressão nas diferentes bibliotecas, polimorfismos identificados e a natureza das proteínas, podem ser associadas de imediato, às análises funcionais. Resultados preliminares indicam sucesso na caracterização e comparação entre as várias proteínas encontradas o que torna este método integrado ágil e útil na identificação e seleção para estudos funcionais, de proteínas de importância para a qualidade do café.

Apoio: CBP&D/Café e FINEP.

---

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

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

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

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

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

### **033 - EXPRESSÃO DIFERENCIAL EM GENÓTIPOS CONTRASTANTES DE *Oryza sativa* PARA A TOLERÂNCIA A SECA (Differential expression of contrasting genotypes of *Oryza sativa* in relation to drought tolerance)**

Rabello, A.R.<sup>1</sup>, Rangel, P.H.N.<sup>2</sup>, Guimarães, C.M.<sup>2</sup>, Sales, R.M.O.B.<sup>3</sup>, Silva, F.R.<sup>4</sup>, Costa, M.M.C.<sup>5</sup>, Togawa, R.C.<sup>5</sup>, Ferreira, M.E.<sup>6</sup>, Mehta, A.<sup>7</sup>

O arroz (*Oryza sativa*) atualmente vem se transformando em uma grande “commodity”. A comparação entre os sistemas em que esta cultura é plantada no Brasil (sequeiro e irrigado) permite observar que a produção de sequeiro tem se mantido constante ao longo do tempo e menor que a irrigada, que tem apresentado crescimento nos dois últimos anos. Acredita-se que a susceptibilidade às condições de seca das cultivares de sequeiro seja a principal responsável por esses resultados. Por outro lado, a produção irrigada requer altas quantidades de água, o que tem levado a restrições nesse tipo de sistema. O objetivo desse trabalho foi encontrar genes no sistema radicular de arroz que são expressos em condição de estresse hídrico e estudar o seu papel no controle genético da tolerância à seca. Assim, foi realizado um ensaio biológico de stress hídrico em 15 cultivares de arroz, e em seguida foram selecionadas as variedades Prata ligeiro (tolerante) e IRAT 20 (suscetível) para a construção de bibliotecas subtrativas de raiz. Para cada variedade, cDNAs de plantas não estressadas foram empregados na subtração de cDNAs de plantas estressadas. Foram obtidas 232 seqüências proveniente de plantas IRAT 20 e 229 de Prata ligeiro. Análises *in silico* mostram que estas 461 seqüências correspondem a 237 transcritos distintos: 43 encontrados nas duas variedades, 86 encontrados apenas em IRAT20 e 108 apenas em Prata ligeiro. Entre os genes reportados unicamente na variedade tolerante (Prata ligeiro) encontram-se ubiquinonas, açúcares do metabolismo de carboidratos e elementos ligados à fotossíntese, além de seqüências sem homólogos já descritos. A partir dessas análises, foram identificados genes potencialmente envolvidos com a tolerância à seca, o que é fundamental para o conhecimento do controle genético desta característica e para o desenvolvimento de linhagens capazes de tolerar diferentes níveis de estresse hídrico.

---

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

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Arroz e Feijão

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

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

<sup>5</sup>Bioinformática, Ph.D., Embrapa Recursos Genético e Biotecnologia

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

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

**034 - EXPRESSÃO HETERÓLOGA DE UM INIBIDOR DE SERINO  
PROTEINASE (BTCI) DE *Vigna unguiculata* EM PLANTAS DE *Nicotiana  
tabacum* (Heterologous expression of serine proteinase (BTCI) from  
*Vigna unguiculata* into *Nicotiana tabacum* plants)**

Bittar, P.D.<sup>1</sup>, Mulinari, F.<sup>2</sup>, Viana, A.A.B.<sup>3</sup>, Freitas, S.M.<sup>4</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>

Inibidores de proteinases de origem vegetal são considerados parte da defesa desenvolvida pelas próprias plantas contra ataques dos microorganismos e insetos. Esses inibidores protéicos suprimem as atividades catalíticas de enzimas envolvidas no estabelecimento e/ou manutenção do parasitismo e são amplamente distribuídos nas sementes de plantas protegendo, assim, as sementes no seu estabelecimento inicial e durante a germinação. Os inibidores de tripsina apresentam uma grande variedade de isoformas, porém, apenas um número limitado foi caracterizado. Uma das isoformas do inibidor BTCI (black-eyed pea trypsin/chymotrypsin inhibitor), purificada a partir de sementes de *Vigna unguiculata* foi avaliada quanto ao potencial em inibir as proteinases de larvas e adultos do bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*), mostrando ser bastante eficiente para essa praga, em estudos in vitro e in vivo, tendo potencial para ser utilizado no desenvolvimento de plantas transgênicas. Neste trabalho, esta isoforma (BTCI-2) foi expressa em plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) visando melhor avaliar sua eficiência sobre o bicudo-do-algodoeiro. A seqüência de cDNA para o inibidor BTCI-2 foi isolada por PCR, subclonada em vetor da série pCAMBIA sob controle do promotor vegetal constitutivo (CaMV35Sd-AMV) e introduzida em plantas de fumo. Os transformantes estão sendo avaliados por PCR e western blot. Bioensaios serão conduzidos com o bicudo-do-algodoeiro e outros insetos-praga de importância.

Apoio: CNPq e EMBRAPA.

---

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

<sup>2</sup>Farmacêutica, M.Sc., doutoranda, Univ. Fed.do Rio Grande do Sul-UFRGS

<sup>3</sup> Biólogo, M.Sc., doutorando, University of Massachussets, USA.

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

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

## **035 - EXPRESSÃO HETERÓLOGA DO INIBIDOR DE PROTEINASE BTCI EM *Escherichia coli* (Heterologous expression of proteinase inhibitor BTCI in *Escherichia coli*)**

Arantes, I.C.<sup>1</sup>, Mulinari, F.<sup>2</sup>, Quezado, M.<sup>3</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>4</sup>

O inibidor BTCI (Black-eyed Pea Trypsin and Chymotrypsin Inhibitor) é um inibidor de proteinases de origem vegetal, isolado de sementes de *Vigna unguiculata*. Os inibidores são considerados uma defesa desenvolvida pelas próprias plantas contra o ataque de patógenos e insetos. O BTCI é composto de uma cadeia polipeptídica única com 83 resíduos de aminoácidos e apresenta 14 resíduos de cisteína, formando sete pontes dissulfídicas que lhe conferem elevada estabilidade térmica (60 min a 95°C) e atividade em diferentes pH (pH 3 - 12). Ensaios in vivo utilizando o inibidor purificado mostraram que existe grande potencial inibitório para *Anthonomus grandis* (bicudo-do-algodoeiro). Este inseto-praga do algodão se alimenta principalmente do botão floral, causando grandes perdas a cotonicultura. Muitos biopesticidas e inseticidas químicos são ineficientes para matar as larvas deste inseto que possui o desenvolvimento endofítico, encontrando-se assim totalmente isoladas dos inseticidas. Dessa forma, este inibidor pode ser utilizado para produção de plantas geneticamente modificadas resistentes a esta praga. Neste trabalho, foi realizada a expressão heteróloga do BTCI em bactéria com o objetivo de isolar a proteína e utilizá-la para a produção de anticorpos, bioensaios e avaliação das plantas de algodão geneticamente modificada. A seqüência de cDNA do BTCI (isoforma 2) foi subclonada em vetor pET 101 para expressão em *Escherichia coli* BL21 Star (DE3), em fusão com epitopo V5 e cauda de seis histidinas. A proteína heteróloga foi purificada em cromatografia de afinidade Ni-NTA e analisada em gel de poliacrilamida. Observou-se que o inibidor recombinante possui a capacidade de formar oligômeros (monômeros, dímeros, trímeros e hexâmeros), como já descrito para a proteína nativa. Propõe-se que o BTCI em solução se equilibra entre os estados multiméricos, mantendo sua atividade inibitória. Desta forma, ensaios estão sendo realizados para avaliação da presença de atividade inibitória e a proteína recombinante, injetada em coelhos para obtenção de anticorpos. Os anticorpos obtidos serão utilizados para avaliação da expressão nas plantas de tabaco e algodão transformados com BTCI, que estão em desenvolvimento no nosso laboratório.

Apoio: EMBRAPA, CNPq, PROCAD.

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

<sup>2</sup>Farmacêutica, doutoranda, Univ. Fed. do Rio Grande do Sul-UFRGS/CNPq

<sup>3</sup>Eng. Agr., M.Sc., doutorando Universidade de Brasília-UnB

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

**036 - EVOLUÇÃO MOLECULAR IN VITRO: PROSPECÇÃO DE NOVAS TOXINAS CRY COM ATIVIDADE MELHORADA PARA O BICUDO-DO-ALGODOEIRO, *Anthonomus grandis* (In vitro molecular evolution: generation of new cry toxins with improved activity towards the cotton boll weevil, *Anthonomus grandis*)**

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

As proteínas Cry são  $\delta$ -endotoxinas produzidas na forma de cristais protéicos por cepas de *Bacillus thuringiensis* durante o processo de esporulação. Estas proteínas mostram alta especificidade e toxicidade a determinadas classes de insetos e invertebrados, o que aumentou o interesse na busca dos novos genes que codificam moléculas ativas contra o inseto alvo. Entre os insetos-praga que atacam culturas do algodão, o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*, é um do mais importante no Brasil. Devido a seu comportamento endofítico, o controle por meio de inseticidas químicos é ineficiente. Neste contexto, novas moléculas da toxina cry8, mais ativas e específicas, foram desenvolvidas para o inseto-praga, bicudo-do-algodoeiro, utilizando a técnica molecular de *DNA Shuffling*. A seqüência do gene *cry8* foi fragmentada e recombinada aleatoriamente, obtendo assim variantes do gene, gerando uma biblioteca combinatória de genes *cry* mutantes com 10<sup>5</sup> transformantes. Os mutantes gerados foram selecionados por *phage display*, usando proteínas de membrana do intestino (BBMV) de larvas de *A. grandis*. Clones foram, posteriormente, selecionados por bioensaios para validar suas atividades inseticidas. Estes clones foram seqüenciados para confirmar mutações e 4 clones exibiram atividades melhoradas, aumentada de 2-8 vezes, quando comparadas à proteína codificada pelo gene original. Essas novas variantes do gene foram submetidas a um novo *shuffling*, gerando novas moléculas ainda mais ativas para o inseto alvo. A eficiência das técnicas, *DNA Shuffling* e *phage Display*, na evolução molecular in vitro será discutida.

Apoio: EMBRAPA, FACUAL, FIALGO, CNPq e CAPES.

---

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

<sup>2</sup>Biólogo, mestrando, Univ. Fed. do Rio Grande do Sul-UFRGS

<sup>3</sup>Eng. Agr., doutoranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>4</sup>Biólogo, doutorando, Universidade Católica de Brasília-UCB

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



**037 - FREQUÊNCIA DE SNPS E EXTENSÃO DO DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO AO LONGO DOS GENES CCR E CAD EM *Eucalyptus grandis*, *E. globulus* E *E. urophylla* (SNP frequency and extent of linkage disequilibrium along the genes CCR and CAD in *Eucalyptus grandis*, *E. globulus* and *E. urophylla*)**

Faria, D.A.<sup>1</sup>, Alves, T.P.M.<sup>2</sup>, Pereira, R.W.<sup>3</sup>, Grattapaglia, D.<sup>4</sup>

O conhecimento dos padrões de desequilíbrio de ligação (DL) ou associação não ao acaso entre marcadores moleculares ao longo de um genoma é fundamental para planejamento de estudos de associação com uma abordagem de varredura genômica (*whole genome scan*) ou genotipagem de SNPs em genes candidatos. Genomas com valores elevados de DL por longas extensões de sequência possibilitam uma abordagem de varredura genômica embora a resolução para o descobrimento de genes seja limitada. Extensões curtas de DL, por outro lado, requerem a genotipagem localizada em genes candidatos, porém permitem a identificação dos SNPs causais ou fisicamente muito próximos a eles. Este estudo visou identificar SNPs e estabelecer o padrão de DL nos genes Cinamoil-CoA Redutase (CCR) e Cinamil Álcool Dehidrogenase (CAD), dois genes chave no processo de lignificação, em populações naturais de *Eucalyptus globulus*, *E. grandis* e *E. urophylla*. Iniciadores para amplificação de fragmentos de cerca de 400 pb sobrepostos ao longo da região genômica dos dois genes foram desenhados utilizando seqüências depositadas em bancos de dados e seqüências genômicas geradas no âmbito do Genolyptus pelo seqüenciamento “*shot gun*” de BACs. Em termos de diversidade nucleotídica, os resultados indicam para valores altos em ambas as regiões estudadas. Em média foi estimado 1 SNP a cada 70 pb. Foram identificados SNPs polimórficos entre espécies e fixados dentro das diferentes espécies. Similaridade mais elevada foi observada entre *E. grandis* e *E. urophylla* e maior distanciamento genético das duas em relação a *E. globulus*. Em termos de desequilíbrio de ligação os resultados mostram que para o gene Cinamoil-CoA Redutase (CCR) o DL não se estende por mais de 200pb em uma região de 1.7kb. Nenhum bloco haplotípico característico foi identificado nessa região e como consequência o número de SNPs para captar toda a diversidade haplotípica foi extremamente alto. Os resultados do seqüenciamento de 2.7 kb do gene CAD apontam resultados similares ao encontrado para o gene CCR, corroborando a expectativa de uma extensão limitada de DL em espécies de *Eucalyptus*, preferencialmente alógamas, com elevada heterogeneidade genética e de recente de domesticação. Estes resultados sugerem dificuldade em adotar uma abordagem de “*whole genome scan*” em *Eucalyptus* dada a elevada densidade de SNPs necessários, da ordem de milhões. No entanto, reforçam a importância dos trabalhos voltados ao descobrimento de genes candidatos via estudos integrados de mapeamento de QTLs e expressão gênica.

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

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

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

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

### **038 - IDENTIFICAÇÃO DE ESTS TECIDO-ESPECÍFICAS NO BANCO DE DADOS DO GENOMA FUNCIONAL DE *Coffea* SPP. (Identification of tissue-specific ESTs in the *Coffea* spp. functional genomic database)**

Santos, D.B.M.<sup>1</sup>, Silva, F.R.<sup>2</sup>, Almeida, J.D.<sup>3</sup>, Barros, L.M.G.<sup>3</sup>, Sobral, L.T.<sup>4</sup> Carneiro, M.<sup>2</sup>

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, respondendo por cerca de um quarto da produção mundial. Visando fornecer informações sobre o genoma do cafeeiro aos pesquisadores que buscam desenvolver variedades melhoradas, buscando manter produtividade e qualidade, foi elaborado e executado o projeto Brasileiro Genoma Café. Nesse projeto foram seqüenciadas 214.964 ESTs (Expressed Sequenced Tags) escolhidas aleatoriamente de 41 bibliotecas de cDNA de *C. arabica*, *C. canephora* e *C. racemosa*, representando diferentes tecidos em estágios específicos de desenvolvimento e tecidos submetidos a estresses biótico e abiótico. As ESTs foram agrupadas em 32.959 clusters (UniGenes), dos quais cerca de 22% têm função desconhecida. O objetivo deste trabalho foi identificar, no banco UniGene, ESTs abundantes e inéditas preferencialmente expressas em raiz, folha, flor ou fruto, que no futuro serão utilizadas na prospecção de seus respectivos promotores. Para tanto, foram realizados Testes Exatos de Fisher, contrastando bibliotecas de ESTs de um único tecido contra bibliotecas dos demais tecidos. Os resultados apontaram 103 UniGenes tecido-específicos, sendo 18 de folhas, 40 de frutos, 14 de raiz e 31 de botões florais. O Blast destas seqüências apontaram 84% de ESTs homólogos a seqüências conhecidas e 16% inéditas. De posse desses dados, a próxima etapa será validar os UniGenes selecionados mediante ensaios de *Northern blot* e RT-PCR.

---

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

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

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

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

**039 - IDENTIFICAÇÃO DE GENES DAS FAMÍLIAS PROTÉICAS CBL e CIPK A PARTIR DE ANÁLISES *IN SILICO* DA BASE DE DADOS DO GENOMA CAFÉ (Identification of genes encoding calcineurin B-like (CBL) proteins and CBL-interacting protein kinases by *in silico* analysis of the coffee-EST database)**

Carmo, J.R.<sup>1</sup>, Sales, R.M.O.B.<sup>1</sup>, Silva, F.R.<sup>2</sup>, Andrade, A.C.<sup>3</sup>

Luminosidade, estresses bióticos e abióticos provocam alterações na concentração intracelular de Ca<sup>2+</sup> nas células vegetais. Assim, íons de cálcio funcionam como mensageiros secundários nas respostas fisiológicas das plantas aos estímulos externos. A regulação das células-guarda dos estômatos, crescimento das raízes secundárias e do tubo polínico são processos acompanhados por alterações distintas, nos níveis de concentração de cálcio. Proteínas que se ligam ao cálcio são os sensores moleculares a essas alterações espaciais e temporais, dos níveis de cálcio. Proteínas “Calcineurin B-like” (CBL) representam um grupo de sensores de cálcio, descritas recentemente, em plantas. Essas proteínas são simultaneamente, similares à subunidade reguladora B da calcineurin (CNB) e aos sensores neuronais de cálcio (NCS) em animais. As proteínas CBL contêm o módulo “EF-hand” como a base estrutural para a ligação ao cálcio e interagem especificamente com um grupo de proteínas Ser/Thr quinases, designadas como proteínas quinases que interagem com as proteínas CBL (CIPKs – CBL Interacting Protein Kinases). As proteínas CIPKs representam o alvo dos sinais de cálcio percebidos e transferidos pelas proteínas CBL. Dentre as proteínas CBL e CIPK já caracterizadas funcionalmente, várias estão envolvidas em rotas de sinalização que mediam especificamente as respostas e adaptação aos estresses salinos, na regulação das respostas ao ácido abscísico e nas respostas transcricionais induzidas por baixas temperaturas. A inativação da proteína AtCBL1 resulta em plantas sensíveis à seca e ao estresse salino, pois afeta a regulação da expressão de fatores de transcrição e de outros genes responsivos ao estresse. Este trabalho visou realizar uma análise prospectiva dos genes que codificam as proteínas das famílias CBL e CIPKs, presentes na Base de Dados do Genoma Café. Essa análise baseou-se na identificação de genes de café com alta similaridade aos previamente descritos e caracterizados como genes envolvidos na resposta aos estresses abióticos, em outras espécies vegetais. Através das análises de tBlastn, genes de café com alto nível de similaridade (e-value de 10<sup>-20</sup>) aos genes pesquisados, foram identificados. Pode-se concluir, que a utilização da Base de Dados do Genoma Café é uma ferramenta poderosa na rápida identificação e seleção de potenciais genes de interesse agrônomico de café, para a realização de ensaios experimentais de caracterização funcional.

Apoio: CBP&D-Café e FINEP.

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

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

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

**040 - IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES RGA EM UMA BIBLIOTECA DE ESTS PARA ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* REPRESENTATIVAS DOS GENOMAS AA E BB DE AMENDOIM (Identification of RGA markers in an EST library for representative wild *Arachis* species of the AA and BB genomes of cultivated peanut)**

Ferraz, M.L.<sup>1</sup>, Alves, D.M.T.<sup>2</sup>, Pereira, R.W.<sup>3</sup>, Guimarães, P.M.<sup>4</sup>, Bertoli, D.J.<sup>5</sup>, Leal-Bertoli, S.C.M.<sup>6</sup>

Um dos destaques na família Leguminosae é o amendoim cultivado (*Arachis hypogaea* L.), espécie de grande interesse econômico por ser rica em proteínas e óleo. Esta planta é bastante susceptível a estresses bióticos e abióticos, para os quais muitas das espécies silvestres são resistentes. Identificando e isolando marcadores análogos a genes de resistência (RGAs) localizados em espécies silvestres, podem auxiliar na introgressão dos mesmos em variedades cultivadas, dificultando a quebra da resistência pelo patógeno. Deste modo, foram desenhados 33 pares de primers para seqüências RGAs do banco de EST (Expressed Sequence Tags) e testados em espécies silvestres representativas dos genomas AA e BB de *Arachis*, parentais para dois populações de mapeamento para estes dois genomas. Destes, 26 pares de primers amplificaram em ambos os genomas, sendo cinco polimórficos em tamanho entre os parentais da população AA. Bandas monomórficas geradas por 11 pares de primers foram seqüenciadas e avaliadas para se obter polimorfismo de seqüência e possibilitar o desenho de novos primers a partir de SNPS (Single Nucleotide Polymorphism), baseado no método ARMS-PCR, CAPs ou dCAPs. Aqueles que apresentarem polimorfismo serão genotipados nos indivíduos F2 de uma população segregante para doenças importantes do amendoim. Posteriormente esses marcadores serão inseridos no mapa genético de *Arachis* recém construído.

---

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

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

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

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

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

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

## **041 - IDENTIFICAÇÃO DE MECANISMOS DE RESISTÊNCIA À *Meloidogyne incognita* EM FEIJÃO E ALGODÃO ATRAVÉS DA GENÔMICA COMPARATIVA (Identification of resistance mechanisms to *Meloidogyne incognita* in beans and cotton by comparative genomics)**

Santana, C.G.<sup>1</sup>, Andrade, A.E.<sup>2</sup>, Guimarães, L.M.<sup>3</sup>, Paes, N.S.<sup>4</sup>, Fragoso, R.<sup>5</sup>, Sales, R. M.O.B.<sup>6</sup>, Silva, F.R.<sup>7</sup>, Oliveira, J.T.A.<sup>8</sup>, Gurgel, F.L.<sup>9</sup>, Carneiro, R.M.D.<sup>9</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>10</sup>, Mehta, A.<sup>10</sup>

Atualmente a genômica comparativa tem sido uma importante ferramenta para a interpretação, descrição e predição das funções de genes que se encontram disponíveis nos bancos de dados. Bibliotecas subtrativas de cDNA de genótipos resistente e suscetível de feijão de corda e algodão infectados com *Meloidogyne incognita* foram construídas. Foram obtidos 440 reads das bibliotecas de feijão, formando 205 clusters e 628 reads das bibliotecas de algodão, formando 284 clusters. O objetivo deste estudo foi, através da genômica comparativa, analisar as seqüências de feijão e algodão para buscar mecanismos comuns relacionados à resistência a *M. incognita*. A comparação da tradução das seqüências de algodão e feijão revelou a existência de 92 clusters homólogos entre as duas espécies, dos quais 19 são formados exclusivamente por seqüências oriundas dos genótipos resistentes. A análise destes 19 clusters revelou que algumas proteínas não apresentaram similaridade nos bancos de dados enquanto outras mostraram similaridade com proteínas hipotéticas e proteínas relacionadas com a resposta a ferimentos e resistência a insetos e patógenos, incluindo lipoxigenases, cytochrome P450, epoxide hydrolase, entre outras. É possível que as proteínas de função desconhecida tenham um papel fundamental na resistência da planta à infecção por *M. incognita*. Um total de 12 clusters foram formados por reads provenientes apenas de bibliotecas de genótipos suscetíveis. A maior parte destes clusters mostrou similaridade com proteínas de função desconhecida, que podem ser importantes para os processos de defesa da planta.

Apoio: EMBRAPA e FAPDF/CNPq.

---

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

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

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

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

<sup>5</sup> Biólogo, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup> Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

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

<sup>8</sup> Agrônomo, Ph.D., Universidade Federal do Ceará

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

<sup>10</sup> Bióloga, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **042 - IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HOMÓLOGOS DE GENES DE RESISTÊNCIA A ESTRESSES BIÓTICOS E ABIÓTICOS EM *Musa acuminata* (Identification and characterization of homologs of biotic and abiotic stress resistance genes in *Musa acuminata*)**

Santos, C.R.<sup>1</sup>, Martins, N.F.<sup>2</sup>, Araújo, M.M.<sup>3</sup>, Togawa, R.C.<sup>4</sup>, Buzar, A.G.R.<sup>5</sup>, Farias, M.P.<sup>6</sup>, Souza Júnior, M.T.<sup>7</sup>

A banana é cultivada em vários países tropicais possuindo um importante papel econômico e social. É uma cultura que está constantemente submetida às variações ambientais e que apresenta variedades susceptíveis ao ataque de patógenos. Tais estresses são responsáveis pela diminuição na sua produtividade. Para superar estes estresses bióticos e abióticos as plantas têm desenvolvido mecanismos para perceber sinais externos e manifestar respostas bioquímicas, fisiológicas e morfológicas. A elucidação do controle molecular destas modificações pode resultar em plantas mais tolerantes baseando-se na expressão de genes relacionados com a resistência. Visando entender expressão de genes relacionados com resistência em banana o objetivo deste estudo foi identificar e caracterizar homólogos de genes relacionados com resistência a estresse biótico e abiótico presente no banco de seqüências genômicas de banana - DATAMusa. A identificação de clones de cDNA de interesse foi realizada através de uma busca utilizando-se palavras-chave no banco de seqüências genômicas DATAMusa ([http://genoma.embrapa.br/musa/index.html/DATA\\_musa.html](http://genoma.embrapa.br/musa/index.html/DATA_musa.html)). Os clones de cDNA que apresentaram homologia com os genes relacionados com resistência foram agrupados com a ferramenta *PHPH* e as seqüências consenso foram submetidas a uma análise para a identificação da melhor janela de leitura através da ferramenta *ORF Finder* seguida por uma análise de Blastx contra o banco de proteínas SwissProt. Para o estudo de filogenia as seqüências protéicas foram analisadas com a ferramenta MEGA 3. A análise da expressão foi realizada por RT-PCR, utilizando-se RNA total de folha, casca verde, flor masculina e raízes como template, e primers específicos desenhados a partir das seqüências consenso dos genes de interesse. Por meio de análises preliminares foi possível identificar aproximadamente 24 homólogos de genes relacionados com resistência, entre eles chitinase, PR-1, PR-10, germin-like protein, ascorbate peroxidase, glutathione peroxidase, heat shock proteins, peroxiredoxin, superoxide dismutase, salt tolerance protein, lectin, 14-3-3 protein. Até o momento apenas Salt tolerance protein foi caracterizada apresentando um perfil de expressão em folhas, casca verde e raízes de banana.

---

<sup>1</sup>Bioinformática, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/CNPq

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

<sup>3</sup>Eng. Florestal, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

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

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

<sup>6</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>7</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/ Labex

## 043 - INIBIDORES DE $\alpha$ -AMILASE E SUA APLICAÇÃO NO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ (Alpha-amylase inhibitors and its application to control coffee-berry borer)

Barbosa, A.E.A.D.<sup>1</sup>, Barros, E.V.S.A.<sup>2</sup>, Gomes Júnior, J.E.<sup>3</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>4</sup>

O Brasil é o maior produtor mundial de café, detendo 36% do mercado, e as espécies *Coffea arabica* (65%) e *Coffea canephora* (35%) são as mais comercializadas. As plantações de café são atacadas por uma série de pragas agrícolas, sendo a principal delas a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). Este coleóptero é bastante difícil de ser controlado, pois passa todo o ciclo de vida protegido dentro do fruto do café. O controle é restrito a utilização de inseticida carcinogênico e tóxico para o meio ambiente. Recentemente, foi demonstrando em experimentos in vitro que o inibidor  $\alpha$ -AI1 do feijão *Phaseolus vulgaris* inibe a atividade das duas  $\alpha$ -amilases presentes no trato intestinal da broca-do-café. Foi demonstrado que um inibidor de  $\alpha$ -amilase presente em acessos do feijão selvagem *Phaseolus coccineus* (aIPC) é altamente ativo contra  $\alpha$ -amilases desta praga. A disponibilidade destes genes e de técnicas eficientes para transformar geneticamente *C. arabica* e *C. canephora* tornaram possível a obtenção de plantas de café transformadas com o gene do inibidor  $\alpha$ -AI1 para o controle da broca. Utilizando a técnica de biobalística em calos embriogênicos de *C. arabica* foram obtidas 6 plantas positivas para o gene  $\alpha$ -AI1, já identificadas via Southern blot. Estas plantas estão com baixo número de cópias, 5 delas com 1 cópia e apenas uma planta com duas cópias do gene. Os calos embriogênicos de *C. arábica* e *C. canephora* transformados com o inibidor do feijão *P. coccineus* estão em meio de indução de regeneração e seleção. Duas das plantas positivas por Southern blot estão em floração e logo será possível avaliar o nível de expressão do inibidor e a atividade dos frutos transgênicos no controle da broca-do-café via bioensaios. O resultado deste trabalho poderá tornar a produção do café brasileiro menos impactante ao meio ambiente, mais competitivo no mercado internacional e um produto final com maior qualidade.

Apoio: Consórcio Brasileiro de Pesquisas do Café, CAPES, EMBRAPA.

---

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

<sup>2</sup>Bióloga, doutoranda, UFRGS/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Biólogo, mestrando, Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN

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



#### **044 - INTEGRAÇÃO DE LOCOS ESTS-SSR E LOCALIZAÇÃO DE QTLs PARA QUALIDADE DA MADEIRA EM UM MAPA GENÉTICO DE *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla* (Integration of EST derived microsatellites and mapping of QTLs for wood quality on a genetic map of *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla*)**

Mamaní, E.M.<sup>1</sup>, Grattapaglia, D.<sup>2</sup>

Em *Eucalyptus*, a estratégia de hibridação interespecífica tem resultado em um aumento do ganho de produção por explorar 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 guiando posteriores experimentos de descobrimento de genes. A validação destes QTLs em diferentes famílias geneticamente não relacionadas fornece bases sólidas para a utilização destas informações para o melhoramento assistido por marcadores. Para tal, um grande número de locos microssatélites está sendo desenvolvido no nosso laboratório, utilizando fontes de seqüências do projeto Genolyptus incluindo: bibliotecas enriquecidas; seqüenciamento genômico e mineração de bancos de ESTs. O objetivo é a geração de mapas referência envolvendo um amplo conjunto de locos com perfil de amplificação robusta, altamente transferíveis entre diferentes pedigrees. Neste trabalho foi construído um mapa derivado de um cruzamento *E. grandis* x *E. urophylla*. A partir da avaliação de uma bateria de aproximadamente 500 locos, 277 deles apresentaram-se informativos para mapeamento, dos quais 27% correspondem a locos derivados de seqüências codantes (ESTs). Utilizando genotipagem por detecção fluorescente na plataforma ABI 3100, foram mapeados 189 locos altamente polimórficos aderindo à segregação medeliana sendo que 75% deles segrega para ambos os genitores envolvendo 3 ou 4 alelos. A construção do mapa integrado foi realizada utilizando o software JoinMap<sup>®</sup> 3.0 que permite combinar diferentes tipos de segregação. Através desta análise foram gerados 11 grupos de ligação a um LOD 10 e fração máxima de recombinação 0,40 cm, o número de locos por grupo foi variável, entres 10 e 35 locos. Do total de 49 locos mapeados derivados de ESTs 44 foram incorporados ao mapa integrado distribuindo-se amplamente em todo o genoma. A maioria destes locos foi derivado de regiões 5' UTR de genes envolvidos em fatores de resposta a choque térmico, kinases e proteínas com domínios de ligação a DNA. A partir de um grupo menor de 100 locos foram construídos mapas individuais para cada genitor seguindo a estratégia de pseudo test-cross utilizando o software MapMarker 3.0. Com base nestes mapas foi realizada uma análise de QTL por intervalo utilizando o software QTL Cartographer 2.5 para dados fenotípicos de características da físico-químicas da madeira medidas por NIRS (Espectrometria de Infravermelho Próximo). No total, entre ambos os genitores foram encontrados 9 QTLs a um LOD 3 ou superior, 6 para o genitor U15 e 3 para o genitor G38. Foram localizados QTLs de grande efeito para teor de lignina e para a relação Siringil/Guaicil lignina, características relevantes da qualidade da madeira no processo de produção de celulose branqueada. Apoio: CAPES, Projeto GENOLYPTUS – MCT, FINEP.

---

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

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



## 045 - MAPEAMENTO DE MICROSSATÉLITES DERIVADOS DE EST EM CRUZAMENTOS INTRA E INTERESPECÍFICOS DE *Eucalyptus* (Mapping EST derived microsatellites in intra and interspecific crosses of *Eucalyptus*)

Sena, J.S.<sup>1</sup>, Pádua, J.G.<sup>2</sup>, Pappas Júnior, G.J.<sup>3</sup>, Grattapaglia, D.<sup>4</sup>

Mapas genéticos têm sido amplamente empregados na detecção de QTL e no isolamento de genes envolvidos no controle de características de importância econômica. Para espécies de *Eucalyptus* já estão disponíveis mapas genéticos de microsatélites derivados principalmente de seqüências genômicas, nos quais foram detectados QTL para várias características silviculturais. Este trabalho visou o desenvolvimento e mapeamento de novos microsatélites derivados de seqüências de genes expressos (ESTs). Fez-se triagem no banco de EST do projeto Genolyptus em busca de regiões com repetições de microsatélites priorizando regiões 5'-UTR. Buscando as estratégias de melhoramento do eucalipto que utilizam intensivamente a hibridização interespecífica, procurou-se verificar a transferibilidade destes microsatélites entre diferentes espécies. Para 12 árvores abrangendo 5 espécies de *Eucalyptus*, que constituem os parentais das várias famílias segregantes do projeto, uma bateria de 230 pares de primers foi avaliada quanto à qualidade de amplificação e nível de polimorfismo. Destes, cerca de 44,8% (103 pares) amplificaram algum produto, sendo 81 (78,6%) polimórficos e 22 (21,4%) monomórficos. Observou-se um nível elevado de transferibilidade interespecífica completa (77,7%) destes microsatélites. Apenas um loco mostrou amplificação específica para a espécie *E. camaldulensis*, não sendo possível a amplificação para as outras espécies utilizadas. Para o restante dos locos testados, a transferibilidade foi de no mínimo 50%. De posse destas informações e do tamanho do produto amplificado, foram selecionados 36 novos microsatélites e sintetizados pares de primers marcados com os fluorocromos 6-FAM ou HEX. Três famílias segregantes estão sendo genotipadas com estes microsatélites, para posicionar estes marcadores nos respectivos mapas genéticos. Dos 36 marcadores foram observados 24, 26 e 28 locos informativos para um cruzamento puro de *E. globulus* (EG) e dois híbridos envolvendo *E. grandis* e *E. urophylla* (EGU). Destes, 25,0% mostraram-se totalmente informativos (com 3 ou 4 alelos segregando) para o cruzamento EG e 61,5% e 42,8% para os dois cruzamentos EGU. Comparando-se estes locos de EST com outros de biblioteca genômica enriquecida, a quantidade de locos totalmente informativos é cerca de 50% menor. Apesar dessa desvantagem, a utilização de locos derivados de EST é muito interessante para estudos de sintenia, podendo ser utilizados como marcadores-âncora entre mapas distintos, auxiliando no processo de validação de QTL.

Apoio: Projeto Genolyptus MCT-FINEP e CNPq

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

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

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

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

## 046 - PEPTÍDEO INSETICIDA RECOMBINANTE DERIVADO DE UREASE DE *Canavalia ensiformis*: JABURETOX-2Ec (Jaburetox-2Ec: an insecticidal peptide derived from an isoform of *Canavalia ensiformis* urease)

Mulinari, F.<sup>1</sup>, Stanisçuaski, F.<sup>2</sup>, Bertholdo-Vargas, L.R.<sup>3</sup>, Oliveira-Neto, O.B.<sup>4</sup>, Rigden, D.J.<sup>5</sup>, Carlini, C.R.<sup>6</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>7</sup>

A transformação genética de plantas com genes exógenos codificando fatores de resistência em plantas é uma interessante para diminuir perdas na produção. Estudos vêm sendo realizados visando obter proteínas inseticidas. Foi descrita a atividade entomotóxica da Canatoxina (CNTX), uma isoforma de urease de *Canavalia ensiformis*, contra diferentes espécies de insetos. Sua toxicidade depende da liberação de um peptídeo interno de 10 kDa, denominado pepcanatox, gerado pela hidrólise da CNTX por enzimas tipo catepsina do trato digestivo de insetos suscetíveis. A partir da seqüência N-terminal do pepcanatox, foram desenhados iniciadores para a amplificação de um fragmento de 270 pb, correspondente ao pepcanatox, a partir do gene de uma isoforma de urease, clonada a partir de *C. ensiformis* (JBURE-II). Este fragmento, denominado *jaburetox-2Ec*, foi subclonado no vetor de expressão pET 101 para obtenção de expressão heteróloga de Jaburetox-2Ec em células de *Escherichia coli* (BL21 star) em fusão com o epitopo V-5 e seis histidinas na extremidade C-terminal. Jaburetox-2Ec recombinante foi purificado por cromatografia de afinidade a Ni (Ni-NTA) e utilizado no bioensaio contra o hemiptero *Dysdercus peruvianus*. Ninfas de 2º estágio foram alimentadas com dietas de farinha de algodão contendo Jaburetox-2Ec 0,01% m/m e após 11 dias, todos os insetos estavam mortos. Ensaio realizado contra larvas de *Spodoptera frugiperda* resultaram em 100% de mortalidade. Estudos de modelagem molecular de Jaburetox-2Ec foram realizados para auxiliar na investigação do possível mecanismo de ação e revelaram um motivo “ $\beta$ -hairpin”. Esta estrutura, comparada com outros peptídeos, indica uma atividade inseticida baseada tanto em neurotoxicidade quanto em permeabilidade celular. Estes resultados despertam interesses na investigação do potencial deste peptídeo para uso como bioinseticida doméstico e/ou agrícola, bem como a geração de plantas transgênicas resistentes a insetos. Recentemente, plantas de tabaco foram transformadas com Jaburetox-2Ec, utilizando vetor pCAMBIA 2300. Os potenciais transformantes, aclimatados em casa de vegetação, estão sendo testados quanto a inserção do gene através da técnica de PCR e as plantas transgênicas serão avaliadas quanto à resistência ao ataque de insetos.

Apoio: EMBRAPA, PRONEX, CNPq, FAPERGS, CAPES e PROCAD.

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

<sup>2</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

<sup>3</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Caxias do Sul-UCS

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

<sup>5</sup>Biólogo, Ph.D., University of Liverpool, Liverpool, UK

<sup>6</sup>Biomédica, Ph.D., Universidade Federal do Rio Grande do Sul Porto Alegre-UFRGS

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

## **047 - PROMOTOR DO GENE WAXY DE MILHETO (*Pennisetum glaucum*): CONSTRUÇÃO DE UM VETOR PARA ESTUDOS FUNCIONAIS EM PLANTAS (Pearl millet (*Pennisetum glaucum*) waxy promoter: the construction of a vector for functional studies in plants)**

Monise, J.N.P.<sup>1</sup>, Gander, E.S.<sup>2</sup>, Marcellino, L.H.<sup>3</sup>

O milheto é uma gramínea de grande importância econômica, sendo usada tanto na alimentação animal como na humana, neste último caso especialmente na África e na Ásia. Trata-se de um cereal da mesma família do milho, porém altamente adaptado a condições adversas de clima e solo. Estas características fazem desta planta uma fonte de genes e seqüências regulatórias úteis nos programas de melhoramento genético de gramíneas via transgenia. Na busca de um promotor adequado para expressão de genes em gramíneas, isolamos a região 5' a montante do gene *waxy* de milheto (*P. glaucum*). Este gene codifica para uma proteína participante da síntese de amido (UDPG glucosyl transferase) e é expresso em sementes. Assim, esta região representa um candidato promissor para fornecer um promotor semente-específico para gramíneas. Para a clonagem deste promotor, amplificou-se por PCR, a partir do DNA genômico de milheto, um fragmento de ~ 900 pb correspondente a região de interesse, usando primers desenhados a partir da região 5' do gene *waxy* (AF488414). A análise da seqüência demonstrou a presença de regiões características de promotores. Além disto, pode-se observar uma diferença entre o fragmento isolado e o disponível no banco de dados, cerca de 1000 pb estão ausentes. Para testar a funcionalidade do fragmento, este foi sub-clonado a montante do gene *gus* presente no plasmídeo pBI 221. Inicialmente o promotor CaMV35S, que controla a expressão de *gus* neste plasmídeo, foi retirado utilizando-se as enzimas de restrição *Pst* I e *Sma* I. O fragmento de 4.900 pb resultante foi tratado com "Klenow" para gerar extremidades abruptas e ligado ao promotor *waxy*. Os plasmídeos resultantes foram analisados por digestão com enzimas de restrição demonstrando a clonagem do fragmento. Quatro plasmídeos foram selecionados e serão seqüenciados para a confirmação da orientação adequada da região promotora. Uma vez obtido o plasmídeo esperado, este será utilizado para avaliar a funcionalidade do fragmento em testes da expressão transiente de *gus* em plântulas de milheto.

Apoio: CNPq e EMBRAPA.

<sup>1</sup>Biologia, graduanda, Universidade paulista-UNIP

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

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

## 048 - TRANSFORMAÇÃO DE PLANTAS DE ALGODÃO (*Gossypium hirsutum* VAR. BRS CEDRO) RESISTENTE A INSETOS-PRAGA (Cotton plant transformation (*Gossypium hirsutum* var. BRS Cedro) resistant to insect-pests)

Oliveira, R.S.<sup>1</sup>, Oliveira Neto, O.B.<sup>2</sup>, Evangelista, I.B.R.<sup>3</sup>, Costa, P.H.A.<sup>4</sup>, Paes, N. S.<sup>5</sup>, Muchagata, I.S.<sup>6</sup>, Gurgel, F.L.<sup>2</sup>, Dias, S.C.<sup>7</sup>, Rocha, T.L.<sup>8</sup>, Lima, L.M.<sup>9</sup>, Mattar, M.C.S.<sup>9</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>9</sup>

O Brasil é um dos maiores produtores de algodão no mundo, mas sua produtividade é reduzida por pragas, entre estas o *Anthonomus grandis* e *Spodoptera frugiperda*. Visando o controle desses insetos-praga, este trabalho buscou obter uma cultivar brasileira geneticamente modificada resistente. A técnica a transformação, via tubo polínico, consistiu na aplicação de uma solução de DNA na parte superior da maçã jovem após a polinização. Assim, o DNA exógeno pode alcançar o ovário através da passagem deixada pelo tubo polínico e integrar as células zigóticas já fertilizadas, porém não divididas. Inicialmente estabeleceu-se um cultivo de algodão, cultivar BRS Cedro, em casa de vegetação e no período de floração, logo após a polinização e fecundação, quando as flores apresentam coloração roxa, foram microinjetados 10 mL da construção a uma concentração de 100 ng/mL. A construção utilizada na transformação via tubo polínico contém dois genes, sendo um codificador do inibidor BTCl (inibidor de tripsina Bowman-Birk e inibidor de quimotripsina) e outro da Tarina (manose lectina), com atividades contra o bicudo-do-algodoeiro e lagarta-do-cartucho, respectivamente. Foram colhidas 7.849 sementes que estão sendo submetidas a teste de seleção com o antibiótico canamicina. Até o momento, 46 plantas apresentaram resistência ao antibiótico. Destas, 22 plantas tiveram o DNA extraído a partir de folhas segundo o protocolo CTAB 2% para serem submetidas à análise de PCR e *Southern blot*. A análise por PCR dos transformantes foi realizada com as 22 plantas selecionadas, utilizando oligonucleotídeos para o promotor 35Sd do vírus do mosaico da couve-flor duplicado (CaMV35Sd) e para os genes *bcí* e *tar*. As plantas transformadas positivas para a presença dos genes foram avaliadas para identificar o nível de expressão das proteínas e bioensaios foram realizados com os insetos-praga, *A. grandis* e *S. frugiperda*.

Apoio: EMBRAPA, FACUAL e FIALGO

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

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

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

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

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

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

<sup>7</sup>Bióloga, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

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

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

## **049 - USO POTENCIAL DO INIBIDOR DE $\alpha$ -AMILASE DE TRIGO 0.53 NO CONTROLE DE BRUQUÍDEOS (Potential use of wheat $\alpha$ -amylase inhibitor 0.53 to control of bruchids)**

Lima, J.N.<sup>1</sup>, Mulinari, F.<sup>2</sup>, Oliveira-Neto, O.B.<sup>3</sup>, Valença, A.J.<sup>4</sup>, Arboleda, J.W.<sup>4</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>

Este projeto tem como objetivo estudar o potencial inseticida do inibidor de  $\alpha$ -amilase 0.53 sobre os insetos-praga de grãos armazenados de feijão, visando sua utilização em programas de melhoramento genético de plantas. Plantas de trigo foram escolhidas como fonte vegetal devido a presença de inúmeras isoformas de inibidores de  $\alpha$ -amilases em suas sementes. Os inibidores de  $\alpha$ -amilases, presentes em sementes de trigo (*Triticum aestivum*), foram isolados e caracterizados e o gene para o inibidor 0.53 foi isolado utilizando técnicas de RT-PCR, utilizando cDNAs como molde. A sequência para o inibidor 0.53 foi, então, subclonada no vetor de expressão pPICZ $\alpha$ A (pFSP-pPICZ $\alpha$ A-0.53) e a expressão do inibidor 0.53 recombinante foi realizada em células de levedura metilotrófica *Pichia pastoris*. Após estabelecimento das condições de expressão, a proteína recombinante expressa e secretada no meio de cultura, foi purificada por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance). Ensaio in vitro utilizando as  $\alpha$ -amilases dos insetos-praga: *Acanthocelides obtectus*, *Zabrotes subfasciatus*, *Callosobruchus maculatus* e a  $\alpha$ -amilase pancreática de porco (PPA), mostraram que a atividade desse inibidor é dependente das condições de pH. Em pH 4,5, o inibidor 0.53 foi capaz de inibir unicamente as  $\alpha$ -amilases dos diferentes insetos, não apresentando nenhuma atividade para a  $\alpha$ -amilase pancreática de porco (PPA). Em condições de pH 7,2, o inibidor recombinante 0.53 foi capaz de inibir unicamente a amilase de mamífero, PPA, inibindo cerca de 90% de sua atividade, não sendo ativo para  $\alpha$ -amilases dos insetos alvo. A aplicação biotecnológica deste inibidor no controle de insetos-praga será discutida.

Apoio: EMBRAPA, CAPES e CNPq

---

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

<sup>2</sup>Farmacêutica, doutoranda, Univer. Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB/CNPq

<sup>4</sup>Eng. Agr., doutorando, Universidade de Brasília-UnB/CNPq

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



# **Reprodução Animal**





## **050 - ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO ESTRESSE OXIDATIVO EM EMBRIÕES CLONES E PARTENOGENÉTICOS BOVINOS (Expression analysis of oxidative stress related genes in bovine cloned and parthenogenetic embryos)**

Moura, M.T.<sup>1</sup>, Mundim, T.C.D.<sup>2</sup>, Dode, M.A.N.<sup>3</sup>, Franco, M.M.<sup>3</sup>, Rumpf, R.<sup>3</sup>

A clonagem por transferência nuclear (TN) é uma ferramenta importante para a pesquisa e para a área aplicada. Apesar de ser replicável, a eficiência da técnica permanece muito baixa. Esta, por sua vez, tem sido correlacionada a incompleta reprogramação epigenética. Um exemplo desta afirmação é o maior desenvolvimento dos embriões clones utilizando meios específicos para cultivo de células somáticas. Há uma crescente preocupação sobre a formação de radicais livres e o conseqüente estresse oxidativo sobre o desenvolvimento de embriões *in vitro*. Seu monitoramento é fundamental para obtenção de bons índices de desenvolvimento. No entanto, não há relatos na literatura sobre o estresse oxidativo em embriões clones por TN. O objetivo deste trabalho foi analisar a expressão dos genes Catalase, GPX4 e MnSOD, que estão relacionados à roteção contra o estresse oxidativo, em embriões bovinos oriundos de TN e compará-los aos partenogenéticos. Para a produção dos embriões, ovócitos obtidos de ovários de abatedouro foram maturados *in vitro* por 20h em meio TCM-199 modificado em estufa com atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> em ar. A enucleação e a reconstrução foram realizadas através do uso de micromanipuladores acoplados a um microscópio invertido. Foram utilizados fibroblastos cultivados *in vitro* de uma vaca adulta como doadores de núcleo. A fusão foi realizada utilizando o eletrofusor BTX<sup>®</sup> ECM 200 e a ativação partenogenética com Ionomicina e 6-DMAP. As estruturas foram cultivadas em meio SOFaaci sobre monocamada de células da granulosa em ar. Dois pools de embriões, um com 15 embriões clones e um com 15 partenogenéticos de quatro manipulações na fase de blastocisto, sete dias após a ativação foram utilizados para as análises. Para a extração do RNA total foi utilizado Trizol Reagent - Invitrogen<sup>®</sup> seguindo recomendações do fabricante, mas com modificações. As amostras de RNA foram tratadas com DNase seguindo para a síntese de cDNA com *primers* Oligo dT, sendo posteriormente amplificadas por PCR (RT-PCR semiquantitativa). Para a quantificação relativa foi usado o gene constitutivo GAPDH. A Catalase não foi detectada em clones sugerindo níveis muito baixos ou ausência de transcrição. Os genes GPX4 e MnSOD apresentaram expressão relativa maior nos embriões partenogenéticos em relação aos clones. Apesar dos resultados preliminares, há a necessidade de uma investigação mais detalhada sobre o impacto do estresse oxidativo no desenvolvimento de embriões produzidos por TN.

Apoio: CAPES e EMBRAPA.

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

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

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

**051 - ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA EM EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO A PARTIR DE OVÓCITOS COLETADOS DE VACAS SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE INGESTÃO ALIMENTAR (Gene expression analysis on *in vitro* produced embryos from oocytes obtained of cows submitted to different levels of feed intake)**

Martins, A.C.<sup>1</sup>, Mundim, T.C.D.<sup>2</sup>, Melo, E.O.<sup>3</sup>, Dode, M.A.N.<sup>4</sup>, Rumpf, R.<sup>4</sup>, Franco, M.M.<sup>4</sup>, Sartori, R.<sup>4</sup>

O objetivo do trabalho foi avaliar a expressão de oito genes (CATALASE, BAX, GPX-4, MnSOD, INTERFERON T, IGF2R, GRB10, FSHR) em embriões D7 produzidos *in vitro* oriundos de dois grupos de animais e em dois estágios de desenvolvimento, blastocisto (Bl) e blastocisto expandido (Bx). Os animais foram divididos em dois grupos, sendo um com alta ingestão alimentar (180% da dieta de manutenção) e outro com baixa ingestão alimentar (70% da dieta de manutenção). Para a quantificação relativa foram usados dois genes constitutivos, ACTINA e PABP. Foram utilizados 2 pools de embriões para cada estágio (Bl e Bx) e para cada tratamento (alta e baixa ingestão), variando entre 9 a 28 embriões em cada pool. Para a extração do RNA total foi utilizado Trizol Reagent - Invitrogen® seguindo recomendações do fabricante, mas com modificações. As amostras de RNA foram tratadas com DNase seguindo para a síntese de cDNA com primers Oligo dT, sendo posteriormente amplificadas por PCR (RT-PCR semiquantitativa). Todos os genes avaliados foram expressos nas amostras analisadas. Os genes MnSOD, GPX-4 e INTERFERON T tiveram expressão mais alta em relação aos outros genes estudados. O gene do FSHR foi detectado, apresentando menor expressão no grupo de restrição, principalmente em Bl. A presença constante de outros fragmentos amplificados de diferentes tamanhos sugere a possibilidade de splicing alternativo nessa região do gene. Para o gene BAX observou-se uma grande variação de expressão entre pools de embriões, com maior expressão, tanto para Bl quanto para Bx, no grupo de restrição. A taxa de ingestão alimentar influenciou a expressão de alguns genes analisados, sendo estes possíveis candidatos a marcadores moleculares para qualidade embrionária influenciada pelo efeito da nutrição. Além disso, esses genes podem vir a ser utilizados para o monitoramento dos sistemas de produção de embriões e para estudos básicos, servindo como fonte de informações sobre o controle da expressão gênica influenciada por fatores ambientais.

Apoio: CNPq e CAPES.

<sup>1</sup>Méd. Vet., mestranda, Universidade Estadual de São Paulo-UNESP/Botucatu

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

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

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

## **052 - AUMENTO DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA USANDO LAVAGEM UTERINA DUPLA EM BOVINOS, CORROBORANDO DADOS DE UM ESTUDO ANTERIOR (Improvement in embryo recovery using double uterine flushing in cattle, corroborating data from a previous study)**

Mollo, M.R.<sup>1</sup>, Ramos, A.F.<sup>2</sup>, Pivato, I.<sup>3</sup>, Guimarães Neto, A.G.<sup>4</sup>, Franco, M.M.<sup>3</sup>, Rumpf, R.<sup>3</sup>, Sartori, R.<sup>3</sup>

Castro Neto et al. (Theriogenology 2005;15:1249-1255), demonstraram que a lavagem uterina dupla aumentou o número de embriões totais e viáveis coletados por vaca, quando comparado à coleta simples convencional de corpo de útero. O objetivo deste relato é corroborar os resultados descritos no estudo de Castro Neto et al. (2005). Trinta fêmeas (vacas e novilhas Nelore e novilhas mestiças Nelore x Simental) foram superovuladas usando o seguinte protocolo: D0: colocação de um implante intravaginal de progesterona e injeção de 2,0 mg im de benzoato de estradiol; D4 a D7: superestimulação com oito injeções im de FSH (Pluset, 200-300 UI ou Folltropin-V, 133 mg); D6: 0,150 mg im de cloprostenol; D6,5: remoção do implante; D8,5 e D9: IA; D15: coleta de embrião. A lavagem uterina foi realizada posicionando-se o balão do catéter de Foley no corpo uterino justaposto ao último anel cervical, usando-se em média 1000 ml de DPBS por animal. Ao final deste lavado, o útero foi preenchido com DPBS, o catéter mantido no local e sua abertura lacrada com uma presilha de filtro de coleta. As vacas ou novilhas eram então soltas para retornar ao tronco 20 a 30 minutos após para a realização de um segundo lavado com um volume extra de 500 ml de DPBS. Pelo menos um ovócito/embrião foi coletado no segundo lavado em 80% (24/30) dos animais. De todos os ovócitos/embriões coletados, 27,5% (94/342) foram recuperados no segundo lavado. Em média, foram recuperados 11,4 ovócitos/embriões por vaca, sendo 8,3 ovócitos/embriões recuperados no primeiro lavado e 3,1 recuperados no segundo lavado. Este estudo demonstrou um aumento na taxa de recuperação de embriões por vaca ou novilha de 57,0% para 77,6%, e confirmou a importância do método de lavagem uterina dupla previamente descrito por Castro Neto et al. (2005). Considerando que em 80% dos animais foram coletados embriões no segundo lavado, acredita-se que este método deva ser empregado rotineiramente, especialmente porque não aumenta muito o trabalho nem os custos.

Apoio: EMBRAPA.

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

<sup>2</sup>Méd. Vet., doutorando, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

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

<sup>4</sup>Méd. Vet., Autônomo

## **053 - CINÉTICA DA CROMATINA NUCLEAR DURANTE A MATURAÇÃO EM OVÓCITOS BOVINOS MANTIDOS EM MEIO DE TRANSPORTE - MIV-T (Nuclear chromatin kinetics during *in vitro* maturation of bovine oocytes maintained in transportation medium - MIV-T)**

Leme, L.O.<sup>1</sup>, Rumpf, R.<sup>2</sup>, Dode, M.A.N.<sup>2</sup>

Sistema de transporte adequado para ovócitos bovinos tem sido um dos requisitos básicos para a produção *in vitro* de embriões (PIV). Os ovócitos aspirados dos folículos ovarianos iniciam a meiose espontaneamente, ocorrendo as primeiras horas de maturação durante o transporte entre as fazendas de produção e o laboratório de PIV. Tem sido utilizado como rotina, meio de transporte composto por TCM 199 com sais de Hank's suplementados com hormônios e antibióticos (MIV-t), à temperatura de 34-36°C, com intervalo entre a aspiração e a chegada ao laboratório de no máximo 8h. Visando avaliar o efeito do MIV-t e a temperatura de transporte no atual sistema PIV, conduziu-se este estudo para analisar a cinética da cromatina nuclear durante a MIV. Foram utilizados 618 ovócitos oriundos de abatedouro, que após a recuperação e seleção foram colocados em tubo de 1,5mL, contendo 1mL de meio de maturação coberto com uma camada de 250µL de óleo mineral. No grupo controle (G1), os ovócitos foram maturados em meio TCM 199 com sais de Earl's suplementado com hormônios e antibiótico (meio MIV), em tubo aberto na estufa convencional com 5% de CO<sub>2</sub> em ar, a 39°C. Os ovócitos do grupo de transporte (G2) foram maturados no MIV-t, em banho-maria a 36°C. Em ambos os tratamentos os ovócitos foram retirados com 8, 12, 22 e 24h após o início da maturação, fixados em solução de ácido acético e etanol, corados com lacmóide e avaliados quanto à fase da meiose em microscopia de contraste de fase. Procedeu-se a avaliação microscópica nos estágios: Vesícula Germinativa (VG), final de Prófase I (fPI), Metáfase I (MI), Anáfase I (AI), Telófase I (TI) e Metáfase II (MII). Os resultados foram comparados pelo teste de Chi-quadrado. Às 8h de maturação a porcentagem de ovócitos em estágio de VG foi menor e de MI maior (P<0,05) no G1 (40,3% e 47,8%) do que no G2 (73,2% e 23,2%). Às 12 horas de cultivo apenas 3,6% dos ovócitos do G1 apresentavam VG comparado com 29,5% do G2. Com 22h a maioria dos ovócitos do G1 encontrava-se em MII (83,6%), enquanto no G2 a porcentagem de ovócitos em MII (60,2%) foi menor (P<0,05) e em TI (23,2%) foi maior (P<0,05). Essa diferença se manteve até 24h de maturação, onde o G1 apresentou maior porcentagem de ovócitos em MII (96,3%) e menor em TI (3,7%) do que o G2 (77,7% e 14,3%). Verificou-se que a permanência dos ovócitos em MIV-t atrasa a maturação nuclear, podendo justificar-se pela composição do meio e/ou menor temperatura de transporte. Considera-se necessário avaliar se ovócitos mantidos em condições de transporte deveriam permanecer mais tempo em maturação e serem fecundados mais tarde do que o preconizado.

Apoio: EMBRAPA.

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

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

## **054 - COMPARAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS PARA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO BOVINO EM TEMPO FIXO (Comparison of two different protocols of synchronization of recipients for timed embryo transfer in cattle)**

Mollo, M.R.<sup>1</sup>, Ramos, A.F.<sup>2</sup>, Siqueira Filho, E.<sup>3</sup>, Pivato, I.<sup>4</sup>, Saueressig, M.G.<sup>5</sup>, Rumpf, R.<sup>4</sup>, Sartori, R.<sup>4</sup>

O presente estudo teve como objetivo comparar dois protocolos de sincronização de cio/ovulação em receptoras de embrião. Trinta vacas foram divididas em dois grupos. No grupo 5X, as vacas receberam um implante intravaginal de progesterona e uma injeção im de 2,0 mg de benzoato de estradiol no D0; 0,150 mg im de cloprostenol e 300 UI im de gonadotrofina coriônica eqüina no D5; retirada do implante no D8 e injeção im de 1,0 mg de BE no D9. No grupo 3X, as vacas receberam o DIB, 2 mg de BE e 0,075 mg de cloprostenol no D0; retirada do implante no D8, juntamente com injeção im de 0,075 mg de cloprostenol, 300 UI de eCG e 0,50 mg de cipionato de estradiol. No D17, todas as vacas receberam transferência de embriões produzidos in vitro. Exames ultra-sonográficos foram realizados nos dias zero, 10, 11 e 12 para mensuração do folículo ovulatório e do corpo lúteo resultante, e 36 dias após a inovulação para diagnóstico de gestação. Na comparação entre os grupos, utilizou-se o teste-t para variáveis contínuas e o qui-quadrado para variáveis binomiais. Houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre os grupos quanto à sincronia da ovulação. No grupo 5X todas as vacas (100,0%) ovularam 3 d após a retirada do DIB, enquanto que no grupo 3X, apenas oito vacas (53,3%) ovularam nessa data. As demais vacas ovularam 2 d ( $n = 2$ ), 4 dias ( $n = 3$ ) ou não ovularam até 5 dias ( $n = 2$ ) após a retirada do implante. Não foi detectada diferença ( $P > 0,10$ ) em relação ao diâmetro máximo do folículo ovulatório no D0 ( $11,9 \pm 0,5$  e  $12,5 \pm 1,0$  mm) e volume luteal no D17 ( $2784,2 \pm 368,8$  e  $2524,1 \pm 311,7$  mm<sup>3</sup>) entre os grupos 5X e 3X, respectivamente. Houve uma tendência ( $P = 0,07$ ) de maior taxa de prenhez no grupo 5X (66,7%; 10/15 versus 33,3%; 5/15). Apesar de não ter havido diferença entre os grupos quanto ao tamanho folicular e volume luteal e de manipular as receptoras menos vezes, o protocolo do grupo 3X não se mostrou vantajoso em relação ao do grupo 5X devido ao fato de ter promovido um menor grau de sincronia de ovulação, além de uma possível queda na taxa de prenhez.

Apoio: EMBRAPA.

---

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

<sup>2</sup>Méd. Vet., doutorando, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

<sup>3</sup>Méd. Vet., autônomo

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

<sup>5</sup>Méd. Vet., M.Sc., Embrapa Cerrados

## 055 - EFEITO DAS GONADOTROFINAS DURANTE A MATURAÇÃO IN VITRO NA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS (Effect of gonadotropins during *in vitro* maturation on bovine embryo production)

Leme, L.O.<sup>1</sup>, Driessen, K.<sup>1</sup>, Rumpf, R.<sup>2</sup>, Dode, M.A.N.<sup>2</sup>

A suplementação do meio de maturação com gonadotrofinas é utilizada rotineiramente na maioria dos protocolos de produção *in vitro* (PIV) de embriões. Estudos recentes têm sugerido que o FSH é o hormônio crítico durante a maturação *in vitro*, sendo necessário somente nas primeiras horas de cultivo. Visando avaliar o efeito da presença das gonadotrofinas durante a maturação *in vitro* na produção de embriões bovinos, foram utilizados 566 ovócitos oriundos de ovários de abatedouro, distribuídos aleatoriamente em cinco tratamentos, quatro réplicas, com média de 28 ovócitos por tratamento. Em todos os grupos, imediatamente após a recuperação e seleção, os ovócitos foram maturados por 22h em gotas de 200µL de meio TCM 199 com sais de Earl's suplementado com antibiótico (meio MIV), em placas cobertas com óleo mineral, mantidas em estufa com 5% de CO<sub>2</sub> em ar, a 39°C. Os tratamentos consistiram de: meio MIV (T1), meio MIV suplementado com FSH nas primeiras 6 horas e posteriormente transferidos para o MIV (T2), meio MIV suplementado com FSH (T3), meio MIV suplementado com LH (T4) e meio MIV suplementado com FSH e LH (T5). As concentrações de LH (de pituitária equina, Sigma, L-9773) e FSH (Sigma, F-8001) utilizadas em todos os grupos foram 24UI/ml e 10µg/ml, respectivamente. Após o período de maturação, os ovócitos foram transferidos para o meio de fecundação e inseminados *in vitro* (D0). Ovócitos e espermatozoides foram co-incubados por 18-20h e depois transferidos para meio SOFaaci e cultivados até D8. A taxa de clivagem foi avaliada 48h pós-fecundação (pi) e a taxa de blastocistos em D6, D7 e D8 (pi). Os dados foram analisados pelo teste de Chi-quadrado. A taxa de clivagem foi inferior ( $P < 0,05$ ) no T1 (43%) quando comparado aos demais, que não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ), sendo 65%, 70%, 66% e 77% para T2, T3, T4 e T5, respectivamente. Da mesma forma, as taxas de blastocisto em D6, D7 e D8 não foram diferentes ( $P > 0,05$ ) no T2 (23%, 45%, 49%), T3 (23%, 38% e 39%) T4 (24%, 41% e 44%) e T5 (29%, 45% e 46%), mas foram menores ( $P > 0,05$ ) no T1 (12%, 20% e 23%). Os resultados sugerem que nas condições utilizadas, a presença do LH e FSH individual ou em combinação durante a maturação *in vitro*, é crítica para o desenvolvimento embrionário posterior. Além disso, a presença de gonadotrofinas pode ser necessária somente durante as primeiras 6 horas de maturação. É possível que, *in vitro*, o LH tenha ação similar ao FSH em desencadear a cascata de eventos que ocorrem no início da maturação; por outro lado, a presença de SFB no sistema de maturação pode ter mascarado os resultados.

Apoio: EMBRAPA.

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

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

## **056 - EVIDÊNCIA SOBRE A ORIGEM DAS RAÇAS NATURALIZADAS BRASILEIRAS DE OVINOS OBTIDA POR UM SNP LOCALIZADO NO GENE GDF-9 (Evidence of the origin of Brazilian naturalized sheep breeds obtained by a new snp of GDF-9 gene)**

Castro, E.A.<sup>1</sup>, Paiva, S.R.<sup>2</sup>, Franco, M.M.<sup>3</sup>, Souza, C.J.H.<sup>4</sup>, Melo, E.O.<sup>2</sup>

O gene GDF-9 é um dos primeiros genes expressos pelo ovócito ainda no folículo primordial e exerce grande influência no controle das fases iniciais da foliculogênese. O hormônio GDF-9 pertence à super-família TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ ), constituída por vários hormônios e fatores de crescimento evolutivamente conservados. O gene GDF-9 é constituído de dois exons, onde o segundo exon contém mais de 70% da seqüência do quadro de leitura da proteína e codifica, em sua porção C-terminal, o peptídeo maduro com 135 aminoácidos, que após processamento formará o hormônio ativo. Uma mutação no gene GDF-9 capaz de aumentar a prolificidade em ovinos das raças européias (Cambridge e Belclare) foi caracterizada. Posteriormente, foi identificado na raça de ovelha naturalizada brasileira Santa Inês, uma nova mutação no gene GDF-9 que pode estar envolvida com aumento na taxa de ovulação. Como a raça Santa Inês é possivelmente formada por contribuições de várias raças, o objetivo desse trabalho foi verificar a existência deste SNP em outras raças naturalizadas brasileiras de ovinos, entre elas: Bergamácia, Somalis, Morada Nova, Rabo Largo e em raças comerciais européias que não possuiriam correlação com a raça Santa Inês (Suffolk, Hampshire, Dorper, Ile-de-France e Corridale). Foram genotipados por PCR-RFLP 517 animais em que o DNA genômico foi extraído a partir do sangue e a região codificadora do peptídeo maduro foi amplificada por PCR. Após a amplificação foi utilizada uma enzima de restrição capaz de diferenciar, através dos produtos da digestão do fragmento de PCR, entre o alelo selvagem e o alelo mutante do GDF-9. A mutação foi encontrada nas raças crioulas, mas não foi encontrada nas demais raças européias introduzidas posteriormente a formação da Santa Inês. Este resultado sugere que essa mutação é diagnóstica das raças naturalizadas brasileiras e que possivelmente ocorreu em um ancestral comum em alguma destas raças.

---

<sup>1</sup> Biomedicina, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCeub

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

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

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



**057 - EXPRESSÃO DIFERENCIAL DOS GENES *IMPRINTED* IGF2R E GRB10 EM EMBRIÕES CLONES BOVINOS PRODUZIDOS POR TRANSFERÊNCIA NUCLEAR (Differential expression of the imprinted genes IGF2R and GRB10 in bovine cloned embryos produced by nuclear transfer)**

Moura, M.T.<sup>1</sup>, Mundim, T.C.D.<sup>2</sup>, Sousa, R.V.<sup>3</sup>, Franco, M.M.<sup>4</sup>, Rumpf, R.<sup>4</sup>

A clonagem por transferência nuclear é uma técnica que possibilita a reversão do estado de diferenciação da célula somática. No entanto, sua eficiência permanece muito baixa e a incorreta reprogramação epigenética sendo considerada a principal causa. Existem evidências para esta hipótese, como a expressão prematura de genes específicos da célula doadora e a baixa expressão de genes relacionados a pluri-totipotência. Os genes *imprinted* são genes que apresentam expressão monoalélica, parente-específica e estão relacionados a diversas fases do desenvolvimento. A expressão destes em níveis fisiológicos têm correlacionado com a sobrevivência dos clones, sendo genes importantes para avaliação da técnica. Este trabalho buscou analisar a expressão dos genes *imprinted* IGF2R e GRB10 em embriões clones e partenogenéticos bovinos. Para a produção dos embriões, ovócitos foram maturados in vitro por 20h. A enucleação e a reconstrução foram realizadas através do uso de micromanipuladores acoplados a um microscópio invertido. Foram utilizados fibroblastos cultivados in vitro de uma vaca adulta como doadores de núcleo. A fusão foi realizada utilizando o eletrofusor BTX<sup>®</sup> ECM 200 e a ativação partenogenética com Ionomicina e 6-DMAP. As estruturas foram cultivadas em meio SOFaaCi sobre monocamada de células da granulosa em estufa com atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> em ar. Dois pools de 8 e 15 embriões na fase de blastocisto, de 5 manipulações, sete dias após a ativação foram utilizados para as análises. Para a extração do RNA total foi utilizado Trizol Reagent - Invitrogen<sup>®</sup> seguindo recomendações do fabricante, mas com modificações. As amostras de RNA foram tratadas com DNase seguindo para a síntese de cDNA com *primers* Oligo dT, sendo posteriormente amplificadas por PCR (RT-PCR semiquantitativa). Para a quantificação relativa foi usado o gene constitutivo  $\beta$ -actina. Os resultados mostraram uma diferença na expressão relativa dos genes *imprinted* IGF2R e GRB10 entre os dois grupos de embriões, sendo maior nos partenogenéticos. A diferença observada no gene IGF2R pode ter implicações importantes, pois sua expressão aberrante tem sido observada em neonatos ovinos que possuem a “síndrome da cria grande”, bastante freqüente em clones. O IGF2R e o GRB10 atuam na regulação do crescimento fetal e por isso, a baixa expressão destes pode ser um dos fatores responsáveis pelo aumento do tamanho dos clones e problemas associados à síndrome.

Apoio: CAPES e EMBRAPA.

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

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

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

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



## 058 - IDENTIFICAÇÃO DO SEXO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VIVO UTILIZANDO A TÉCNICA DE PCR A CAMPO (Sex identification of *in vivo* produced bovine embryos using PCR under field conditions)

Sousa, R.V.<sup>1</sup>, Cardoso, C.R.S.<sup>2</sup>, Butzke, G.<sup>2</sup>, Franco, M.M.<sup>3</sup>, Rumpf, R.<sup>3</sup>

Com o aprimoramento das técnicas reprodutivas, a produção de embriões *in vivo* e *in vitro*, tem crescido e demandado por metodologia eficaz de identificação do sexo dos embriões, para adequar o sistema de produção animal. Este trabalho objetivou testar metodologia otimizada na EMBRAPA para a identificação do sexo de embriões bovinos, utilizando a técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em condições de campo. Os embriões (n=613) foram coletados de animais, no sétimo dia (D-7) após a inseminação e divididos em dois grupos. Os embriões do grupo G-1 (n=374) foram submetidos à micromanipulação por secção para retirada da biópsia, preferencialmente de células do trofoblasto. Os embriões biopsiados foram mantidos em solução de manutenção até o final do processo de identificação do sexo e então transferidos para receptoras síncronas. Os embriões do grupo G-2 (n=239) foram transferidos íntegros (controle), para receptoras síncronas. Todas as receptoras foram submetidas à ultrasonografia aos 35 e 60 dias após as inovulações, para diagnóstico de gestação e confirmação do sexo, respectivamente. Para a identificação do sexo dos embriões biopsiados, foi utilizada a técnica de PCR e eletroforese em gel de agarose. Na reação, foram utilizados 2 pares de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), sendo o primeiro específico para o cromossomo Y e o segundo para gene autossômico (controle da reação capaz de amplificar seqüência de DNA específica em qualquer amostra bovina). Após a micromanipulação para a retirada, cada biópsia foi introduzida em microtubo plástico individualizado contendo 8µL de solução de lise celular e Proteinase K (Invitrogen® - Germany), que foi mantido à 55°C por 5 minutos, seguido de 5 minutos à 95°C. Após essa etapa, foram adicionados aos tubos contendo as biópsias, 20µL de solução composta por: *primers*, dNTPs, tampão de reação e a enzima *Taq* DNA polimerase (Kit EMBRAPA). As amostras foram transferidas para termociclador e submetidas a 40 ciclos de variação de temperatura para a amplificação do DNA. Após a amplificação por PCR, 20ul de cada amostra foram aplicados em gel de agarose a 2% e submetidos a eletroforese (100v, 40 mA) por cerca de 35 minutos. A comparação das taxas de gestação entre os grupos indicaram não haver diferenças significativas na avaliação pelo teste do qui-quadrado, com G-1=217/374 (58,0%) e G-2= 132/239 (55,2%). Do total de 125 gestações confirmadas do grupo G-1 e avaliadas por ultrasonografia aos 60 dias após as inovulações, 119 (95,2%) tiveram sexo coincidente com aquele atestado pela PCR. O resultado mostrou que o procedimento de retirada de biópsia de embriões produzidos *in vivo* não interfere na viabilidade dos mesmos, aferida pelas taxas de gestação observadas e que a metodologia utilizada para identificação do sexo dos embriões a campo é viável.

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

<sup>2</sup>Med. Vet., B.Sc., Guilberth Serviços Veterinários S/C LTDA, Campinas-SP

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

## 059 - INFLUÊNCIA DA ALTA OU BAIXA INGESTÃO ALIMENTAR NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS (Influence of high or low feed intake on *in vitro* embryo production in cattle)

Martins, A.C.<sup>1</sup>, Ramos, A.F.<sup>2</sup>, Mollo, M.R.<sup>3</sup>, Pivato, I.<sup>4</sup>, Câmara, J.U.<sup>5</sup>, Carrijo, L.H.D.<sup>6</sup>, Driessen, K.<sup>7</sup>, Rumpf, R.<sup>4</sup>, Sartori, R.<sup>4</sup>

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da alta ou baixa ingestão alimentar na produção *in vitro* de embriões em vacas azebuadas. Após 14 dias de adaptação a uma dieta de manutenção, 20 vacas não lactantes com ECC de 2,9 (escala de 1-5) e pesando 410,5 kg foram divididas aleatoriamente em dois grupos recebendo dietas de 180% (alta ingestão; A) ou 70% (baixa ingestão; B) em relação à manutenção durante 56 dias além de água e sal mineral à vontade. Com 21 dias nas dietas experimentais as vacas tiveram o estro sincronizado. Entre 7 e 10 dias após o estro, todos os folículos com diâmetro acima de 5 mm foram aspirados e as vacas receberam 150 mg de d-Cloprostenol im, além da colocação de um implante auricular de norgestomet que era trocado a cada 14 dias. Quatro dias após a colocação do implante, as vacas foram submetidas à aspiração folicular (OPU) seriada com intervalo de 3 e 4 dias entre as coletas num total de 7 coletas. Os ovócitos coletados (732 e 623 nos grupos A e B) foram submetidos a uma seleção quanto à sua qualidade, maturados, fecundados *in vitro* e incubados por 7 dias até atingirem o estágio de mórula ou blastocisto. As vacas ganharam 0,96 kg/dia de PV no grupo A e perderam 0,93 kg/dia de PV no grupo B durante o experimento. No momento das OPUs, o número de folículos >3 mm observados no ovário foi maior ( $P < 0,05$ ) no grupo A ( $17,1 \pm 0,8$ ) em relação ao B ( $14,1 \pm 0,8$ ), assim como o número de folículos aspirados ( $14,5 \pm 0,6$  vs  $11,9 \pm 0,6$ ) e o tamanho do maior folículo ( $9,3 \pm 0,3$  vs  $7,8 \pm 0,3$ ). Além disso, houve uma tendência ( $P < 0,10$ ) de aumento nas vacas de alta ingestão quanto ao número de ovócitos não viáveis recuperados por OPU ( $5,9 \pm 0,6$  vs  $4,6 \pm 0,6$ ). Não houve diferença, entretanto, no número de ovócitos por coleta ( $10,5 \pm 0,9$  vs  $8,9 \pm 0,9$ ), no número de ovócitos viáveis ( $4,6 \pm 0,4$  vs  $4,3 \pm 0,4$ ), na taxa de clivagem dos viáveis (67,5% vs 67,6%) e na taxa de embriões (36,4% vs 41,7%) para os grupos A e B, respectivamente. Em resumo, alta ingestão alimentar aumentou a população folicular no momento da OPU, mas não aumentou o número de embriões produzidos por fecundação *in vitro* em relação à baixa ingestão alimentar.

Apoio: CNPq, CAPES e Integral Nutrição Animal.

<sup>1</sup>Méd. Vet., mestranda, Univ. do Estado de São Paulo-UNESP/Botucatu

<sup>2</sup>Méd. Vet., doutorando, Universidade Federal do Minas Gerais-UFMG

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

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

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

<sup>6</sup>Méd. Vet., Integral Nutrição Animal

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

## 060 - TRANSPORTE DE OVÓCITOS IMATUROS E SEU EFEITO NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS (Immature oocytes transportation and its effect on *in vitro* production of bovine embryos)

Leme, L.O.<sup>1</sup>, Marinheiro, G.M.<sup>2</sup>, Sousa, R.V.<sup>3</sup>, Dode, M.A.N.<sup>4</sup>, Rumpf, R.<sup>4</sup>

Com o avanço da tecnologia da produção *in vitro* (PIV) de embriões associado à técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultra-som, ferramentas estão disponíveis, para otimizar o uso de fêmeas com alto potencial genético. As fazendas de produção ficam longe dos laboratórios de PIV, necessitando de sistema eficiente para o transporte de gametas. Visando avaliar o efeito de sistemas de transporte de ovócitos na produção de embriões, foram utilizados 688 ovócitos oriundos de ovários de abatedouro, sendo realizadas 5 repetições com 30 ovócitos em média para cada tratamento. Em todos os sistemas, imediatamente após a recuperação e seleção, os ovócitos foram colocados em tubo de 2mL, contendo 1mL de meio de maturação coberto com uma camada de 250µl de óleo mineral. No grupo controle (T1), os ovócitos foram maturados por 22-24h em meio TCM 199 com sais de Earl's suplementado com hormônios (LH e FSH) e antibiótico (meio MIV), em tubo aberto na estufa convencional com 5% de CO<sub>2</sub> em ar, a 39°C e alta umidade. Nos tratamentos T2 e T3, a maturação foi realizada em meio MIV em tubo com tampa de membrana porosa, que permite troca gasosa (Eppendorf® Lid<sub>Bac</sub> – Eppendorf) em uma estufa portátil de mistura carbogênica (5% CO<sub>2</sub>, 20% O<sub>2</sub> e N<sub>2</sub> balanceado) TK-FIV (TK – Tecnologia em Congelação Ltda.), a 39°C e alta umidade, programada para injeção gasosa automática a cada 4h; no grupo T2, após 12h os ovócitos foram transferidos para a estufa convencional até completarem a maturação, enquanto no T3 os ovócitos permaneceram as 22-24 horas na estufa portátil. Nos grupos T4 e T5, os ovócitos foram maturados em meio de transporte composto por TCM 199 com sais de Hank's suplementados igualmente com hormônios e antibióticos (MIV-t), durante 12h e 22-24h, respectivamente, em banho-maria a 36°C; os ovócitos do grupo T4 após 12h de incubação foram transferidos para meio MIV, permanecendo em estufa convencional até completarem 22-24h. Após maturação todos os ovócitos foram transferidos para o meio de fecundação e inseminados *in vitro* (D0); após 20h foram transferidos para meio SOFaaci e cultivados até D7. A taxa de clivagem foi avaliada 48h pós-fecundação e a taxa de blastocistos em D6 e D7. Análise dos dados pelo teste chi-quadrado mostrou que a taxa de clivagem foi menor (P<0,05) para T5 (67%) do que T1 (80%), mas não diferiram (P>0,05) do T2 (73%), T3 e T4 (75%). As taxas de blastocisto em D6 foram semelhantes (P<0,05) para T1(31%), T2 (31%), T3 (33%), e T4 (31%), mas inferior (P<0,05) para T5 (21%). Em D7, os grupos apresentaram porcentagem de blastocisto de 43%, 39%, 40%, 36% e 36% para T1, T2, T3, T4 e T5, respectivamente. Verificou-se que é possível transportar ovócitos, utilizando estufa portátil ou MIV-t, durante todo o período de maturação, mas os horários 12h e 24h, no MIV-t, mostraram tendência a produzir menos embriões.

Apoio: EMBRAPA.

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

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

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

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

## **061 - UTILIZAÇÃO DO TESTE COM ACRIDINA LARANJA E TUNEL PARA AVALIAR A INTEGRIDADE DOS ESPERMATOZÓIDES LIOFILIZADOS DE BOVINOS (The use of acridine orange test and TUNEL assay to assess DNA integrity of bovine freeze-dried spermatozoa)**

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

Uma correta detecção de danos nucleares é fundamental para monitorar e melhorar os métodos de preservação de espermatozóides. No presente estudo, o processo de liofilização foi utilizado como procedimento alternativo para preservar espermatozóides bovinos. Para detectar a condição do DNA das células espermáticas preservadas com os diferentes meios de liofilização dois métodos foram utilizados dois métodos, “acridine orange test” (AOT) e “terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUDP nick-end labeling “ (TUNEL). O AOT não foi capaz de detectar qualquer efeito da liofilização na integridade do DNA. Entretanto, quando o teste de TUNEL foi utilizado, uma diferença na integridade do DNA foi observada entre os tratamentos, sugerindo que o método de TUNEL é mais sensível para avaliar o DNA espermático. O tratamento utilizando a solução de EGTA (T3) apresentou 2% de espermatozóides com fragmentação de DNA, que não foi diferente ( $P>0,05$ ) do tratamento controle. No entanto, o tratamento com TCM 199 e 10% of FCS (T1), demonstrou 14% de fragmentação de DNA. Quando os espermatozóides deste mesmo tratamento (T1) foi avaliado pelo AOT somente 4% de células apresentaram danos da cromatina, sendo similar aos outros tratamentos. Os resultados de fragmentação de DNA foram negativamente relacionados com o potencial de fecundação, uma vez que os danos ao DNA espermático foram inversamente relacionados com a formação de pró-núcleos. Desta forma, diferente do AOT, o teste de TUNEL pode ser considerado um método eficiente para detectar danos ao DNA espermático e pode ser utilizado como uma ferramenta para prever a fertilidade do macho.

---

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

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

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

# **CONTROLE BIOLÓGICO**



## 062 - ANÁLISE DE PROTEÍNAS ESTRUTURAIS E DE DNA DE UM BACULOVÍRUS PATOGÊNICO A *Pseudaletia* SP. (Structural proteins and DNA analysis of a baculovirus pathogenic to *Pseudaletia* sp.)

Azevedo, F.I.<sup>1</sup>, Sihler, W.<sup>2</sup>, Ribeiro, Z.M.A.<sup>3</sup>, Pegoraro, R.A.<sup>4</sup>, Souza, M.L.<sup>5</sup>, Castro, M.E.B.<sup>5</sup>

Uma das pragas mais comum na plantação do trigo é a lagarta *Pseudaletia* sp. (Lepidoptera, Noctuidae). Normalmente são encontradas em manchas na lavoura, atacando áreas restritas, mas tendem a se expandir e podem consumir até 100m<sup>2</sup> de área livre. A evidência da ocorrência natural de larvas de *Pseudaletia* sp mortas por infecção viral pode ser um indicativo de potencial desse vírus para uso em controle biológico. Esse trabalho tem como objetivo principal identificar o patógeno causador da doença em *Pseudaletia* sp com base nas análises morfológica, de proteínas estruturais e de DNA. Partículas virais foram purificadas a partir da homogeneização de larvas infectadas, coletadas no município de Campos Novos (SC) no ano de 2004, através da ultracentrifugação em gradiente de sacarose e visualizadas por microscopia. Essas partículas foram analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamida-SDS, confirmando a presença de um peptídeo de aproximadamente 30kDa correspondente a poliedrina, a principal proteína presente nos corpos de oclusão de baculovirus do gênero *Nucleopolyhedrovirus*. O DNA genômico foi purificado a partir de corpos de oclusão por dissolução em solução alcalina, seguida de extrações com fenol-clorofórmio-álcool isoamílico e precipitação em etanol gelado. A clivagem do DNA foi feita usando diferentes enzimas de restrição, seguida de análise por eletroforese em gel de agarose. Os perfis de restrição mostraram a presença de 8, 12, 14 e 13 fragmentos gerados por *Bam*HI, *Eco*RI, *Hind*III, e *Pst*I, respectivamente. Os resultados obtidos nesse trabalho mostraram que o patógeno isolado das larvas infectadas de *Pseudaletia* sp pertence ao gênero *Nucleopolyhedrovirus*, da família *Baculoviridae*. Além da inicial identificação do vírus, estudos de caracterização estão sendo desenvolvidos.

Apoio: EMBRAPA e CNPq

---

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

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

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

<sup>4</sup>Biólogo, M.Sc., Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A.

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

## 063 - ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE UMA BACTÉRIA ENDOFÍTICA DO CACAUEIRO (Analysis of the antifungal potential of an endophytic bacteria of cocoa)

Gomes, R. R.<sup>1</sup>, Oliveira Jr., G. P.<sup>2</sup>, Costa, R.L.<sup>3</sup>, Capdeville, G.<sup>4</sup>, Gander, E. S.<sup>5</sup>, Marcellino, L. H.<sup>6</sup>

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é uma planta endêmica da floresta tropical úmida americana. A cacauicultura é uma atividade de grande importância econômica para o Brasil, que foi o maior produtor mundial até o final da década de 80. Hoje ele é o quinto produtor (safra 2003/2004) devido à perda da produtividade por doenças, particularmente a vassoura-de-bruxa causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa*. As práticas utilizadas para o controle desta praga restringem-se ao uso de fungicidas e poda fitossanitária. Com o objetivo de se obter meios alternativos para o controle da doença e sabendo que bactérias e fungos endofíticos podem estar envolvidos no processo de resistência a doença, caracterizamos uma bactéria endofítica, ALB629, previamente isolada de plantas de cacau resistentes à vassoura-de-bruxa (Pomella, 2005) quanto à sua capacidade de colonizar a planta de cacau e seu potencial antimicrobiano. Assim, sementes germinadas de cacau suscetível foram tratadas com a bactéria e cultivadas por quarenta dias em tubos de ensaio com casca de arroz carbonizada estéril. Para acompanhar o processo de colonização da bactéria na planta, diferentes tecidos de cacau foram testados. Fragmentos de folha, caule, raiz e meristema apical foram desinfestados e colocados em meio de cultura para ALB629. A bactéria foi identificada em todos os tecidos testados, indicando que a mesma coloniza toda a planta. Para testar a atividade antimicrobiana, *C. perniciosa* foi crescido na presença de ALB629 in vitro. Observou-se uma alteração no crescimento micelial e a formação de um halo de inibição demonstrando o potencial desta bactéria em controlar o crescimento in vitro deste patógeno. Foi possível constatar também que o efeito antimicrobiano é perdido após sucessivas repicagens in vitro da bactéria, indicando que a manutenção do efeito é dependente da interação bactéria/cacau. Para identificar e caracterizar as substâncias que inibem o crescimento do fungo, os halos de inibição estão sendo analisados. Adicionalmente, estudos proteômicos estão sendo realizados para se identificar proteínas que são produzidas pela planta em simbiose com a bactéria.

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

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

<sup>3</sup>Eng. Agr., Universidade Estadual Santa Cruz-UESC

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

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

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



**064 - APLICAÇÃO EM CAMPO DO *E*-(2)-HEXENAL, UM CAIRÔMONIO PARA MANEJO DE PARASITÓIDES DE OVOS (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) [Field application of *E*-(2)-hexenal, a kairomone for egg parasitoids (Hymenoptera:Scelionidae) management]**

Vieira, P.H.M.<sup>1</sup>, Laumann, R.A.<sup>2</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>3</sup>, Caetano, L.D.<sup>4</sup>, Vieira, A.R.A.<sup>5</sup>, Ferreira, B.S.C.<sup>6</sup>, Sujii, E.R.<sup>7</sup>, Pires, C.S.S.<sup>8</sup>, Borges, M.<sup>2</sup>

A manipulação do comportamento de inimigos naturais é uma ferramenta que pode incrementar a eficiência de inimigos naturais. Os semioquímicos podem auxiliar para atrair e reter parasitóides em áreas previamente tratadas e, conseqüentemente, incrementar os índices de parasitismo. Neste trabalho, são apresentados resultados de experimentos de campo com o composto (*E*)-2-hexenal, um componente de feromônios de alarme de percevejos que tem mostrado ação cairomonal eficiente para parasitóides de ovos. Três experimentos foram desenvolvidos em campos de soja na região do PAD-DF. No primeiro experimento foram utilizadas armadilhas adesivas iscadas com 5 mg de (*E*)-2-hexenal, os controles consistiram de armadilhas adesivas com n-hexano. No segundo experimento foram utilizados ovos sentinela de *Euschistus heros* colados em tiras de cartolina e distribuídos ao redor de uma planta na qual se colocou um septo de borracha tratado com 5 mg de (*E*)-2-hexenal (tratamento) ou com n-hexano (controle). O terceiro experimento utilizou ovos provenientes de fêmeas de *E. heros* confinadas em gaiolas de filós, distribuídas em áreas de 2500 m<sup>2</sup>, nos vértices de cada área foram colocados septos de borracha tratados com 50 mg (*E*)-2-hexenal (area 1), 5 mg de (*E*)-2-hexenal (area 2) ou n-hexano (area 3). Os resultados obtidos indicam que o (*E*)-2-hexenal possui poder de atração para parasitóides, a média de insetos capturados nas armadilhas iscadas com o composto foi significativamente maior que a média de insetos capturados nas armadilhas com n-hexano. Os experimentos em campo, com cartelas de ovos e com fêmeas em gaiolas, mostraram que nas áreas tratadas com o composto (*E*)-2-hexenal foram encontrados índices de parasitismo superiores aos das áreas controle. Isto demonstra que o (*E*)-2-hexenal além de atrair os parasitóides produz um incremento significativo dos níveis de parasitismo. Os resultados obtidos indicam que o composto (*E*)-2-hexenal possui potencial para manipulação do comportamento de parasitóides da família Scelionidae orientado a incrementar sua eficiência com agentes de controle de percevejos-praga.

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

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

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

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

<sup>5</sup>Biologia, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>6</sup>Bióloga, Ph.D., Embrapa Soja

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

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

**065 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CELULÁSICA E QUITINÁSICA DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS A *Anthonomus grandis* BOHEMAN, 1843 (Chitinases and cellulases from *Bacillus thuringiensis* active against *Anthonomus grandis* Boheman, 1843)**

Dumas, V.F.<sup>1</sup>, Goldenberg, C.S.<sup>2</sup>, Melo, F.R.<sup>3</sup>, Martins, E.S.<sup>4</sup>, Praça, L.B.<sup>5</sup>, Monnerat, R.G.<sup>6</sup>

Nas últimas décadas, o cultivo agrícola mundial vem crescendo exponencialmente. Culturas como as do algodão recebem destaque por influenciar na movimentação de divisas e gerar empregos em todo mundo. Porém, a cotonicultura está vulnerável a diversas pragas, que provocam grandes perdas econômicas, todos os anos. Dentre estas, destaca-se o bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843). Uma alternativa viável para o controle dessa praga é a utilização de agentes de controle biológico, como *Bacillus thuringiensis* (Bt), que é uma bactéria caracterizada pela produção de inclusões protéicas, ativas especificamente, contra insetos alvo. Essa bactéria é capaz de produzir enzimas como quitinase e celulase, que podem auxiliar na sua dispersão pelo ambiente e no seu modo de ação contra os insetos. O objetivo deste trabalho foi analisar a produção de quitinase e celulase de seis estirpes de Bt, pertencentes ao banco de *Bacillus spp.* da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, ativas contra *A. grandis*. Os ensaios de quitinase e celulase foram realizados com a cultura das estirpes crescidas por 16h, 24h, 48h e 72h, a fim de se avaliar a relação entre crescimento celular e produção enzimática. A atividade enzimática foi determinada a partir de um método calorimétrico e a produção de N-acetil glucosamina (NAG) foi dosada pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS). Todas as estirpes testadas apresentaram produção de quitinase e celulase a partir de 16 h de crescimento. Porém, as curvas de atividade enzimática das estirpes não apresentaram diferenças significativas quando comparadas, mostrando assim que essas enzimas não influenciam na diferença de toxicidade apresentada pelas estirpes.

---

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

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

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., União Pioneira de Integração Social-UPIS

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

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

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

**066 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE QUITINÁSICA E CELULÁSICA DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS A *Spodoptera frugiperda* E *Anticarsia gemmatilis* [Evaluation of the activity of strains of *Bacillus thuringiensis* toxics to *Spodoptera frugiperda* and *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera, Noctuidae)]**

Goldenberg, C.S.<sup>1</sup>, Dumas, V.F.<sup>2</sup>, Melo, F.R.<sup>3</sup>, Martins, E.S.<sup>4</sup>, Ramos, F.R.<sup>5</sup>, Praça, L.B.<sup>6</sup>, Monnerat, R.G.<sup>7</sup>

A bactéria *Bacillus thuringiensis* é amplamente utilizada em controle biológico, sendo alternativa viável e apresentando grande eficiência no controle das principais pragas de importância agrônômica como *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatilis*. A principal forma de ação dessas bactérias é devido principalmente à presença de inclusões cristalinas chamadas proteínas Cry, que agem no intestino médio de tais insetos, provocando sua morte. No entanto, sabe-se que há uma delicada membrana sobre as células epiteliais que revestem o intestino, chamada de membrana peritrófica, composta por um misto de quitina e proteínas. O papel das enzimas quitinase e celulase é de grande importância no entendimento da infectividade da bactéria à praga e a entrada da bactéria à planta, respectivamente. As quitinases atuam na degradação da membrana peritrófica, enquanto que as celulasas facilitam a degradação da celulose constituinte de tecidos vegetais e posterior difusão da bactéria à planta. As atividades de ambas as enzimas foram quantificadas por meio de teste colorimétrico, utilizando espectrofotômetro e aferindo-se a absorvância a 550 nm. De forma, geral, observou-se que todas as estirpes de bactérias adotadas nos ensaios apresentaram atividade de quitinase e celulase semelhante, indicando tendência crescente de atividade enzimática conforme o passar do tempo de crescimento.

---

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

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

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., União Pioneira de Integração Social-UPIS

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

<sup>5</sup>Biólogo, mestrando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

**067 - AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA PROTEÍNA RECOMBINANTE INSETICIDA Cry2Ab DE *Bacillus thuringiensis* SUBSP. *kurstaki* CONTRA LARVAS DE *Spodoptera frugiperda* (Evaluation of toxicity by recombinant pesticide protein Cry2Ab of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* against *Spodoptera frugiperda*)**

Aguiar, R.W.S.<sup>1</sup>, Martins, E.S.<sup>2</sup>, Fernandez, R.S.<sup>3</sup>, Melatti, V.M.<sup>4</sup>, Falcão, R.<sup>5</sup>, Monnerat, R.G.<sup>6</sup>, Ribeiro, B.M.<sup>7</sup>

O gene *cry2Ab* da estirpe brasileira S447 de *B. thuringiensis* foi amplificado por PCR, clonado em um vetor de clonagem e seqüenciado. A análise da seqüência mostrou que o gene tem 100% de identidade com outros genes *cry2Ab* já descritos. O gene foi removido do vetor de clonagem e introduzido em um plasmídeo usado como vetor de transferência (pSynXIVVI+X3) para construção de um baculovírus *Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV) recombinante. O DNA do plasmídeo recombinante (pSyncry2Ab) foi usado então, em uma co-transfecção com DNA do vírus recombinante vSyngalVI- (derivado do AcMNPV) em células de inseto em cultura. Pela recombinação homóloga, dentro das células de inseto, entre regiões flangeadoras do gene *cry2Ab* no plasmídeo pSyncry2Ab e do gene *lac-Z* no genoma do vírus vSyngalVI-, o gene *cry2Ab* foi introduzido dentro do genoma do vírus, ficando sob o comando dos promotores em tandem pSyn e PXIV. O vírus recombinante, denominado de vSyncry2Ab, foi purificado por diluição seriada em placa de 96 poços. Células de inseto em cultura foram infectadas com o vírus vSyncry2Ab e a 72 h p.i., o mRNA extraído e a presença do transcrito do gene *cry2Ab* foi confirmada por RT-PCR. Os cristais purificados de extrato de larvas de *S. frugiperda* infectadas (96 h p.i.) com o vSyncry2Ab apresentaram, em SDS-PAGE, um polipeptídeo de aproximadamente 70.75 kDa, correspondente ao tamanho da proteína Cry2Ab. Análise ultraestrutural de extratos de lagartas de *S. frugiperda* infectadas com o vírus recombinante mostrou a presença de grandes cristais cubóides, provavelmente formados pela proteína recombinante. Além disso, esses cristais, presentes em preparações semi purificadas, apresentaram toxicidade contra larvas de segundo instar de *S. frugiperda* com uma CL<sub>50</sub> de 3,40 µg/mL.

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

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

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

<sup>4</sup>Bióloga, mestrand, UUniversidade de Brasília-UnB

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

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

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

**068 - AVALIAÇÃO DE RESPOSTAS DE *Diabrotica speciosa* A VOLÁTEIS DE *Lagenaria vulgaris* UTILIZANDO TÉCNICA DE ELETROANTENOGRRAFIA (EAG) (Elektroantennografic responses of *Diabrotica speciosa* to volatiles released by *Lagenaria vulgaris*)**

Vieira, H.G.<sup>1</sup>, Borges, M.<sup>2</sup>, Laumann, R.A.<sup>2</sup>, Cavalcante, C.<sup>3</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>4</sup>

O método eletroantegráfico (EAG) foi descrito por Schneider e definido como a medida da resposta fisiológica de antenas de insetos frente a estímulos químicos. Neste trabalho foi estudada a resposta de antenas de adultos fêmeas de *Diabrotica speciosa* a voláteis de *Lagenaria vulgaris* (Cucurbitaceae). Experimentos de campo e bioensaios em laboratório têm demonstrado que extratos aquosos e orgânicos desta planta possuem poder atrativo para adultos desta espécie. Análise química do extrato orgânico permitiu identificar compostos pertencentes aos grupos de hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, monoterpenóides, homoterpenos e sesquiterpenóides. Assim, o objetivo deste trabalho é estudar a resposta eletrofisiológica de *D. speciosa* aos compostos identificados nos extratos de *L. vulgaris* a fim de estabelecer a mistura de compostos que produzem a atração do inseto, visando seu manejo comportamental. Os primeiros compostos avaliados foram nonanal, nonanol e decanal, na concentração de 10 mg/l em n-hexano. Dez microlitros da solução a ser usada foram aplicados em tiras de papel filtro que foram colocadas no interior de uma pipeta Pasteur, a qual estava acoplada ao controlador de fluxo de ar através de um tubo de tygon. Quando acionado o controlador de estímulos, este libera um pulso de ar (1 s) que passa através da pipeta transportando o estímulo até a antena. Nos testes com EAG, foram feitas aplicações em série alternando o composto com o controle (hexano). Cada estímulo foi aplicado quatro vezes com intervalos de 30 s entre eles. Após uma série de estímulos, foi dado um intervalo de 1 minuto para a antena voltar a polarizar antes de aplicar a próxima série. Cada composto foi avaliado em antenas de cinco indivíduos. Os resultados obtidos indicam que os três compostos avaliados geraram respostas das antenas significativamente maiores à resposta produzida pelo n-hexano (teste t p<0,05).

Apoio: EMBRAPA CNPq-Bolsa PIBIC.

---

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

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

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

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

## 069 - AVALIAÇÃO DE SUBSTRATOS SÓLIDOS PARA A OTIMIZAÇÃO DA ESPORULAÇÃO DE *Dicyma pulvinata* (Evaluation of solid substrates to optimize *Dicyma pulvinata* sporulation)

Almeida, A.M.<sup>1</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>2</sup>, Menezes, J.E.<sup>3</sup>, Mello, S.C.M.<sup>4</sup>, Silva, J.B.T.<sup>5</sup>

O fungo *Dicyma pulvinata* tem sido utilizado como agente de biocontrole para o mal-das-folhas, doença causada por *Microcyclus ulei*, considerada a mais séria da seringueira no Brasil e outros países da América Latina. Objetivo desse trabalho foi avaliar diferentes substratos para a otimização da produção de *D. pulvinata*. Analisaram-se cinco substratos sólidos: arroz parboilizado (25g), arroz comum (25g), palha de arroz com melaço de cana (5g de cada), bagaço de cana (5g) e bagaço de cana com melaço de cana (5g de cada). Foram avaliados os seguintes isolados de *D. pulvinata*: Cen 58, Cen 62, Cen 91 e Cen 93. Quatro discos de 9mm de diâmetro retirados de culturas com 17 dias de cultivo foram colocados em erlenmeyers de 250ml, contendo os substratos, incubando-se em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Determinou-se a esporulação após 17 dias com o auxílio de câmara de Neubauer. Para todos os isolados o arroz parboilizado e o arroz comum apresentaram, estatisticamente, os melhores resultados em relação ao crescimento, com exceção apenas do isolado Cen 62, que apresentou um baixo crescimento em arroz comum. Para o Cen 91 observou-se que a palha de arroz com melaço apresentou uma boa esporulação. Verificou-se que o arroz é o melhor substrato para a esporulação de *D. pulvinata*, sendo o mais recomendado; o bagaço de cana não oferece os nutrientes necessários para o desenvolvimento do fungo mesmo quando acrescido de uma fonte nutricional; a palha de arroz pode ser utilizada como substrato mesmo para o crescimento e esporulação, porém ainda há necessidade de realizar estudos com outras fontes nutricionais para se obter uma maior produção dos isolados.

---

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

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

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

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

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

## **070 - AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ALGODÃO Bt NA BIONOMIA DE *Aphis gossypii* GLOVER (HEMIPTERA:APHIDIDAE) [Evaluation of Bt cotton effect on the bionomy of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)]**

Togni, P.H.B.<sup>1</sup>, Nakasu, E.Y.T.<sup>1</sup>, Macedo, T.R.<sup>1</sup>, Santos, P.H.R.<sup>2</sup>, Beserra, V.A.<sup>3</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>4</sup>, Pires, C.S.S.<sup>4</sup>, Sujii, E.R.<sup>5</sup>

A expressão de proteínas Bt pelo algodão geneticamente modificado (GM) para o controle de lepidópteros-praga pode afetar a biologia de insetos não-alvo. *Aphis gossypii* é uma praga primária do algodão, indicadora desse tipo de impacto ecológico. O objetivo desse trabalho foi avaliar o impacto do Algodão Bt na bionomia de *A. gossypii*. A variedade DP404BG (Bollgard), e seu isogênico DP4049, foram semeados em vasos individuais (500 g) em casa de vegetação, com 50 repetições/tratamento. Amostras das plantas GM foram coletadas e a expressão de Cry1Ac avaliada por ELISA. Estas foram individualizadas em gaiola plástica de 6 l. Três ninfas de primeiro instar (< 24h) foram transferidas para cada planta, e após 3 dias foi deixada uma ninfa/planta. Os insetos eram monitorados diariamente para estabelecer o período pré-reprodutivo. Na fase reprodutiva, avaliou-se a produção diária de ninfas pela contagem de neonatas, que foram retiradas e mantidas no congelador. Avaliou-se também a longevidade e sobrevivência dos indivíduos. O teste ELISA confirmou a presença de Cry1AC no algodão GM. O período pré-reprodutivo em plantas Bt ( $7,25 \pm 1,45$  dias) não diferiu em relação às não-Bt  $7,12 \pm 1,24$  dias ( $t = 0,466$  95 g.l.  $P = 0,642$ ). O período reprodutivo em plantas Bt  $16,35 \pm 5,91$  dias e não-Bt  $16,18 \pm 6,66$  dias também não diferiu significativamente ( $t = 0,133$  95 g.l.  $P = 0,894$ ). A longevidade média dos insetos em plantas Bt foi  $20,47 \pm 6,56$  dias e não-Bt,  $20,98 \pm 7,29$  dias ( $t = 0,361$  95 g.l.  $P = 0,719$ ) não diferindo significativamente. A produção média de prole total/fêmea foi de  $47,26 \pm 19,20$  ninfas no tratamento com a planta GM e  $46,98 \pm 21,31$  ninfas no controle, não diferiram significativamente ( $t = 0,0665$  94 g.l.  $P = 0,947$ ). O algodão GM não afeta a biologia de *A. gossypii* nas condições estudadas, porém, a possibilidade da toxina ser passada a níveis tróficos superiores deve ser avaliada.

Apoio Financeiro: FAT/FINEP/EMBRAPA e CNPq

---

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

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

<sup>3</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

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

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

**071 - A VARIABILIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* SMITH (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) DA AMÉRICA LATINA ESTÁ ASSOCIADA A VARIAÇÕES DE SUCEPTIBILIDADE A TOXINAS Cry DE *Bacillus thuringiensis* [Genetic variability in *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera:Noctuidae) populations in Latin America is associated to variations in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry toxins]**

Martins, E.S.<sup>1</sup>, Monnerat, R.G.<sup>2</sup>, Queiroz, P.R.<sup>3</sup>, Lima, L.H.C.<sup>2</sup>, Orduz, S.<sup>4</sup>, Benintende, G.<sup>5</sup>, Cozzi, J.<sup>6</sup>, Real, M.D.<sup>7</sup>, Martinez-Ramirez, A.<sup>8</sup>, Rausell, C.<sup>9</sup>, Cerón, J.<sup>10</sup>, Ibarra, J.E.<sup>11</sup>, Rincon-Castro, M.C.D.<sup>11</sup>, Espinoza, A.M.<sup>12</sup>, Meza-Basso, L.<sup>13</sup>, Cabrera, L.<sup>14</sup>, Sánchez, J.<sup>14</sup>, Soberon, M.<sup>15</sup>, Bravo, A.<sup>15</sup>

Estirpes de *Bacillus thuringiensis* (Bt) isoladas de amostras de solo de diferentes regiões da América Latina que mostraram toxicidade a três populações de *Spodoptera frugiperda* originárias de cultura de milho de diferentes áreas geográficas (México, Colômbia e Brasil) foram caracterizadas. A caracterização destas estirpes foi baseada na atividade inseticida, microscopia eletrônica de varredura e transmissão, perfil protéico, perfil plasmidial e conteúdo de genes *cry*. Foi encontrado que diferentes populações de *S. frugiperda* apresentaram diferente susceptibilidade a estirpes de Bt e a preparações puras das toxinas Cry1B, Cry1C e Cry1D. Ensaio de ligação mostraram que preparações das toxinas puras apresentam diferenças na capacidade de ligação a insetos destas populações, corroborando com as diferenças encontradas na análise de toxicidade dessas proteínas Cry. Finalmente, a variabilidade genética das três populações foi analisada por RAPD-PCR mostrando diversidade genética significativa entre as três populações analisadas. Os dados obtidos mostram que a variabilidade genética de populações de *S. frugiperda* deve ser cuidadosamente considerada no desenvolvimento de estratégias de controle de pragas, incluindo a distribuição geográfica de milho geneticamente modificado.

---

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

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

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

<sup>4</sup>Biólogo, Ph.D., CIB, Colômbia

<sup>5</sup>Eng. Agr., INTA, Argentina

<sup>6</sup>Químico, INTA, Argentina

<sup>7</sup>Bióloga, Ph.D., Universidad de Valencia

<sup>8</sup>Técnica, Universidad de Valencia

<sup>9</sup>Bióloga, Universidad de Valencia

<sup>10</sup>Químico, Universidad Nacional de Colombia

<sup>11</sup>Biólogo, Ph.D., CINVESTAV IPN

<sup>12</sup>Bióloga, Ph.D., Universidad de Costa Rica

<sup>13</sup>Bioquímico, Ph.D., Universidad de Talca

<sup>14</sup>Técnico, UNAM

<sup>15</sup>Investigações Biomédicas, Ph.D., UNAM



**072 - BIOLOGIA DE POPULAÇÕES DE *Chinavia ubica* E *Chinavia impicticornis* (HEMIPTERA:PENTATOMIDAE) DO DISTRITO FEDERAL  
[Population biology of *Chinavia ubica* and *Chinavia impicticornis*  
(Hemiptera:Pentatomidae) from Distrito Federal]**

Aquino, M.F.S.<sup>1</sup>, Motta, L.S.M.<sup>2</sup>, Laumann, R.A.<sup>3</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>4</sup>, Borges, M.<sup>3</sup>

As espécies *C. impicticornis* e *C. ubica* são componentes do complexo de percevejos-praga da soja. Normalmente estas espécies aparecem como pragas secundárias com menos abundância que espécies consideradas chave, como *Euschistus heros*, *Nezara viridula* e *Piezodorus guildini*. No DF tem se observado um significativo aumento da frequência de aparição destas espécies, sendo também registradas em outras culturas (ex. feijão e algodão). O objetivo deste trabalho foi estudar a biologia destas duas espécies com a finalidade de estabelecer os principais parâmetros biológicos que possam influenciar a dinâmica de suas populações. Através de metodologia de tabela de vida foram realizados estudos de sobrevivência e mortalidade de estágios imaturos e de fecundidade de adultos. As duas espécies mostraram parâmetros biológicos similares. A sobrevivência dos estágios imaturos foi baixa e similar para as duas espécies (16% para *C. impicticornis* e 17% para *C. ubica*). O tempo total de desenvolvimento de estágios imaturos (ovo-adulto) também resultou similar e não mostrou diferenças significativas ( $31,82 \pm 3,23$  dias para *C. impicticornis* e  $31,13 \pm 2,82$  dias para *C. ubica*). Os adultos de *C. impicticornis* mostraram uma maior longevidade, contudo a fecundidade total (ovos/fêmea) não mostrou diferenças significativas entre as espécies. Finalmente os parâmetros calculados através de tabela de fecundidade resultaram próximos ( $R_0= 16,68$ ,  $T=34,70$ ,  $r=0,08$  e  $\ddot{e}= 1,08$  para *C. ubica* e  $R_0= 15,89$ ,  $T=40,27$ ,  $r=0,068$  e  $\ddot{e}= 1,07$  para *C. impicticornis*). Os resultados obtidos indicam que as duas espécies de *Chinavia* estudadas apresentam biologias muito similares possuindo o mesmo potencial intrínseco de crescimento.

Apoio: EMBRAPA e UCB

---

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

<sup>2</sup>Biologia, B.Sc., Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

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

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

**073 - BIOPROSPECÇÃO DE EXTRATOS DE PLANTAS DO BIOMA CERRADO (FAMÍLIA MELIACEAE) ATIVOS SOBRE *Meloidogyne incognita* [Screening of plant extracts (*Meliaceae* family) from Brazilian Savanna-Cerrado active against *Meloidogyne incognita*]**

Murad, A.M.<sup>1</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>2</sup>, Rocha, T.L.<sup>3</sup>

Fitonematóides de galhas do gênero *Meloidogyne* spp. representam um dos maiores problemas enfrentados atualmente na agricultura mundial. Anualmente, as perdas provocadas por este fitoparasita podem chegar à ordem de milhões de dólares. Algumas metodologias utilizadas para o controle desse organismo são o uso de variedades resistentes, o controle biológico e sobretudo os pesticidas sintéticos. Contudo, esses pesticidas causam danos à saúde humana, ao meio ambiente e aos organismos não alvos, além de casos comprovados de desenvolvimento de resistência. Assim, a obtenção de métodos alternativos de controle mais aceitáveis, eficazes e viáveis ecologicamente é de fundamental importância. Pesquisas em andamento na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia demonstraram resultados inovadores, como a atividade nematicida específica de uma substância vegetal extraída de uma espécie da família Leguminosae. Dentro desse contexto, o objetivo desse trabalho é prospectar extratos vegetais da família Meliaceae do Banco de Extratos da Universidade de Brasília (UnB) ativos sobre *Meloidogyne incognita*. Para tanto, extratos de diferentes partes das plantas foram solubilizados obedecendo a proporção de 1g para 6ml de dH<sub>2</sub>O e centrifugados a 12.000rpm por 40 minutos. A extração de ovos foi feita a partir de raízes de tomateiro infestadas segundo a metodologia de Hussey & Barker. Para extração de juvenis de segundo estágio (J2), a suspensão de ovos foi submetida à técnica do funil de Baermann modificado. Ensaio biológicos foram conduzidos em quadruplicata usando alíquotas de 1 mL dos diferentes extratos e suspensões aquosas de 100J2/mL em placas de Petri, tendo como controle água bi-destilada. Os resultados preliminares demonstraram que o extrato da raiz de *Guarea kunthiana* foi o que apresentou maior atividade nematicida. Futuramente, os extratos efetivos serão utilizados em processos de purificação para a obtenção de substâncias nematicidas objetivando a continuidade da construção do banco de substâncias vegetais defensivos agrícolas no Laboratório de Planta-Praga-LPP.

Apoio: EMBRAPA, CNPq e FACUAL.

---

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

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

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

**074 - CAPACIDADE DE PREDÇÃO E POTENCIAL DE JOANINHAS (COLEÓPTERA:COCCINELIDAE) PARA O CONTROLE DO PULGÃO *Aphis gossypii* NO ALGODOEIRO (Predatory capacity and potencial of lady beetles (Coleoptera:Coccinellidae) for control *Aphis gossypii* in cotton plants)**

Beserra, V.A.<sup>1</sup>, Santos, P.H.R.<sup>2</sup>, Togni, P.H.B.<sup>3</sup>, Pires, C.S.S.<sup>4</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>4</sup>, Sujii, E.R.<sup>5</sup>

As joaninhas estão entre os agentes de controle biológico, mais especializados e abundantes para o pulgão, *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae), podendo representar mais 50% dos predadores presentes no algodoeiro. Um complexo de seis espécies foi observado em algodoeiros na região do Distrito Federal, *Cycloneda sanguinea*, *Scymnus* sp., *Eriopis conexa*, *Hippodamia convergens*, *Coleomegila* sp. e *Olla v-nigrum*, sendo as quatro primeiras as mais abundantes e mais freqüentemente observadas em todas as áreas. Avaliou-se a capacidade de predação das espécies mais abundantes visando estimar seu potencial como agentes de controle biológico natural na cultura. Larvas e adultos de cada espécie foram mantidos em gaiolas individuais em câmara de crescimento a 25±2°C e fotoperíodo de 13 horas, o pulgão *A. gossypii* foi oferecido "ad libidum" como presa. A avaliação diária demonstrou que em média *C. sanguinea* consome 643,3±72,5 pulgões durante a fase larval que dura 9,7±0,5 dias e 75,4±28,2 pulgões/dia durante a fase adulta. *Eriopis conexa* consumiu 237,3±100,7 pulgões durante a fase larval que dura 10,9±1,7 dias e 48,9±7,53 pulgões/dia na fase adulta. *Hippodamia convergens* consumiu 243,1±149,9 pulgões em 10,5±1,0 dias de fase larval. *Scymnus* sp. consumiu 19,7± 6,10 pulgões/dia durante a fase adulta. Com base no consumo médio de cada espécie e na abundância relativa das espécies na comunidade de predadores presentes no algodoeiro será possível estabelecer um nível de não-ação para o manejo da praga considerando o monitoramento de suas populações e a dos inimigos naturais na cultura.

Apoio: FAT/FINEP/EMBRAPA, CNPq e FAP-DF

---

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

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

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

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

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

**075 - COMPORTAMENTO DE BUSCA E SELEÇÃO DE HOSPEDEIROS DOS PARASITÓIDES *Telenomus podisi* E *Trissolcus basalís* (HYMENOPTERA:SCELIONIDAE) [Host location and selection behaviours of the parasitoids *Telenomus podisi* and *Trissolcus basalís* (Hymenoptera:Scelionidae)]**

Vieira, A.R.A.<sup>1</sup>, Laumann, R.A.<sup>2</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>3</sup>, Borges, M.<sup>2</sup>

Os comportamento de forrageamento dos parasitoides *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalís*, são influenciados por estímulos de diferentes natureza. O objetivo deste trabalho foi estudar a influência da cor do substrato, cor do hospedeiro e substâncias químicas presentes nos ovos nestes comportamentos. Para estudar a influência da cor do substrato, fundos de placa de Petri (15 cm) foram divididos e forrados com papéis de cartolina de diferentes cores. Quinze ovos de percevejo foram colados em cada área e uma fêmea do parasitóide foi introduzida na placa por 24 h. O número de ovos parasitados em cada área foi contado. Para estudar a influência da cor do hospedeiro sobre o comportamento do parasitóide pérolas de vidro pintadas com diferentes cores foram utilizadas. Para estudar a influência de sinais químicos, extratos não voláteis de ovos de diferentes espécies de percevejos foram aplicados sobre pérolas de vidro e o comportamento dos parasitoides observado. A cor do substrato (amarelo e branco) influenciou significativamente a incidência de parasitismo de *T. podisi*. As fêmeas de *T. basalís* não mostraram diferenças na porcentagem de ovos parasitados em cada área. A escolha inicial de *T. podisi* foi orientada preferencialmente para posturas artificiais da cor amarela, já *T. basalís* mostrou preferência pelas posturas de cores escuras (preto e marrom), contudo, estas diferenças não foram estatisticamente significativas. Não foram observadas diferenças no tempo de residência e nos comportamentos desenvolvidos em posturas de diferentes cores. Nos experimentos com extratos de ovos de diferentes espécies de percevejos, *T. podisi* mostrou que responde positivamente aos extratos de ovos de *Euschistus heros* e *Nezara viridula*, sendo registradas, as seqüências de comportamento de reconhecimento de hospedeiros característicos da espécie. O mesmo comportamento não foi observado quando se utilizou extratos de ovos de *Piezodorus guildinii*. Os extratos de ovos avaliados não produziram nenhuma resposta comportamental nas fêmeas de *T. basalís*.

Apoio: EMBRAPA, FAP/DF e PIBIC/CNPq/UCB.

---

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

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

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

**076 - COMPORTAMENTO DE FORRAGEAMENTO DE ABELHAS EM FLORES DO ALGODOEIRO, *Gossypium hirsutum latifolium* (MALVACEAE) [Foraging behavior of bees on cotton flowers, *Gossypium hirsutum latifolium* (Malvaceae)]**

Cardoso, C.F.<sup>1</sup>, Oliveira, G.M.<sup>2</sup>, Cavéchia, L.A.<sup>3</sup>, Almeida, J.P.S.<sup>4</sup>, Sujii, E. R.<sup>5</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>6</sup>, Silveira, F.A<sup>7</sup>, Pires, C.S.S<sup>6</sup>

A expressão da toxina Bt no pólen do algodão GM, representa um risco potencial a biossegurança de organismos não-alvo ao ameaçar visitantes florais como as abelhas através da intoxicação de seu alimento. Além disso, as abelhas ao visitarem diferentes flores podem promover a polinização cruzada e facilitar o fluxo de genes entre populações de algodoeiros. Neste trabalho, estudamos o comportamento de forrageamento das abelhas mais freqüentes em flores de uma variedade de algodoeiro não-Bt. Nosso objetivo foi avaliar: a) as espécies que carregam pólen das flores do algodoeiro e b) a importância dessas espécies na polinização cruzada e conseqüente fluxo do transgene. O estudo foi conduzido em uma área de 0,1 ha na Embrapa Hortaliças/DF, de março a abril de 2006 (32,3 horas), quando observamos 330 visitas de abelhas às flores. A espécie mais freqüentemente observada foi *Apis mellifera*, seguida de *Melissoptila cnecomala* e *Melissodes nigroaenea*, além de *Paratrigona lineata*. Um número pequeno de visitas de pelo menos 12 outras espécies foi observado (*Ceratina* sp., *Exomalopsis* sp., *Partamona* sp., *Ptilothrix* sp., *Trigona spinipes*, 5 espécies de Halictidae e duas outras não identificadas). A abelha *A. mellifera* embora carregue pólen aderido ao corpo, poucas vezes toca o estigma durante as visitas. Além disto, tende a visitar flores próximas entre si. *M. cnecomala* e *M. nigroaenea* sempre saem das flores com pólen aderido ao corpo e tocam o estigma das flores na maioria das visitas, normalmente ao saírem da flor. Tendem, ainda, a buscar flores mais distantes entre si. *P. lineata* jamais toca o estigma e não carrega pólen no corpo, portanto não é polinizadora e não corre risco de intoxicação.

Apoio: CNPq, FACUAL e FAP-DF.

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

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

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

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

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

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

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade Federal de Minas Gerais

**077 - COMPORTAMENTO REPRODUTIVO E COMUNICAÇÃO VIBRACIONAL DE *Chinavia ubica* E *Chinavia impicticornis* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) [Reproductive behaviour and vibratory communication of *Chinavia ubica* and *Chinavia impicticornis* (Hemiptera: Pentatomidae)]**

Lopes, A.P.S.<sup>1</sup>, Laumann, R.A.<sup>2</sup>, Motta, L.S.M.<sup>3</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>4</sup>, Borges, M.<sup>2</sup>

*Chinavia ubica* e *Chinavia impicticornis* são espécies simpátricas no Brasil central. Estudos anteriores mostraram que ambas as espécies possuem a mesma mistura feromonal, com diferentes proporções de seus componentes. Neste trabalho foram estudados o comportamento reprodutivo e os sinais vibracionais envolvidos, com o objetivo de constatar se algumas das etapas dos comportamentos de acasalamento e cópula possuem sinais que garantem o isolamento reprodutivo destas espécies. Casais de ambas espécies foram introduzidos em arenas construídas com recipientes plásticos colocados sobre a membrana de um alto falante, assim foi possível registrar os comportamentos ao mesmo tempo gravar os sinais vibracionais emitidos. Estes foram digitalizados e armazenados num computador para posterior análise. Foram observadas diferenças significativas no comportamento de acasalamento e cópula das duas espécies sendo as principais: *C. ubica* mostrou maior atividade geral e a aplicação de pequenos golpes com a cabeça, que o macho da no extremo do abdome da fêmea, para que esta adquira a posição de cópula. Em *C. impicticornis* foi observado um comportamento característico de estimulação da fêmea durante a cópula, quando o macho esfrega suas patas traseiras no extremo abdominal da fêmea. A comunicação vibracional destas duas espécies também mostrou diferenças significativas. Os cantos emitidos por machos e fêmeas das duas espécies mostraram diferenças temporais e espectrais que permitem caracterizar cada um dos cantos segundo a espécie e sexo considerados. Os resultados obtidos indicam que *C. ubica* e *C. impicticornis* possuem um eficiente sistema de comunicação durante o acasalamento e cópula que garante o isolamento reprodutivo das espécies.

Apoio: EMBRAPA, FAP/DF e CNPq

---

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

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

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

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

**078 - CONTROLE BIOLÓGICO DE *Meloidogyne incognita* EM CAFEIROS USANDO O ISOLADO P10 DE *Pasteuria penetrans* (Biological control of *Meloidogyne incognita* on coffee using isolate p10 of *Pasteuria penetrans*)**

Cirotto, P.A.S.<sup>1</sup>, Mesquita, L.F.G.<sup>2</sup>, Mota, F.C.<sup>3</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>4</sup>

A bactéria parasita obrigatória do nematóide das galhas, *Pasteuria penetrans*, cepa P 10, foi avaliada em condições de casa de vegetação, usando duas doses do bionematicida aplicado em muda de café 'Mundo Novo'. As doses do produto, formulado em pó de raízes foram: 10<sup>7</sup> endósporos (5,0 g/muda) e 10<sup>6</sup> endósporos (0,5 g/muda). O substrato das mudas foi previamente tratado com essas duas doses de *P. penetrans* e depois de dois meses as plantas foram cultivadas em solos de diferentes texturas: solo argilo-arenoso (38% de argila, 2% de silte e 60% de areia) e solo arenoso (17% de argila, 0% de silte e 83% de areia). Quando as plântulas de café atingiram 30 cm de comprimento, foram inoculadas com 20.000 ovos de *Meloidogyne incognita*. As plantas de café foram avaliadas aos 8, 16 e 24 meses após a infestação pelo nematóide. A eficiência do controle biológico foi avaliada pela redução do número de ovos no sistema radicular, variando de: 60 % (0,5 g em solo argilo-arenoso), 70% (5,0 g em solo argilo-arenoso) e 80 % (0,5 e 5,0 g em solo arenoso). O mecanismo de supressividade induzido pela bactéria foi avaliado pela porcentagem de juvenis do segundo estágio (J2) infectados por *P. penetrans*, número de endósporos aderidos / J2 e número de fêmeas infectadas. Os níveis de supressão mais elevados estiveram relacionados com o aumento do tempo e com a maior porcentagem de areia no solo. A influência da dose (0,5 e 5,0 g) desapareceu ao longo do tempo, sobretudo nos tratamentos em solo arenoso.

---

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

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

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

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

**079 - DESEMPENHO DE *Cycloneda sanguinea* (COLEOPTERA: COCCINELIDAE) QUANDO ALIMENTADA COM *Uroleucon ambrosiae* (HEMIPTERA: APHIDIDAE) [Development of *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera:Coccinellidae) when fed with *Uroleucon ambrosiae* (Hemiptera:Aphididae)]**

Macedo, T.R.<sup>1</sup>, Jeger, C.<sup>2</sup>, Sujii, E.R.<sup>3</sup>, Pires, C.S.S.<sup>4</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>4</sup>

*Cycloneda sanguinea* é um importante predador no agroecossistema do algodoeiro, atuando no controle biológico de pragas como o pulgão *Aphis gossypii* e ovos de lepidópteros. Este trabalho teve como objetivo testar o pulgão *Uroleucon ambrosiae* como dieta de *Cycloneda sanguinea*. Ele é parte de um estudo maior que visa aprimorar uma metodologia de criação deste predador em laboratório. Inicialmente, foi estabelecida uma colônia de *U. ambrosiae* em casa de vegetação. No experimento foram utilizadas 40 larvas de primeiro instar de *C. sanguinea*, provenientes de colônia pré-estabelecida. Estas foram individualizadas em potes plásticos de 300ml, sendo mantidos em sala de criação (27° C ± 2° C e fotoperíodo de 12 h). A cada dois dias, foi avaliado o desempenho dos indivíduos alimentados com *U. ambrosiae* quanto ao desenvolvimento até a emergência. Em cada observação os potes foram limpos e a dieta adicionada. Foram colocados 20 pulgões no primeiro e segundo instar, e 40 pulgões no terceiro e quarto. Após a emergência, os adultos foram pesados, separados por sexo, transferidos para potes de 500ml e alimentados com *U. ambrosiae* à vontade. Cinco dias após a emergência foram formados casais aleatoriamente. O tempo médio de cada instar, 1º, 2º, 3º, 4º e pupa foram respectivamente: 2.85, 2.27, 1.25, 2.25 e 4.25, totalizando 14.87 dias da eclosão à emergência. Ao pesar os adultos, 0.015g foi a média do peso das fêmeas e 0.014g foi a média dos machos. Com base nos parâmetros analisados, pode-se concluir que o *U. ambrosiae* pode ser utilizado como alimento para a criação de *C. sanguinea* em laboratório. Além da facilidade para a criação desse pulgão, o predador apresentou um ótimo desempenho comparado com outras dietas alternativas anteriormente testadas como *Brevicoryne brassicae*, ovos de *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*.

Apoio: FINEP

---

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

<sup>2</sup>Biólogo, mestrando, National Institute of Technology de Zurique

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

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



## **080 - DETERMINAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* UTILIZANDO MARCADORES RAPD (Genetics variability of populations of *Aedes aegypti* by RAPD markers)**

Hiragi, C.O.<sup>1</sup>, Martins, E.S.<sup>1</sup>, Simões, K.C.C.<sup>2</sup>, Queiroz, P.R.<sup>3</sup>, Lima, L.H. C.<sup>4</sup>, Monnerat, R.G.<sup>4</sup>

*Aedes aegypti* é vetor de importantes doenças como a febre amarela e a dengue, presentes em regiões tropicais e subtropicais. Para o sucesso no controle biológico dessa espécie é importante conhecer a estrutura genética e os mecanismos que resultaram na diversidade dessas populações. O objetivo deste estudo foi analisar a variabilidade genética de diferentes populações de *Aedes aegypti*, utilizando RAPD (Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso). Amostras de DNA de dez larvas coletadas a partir de três populações de diferentes localidades foram analisadas usando dez iniciadores de RAPD. Os resultados indicaram a existência de variabilidade genética inter e intrapopulacional. Isso foi confirmado com a obtenção de um dendrograma, que indicou a distribuição das populações em dois agrupamentos principais com similaridade genética de 24%. Em um desses agrupamentos foi possível distinguir duas populações que apresentaram um grau de similaridade de 50%. A análise de variância molecular indicou que 57,80% da fonte de variabilidade é resultante da variação entre as populações e 42,20% de dentro das populações. Além disso, o protocolo de extração de DNA adotado mostrou-se eficiente para a análise do inseto independente do seu estágio de desenvolvimento, evitando a adição de reagentes ou etapas adicionais de processamento e permitindo realizar estudos moleculares a partir da larva, pupa ou adultos. Futuros experimentos poderão ser realizados para confirmar se essa variabilidade pode estar ligada às características de resistência de cada população a um determinado pesticida.

---

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

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

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

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

**081 - DETERMINAÇÃO DE PERFIS DE MARCADORES RAPD PARA UMA POPULAÇÃO DE *Anticarsia gemmatilis* HUBNER, 1818 (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) [Determination of profiles of RAPD markers for *Anticarsia gemmatilis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) population]**

Hiragi, C.O.<sup>1</sup>, Martins, E.S.<sup>1</sup>, Queiroz, P.R.<sup>2</sup>, Lima, L.H.C.<sup>3</sup>, Monnerat, R.G.<sup>3</sup>

A lagarta da soja *Anticarsia gemmatilis* é a principal desfolhadora da soja no Brasil, sendo encontrada em todos os locais de produção, representando um risco à produção e à qualidade de cultivos brasileiros. Ela costuma atacar as lavouras nas regiões setentrionais e, a partir de janeiro, no extremo sul do país e chega a ocasionar 100% de destruição foliar, sendo, portanto de grande importância conhecer a estrutura genética e os mecanismos que resultaram na diversidade dessas populações, para o sucesso no controle biológico dessa espécie. O uso da técnica de RAPD é útil, rápida e de baixo custo quando se pretende obter essas informações genéticas a partir de polimorfismo de fragmentos de DNA utilizando-se primers de seqüências aleatórias. O objetivo desse estudo foi determinar a variabilidade genética de uma população de *A. gemmatilis* criada no laboratório da EMBRAPA-CENARGEN por meio da metodologia de RAPD. Amostras de DNA de 24 larvas foram coletadas e analisadas utilizando-se 24 iniciadores de RAPD. Os produtos de amplificação foram visualizados em géis de agarose 1,5% e os perfis eletroforéticos indicaram a existência de variabilidade genética intrapopulacional. Esse resultado foi confirmado com a obtenção de um dendrograma que indicou a distribuição da população em dois agrupamentos principais com similaridade genética de 60%. Com o primer OPA 02, foi possível detectar uma banda de 650 pb que poderá servir como futuro marcador SCAR. Os resultados indicaram que o protocolo adotado nesse estudo mostrou-se eficiente para a análise de variabilidade genética entre os indivíduos e também para o desenvolvimento de marcadores para identificação, permitindo-se realizar estudos moleculares a partir da larva. Futuros experimentos poderão ser realizados para confirmar se essa variabilidade pode estar ligada a efeitos de deriva genética ou endocruzamento, eventos que podem ocorrer em populações criadas em laboratório.

---

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

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

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

**082 - DINÂMICA POPULACIONAL DE *Bemisia tabaci* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) EM CULTIVO DE TOMATE ORGÂNICO E CONVENCIONAL [Population dynamics of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in organic and conventional tomato crop]**

Togni, P.H.B.<sup>1</sup>, Erdmann, M.<sup>2</sup>, Cavalcante, K.R.<sup>3</sup>, Nakasu, E.Y.T.<sup>1</sup>, Medeiros, M.A.<sup>4</sup>, Sujii, E.R.<sup>5</sup>

A mosca branca é uma das principais pragas do tomateiro devido aos danos causados pela transmissão de diversas viroses. Visando propor uma alternativa para reduzir o impacto de produtos químicos, avaliamos a dinâmica populacional da mosca branca em sistemas orgânico e convencional. O experimento foi conduzido na Embrapa Hortaliças, com parcelas experimentais formadas por plantas de tomate *Lycopersicon esculentum* e coentro *Coriandrum sativum*, no período de maio a setembro. Os tratamentos: tomate solteiro e tomate consorciado com coentro foram plantados nos dois sistemas de cultivo. Cada tratamento foi plantado com três replicações em blocos ao acaso e com bordadura de crotalária e milho. A infestação de adultos de *B. tabaci* e seus inimigos naturais foi avaliada com armadilhas adesivas amarelas (10x12.5 cm). Estas foram fixadas na altura do terço superior dos tomateiros e em estacas nas bordas dos sistemas. A densidade de ninfas foi monitorada através da contagem de indivíduos em 5 folhas por parcela (1 folha/planta). A população de adultos nas bordas do sistema convencional,  $2.6 \pm 3.22$  (média  $\pm$  desvio padrão) indivíduos por armadilha não diferiu significativamente do orgânico  $1.9 \pm 1.96$  adultos por armadilha (Mann-Whitney T=3822 P=0,385). Em ambos os sistemas, a população de adultos foi mais abundante no início da cultura. Não houve diferença significativa entre a infestação do tomate solteiro orgânico ( $5.81 \pm 3.78$ ) e o tomate solteiro convencional ( $5.80 \pm 3.96$ ), assim como a infestação do tomate consorciado com coentro nos dois sistemas (orgânico =  $2.71 \pm 2.68$ ; convencional =  $2.96 \pm 2.68$ ). Porém, houve diferença significativa entre o tomate solteiro e consorciado com coentro nos dois sistemas. Em relação às ninfas, apenas o tomate consorciado com coentro orgânico apresentou redução significativa na quantidade de ninfas por planta em relação aos demais (Kruskall-Wallis H = 33,04 P=<0.001, 3 g.l.). No sistema orgânico a abundância de inimigos naturais ( $90.64 \pm 33.02$ ) foi maior que no convencional ( $47.57 \pm 23.06$ ), indicando que este pode ser um fator importante no controle populacional de ninfas.

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

<sup>2</sup>Agronomia, graduando, Universidade do Estado de Santa Catarina -UDESC

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

<sup>4</sup>Bióloga, M.Sc., Embrapa Hortaliças

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

### **083 - EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SULFATO DE AMÔNIO NA ESPORULAÇÃO DE *Dicyma pulvinata* (Effect of different amonium sulphate concentrations in *Dicyma pulvinata* sporulation)**

Almeida, A.M.<sup>1</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>2</sup>, Mello, S.C.M.<sup>3</sup>, Silva, J.B.T.<sup>4</sup>, Marques, G.A.<sup>5</sup>

*Dicyma pulvinata* tem-se mostrado eficiente na inibição de *Microcyclus ulei*, agente causador do mal-das-folhas da seringueira. A baixa capacidade de esporular em substratos de baixo custo representa um fator limitante para a produção de *D. pulvinata* em larga escala. Para otimizar a esporulação de *D. pulvinata* em substrato sólido, utilizou-se sulfato de amônio nas concentrações de: 10g/l, 20g/l, 40g/l, 60g/l e testemunha. Foram testados os isolados Cen 58, Cen 62, Cen 91 e Cen 93. Dois discos de 9mm de diâmetro retirados de culturas com 17 dias de cultivo foram colocados em erlenmeyers de 125ml, contendo 12,5 gramas de arroz parboilizado, incubando-se em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Determinou-se a esporulação após 17 dias com o auxílio de câmara de Neubauer. Para os isolados Cen 91 e Cen 62 não houve diferença estatística entre os tratamentos, mostrando que não se faz necessário adição de uma fonte de nitrogênio no meio. Já para o isolado Cen 58 o melhor tratamento foi 40g/l de sulfato de amônio e para o isolado Cen 93 foi de 60g/l. Observou-se, então, que cada isolado possui diferentes demandas de fontes nutricionais necessitando de adaptações específicas para sua produção.

---

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

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

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

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

<sup>5</sup>Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB, PIBIC/CNPq

**084 - EFEITOS CAUSADOS POR HERBIVORIA E/OU OVIPOSIÇÃO DO PERCEVEJO MARROM DA SOJA *Euschistus heros* NO PERFIL DE VOLÁTEIS DA SOJA BR-16 E A INFLUÊNCIA DESTES VOLÁTEIS NO COMPORTAMENTO DO PARASITÓIDE DE OVOS, *Telenomus podisi* (Effect of herbivory and oviposition damage caused by *Euschistus heros* on volatile profile of soybean-BR16 and the influence of these volatiles on behaviour of *Telenomus podisi*)**

Gonzalez, S.P.<sup>1</sup>, Laumann, R.A.<sup>2</sup>, Borges, M.<sup>2</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>3</sup>

Uma das formas de defesa das plantas a danos causados por herbívoros é a liberação de voláteis, que atraem inimigos naturais e atuam na comunicação química entre plantas (defesas induzidas). O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação de danos causados por herbivoria e/ou oviposição pelo percevejo-praga *Euschistus heros*, no perfil de voláteis liberados pelas plantas de soja da variedade BR-16. Foi avaliado o perfil de voláteis liberados pela soja BR-16 sadia, sem dano, e comparado com o perfil de voláteis liberados pela soja BR-16 danificada. Além disto, foi avaliada a resposta comportamental do parasitóide de ovos *Telenomus podisi* aos voláteis liberados pela soja sadia e danificada. A soja no estágio V3 foi submetida a três diferentes tratamentos: 5 fêmeas acasaladas de *E. heros* com o sugador excisado para avaliar danos de oviposição, 5 fêmeas virgens, para avaliar danos causados por herbivoria e 5 fêmeas acasaladas para avaliar danos de herbivoria com oviposição. Como controles foram utilizadas plantas sadias no mesmo estágio fenológico. As plantas foram aeradas a partir do quarto dia de dano e voláteis foram coletados em adsorventes químicos a cada 24 horas até o sétimo dia. Os voláteis coletados foram eluídos com hexano e o padrão interno (*E*)- 2- octen-1-ol (0.3 mg/ml) foi adicionado a cada amostra para quantificação. Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa (GC) e por GC acoplada a espectrometria de massas (GC-MS). Bioensaios com os extratos foram conduzidos em olfatómetro em Y. A resposta das plantas à ação dos herbívoros foi evidenciada pela produção dos compostos Metil salicilato (MS) e (*E,E*)-4,8,12 trimetil-1,3,7,11 tridecatetraeno (TMTT). Contudo, somente as plantas danificadas por herbivoria e oviposição liberaram uma quantidade de MS significativamente maior que o controle ( $H=7,979$ ;  $gI= 3,000$ ;  $p=0,046$ , teste de Dunn  $P<0,05$ ). Em bioensaios em olfatómetro o parasitóide *T. podisi* foi atraído significativamente (comparado ao controle) pelas plantas danificadas por herbivoria com oviposição ( $c^2$ ,  $p=0.02$ ). MS e TMTT são compostos relacionados a defesa indireta de plantas atraindo parasitóides e na comunicação química entre plantas para avisar a presença de perigo.

Apoio: EMBRAPA e CNPq-PIBIC

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

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

<sup>3</sup>Química, Ph.D., Emprapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**085 - EFEITOS DA TOXINA Cry1Ac SOBRE *Cycloneda sanguinea* (COLEOPTERA:COCCINELLIDAE) ALIMENTADA COM *Aphis gossypii* (HEMIPTERA:APHIDIDAE) [Effects of Cry1Ac toxin on *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera:Coccinellidae) fed with *Aphis gossypii* (Hemiptera:Aphididae)]**

Nakasu, E.Y.T.<sup>1</sup>, Togni, P.H.B.<sup>1</sup>, Macedo, T.R.<sup>1</sup>, Ayres, K.F.<sup>2</sup>, Silva, I.S.<sup>2</sup>, Dias, S.C.<sup>3</sup>, Sujii, E.R.<sup>4</sup>, Pires, C.S.S.<sup>5</sup>, Grossi-de-Sá, M.F.<sup>5</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>5</sup>

A utilização de plantas transgênicas expressando  $\delta$ -endotoxinas de *Bacillus thuringiensis* Berliner é uma estratégia alternativa ao controle de pragas. No entanto, essas proteínas podem apresentar efeitos adversos sobre organismos não-alvo, como predadores. *Cycloneda sanguinea* é um importante agente no controle de afídeos em campos de algodão. Assim, foram conduzidos bioensaios bitróficos para avaliar os efeitos da toxina Cry1Ac sobre esta espécie alimentada com *Aphis gossypii*. Larvas de primeiro instar de *C. sanguinea* foram individualizadas em potes plásticos de 300mL e observadas diariamente, avaliando-se mortalidade, tempo de desenvolvimento larval e capacidade predatória. A condução do experimento deu-se sob fotoperíodo de 12h e 25±2 °C em câmara climatizada. A protoxina Cry1Ac foi expressa em sistema homólogo *Escherichia coli*, ativada com tripsina e purificada. As larvas foram submetidas a dois tratamentos: (i) controle negativo (solvente da proteína) e (ii) Cry1Ac (500µg/mL), aspergida sobre os pulgões. Foram utilizados 50 indivíduos/tratamento. Após a emergência, verificou-se a razão sexual, fecundidade e longevidade das joaninhas. O consumo diário médio pelas larvas de *C. sanguinea* foi de 67,68 ± 13,48 e de 71,29 ± 14,39 pulgões nos tratamentos controle e com a toxina, respectivamente. Não foram encontradas diferenças significativas no tempo de desenvolvimento larval ((i)=10,25 ± 0,72, (ii)= 10,16 ± 0,87 dias), havendo baixa mortalidade (<20%). Após a separação por sexo, foram encontradas as razões sexuais de 0,55 (controle) e 0,48 (toxina), sendo que 100% das fêmeas fertilizadas ovipositaram. A longevidade das joaninhas e a quantidade de toxina ingerida por cada indivíduo ainda estão sendo avaliadas. A partir dos resultados obtidos até o momento, é possível inferir que Cry1Ac não afeta a bionomia de *C. sanguinea*, embora avaliações de efeitos em longo prazo devam ser realizadas.

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

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

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

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

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

**086 - EFICÁCIA DE LINHAGENS DE *Dicyma pulvinata* NO CONTROLE BIOLÓGICO DE *Microcyclus ulei* A CAMPO (Efficacy of *Dicyma pulvinata* for biological control of *Microcyclus ulei* in field conditions)**

Melo, D.F.<sup>1</sup>, Mello, S.C.M.<sup>2</sup>, Almeida, A.M.<sup>3</sup>, Mattos, C.R.<sup>4</sup>, Cardoso, S.E.A.<sup>5</sup>, Silva, J.B.T.<sup>6</sup>

O mal-das-folhas causado por *Microcyclus. ulei* é uma das mais severas doenças que atacam a seringueira, promovendo queda na produção de borracha e destruição de seringais. *Dicyma pulvinata* é capaz de colonizar lesões causadas por *M. ulei* demonstrando potencial para o controle da doença. Este trabalho foi conduzido em jardim clonal das Plantações da Michelin da Bahia com intuito de verificar a eficiência em campo de quatro linhagens de *D. pulvinata*. Utilizaram-se clones suscetíveis de *Hevea brasiliensis*, quatro tratamentos com as respectivas linhagens (CEN 58, CEN 62, CEN 91 e CEN 93), um tratamento com fungicida e outro sem controle da doença (testemunha). Através de lavagem e peneiramento do fungo produzido em arroz parboilizado, prepararam-se suspensões das referidas linhagens. Os tratamentos foram aplicados seis vezes, a intervalos de 15 dias. Realizaram-se três avaliações da severidade da doença a cada 45 dias. Os resultados obtidos indicaram que, em todas as avaliações, a porcentagem de área foliar lesionada foi superior no tratamento com a testemunha. A linhagem CEN 62 mostrou-se mais eficiente no controle da doença, apresentando plantas com folíolos menos lesionados pelo *M. ulei*. Porém, este tratamento não diferiu estatisticamente dos tratamentos com o isolado CEN 93 e o com produto químico.

---

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

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

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

<sup>4</sup>Eng. Agr., M.Sc., Plantações da Michelin da Bahia

<sup>5</sup>Eng. Agr., B.Sc., Plantações da Michelin da Bahia

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

**087 - EFICIÊNCIA DE ISOLADOS DE *Beauveria bassiana* NO CONTROLE DE *Aphis gossypii* (HEMIPTERA:APHIDIDAE) [Efficiency of *Beauveria bassiana* isolates for control of *Aphis gossypii* (Hemiptera:Aphididae)]**

Souza, J.R.P.<sup>1</sup>, Souza, J.F.<sup>1</sup>, Sousa, F.R.<sup>2</sup>, Santos, P.H.R.<sup>3</sup>, Allam, T.D.<sup>4</sup>, Frazão, H.S.<sup>5</sup>, Michereff Filho, M.<sup>6</sup>, Faria, M.R.<sup>7</sup>, Sujii, E.R.<sup>6</sup>

O pulgão *Aphis gossypii* destaca-se como praga de diversas hortaliças e plantas ornamentais em cultivo protegido. Este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de isolados do fungo *Beauveria bassiana* no controle de *A. gossypii*. Foram utilizadas plantas de pepino, cv. Caipira, previamente infestadas com ninfas do pulgão (50 ninfas/planta), sendo mantidas em gaiolas de PVC (90 cm x 60 cm x 80 cm) teladas com voil. Foram testados quatro isolados de *B. bassiana* (CG 864, CG 912, CG 919 e GHA – produto comercial Mycotrol®), em suspensão aquosa contendo Tween 80 (0,01%), padronizada na concentração de  $1,0 \times 10^8$  conídios/mL, aplicando-se 20 mL da suspensão/planta com aspersor de jardim. A testemunha foi pulverizada apenas com água estéril e Tween 80. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com seis repetições (=gaiolas). A população de pulgões foi avaliada antes e após sete dias da aplicação dos isolados, amostrando-se duas folhas/planta. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas, respectivamente, pelos testes de Tukey e t pareado (5%). A eficiência de controle foi calculada pela fórmula de Henderson & Tilton. As colônias de *A. gossypii* foram significativamente menores nas plantas pulverizadas com os isolados CG 864 (46,8 pulgões/planta) e CG 919 (55,5 pulgões/planta), enquanto os isolados CG 912 e GHA não diferiram estatisticamente da testemunha. O isolado CG 864 foi o mais promissor para cultivos em telado, visto que após sete dias da pulverização manteve a infestação em nível similar ao início do experimento, propiciando 72,3% de eficiência de controle.

---

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

<sup>2</sup>Técnico Agrícola – Escola Agrícola de Planaltina

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

<sup>4</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

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

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

<sup>7</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## 088 - ESTABILIDADE GENÉTICA DE LINHAGENS DO MICOPARASITA *Dicyma pulvinata* (Genetic stability of *Dicyma pulvinata*)

Melo, D.F.<sup>1</sup>, Mello, S.C.M.<sup>2</sup>, Almeida, A.M.<sup>3</sup>, Valadares-Ingliš, M.C.<sup>4</sup>

Devido às implicações potenciais da estabilidade na eficácia de uso de *Dicyma pulvinata* para o controle de *Microcyclus ulei*, o presente trabalho teve por objetivo analisar as variações de linhagens monospóricas deste fungo, mantidas em coleção e durante o processo de produção, utilizando técnicas moleculares de RAPD e RFLP. Este estudo foi realizado a partir da análise de 41 linhagens de culturas monóspóricas de *Dicyma pulvinata*, selecionando a linhagem CEN 58 (considerada como morfológicamente estável por conter crescimento uniforme) e a CEN 62 (como instável, por apresentar setores) para a realização da análise molecular de quatro gerações cultivadas em meio BDA e em arroz parboilizado. O micélio foi coletado por filtração à vácuo em papel filtro, submetido à lavagem em água destilada estéril e posterior secagem sobre papel filtro. Extraiu-se o DNA genômico segundo o método de Rogers & Bendich (1988) modificado. As reações de RAPD foram realizadas com cinco primers decâmeros. Para RFLP, foi feita a digestão do DNA genômico com as enzimas de restrição, *Eco* RI e *Hind* III. Uma seqüência telomérica fúngica e P<sup>32</sup>á-dCTP foram incorporados. A hibridização procedeu-se por cerca de 16 horas à 65 °C e a membrana foi exposta a filme de raio X. A análise dos resultados foi feita pela comparação do padrão de bandas obtidos entre as diferentes gerações do fungo. Em análise de RAPD, notaram-se diferenciações entre gerações das linhagens de *D. pulvinata*, tanto em colônias cultivadas em meio de cultura BDA, quanto em gerações produzidas no arroz parboilizado. Análise por RFLP mostrou que na região subtelmérica, as linhagens CEN 58 e CEN 62 apresentaram variações entre as colônias monospóricas, bem como entre os setores e a linhagens parental quando utilizada tanto a enzima *Eco* RI como *Hind* III. Estes resultados indicam instabilidade do fungo mantido em cultura, porém, não há até o momento, indicações de alteração da sua eficiência no controle biológico do mal-das-folhas.

---

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

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

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

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

**089 - ESTRATÉGIA DE SOBREVIVÊNCIA DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO *Anthonomus grandis* NA ENTRESSAFRA DA CULTURA DO ALGODOEIRO NO CERRADO DE BRASÍLIA (Survival strategy of the boll weevil, *Anthonomus grandis*, in the cerrado of Brasilia)**

Ribeiro, P.A.<sup>1</sup>, Diniz, I.R.<sup>2</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>3</sup>, Sujii, E.R.<sup>4</sup>, Pires, C.S.S<sup>3</sup>., Silva, I.S.<sup>5</sup>, Souza, K.F.A.<sup>5</sup>, Mota, V.A.<sup>6</sup>

O bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman (Col.: Curculionidae) é atualmente uma das principais pragas do algodão devido aos sérios danos causados às estruturas reprodutivas, seu hábito endófito e pela dificuldade de controle. Com o objetivo de verificar as estratégias de sobrevivência do bicudo no algodoeiro, foi realizado um estudo no campo experimental da Embrapa Hortaliças em Brasília, DF. Foram feitas avaliações semanais, em quatro parcelas de 25 x 15 m, tratadas com inseticidas químicos. As amostragens foram realizadas por caminhamento em ziguezague em cinco pontos por parcela, coletando-se botões florais e maçãs do terço médio superior da planta e daqueles caídos ao solo abaixo da mesma. Em laboratório, com auxílio de microscópio estereoscópico, foi registrado o número e as fases do inseto no interior das estruturas reprodutivas. Foram avaliados 843 botões e 96 maçãs em abril, 951 botões e 167 maçãs em maio e 143 botões e 91 maçãs em junho. O bicudo atacou preferencialmente botões em abril (38,9%) e maio (43,2%). No entanto, esse padrão mudou em junho, quando somente 4,9% dos botões foram atacados, mesmo em maior número que as maçãs nas amostras. De forma inversa, o ataque nas maçãs cresceu de 1,0% em abril para 19,2% e 45,1% em maio e junho, respectivamente. Essa troca no padrão de preferência pelas estruturas atacadas pode refletir uma estratégia de distribuição de risco (bet-hedging) em relação à sobrevivência durante a entressafra. Uma vez que foi constatado que os insetos que se desenvolvem nos botões obrigatoriamente deixam a estrutura quando atingem a fase adulta, enquanto que aqueles que se desenvolvem nas maçãs podem atravessar ali o período de entressafra da cultura do algodão. Essa é uma possível adaptação da espécie às condições brasileiras.

Apoio: FINEP

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

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

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

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

<sup>5</sup>Biologia, graduanda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>6</sup>Agronomia, graduanda, Universidade Federal de Minas Gerais-UFG

**090 - ESTUDO CITOGENÉTICO DE DIFERENTES POPULAÇÕES DE *Meloidogyne arenaria* (Cytogenetic study of different populations of *Meloidogyne arenaria*)**

Mota, F.C.<sup>1</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>2</sup>

*Meloidogyne arenaria* se reproduz por partenogêneses mitótica obrigatória e é considerada a espécie apomítica do nematóide de galhas que apresenta maior variabilidade intraespecífica. Quatro grupos enzimáticos (esterase e malatodesidrogenase) foram descritos para essa espécie: A1N1, A2N1, A2N3 e A3N1. Adicionalmente, duas raças fisiológicas foram reconhecidas: a raça 1, que infecta o amendoim e a raça 2 que não parasita essa planta. O objetivo do trabalho foi analisar 13 populações de *M. arenaria*, com padrões perineais característicos da espécie, provenientes de diferentes regiões geográficas, pertencentes às duas raças e aos quatro grupos enzimáticos, quanto ao número de cromossomos. Foram incluídos também isolados que apresentam perfis enzimáticos e padrões perineais semelhantes a *M. arenaria*, como é o caso de *M. morocciensis* (A3N1) e dois *Meloidogyne* spp. (A1N1 e BA2N1). A avaliação do número de cromossomos foi feita de acordo com o método que utiliza a orceina propiônica como corante, com algumas modificações. Os resultados demonstraram que houve uma certa correlação entre os perfis enzimáticos e os dois grupos citológicos observados. As populações com perfis enzimáticos A2N1 (Raça 2), A2N3a (Raça 1) e BA2N1 foram na sua maioria triplóides,  $3n=50-58$  cromossomos (grupo 1). Os demais isolados: A2N3, A1N1 e A3N1 foram hipotriplóides com  $3n = 42-48$  cromossomos (grupo 2).

---

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

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

## 091- INFLUÊNCIA DA DIETA NOS ESTÁGIOS IMATUROS DE *Chinavia impicticornis* (HEMIPTERA:PENTATOMIDAE) [Diet influence on immature stages of *Chinavia impicticornis* (Hemiptera:Pentatomidae)]

Paz, D.B.<sup>1</sup>, Laumann, R.A.<sup>2</sup>, Cavalcante, C.<sup>3</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>4</sup>, Borges, M.<sup>2</sup>

A espécie *Chinavia impicticornis* é encontrada frequentemente no DF como praga secundária da soja sendo, também, registrada em outras culturas (ex. feijão e algodão). Os percevejos praga se alimentam de um grande espectro de plantas entre as que se encontram plantas cultivadas, ornamentais, invasoras e nativas. As plantas invasoras podem atuar como fonte alternativa de alimento e oferecer refugio em épocas de entre-safra, favorecendo assim as populações de percevejos. Este trabalho teve como objetivo estudar a influência da composição da dieta no desenvolvimento de estágios imaturos de *C. impicticornis*. Grupos de ovos (100) foram colocados em placas de Petri e as ninfas obtidas alimentadas com três dietas diferentes, Dieta 1: vagem de feijão + sementes de girassol, soja e amendoim, Dieta 2: mesmos componentes da dieta 1 + buquê de plantas invasoras (falso boldo (*Boldea fragans*), picão (*Bidens pilosa*) e siratro (*Macroptilum atropurpureum*) e Dieta 3: buquê de plantas invasoras. Para cada tratamento foram realizadas 5 repetições. As ninfas de cada tratamento foram mantidas nas dietas até o momento de completar seu desenvolvimento a adultos. Foram registrados sobrevivência e tempo de desenvolvimento dos estágios imaturos e peso dos adultos 24 a 48 h após a última muda. Os insetos mantidos na dieta 3 não completaram seu desenvolvimento até adultos, mostrando que esta dieta não oferece os requerimentos nutricionais necessários para *C. impicticornis*. Os insetos que se desenvolveram na Dieta 2 mostraram uma sobrevivência significativamente maior que os que se desenvolveram na Dieta 1 ( $42,80 \pm 20,92$  % e  $17,40 \pm 17,55$  %, respectivamente). Contudo o tempo de desenvolvimento e o peso dos adultos não mostrou diferenças significativas entre os dois tratamentos, indicando que os insetos que conseguem se desenvolver na Dieta 1 não são afetados negativamente nestes parâmetros biológicos.

<sup>1</sup>Estudante Nível Médio, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

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

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

**092 - ISOLADOS DE *Trichoderma* SPP. PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE *Colletotrichum gloeosporioides* EM MARACUJAZEIRO (*Trichoderma* isolates for biological control of *Colletotrichum gloeosporioides* of passion fruit)**

Martins, I.<sup>1</sup>, Peixoto, J.R.<sup>2</sup>, Mello, S.C.M.<sup>3</sup>, Ávila, Z.R.<sup>4</sup>, Junqueira, N.T.V.<sup>5</sup>, Silva, M.C.F.<sup>6</sup>

Estudou-se o potencial antagonístico de isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo, agente causal da antracnose do maracujazeiro-azedo, em casa-de-vegetação (temperatura de 15-30°C e umidade de 60-100%). Os isolados CEN 162, CEN 201, CEN 400, CEN 143, CEN 151, CEN 208, CEN 280, CEN 142, CEN 219 e CEN 279 foram testados em mudas de maracujazeiro-azedo (cultivar Yellow Master FB 100), O experimento foi instalado em blocos casualizados, com quatro repetições, sendo a repetição constituída de quatro sacos de polietileno (1,5kg) com duas plantas por saco. Foram testados quatro períodos diferentes de aplicação do agente de biocontrole: P1 = *Trichoderma* inoculado 24 horas antes do patógeno; P2 = *Trichoderma* inoculado 24 horas depois; P3 = *Trichoderma* inoculado simultaneamente com o patógeno; P4 = *Trichoderma* inoculado sete dias depois. Como testemunhas, acrescentaram-se os tratamentos: P5 = só *Trichoderma*; P6 = só *Colletotrichum* e P7 = só água destilada. Adotou-se o esquema fatorial 10x4x3+3, com 10 tratamentos, quatro períodos de inoculação, três épocas de avaliação e três testemunhas. Previamente às inoculações do antagonista, foram realizadas perfurações na superfície das folhas. Realizaram-se três avaliações, a primeira 12 dias após a inoculação e as demais, a intervalos de 12 dias, em termos de severidade e desfolha. Analisou-se, também, o efeito dos isolados de *Trichoderma* sob a matéria fresca e seca da parte aérea e das raízes. Biologicamente, houve efeito de isolado, para os critérios severidade (escala de notas) e porcentagem de desfolha, nas interações: tripla (tratamentos x períodos de aplicação x épocas de avaliação); duplas (tratamento x período) e (período x época). A aplicação de *Trichoderma* simultaneamente ao patógeno (P3) possibilitou melhor controle da doença. O isolado CEN 143 em P2 e P3 e os isolados CEN 151, CEN 280 e CEN 279 em P3, proporcionaram os menores valores de severidade da antracnose em mudas de maracujazeiro-azedo com 76 dias de idade. Pelos resultados obtidos de massa fresca e seca de parte aérea, os isolados CEN 151, 208 e 279 apresentaram algum efeito como promotor de crescimento.

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

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

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

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Faculdade da Terra de Brasília-FTB

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., EmbrapaCerrados

<sup>6</sup>Assistente de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### **093 - ISOLAMENTO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS EM CULTURAS INFECTADAS POR NEMATÓIDES DAS GALHAS NO DISTRITO FEDERAL (Isolation of entomopathogenic fungi in crops infected by root knot nematodes in federal district)**

Souza, J.F.<sup>1</sup>, Martins, I.<sup>2</sup>, Frazão, H.S.<sup>3</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>4</sup>, Tigano, M.S.<sup>4</sup>

Os fungos agentes de controle biológico de pragas têm sido cada vez mais empregados na agricultura, principalmente em culturas onde o controle químico não funciona ou não é recomendável. Este estudo teve por objetivo coletar, isolar e identificar fungos relacionados aos nematóides das galhas, *Meloidogyne* spp., em horticulturas da região do Distrito Federal. Foram coletadas raízes infectadas com *Meloidogyne* spp., junto com o solo em torno das raízes. Os nematóides infectando as raízes foram identificados, e quando possível, as massas de ovos obtidas desses nematóides foram colocadas em câmaras úmidas para isolamento de fungos. Quanto ao solo, para cada amostra, suspendeu-se três gramas em 27 mL de água estéril contendo espalhante adesivo (Tween 80 a 0,1%). A partir de diluições seriadas decimais de solo em água estéril, 100 µL da suspensão foram inoculados em placas de Petri com meio seletivo. Após um período de aproximadamente 10 dias de incubação a 27 ± 1°C, em câmara de crescimento para BOD, colônias individualizadas foram retiradas e repicadas em meio de cultura BDA (batata-dextrose-agar). Das 36 amostras de solo analisadas, foram obtidos 19 isolados de *Beauveria bassiana*, 26 isolados de *Metarhizium anisopliae* e 20 isolados de *Paecilomyces lilacinus*. Das 13 massas de ovos analisadas, seis apresentaram infecção por fungos, que foram isolados: 5 isolados de *P. lilacinus* e um isolado de *B. bassiana*. Os isolados obtidos foram armazenados em nitrogênio líquido (-196 °C) e sob liofilização na coleção da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A patogenicidade desses isolados em ovos de *Meloidogyne* spp. será testada através de bioensaios em laboratório.

---

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

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

<sup>3</sup>Analista, Embrapa Recursos Tecnológicos e Biotecnologia

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

## 094 - ISOLAMENTO DE NOVAS ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* E *Bacillus sphaericus* (Isolation of new strains of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus*)

Saraiva, M.R.M.<sup>1</sup>, Praça, L.B.<sup>2</sup>, Falcão, R.<sup>3</sup>, Monnerat, R.G.<sup>4</sup>

Os mosquitos são vetores de doenças, além de serem incômodos para a população. Eles têm proliferado devido à formação de barragens, avanço da fronteira agrícola, crescimento desordenado das cidades, desmatamento e falta de saneamento básico. *Culex quinquefasciatus* é a espécie responsável pela transmissão da filariose brancofitiana e *Aedes aegypti* é a espécie responsável pela transmissão da dengue e febre-amarela. Por viverem em águas, tanto limpas como poluídas, o controle biológico surge como uma alternativa para o controle destes insetos e o emprego de *Bacillus* spp. constitui uma ferramenta importante do ponto de vista técnico, econômico e ambiental, pois estes são inócuos aos mamíferos, não poluem o ambiente e são fáceis de aplicar nos focos de infestação. Este trabalho teve como objetivo o isolamento de novas estirpes de *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus sphaericus* efetivas contra *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*. Para tal foram realizados vários isolamentos de amostras de solo de diferentes locais do Brasil, efetuou-se a caracterização morfológica para confirmação da estirpe isolada. Dentre as 48 estirpes isoladas, 30 eram *B. thuringiensis* e 18 eram *B. sphaericus*. Foram realizados bioensaios seletivos com as espécies *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti* e verificou-se que, do total de isolados, apenas duas estirpes de *B. thuringiensis* e dez de *B. sphaericus* foram efetivas, causando uma percentagem de mortalidade de 100% nos bioensaios seletivos. Em continuidade aos trabalhos, procedeu-se à caracterização bioquímica e molecular das mesmas.

---

<sup>1</sup>Engenharia Biotecnológica, graduanda, Instituto Politécnico de Bragança-IPB

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

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

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

**095 - METODOLOGIA DE BIOENSAIO DE *Bacillus thuringiensis* CONTRA O PULGÃO DO ALGODOEIRO (*Aphis gossypii*) [Methodology of *Bacillus thuringiensis* bioassay against cotton aphid (*Aphis gossypii*)]**

Melatti, V.M.<sup>1</sup>, Praça, L. B.<sup>2</sup>, Sujii, E.R.<sup>3</sup>, Monnerat, R. G.<sup>4</sup>

Atualmente a cultura do algodão vem crescendo e ocupando grandes áreas de cultivo. Este crescimento expõe esta cultura ao ataque severo de diversas pragas, entre elas o pulgão do algodoeiro. Este inseto tem causado até 44% de perdas à cultura do algodão, atacando principalmente os estágios iniciais da cultura, devido à sucção contínua da seiva ou à transmissão de doenças viróticas como o vermelhão e o mosaico das nervuras (“azulão”). Uma alternativa para o controle biológico desta praga é a utilização de *Bacillus thuringiensis*. Recentemente, foi constatada que esta bactéria pode circular de forma sistêmica na planta, podendo ser utilizada no controle de insetos sugadores. Este trabalho teve como objetivo estabelecer uma metodologia de bioensaio de *B. thuringiensis* contra *Aphis gossypii*. Os bioensaios foram realizados com uma estirpe de *B. thuringiensis* marcada com gfp (“green fluorescence protein”), que permitiu a visualização da bactéria em um macerado do inseto alimentado da planta tratada com essa bactéria, através de microscopia ótica de fluorescência, confirmando a eficiência da metodologia testada.

---

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

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

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

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



**096 - METODOLOGIAS DE BIOENSAIOS PARA ANÁLISE DE RISCO DE PROTEÍNAS ENTOMOTÓXICAS SOBRE *Trigona spinipes* (HYMENOPTERA: APIDAE) [Bioassay methodology for risk analysis of entomotoxic proteins on *Trigona spinipes* (Hymenoptera:Apidae)]**

Lima, M.A.P.<sup>1</sup>, Campos, L.A.O.<sup>2</sup>, Lara, M.S.<sup>3</sup>, Nakasu, E.Y.T.<sup>4</sup>, Dias, S.C.<sup>5</sup>, Siqueira, C.B.<sup>6</sup>, Sujii, E.R.<sup>7</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>8</sup>, Pires, C.S.S.<sup>8</sup>

Visando avaliar efeitos de entomotoxinas sobre polinizadores, foram desenvolvidos métodos de bioensaios com larvas de *Trigona spinipes*. Esta é uma espécie silvestre de ampla ocorrência em algodão no Brasil, por isso selecionada como indicadora. Quantificou-se a proporção de pólen no alimento larval da espécie, estimando-se a quantidade de toxina a ser ingerida pelos imaturos no caso de expressão dessas proteínas no pólen. Verificou-se também o pH do alimento larval, já que esse fator afeta a atividade da proteína. Desenvolvemos protocolos de criação de larvas da espécie em condições controladas. A atividade das toxinas após incorporação no alimento da abelha foi testada sobre uma praga-alvo (*Anticarsia gemmatalis*) em bioensaio. O alimento larval de *T. spinipes* é ácido (pH=3,74 ± 0,14), contendo 10,27± 0,96% de pólen seco em sua composição. Inicialmente testou-se cúpulas de plástico para criação das abelhas, resultando na morte precoce das larvas, pela rápida desidratação do alimento. Entretanto, obtivemos sucesso mantendo-as em cúpulas de cera natural utilizando placas de ELISA como suporte. Cada cúpula foi preenchida com 36ml do alimento larval coletado em ninhos de *T. spinipes*. Ovos provenientes dos mesmos ninhos foram transferidos para as cúpulas. Foram testados três tratamentos, com cinco repetições cada (40 larvas/repetição): (i) alimento larval + água destilada e autoclavada; (ii) alimento larval + água destilada e autoclavada + Cry1Ac (1,8mg/larva) e (iii) alimento larval puro (controle). A mortalidade foi verificada diariamente durante todo o ciclo de desenvolvimento (ovo a pupa). A mortalidade na fase de ovo foi de 3,5% (trat. i); 4,5% (trat. ii) e 3,5% (trat. iii). Morreram 8,81% (trat. i); 7,33% (trat. ii) e 4,66% (trat. iii) das larvas. Na fase de pupa observou-se uma mortalidade de 1,7% (trat. i); 2,26% (trat. ii) e 1,09% (trat. iii) dos indivíduos. Estes resultados demonstram que a metodologia desenvolvida é adequada para a realização de testes de toxicidade de proteínas entomotóxicas sobre *T. spinipes*.

---

<sup>1</sup>Entomologia, doutoranda, Universidade Federal de Viçosa-UFV

<sup>2</sup>Biólogo, Ph.D., Universidade Federal de Viçosa-UFV

<sup>3</sup>Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Viçosa-UFV

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

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

<sup>6</sup> Eng. Agr., B.Sc., Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup> Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia

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

**097 - MOVIMENTAÇÃO E REFÚGIOS UTILIZADOS PELO BICUDO-DO-ALGODOEIRO *Anthonomus grandis* NA ENTRESSAFRA DA CULTURA DO ALGODÃO NO CERRADO DE BRASÍLIA (Movement and refuges used by the boll weevil *Anthonomus grandis* during the interval between cotton cultivation seasons in Brasilia)**

Ribeiro, P. A.<sup>1</sup>, Diniz, I. R.<sup>2</sup>, Fontes, E. M. G.<sup>3</sup>, Sujii, E. R.<sup>4</sup>, Pires, C.S.S.<sup>3</sup>, Santos, P.H.R.<sup>5</sup>, Macedo, T.R.<sup>6</sup>, Togni, P.H.B.<sup>6</sup>

O controle do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman (Col.: Curculionidae), vem sendo amplamente estudado desde a sua introdução no Brasil. No entanto, questões básicas para o manejo como locais utilizados pelo inseto na entressafra e o fluxo de indivíduos entrando e saindo das áreas de algodoeiros ainda não são conhecidas no cerrado. O presente trabalho objetivou investigar o comportamento do bicudo na entressafra da cultura do algodão em 2005 no campo experimental da Embrapa Hortaliças, a 50 km de Brasília, DF. Foram utilizadas doze armadilhas de solo ("pitfall"), três adesivas e cinco janelas, ao redor de uma área de algodão de 0,5 ha. As armadilhas foram instaladas a 10 m da área de algodão pós-colheita e 10 m uma da outra. Foram coletadas semanalmente 40 maçãs das plantas de algodão até o seu corte e 40 maçãs caídas ao solo após gradagem da área, no final de agosto. As armadilhas de solo foram recolhidas após 72 horas da instalação. As demais foram monitoradas de julho a setembro a cada dois dias. Não foi capturado nenhum bicudo nas armadilhas de solo, apenas um indivíduo nas janelas e três nas armadilhas adesivas. A porcentagem de infestação nas maçãs foi de até 90% nas plantas e de 65% no solo. O número de insetos interceptados nas armadilhas foi pequeno, o que pode ser atribuído ao tipo e quantidade de armadilhas utilizadas, além dos restos culturais terem permanecido na área por muito tempo. Aparentemente a maior parte da população permanece nos restos da cultura de algodão durante a entressafra. Em outro estudo, maçãs quando enterradas às profundidades de 5, 10 e 15 cm mostraram que os insetos não conseguem sair e morrem em seu interior, mostrando a importância da incorporação e da gradagem logo após a colheita do algodão para o manejo do bicudo.

---

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

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

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

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

<sup>5</sup>Biólogo, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>6</sup>Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCeub

**098 - PATOGENICIDADE DO FUNGO *Beauveria bassiana* AO PULGÃO *Aphis gossypii* (HEMIPTERA: APHIDIDAE) [Pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* to the aphid *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae)]**

Souza, J.F.<sup>1</sup>, Souza, J.R.P.<sup>1</sup>, Sousa, F.R.<sup>2</sup>, Santos, G.S.<sup>3</sup>, Frazão, H.S.<sup>4</sup>, Michereff Filho, M.<sup>5</sup>, Faria, M. R.<sup>6</sup>

O pulgão *Aphis gossypii* destaca-se entre as pragas do algodoeiro por ocasionar severos prejuízos ao se alimentar da seiva e transmitir viroses às plantas. Os efeitos indesejáveis do uso excessivo de inseticidas contra essa praga têm demandado novas alternativas de manejo. Este trabalho teve por objetivos avaliar a patogenicidade e selecionar isolados do fungo *Beauveria bassiana* para controle de *A. gossypii* em algodoeiro. Foram avaliados cinco isolados de *B. bassiana* (CG 725, CG 864, CG 877, CG 912 e E 447), em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições e 150 insetos por isolado. Para cada isolado, folhas de pepino infestadas com ninfas de 3º instar foram imersas durante cinco segundos, em suspensão padronizada na concentração de  $1,0 \times 10^8$  conídios/mL. A testemunha foi imersa em água esterilizada + Tween80 a 0,01%. Após a imersão, as ninfas foram transferidas para placas de Petri, contendo folha de algodoeiro acondicionada sobre camada de ágar-água a 3%. As placas foram fechadas e mantidas em incubadora B.O.D. ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $72 \pm 10\%$  de UR e fotofase de 12 horas) durante 7 dias. Diariamente avaliou-se a mortalidade das ninfas, sendo a infecção confirmada em câmara úmida. As ninfas de *A. gossypii* mostraram suscetibilidade diferenciada aos isolados de *B. bassiana*, com picos de mortalidade ocorrendo entre o quarto e quinto dias da inoculação. Os isolados CG 864 (67%) e E 447 (60%) foram os mais virulentos, enquanto os demais isolados ocasionaram mortalidades inferiores a 40%. Esses resultados demonstraram o potencial de uso de *B. bassiana* para controle microbiano de *A. gossypii* na cultura do algodoeiro.

---

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

<sup>2</sup>Estudante Nível Médio, Escola Agrícola de Planaltina-DF

<sup>3</sup>Bióloga, Universidade Estadual do Piauí-UESP

<sup>4</sup>Analista – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

<sup>6</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **099 - POTENCIAL ANTAGONISTA DE *Trichoderma* spp. SOBRE *Sclerotinia sclerotiorum* IN VITRO (Antagonistic potential of *Trichoderma* spp. on *Sclerotinia sclerotiorum* in vitro)**

Marques, G.A.<sup>1</sup>, Martins, I.<sup>2</sup>, Alvarenga, D.O.<sup>3</sup>, Silva, M.C.F.<sup>4</sup>, Mello, S.C.M.<sup>5</sup>

Controle biológico é o método natural de controlar doenças e pragas através do emprego de inimigos naturais. Os fungos do gênero *Trichoderma* são micoparasitas que agem inibindo o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos. *Sclerotinia sclerotiorum* é o causador do mofo branco em mais de 300 espécies de plantas, entre elas, soja, feijão, alface, algodão e girassol. Este trabalho teve como objetivo avaliar a variabilidade entre 22 isolados de *Trichoderma* pertencentes à coleção de fungos para controle biológico de fitopatógenos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia quanto à capacidade de inibir o crescimento de *S. sclerotiorum* in vitro. Realizou-se o cultivo pareado em meio de batata-dextrose-ágar (BDA), inoculando-se disco do patógeno a 1 cm da borda da placa de Petri e, no outro extremo, o antagonista. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. A incubação ocorreu em câmaras BOD a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas. A inibição do crescimento foi avaliada no quinto dia após a inoculação, pela determinação do diâmetro das colônias e a observação sob a escala de Bell *et al.* (Phytopathology, v.72, p. 379-382, 1982) aos 12 dias, atribuindo-se notas de 1 a 5, onde 1 corresponde ao controle total, com o antagonista crescendo sobre o patógeno, e 5, a ausência de controle, com o patógeno ocupando toda a superfície da placa. Todos os isolados inibiram o crescimento do patógeno e foram classificados como altamente antagônicos, tomando-se por base a testemunha, crescida na ausência de *Trichoderma*. Os isolados CEN 001, CEN 275, CEN 126, CEN 129, CEN 132 e CEN 131 apresentaram maior redução no crescimento do patógeno.

---

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

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

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

<sup>4</sup>Assistente B, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

## 100 - POTENCIAL DE *Trichoderma harzianum* PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DO MOFO BRANCO DA SOJA E DO FEIJÃO (Potential of *Trichoderma harzianum* for biological control against white mold of the soybean and bean crops)

Alvarenga, D.O.<sup>1</sup>, Almeida, A.M.<sup>2</sup>, Silva, J.B.T.<sup>3</sup>, Gomes, D.M.P.A.<sup>4</sup>, Mello, S.C.M.<sup>5</sup>

A soja e feijão são culturas de grande importância socio-econômica para o Brasil. O fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, causador do mofo branco, pode causar perdas de até 100 % em suas produções. Como método de biocontrole do mofo branco, tem-se estudado a ação do fungo *Trichoderma harzianum*, pois além de sua ação micoparasita sobre fitopatógenos, promove o crescimento das plantas. Os objetivos deste trabalho foram verificar a variabilidade entre linhagens de *T. harzianum* e selecionar aquelas com potencial antagonista a *S. sclerotiorum*. Dez linhagens de *T. harzianum* foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA. A cada 24 horas, foram realizadas medições do crescimento micelial e, após sete dias, fez-se a contagem de conídios em câmara de Neubauer. Para a avaliação de antagonismo, foi escolhido o método de cultura pareada, que consistiu em inocular discos de 9 mm de diâmetro do antagonista a 1 cm da borda da placa e, no outro extremo, também a 1 cm da borda, um disco com micélio de *S. sclerotiorum*. O crescimento dos fungos foi avaliado por medições constantes do crescimento micelial e a verificação de zonas de inibição de crescimento. O ensaio ocorreu com quatro repetições, com a incubação feita em câmara do tipo BOD à temperatura de 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Após 14 dias, foi realizada uma avaliação final, baseada na escala de notas proposta por Bell *et al.* (Phytopathology, 72: 379-82, 1982). As linhagens CEN 219 e CEN 235 se destacaram por apresentarem bom desenvolvimento micelial, alta produção de conídios e recebendo nota menor ou igual a 2 no teste de confronto direto, que determina agentes altamente antagonísticos. CEN 219 se destacou por inibir completamente a formação de esclerócios por *S. sclerotiorum*, suas estruturas de resistência e disseminação. Os isolados CEN 257 e CEN 240 apresentaram igual crescimento por parte do fitopatógeno e do antagonista (nota 3), com ambos ocupando 50% da área da placa. Nenhuma linhagem apresentou nota maior ou igual a 4, com o fitopatógeno inibindo o antagonista. A variabilidade entre linhagens no desenvolvimento micelial e produção de conídios reflete tendências no antagonismo. Linhagens com grande velocidade de crescimento de hifas e esporulação possuem maior potencial para controle biológico de fitopatógenos.

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

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

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

<sup>4</sup>Biologia, graduando, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

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

## 101 - PRODUÇÃO DE MUTANTES *FEW POLYHEDRA* (FP) DEVIDO A PASSAGEM SERIAL DO *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus* EM CULTURA DE CÉLULAS (Production of few polyhedra mutants due to serial passage of *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus* in cell culture)

Rezende, S. H. M. S<sup>1</sup>, Zimbres, B. Q. C<sup>2</sup>, Castro, M. E. B.<sup>3</sup>, Souza, M. L.<sup>3</sup>

O *Anticarsia gemmatalis* multiple *nucleopolyhedrovirus* (AgMNPV) é um vírus que está sendo usado como agente de controle da lagarta da soja no Brasil. Ele pertence ao grupo de baculovírus possuindo um único ciclo de infecção no qual são produzidos duas formas morfológicas infecciosas: *budded virus* (BV) e a forma viral oclusa em uma matriz protéica denominada poliedro (PIB). A passagem serial do baculovírus em cultura de células desencadeia grandes mudanças genômicas. A mudança mais comum e rapidamente acumulada é a mutação do fenótipo selvagem *many polyhedra* (MP) para o fenótipo *few polyhedra* (FP). O mutante FP é geralmente descrito por um decréscimo no número de poliedros produzidos por célula, pouco ou nenhum vírus ocluso dentro do poliedro, alteração do envelopamento nucleocapsídeo intranuclear e aumento do número de *budded virus* infeccioso. Redução da produção de oclusão e decréscimo na virulência são resultantes de mutações FP, que prejudicam a produção *in vitro* do vírus para uso como biopesticida. Neste trabalho, a curva da produção de poliedros em cultura de células e a formação de mutantes foram determinadas por passagem serial do vírus. Em adição, mutantes FP foram purificados por “plaque assay” para futura caracterização molecular. Inicialmente, a hemolinfa das larvas infectadas com o clone viral AgMNPV-2D foi coletada e usada para infectar células Tn-5B1-4 (passagem 1). Subsequentemente, a passagem serial do vírus foi realizada até a 9ª passagem. O número de células contendo poliedros e o número de poliedros produzidos no núcleo das células foram determinados usando a câmara de Neubauer. A porcentagem de células contendo poliedros não variou muito entre as passagens 2 a 7, permanecendo aproximadamente 50%. Embora o restante das células não tenha apresentado poliedros no núcleo, todas apresentaram sinais de infecção como hipertrofia do núcleo e formação do estroma virogênico. Entretanto, após a 8ª passagem a porcentagem de células contendo poliedros decaiu abruptamente, chegando a apenas 5%. Em paralelo, o número de PIBs por célula caiu gradualmente em uma média de 97 a 24 PIBs por célula entre a 2ª e a 7ª passagem. Após a 7ª passagem esse número tornou-se ainda mais reduzido até não ser mais detectado a presença de poliedros no núcleo das células. Os mutantes FP foram purificados por 3 sequências de “plaque assay” e foram selecionados um total de cinco clones virais (FP). No momento, a curva da produção do título de BVs durante a passagem serial está sendo determinada por microtitulação (*end point dilution*) para confirmar a natureza FP da população.

Apoio: EMBRAPA e CNPq

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

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

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

**102 - RESPOSTA FUNCIONAL E NUMÉRICA DA JOANINHA *Cycloneda sanguinea* (COLEÓPTERA:COCCINELIDAE) PREDANDO O PULGÃO *Aphis gossypii* [Functional and numerical response of *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera:Coccinelidae) preying the aphid *Aphis gossypii*]**

Santos, P.H.R.<sup>1</sup>, Beserra, V.A.<sup>1</sup>, Togni, P.H.B.<sup>2</sup>, Pires, C.S.S.<sup>3</sup>, Fontes, E.M.G.<sup>3</sup>, Sujii, E.R.<sup>4</sup>

*Cycloneda sanguinea* L. é um dos principais e mais abundantes predadores do pulgão, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) em algodoeiros. Visando avaliar seu potencial como agente de controle biológico, fêmeas, dessa espécie, foram mantidas em gaiolas individuais e alimentadas com densidades variáveis de presas (15, 30, 60, 90, 120 e 240 pulgões/gaiola/dia). As joaninhas eram trocadas de gaiola diariamente para reposição dos pulgões que ficavam em folhas de algodoeiro com o caule embebido em água. Os pulgões consumidos e os ovos depositados eram contados e registrados diariamente. Semanalmente, as fêmeas eram colocadas com machos para cópula e fertilização dos ovos. As gaiolas foram mantidas em câmara de crescimento a 25±2°C e fotoperíodo de 13 horas. As fêmeas da joaninha consumiram quantidades crescentes de pulgão em função da densidade disponibilizada nas gaiolas. A análise regressão linear ajustou a reta "Consumo Pulgões" = 2,49 + 0,748 \* "Densidade Pulgões"; r<sup>2</sup> = 0,994 (F = 649,5; 4 g.l.; P <0,001). Esse ajuste indica uma resposta funcional do tipo 1, onde o tempo de manipulação da presa é insignificante e o recurso está limitado. O patamar de estabilização do consumo não foi estabelecido nesse estudo. Os dados de produção de ovos revelam que a espécie é capaz de retardar o início de seu período reprodutivo em condições de baixa oferta de alimento (15 pulgões/dia), produzindo menos de 10 ovos/fêmea e muito inviáveis (90%). Disponibilidades crescentes de presas entre 30 e 90 pulgões/gaiola aumentaram exponencialmente a produção de ovos até um patamar acima de 100 ovos por fêmea. A densidade de 120 pulgões/gaiola não aumentou a produção dos ovos além desse patamar. Esses dados sugerem uma resposta densidade dependente desse predador às mudanças na abundância do pulgão.

Apoio: FAT/FINEP/EMBRAPA, CNPq e FAP-DF.

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

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

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

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

### **103 - SACAM: SOFTWARE PARA ANÁLISES DE COMPORTAMENTO DE INSETOS (SACAM: software for behavioural analyses of insects)**

Caetano, L. D.<sup>1</sup>, Laumann, R. A.<sup>2</sup>, Moraes, M.C.B.<sup>3</sup>, Jorge, L.A.C.<sup>4</sup>, Palhares, L.A.<sup>5</sup>, Borges, M.<sup>6</sup>

Um dos principais problemas da análise do comportamento de insetos, e em particular em estudos orientados a estabelecer a resposta frente a substâncias químicas, é a metodologia utilizada para quantificar e caracterizar os padrões de movimentação. Através desta análise é possível estabelecer se uma substância química induz uma resposta tóxica ou quinética. Um sistema de alta eficiência para monitoramento do comportamento de insetos deve seguir seus movimentos em tempo real e armazenar todas as informações possíveis. Na atualidade, existem alguns softwares comerciais, que realizam estas operações e medem uma série de parâmetros importantes para a análise das respostas comportamentais. Contudo, estes softwares não permitem adaptações específicas para alguns tipos de experimentos e seu custo é relativamente elevado. Neste trabalho, é apresentada a versão inicial de um software com o objetivo de estudar o comportamento de insetos em movimento. O software foi desenvolvido em Delphi e em C++ Builder em sistema operacional Windows. O software captura imagens através de uma câmera de vídeo CCD ou WEBCAM, estas imagens são posteriormente digitalizadas por uma placa de captura de imagem. O software analisa cada "frame" para distinguir o objeto alvo do plano de fundo e posteriormente captura as coordenadas x e y. Com as imagens capturadas é construída uma trilha que, posteriormente, pode ser analisada através do cálculo de parâmetros comportamentais tais como: escolha inicial, tempo de residência, tortuosidade, velocidade linear, entre outros. Foram realizados testes utilizando vespas da família Scelionidae da espécie *Telenomus podisi* e percevejos da família Pentatomidae da espécie *Euschistus heros*. Os insetos possuem diferentes tamanhos, cores e padrões de movimentação variados. Resultados mostram que nos testes realizados o software trabalhou adequadamente, permitindo o monitoramento do inseto a criação de trilhas e o cálculo de parâmetros comportamentais com a precisão requerida em estudos de comportamento de insetos.

Apoio: FINEP e FAP/DF

---

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

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

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

<sup>4</sup>Eng. Eletrônico, M.Sc., Embrapa Instrumentação Agropecuária

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

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



**104 - SELEÇÃO DE SOROTIPOS DE *Bacillus thuringiensis* EFETIVOS NO CONTROLE BIOLÓGICO DE *Agrotis ipsilon* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) [Screening of *Bacillus thuringiensis* serotypes effective in biological control of *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae)]**

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

*Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1766) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida como lagarta-rosca, é um dos insetos que causa danos em diversas culturas como algodão, milho, soja e feijão. Entre as técnicas mais usadas para o controle dessa lagarta destaca-se o uso de produtos químicos que causam prejuízos a vida selvagem, a saúde do homem no campo e compromete a qualidade do solo e da água, além de promover a seleção de populações de insetos resistentes. O uso de *Bacillus thuringiensis* (Bt) para o controle biológico de pragas pode ser utilizado como uma poderosa ferramenta na estratégia do Manejo Integrado de Pragas. Assim, com o objetivo de selecionar estirpes que causem acima de 70% de mortalidade a *A. ipsilon*, bioensaios seletivos foram conduzidos com 20 diferentes sorotipos de *Bacillus thuringiensis* do banco de bactérias entomopatogênicas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e com o padrão Btk (*B. thuringiensis* subespécie *kurstaki*) para lepidópteros, contra lagartas de segundo instar deste inseto. Dos 20, apenas quatro, S597, S615, 616 e S1168 pertencentes aos sorotipos *galleriae*, *sotto*, *argentinensis* e *aizawai* causaram 100% de mortalidade, evidenciando a atividade tóxica do Bt para o controle biológico de *A. ipsilon*

---

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

<sup>2</sup>Bióloga, Ph.D., União Pioneira de Integração Social-UPIS

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

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

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

## 105 - SELEÇÃO DE SOROTIPOS DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICOS CONTRA *Simulium* SPP. (Screening of *Bacillus thuringiensis* sorotypes toxic to *Simulium* spp.)

Dumas, V. F.<sup>1</sup>, Berry, C.<sup>2</sup>, Soares, C. M.<sup>3</sup>, Praça, L. B.<sup>4</sup>, Monnerat, R. G.<sup>5</sup>

Os borrachudos (Simuliidae) possuem grande importância médico-sanitária, pois são vetores da oncocercose. Além disso, sua picada é muito dolorosa e alergênica devido à presença de toxinas na saliva do inseto, causando dermatite em grande parte de suas vítimas. Os locais de proliferação desse mosquito são rios ou córregos encachoeirados e de águas cristalinas, que favorecem o desenvolvimento de algas, que servem de alimento para as formas larvais deste inseto. Desta forma, o desequilíbrio ambiental provocado pelo ser humano nos últimos anos, gerados pela utilização indevida de produtos químicos e pelo desmatamento, resulta em um aumento populacional de borrachudos, tornando mais difícil o controle deste inseto. Dentre as estratégias empregadas para o seu controle, a OMS recomenda a utilização de bioinseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* (Bt). As vantagens na utilização dessa bactéria são a especificidade, o efeito não poluente, a inocuidade aos mamíferos e vertebrados e a ausência de toxicidade às plantas. Este trabalho teve como objetivo analisar a patogenicidade de diferentes sorotipos de Bt contra *Simulium* spp. O bioensaio baseou-se na aplicação de culturas crescidas de *B. thuringiensis* em erlenmeyers contendo larvas de borrachudos de diferentes instares coletadas do campo. Foram testadas nove estirpes, um controle negativo e um controle positivo. O bioensaio foi mantido sobre um shaker com o intuito de manter a água em movimento, evitando assim, a mortalidade das larvas por falta de alimentação e oxigenação. Os resultados demonstraram que as estirpes *B. thuringiensis* subps. *medellin* T, *B. thuringiensis* subps. *medellin*, *B. thuringiensis* subps. *kenyae*, *B. thuringiensis* subps. *higo* e *B. thuringiensis* subps. *jegathesan* causaram mortalidade de 100%, indicando serem eles fortes candidatos para o controle de larvas de borrachudos.

---

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

<sup>2</sup>Biólogo, Ph.D., Cardiff University

<sup>3</sup>Biólogo, Ph.D., Bthek Biotecnologia

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

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

## 106 - *Trichoderma* SPP. COMO AGENTE DE BIOCONTROLE DA PODRIDÃO DO COLO DO FEIJOEIRO (*Trichoderma* as a biocontrol agent for *Sclerotium rolfsii*)

Alvarenga, D.O.<sup>1</sup>, Queiroz, P.R.<sup>2</sup>, Almeida, A.M.<sup>3</sup>, Fernandes, A.F.A<sup>4</sup>, Marques, G.A.<sup>5</sup>, Pádua, R.R.<sup>3</sup>; Silva, J.B.T.<sup>6</sup>, Mello, S.C.M.<sup>7</sup>

A podridão do colo é uma fitomoléstia causada pelo fungo *Sclerotium rolfsii*, que produz esclerócios, o quais permanecem viáveis no solo por anos. Os sintomas caracterizam-se por necrose da haste e das raízes, tombamento e murcha de plantas. O método mais promissor de controle utiliza fungos do gênero *Trichoderma*, que atacam o patógeno por antibiose e micoparasitismo. O objetivo deste trabalho foi selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com potencial antagonista a *S. rolfsii*, por análises de crescimento micelial, produção de conídios, tolerância a fungicidas e desempenho *in vivo*. Foram testadas 10 linhagens de *Trichoderma* spp. Discos de 9 mm de diâmetro contendo micélio do antagonista foram inoculados em placas de Petri com meio de cultura BDA. A incubação ocorreu em BOD, com fotoperíodo de 12 horas. A cada 24 horas, ocorreu a medição do crescimento micelial e, após 7 dias, a contagem de conídios em câmara de Neubauer. Para avaliação de tolerância a Benomyl, concentrações de 0, 1, 2 e 5  $\mu$ g/mL do fungicida foram adicionadas ao meio de cultura, seguido do inóculo de discos de micélio e incubação. Ocorreram medições do crescimento micelial a cada 24 horas, por 4 dias. Para o bioensaio *in vivo*, fitopatógeno e antagonistas foram crescidos em arroz parboilizado, com umidade a 60 %, durante 7 dias. Após este período, 10 sementes de feijão foram semeadas em vasos contendo 3 kg de solo estéril, seguido do inóculo dos fungos, à concentração de 5 g/kg de solo. Vasos com inóculo apenas do fitopatógeno foram utilizados como testemunhas. O ensaio ocorreu em casa de vegetação, sob condições semi-controladas. As avaliações ocorreram após 15 e 30 dias, com a proporção entre o número de plantas vivas e mortas, determinando o percentual de controle. Os isolados CEN 168 e CEN 266 apresentaram bom desenvolvimento micelial e produção de conídios, tolerância ao agrotóxico e desempenho no bioensaio *in vivo* acima de 90%. Apesar de também obterem um desempenho altamente antagonista, os isolados CEN 201, CEN 222 e CEN 198 mostraram sensibilidade a Benomyl, inviabilizando o manejo integrado. Estes dados permitem concluir que o desenvolvimento do fungo está relacionado com seu potencial de controle biológico, sendo então um critério para a pré-seleção de linhagens.

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

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

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

<sup>4</sup>Zootecnia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>5</sup>Agronomia, graduanda, Universidade de Brasília-UnB, PIBIC/CNPq

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

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

## 107 - USO DO DNA MITOCONDRIAL PARA A IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* (Use of the mitochondrial DNA for molecular identification of *Spodoptera frugiperda* populations)

Ramiro, C. A.<sup>1</sup>, Queiroz, P. R.<sup>2</sup>, Monnerat, R. G.<sup>3</sup>

A lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae) é uma espécie polífaga que ataca diversas culturas economicamente importantes em vários países. Em virtude da sua ação voraz, da variedade de espécies vegetais utilizadas em sua dieta e da capacidade de dispersão para outras culturas, esse lepidóptero ocasiona perdas na produção agrícola que variam de 15 % a 34 %. O emprego de marcadores de DNA visando o desenvolvimento de ferramentas moleculares de caracterização e de identificação são importantes no estudo genético de populações naturais de *S. frugiperda*. A técnica utilizando marcadores moleculares baseados no DNA mitocondrial (DNAMt) pode ser utilizada no estudo de filogenia e de diversidade, tendo como vantagem a pouca variação e a baixa taxa de mutação em algumas de suas seqüências e a capacidade de resistir a degradação por agentes externos. O objetivo desse trabalho foi a utilização do DNAMt para a identificação de populações de *S. frugiperda* ocorrendo em culturas comerciais de diferentes localidades. Neste trabalho, indivíduos de *S. frugiperda* pertencentes a populações ocorrendo em culturas de algodão e milho do Brasil e em uma cultura de milho no México foram caracterizadas pela região específica do mtDNA, que codifica para o gene da NADH desidrogenase (*NADH-DH*). Por meio dessa estratégia, obteve-se um fragmento de amplificação de 600 pb que foi encontrado nos indivíduos das populações coletadas em culturas de milho no Brasil e no México, não havendo amplificação para os indivíduos da população que se alimentaram com algodão no Brasil. Esse resultado sugere uma possibilidade de emprego desse tipo de marcador molecular no monitoramento de populações específicas de *S. frugiperda*.

---

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

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

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

**108 - USO SISTÊMICO DE *Bacillus thuringiensis*, UMA NOVA ALTERNATIVA PARA O CONTROLE DE INSETOS-PRAGA (Sistemic use of *Bacillus thuringiensis*, a new alternative for the control of insects pest)**

Martins, E.S.<sup>1</sup>, Capdeville, G.<sup>2</sup>, Berry, C.<sup>3</sup>, Monnerat, R.G.<sup>4</sup>

Alternativas de controle de insetos, incluindo a utilização de microrganismos entomopatogênicos como bactérias, fungos e vírus, plantas transgênicas com genes de bactérias e inimigos naturais têm sido amplamente estudadas. No entanto, devido à importância do problema, surgem outras alternativas como, por exemplo, a utilização de organismos endofíticos. Muitas bactérias do gênero *Bacillus* foram isoladas de tecidos de plantas, entretanto o primeiro relato do isolamento de *Bacillus thuringiensis* a partir de plantas de algodão ocorreu no ano passado, no Laboratório de Bacteriologia da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, onde foram isoladas 13 estirpes de *B. thuringiensis* endofíticos. Neste trabalho, foi proposta uma metodologia para detecção de *B. thuringiensis* endofítico em plantas. A estirpe S1450 (Btk) foi crescida por 24 horas em meio NYSM adicionado de <sup>35</sup>SMet. Após este período as células foram sedimentadas e o sobrenadante descartado, o sedimento foi lavado três vezes com PBS1X para retirada do material radioativo não incorporado. Plantas de algodão e couve receberam de 1 a 5 inoculações com 2 mL de uma suspensão de células marcadas com intervalos de 5h. Duas horas após a última inoculação as plantas foram secas e expostas a filmes de auto-radiografia. Um gel de SDS-PAGE também foi preparado a fim de mostrar que as proteínas que estavam marcadas correspondiam somente às constituintes da estirpe Btk. Desta forma, foi demonstrado que esta bactéria é capaz de penetrar na planta, e percorrer todo sistema vascular, atingindo as folhas. Estudos para inoculação e colonização de *B. thuringiensis* na planta podem apontar para uma nova forma de controle de insetos, nunca antes testada com esta bactéria, reduzindo, assim, a utilização de inseticidas e de suas conseqüências indesejáveis.

---

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

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

<sup>3</sup>Bioquímico, Ph.D., Cardiff University

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



# **RECURSOS GENÉTICOS**





# **Caracterização**



## 109 - ANÁLISE DA DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE *Arachis* VINCULADAS AO GENOMA “B” POR MARCADORES MICROSSATÉLITES (Diversity of wild *Arachis* species linked to the B genome using microsatellite markers)

Custodio, A.R.<sup>1</sup>, Schmidt, A.B.<sup>2</sup>, Valls, J.F.M.<sup>3</sup>

O amendoim, *Arachis hypogaea*, é uma espécie tetraplóide, com fórmula genômica AABB. O gênero tem 81 espécies, 46 exclusivas do Brasil. Ao longo de ações de pré-melhoramento, os primeiros exemplos bem sucedidos de introgressão de genes oriundos de parentes silvestres no amendoim foram concentrados em espécies diplóides vinculadas ao genoma A, em parte pela baixa disponibilidade anterior de germoplasma de espécies associadas ao genoma B. O aumento de coletas de germoplasma de parentes silvestres do amendoim na Bolívia e Oeste do Mato Grosso, nas últimas décadas, ampliou a disponibilidade de acessos que compartilham o genoma B, tornando possível avançar no pré-melhoramento também a partir desse genoma. Para caracterizar a diversidade coletada, principalmente, entre os novos materiais de *A. gregoryi* e *A. magna*, os acessos disponíveis dessas espécies foram submetidos, entre outros, à análise genética com uso de marcadores SSR-*Simple Sequence Repeats* desenvolvidos para *A. hypogaea*. O polimorfismo desse marcador molecular é baseado nas diferenças de comprimento das seqüências amplificadas, de acordo com o número de repetições em cada microssatélite, que é altamente variável no genoma. Amostras de folhas de indivíduos representativos de 96 acessos foram coletadas em telado. O DNA genômico foi extraído a partir de folhas, pelo método de Doyle & Doyle, adaptado para as espécies em pauta. Os indivíduos foram genotipados utilizando 38 iniciadores SSRs. A detecção alélica foi feita por fluorescência em seqüenciador automático 377X, em sistema de locos multiplex. A diversidade genética vem sendo analisada, utilizando o programa Genetic Data Analysis-GDA, versão 1.1. Análises preliminares revelaram elevada diversidade alélica entre os acessos de *A. gregoryi* e de *A. magna*. Os acessos de *A. hypogaea*, portadores de ambos genomas, mostraram elevada heterozigosidade, enquanto as espécies diplóides estudadas da secção taxonômica *Arachis*, vinculadas, ou ao genoma A, ou ao B, apresentaram alta taxa de homozigotos, com ampla diversidade alélica. Houve baixa transferibilidade dos marcadores utilizados para os acessos de *A. lignosa* e *A. pflugeae*, da secção *Procumbentes*, e de *A. paraguariensis* e *A. hermannii*, da secção *Erectoides*.

<sup>1</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade Estadual de Santa Catarina-UFSC

<sup>2</sup>Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., doutoranda, Universidade Estadual de Santa Catarina-UFSC

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

## 110 - ANÁLISE DA RESISTÊNCIA A *Spodoptera frugiperda* EM HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *Arachis* (Analysis of the *Spodoptera frugiperda* resistance in interspecific hybrids of *Arachis*)

Martins, A.E.<sup>1</sup>, Fávero, A.P.<sup>2</sup>

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma leguminosa mundialmente utilizada na produção de óleo, no consumo como confeitos ou in natura. Suas sementes são ricas em óleo e proteína e são de fácil digestão. O gênero abriga 81 espécies, sendo 31 da Seção *Arachis*, muitas delas resistentes a várias doenças e pragas como a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*). A *S. frugiperda* ataca diversas culturas economicamente importantes em vários países. Sua alimentação é preferencialmente de tecidos jovens da planta, ocasionando dessa forma severos prejuízos na produção de grãos. Este trabalho teve como objetivo analisar a resistência de híbridos interespecíficos de *Arachis* a *S. frugiperda*. Foram geradas cinco combinações híbridas, oriundas do cruzamento entre espécies de diferentes genomas e poliploidizadas, gerando os anfidiplóides sintéticos, com a finalidade de introgridir genes de resistência a pragas localizados em espécies silvestres no amendoim cultivado. No experimento, foram avaliados cinco anfidiplóides (*A. gregoryi* (V 6389) x *A. linearifolia* (V 9401))<sup>x4</sup>, (*A. hoehnei* (KG 30006) x *A. cardenasii* (GKP 10017))<sup>x4</sup>, (*A. hoehnei* x *A. helodes* (V 6325))<sup>x4</sup>, (*A. hoehnei* x *A. simpsonii* (V 13710))<sup>x4</sup> e (*A. ipaënsis* (KG 30076) x *A. duranensis* (V 14167))<sup>x4</sup>, quatro cultivares de amendoim, quatro híbridos complexos, dois indivíduos oriundos de retrocruzamentos 1 e seis de retrocruzamentos 2. O experimento foi realizado em condições de laboratório, em que uma folha de cada genótipo e as duas lagartas em primeiro instar foram mantidas em cada placa de Petri lacrada e forrada com algodão e papel filtro. Quatro amostras de cada genótipo foram observadas após cinco dias da montagem do experimento. Foram avaliados a área foliar lesionada e o instar em que cada lagarta permaneceu no final do ensaio. Identificou-se maior mortalidade e menor crescimento das lagartas alimentadas com folhas de híbridos interespecíficos, em relação a espécie cultivada *Arachis hypogaea*, assim como uma menor área foliar lesionada. Pode-se observar que houve diferenças significativas entre as cultivares de amendoim lançadas no mercado, os anfidiplóides e híbridos complexos. Nos retrocruzamentos 1 e 2, apenas alguns indivíduos mostraram-se mais resistentes que o amendoim cultivado.

Apoio: Embrapa, FAP-DF, CNPq e GCP.

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

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

## 111 - ANÁLISE DA TRANSFERIBILIDADE DE MARCADORES MICROSSATÉLITES DE MELÃO PARA MELANCIA (Analysis of microsatellite markers transferability from melon to watermelon)

Lamas, N.S.<sup>1</sup>, Ferreira, M.A.<sup>2</sup>, Amaral, Z.P.S.<sup>3</sup>, Vieira, J.V.<sup>4</sup>, Ferreira, M.A.J.F.<sup>5</sup>, Buso, G.S.C.<sup>5</sup>

A melancia, no Brasil, é produzida com as cultivares que foram introduzidas dos Estados Unidos e Japão, que, apesar de apresentarem boa qualidade em termos de cor e teor de açúcar, não são adaptadas às condições brasileiras, pois apresentam baixa produtividade e são suscetíveis a doenças. Para se desenvolver cultivares adaptadas torna-se necessária a incorporação de genes de acessos promissores. Isto, porém, implicará no manejo de caracteres de herança quantitativa, os quais sofrem influência do ambiente. Marcadores microsatélites são marcadores moleculares que detectam polimorfismo em regiões hipervariáveis do DNA e são ideais para este tipo de estudo, pela riqueza de informação genética que oferecem, bem como pela facilidade de obtenção de dados genéticos via reação de polimerase em cadeia. Para algumas espécies dentro do mesmo gênero a taxa de transferência de marcadores tem sido elevada. Considerando o alto custo para o desenvolvimento destes marcadores, a transferibilidade de microsatélites de uma espécie (*Cucumis melo*) para outra (*Citrullus lanatus*) seria bastante oportuna. Um efeito significativo é a redução no custo e no tempo de desenvolvimento da tecnologia e estudo, já que não seria necessário o desenvolvimento de primers próprios para melancia. Portanto uma bateria de 250 primers microsatélites para melão desenvolvidos no Laboratório de Genética de Plantas da EMBRAPA/CENARGEN está tendo sua transferibilidade testada para melancia. Até o momento 96 locos SSR já foram testados em géis de agarose. Destes, 47 apresentaram produtos de PCR para melancia, tiveram sua temperatura de anelamento otimizada, e assim foram testados em gel de acrilamida. Nesta etapa, 12 marcadores microsatélites apresentaram polimorfismo entre os indivíduos de melancia, 23 foram monomórficos e outros 12 não apresentaram fragmentos apropriados. Os primers que foram transferíveis para melancia e apresentaram polimorfismo serão utilizados inicialmente na construção de um mapa genético com base em população segregante para resistência a virose e outras características de interesse.

Apoio: PIBIC/CNPq.

---

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

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

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

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

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

## 112 - ANÁLISE DO NÚMERO E TAMANHO DE ESTÔMATOS EM HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DIPLÓIDES E TETRAPLÓIDES DE *Arachis* (Analysis of stomatal number and size in interspecific diploid and tetraploid hybrids of *Arachis*)

Giotto, A.C.<sup>1</sup>, Silva, W.S.<sup>2</sup>, Fávero, A.P.<sup>3</sup>, Valls, J.F.M.<sup>4</sup>

Os estômatos são estruturas importantes para a fisiologia das plantas, sendo a porta de entrada e escoamento dos gases para a fotossíntese. Essas estruturas são usadas na análise de plantas com níveis de ploidia distintos, pois aumentos de ploidia tendem a gerar aumentos do volume celular, diminuindo o número de células por área, na epiderme, e, em consequência, o número de estômatos. O objetivo deste trabalho foi comparar o número e tamanho dos estômatos em cinco combinações de híbridos interespecíficos de espécies silvestres de *Arachis*, em condição diplóide e tetraplóide. Foram estudadas plantas híbridas diplóides e tetraplóides, oriundas dos cruzamentos: *Arachis gregoryi* V 6389 x *A. linearifolia* V 9401; *A. ipaënsis* KG 30076 x *A. duranensis* V 14167; *A. hoehnei* KG 30006 x *A. simpsonii* V 13710; *A. hoehnei* KG 30006 x *A. helodes* V 6325; *A. hoehnei* KG 30006 x *A. cardenasii* GKP 10017. Foram utilizados quatro folíolos de cada cruzamento. Os folíolos da primeira folha expandida, contando do ápice caulinar, foram retirados e raspados com lâmina de bisturi, da parte adaxial para a abaxial, até que restasse apenas a camada epidérmica. As contagens e a medição do tamanho de estômatos foram feitas a partir da análise de cinco campos por amostra. As medidas foram obtidas com auxílio de ocular micrométrica. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste t ( $p < 0,05$ ), este usado para comparação dentro de cada combinação híbrida, das médias dos indivíduos diplóides e tetraplóides. Os testes mostraram que não ocorreu diferença significativa entre as combinações híbridas. Porém, houve diferença significativa no número e tamanho de estômatos, comparando-se híbridos diplóides e tetraplóides. A interação híbridos x ploidia apresentou diferença significativa. As plantas diplóides mostraram estômatos de tamanho menor e em maior número por campo, em comparação com as tetraplóides, em todas as combinações. Conclui-se que o número e tamanho dos estômatos podem ser considerados caracteres diagnósticos, para se identificar diferenças de ploidia em híbridos de *Arachis*.

APoio: Embrapa CNPq e FAP-DF.

---

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

<sup>2</sup>Eng. Ambiental, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

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

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

## 113 - ANÁLISE MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DIPLÓIDES E TETRAPLÓIDES DE *Arachis* (Morphological analysis of diploid and tetraploid interspecific hybrids of *Arachis*)

Silva, P.A.P.<sup>1</sup>, Giotto, A.C.<sup>1</sup>, Silva, W.S.<sup>2</sup>, Valls, J.F.M.<sup>3</sup>, Fávero, A.P.<sup>4</sup>

Diversas espécies de amendoim vêm sendo amplamente estudadas, devido a sua grande importância na produção de óleo e consumo dos grãos in natura, ou para uso como plantas forrageiras, ornamentais ou de cobertura. O gênero *Arachis* é composto de 81 espécies, sendo 31 da seção *Arachis*. Quatro combinações híbridas, oriundas do cruzamento entre espécies de diferentes genomas, foram geradas e poliploidizadas, gerando os anfidiplóides sintéticos, com a finalidade de introgradir genes de resistência a doenças localizados em espécies silvestres no amendoim cultivado. O objetivo deste trabalho é mostrar a variação morfológica existente entre híbridos interespecíficos diplóides e os respectivos anfidiplóides causada por possível efeito de gigantismo. O experimento foi realizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Na caracterização morfológica, foram analisados descritores do eixo central, dos ramos laterais e das flores dos híbridos intraespecíficos. Foram avaliadas quatro combinações híbridas nas condições diplóide e tetraplóide, que são mantidas em telado: *A. gregoryi* (V 6389) x *A. linearifolia* (V 9401), *A. hoehnei* (KG 30006) x *A. helodes* (V 6325), *A. hoehnei* (KG 30006) x *A. simpsonii* (V 13710) e *A. ipaënsis* (KG 30076) x *A. duranensis* (V 14167). Os híbridos diplóides e tetraplóides tiveram a maioria das características morfológicas significativamente distintas em tamanho, observando-se assim o efeito de gigantismo nos anfidiplóides. Alguns descritores em que se observou diferenças significativas entre diplóides e tetraplóides foram, no eixo central, o comprimento da raque, largura do folíolo apical, comprimento do pecíolo, largura da parte adnata da estípula; no ramo lateral, comprimento e largura da parte livre e adnata da estípula e, nas flores, comprimento e largura do estandarte e comprimento da asa. Isto ocorreu nos híbridos *A. ipaënsis* x *A. duranensis*, *A. gregoryi* x *A. linearifolia* e *A. hoehnei* x *A. simpsonii*. No híbrido *A. hoehnei* x *A. helodes*, houve diferenças apenas em poucos descritores, como por exemplo, comprimento de estandarte e de asa.

Apoio: Embrapa, FAP-DF, CNPq e ARAMAP

---

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

<sup>2</sup>Eng. Ambiental, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

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

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

## **114 - ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES MOLECULARES E CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS EM RAÇAS NATURALIZADAS DE OVINOS NO CENTRO-OESTE DO BRASIL (Association between molecular markers and production traits in naturalised sheep breeds in the Center-West Brazil)**

Petroli, C.D.<sup>1</sup>, Paiva, S.R.<sup>2</sup>, Faria, D.A.<sup>3</sup>, Landim, A.<sup>4</sup>, Silva, A.V.R.<sup>5</sup>, Egito, A.A.<sup>6</sup>, Albuquerque, M.S.M.<sup>7</sup>, Castro, S.T.R.<sup>6</sup>, Mariante, A. S.<sup>7</sup>, McManus, C.M.<sup>8</sup>

Atualmente, a manutenção das raças naturalizadas de ovinos depende diretamente de sua inserção nos sistemas de produção existentes. Para que isto aconteça, é necessário identificar características importantes dessas raças que poderão desempenhar um importante papel em nichos de mercado específicos. O objetivo deste trabalho foi verificar a existência de associações significativas entre alelos de *loci* de microssatélites localizados no cromossomo 20 de ovinos com características de desempenho, carcaça e resistência à parasitas gastrintestinais em 44 ovelhas puras e cruzadas das raças Santa Inês, Bergamácia e Texel. Os marcadores utilizados demonstraram ter uma alta variabilidade genética entre os ovinos e quatro associações significativas ( $p < 0,05$ ) foram observadas apenas com as características de carcaça.

Apoio: UnB, EMBRAPA e CNPq

---

<sup>1</sup>Lic. em Genética, mestrando, Universidade de Brasília-UnB

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

<sup>3</sup>Zootecnista, doutoranda, Universidade Católica de Brasília- UCB

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

<sup>5</sup>Med.Veterinária, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup>Med.Vet., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

<sup>8</sup>Zootecnista, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB



## 115 - AVALIAÇÃO DE PROGÊNIES DE MARACUJAZEIRO-AZEDO QUANTO À RESISTÊNCIA A ANTRACNOSE (Evaluation of progenies of sour passion fruit to *Colletotrichum gloeosporioides* resistance)

Martins, I.<sup>1</sup>, Peixoto, J.R.<sup>2</sup>, Mello, S.C.M.<sup>3</sup>, Junqueira, N.T.V.<sup>4</sup>, Pádua, R.R.<sup>5</sup>

O presente trabalho foi desenvolvido em casa-de-vegetação, na Estação Biológica da Universidade de Brasília, e teve como objetivo avaliar a reação de progênies de maracujazeiro-azedo ao fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo, agente causal da antracnose, com base na severidade (escala de notas) e incidência (% de plantas atacadas) da doença. Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados, com 4 repetições e 6 plantas por parcelas, em esquema de parcela subdividida, sendo sete épocas de avaliação na parcela e 72 progênies na subparcela. O fungo *C. gloeosporioides* foi inoculado nas progênies de maracujazeiro na concentração  $5 \times 10^6$  por aspersão mediante ferimentos pré-estabelecidos com auxílio de escova de aço de cerdas finas. Foram realizadas sete avaliações, a primeira aos 20 dias após a inoculação e as demais, em intervalos a cada sete dias. Para avaliar o grau de incidência e severidade da antracnose, estabeleceu-se uma escala de notas de 1 a 7, sendo 1 = ausência de sintomas; 2 = de 1 a 10% da área lesada atingida; 3 = de 10 a 25% da área lesada atingida; 4 = de 25 a 50% da área lesada atingida; 5 = de 50 a 100% da área lesada atingida; 6 = rompimento do tecido necrosado e 7 = desfolha, onde foram consideradas como Resistentes (R) as plantas com notas médias  $\leq 2$ ; Moderadamente Resistentes (MR) as plantas com notas médias  $> 2$  e  $\leq 3$ ; Suscetíveis (S) as plantas com notas médias  $> 3$  e  $\leq 4$ ; e Altamente Suscetíveis (AS) as plantas com notas médias  $> 4$ . As progênies mostraram diferenças significativas quanto à incidência de *C. gloeosporioides* ao longo das sete avaliações. O mesmo não ocorreu com respeito a severidade. No geral, duas progênies foram classificadas como Moderadamente Resistentes; oito como Suscetíveis e 62 foram Altamente suscetíveis. Houve correlação da média de severidade com incidência da antracnose, demonstrando a relação entre os dois parâmetros e a confiabilidade de ambos.

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

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

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

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa - Cerrados

<sup>5</sup>Bióloga, B.Sc., Centro Universitário e Brasília-UniCEUB

## 116 - AVALIAÇÃO REPRODUTIVA E MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS COMPLEXOS DE *Arachis* (Reproductive and morphological evaluation of complex hybrids of *Arachis*)

Silva, P.A.P.<sup>1</sup>, Fávero, A.P.<sup>2</sup>

Espécies do gênero *Arachis* são cultivadas no Brasil e no mundo para a obtenção de grãos, óleo e são utilizados como plantas forrageiras, ornamentais ou de cobertura. Várias espécies silvestres são resistentes a várias doenças e pragas e podem ser utilizadas no melhoramento genético do amendoim (*Arachis hypogaea*). Híbridos entre espécies silvestres de diferentes genomas foram poliploidizados artificialmente e geraram os anfidiplóides sintéticos. O cruzamento entre anfidiplóides, gerando os híbridos complexos, foi realizado com o objetivo de associar boa cruzabilidade com o amendoim cultivado existente em alguns anfidiplóides e as resistências genéticas a pragas e doenças localizadas em outros anfidiplóides. No presente trabalho, foi realizada a caracterização reprodutiva, através da estimativa da viabilidade de pólen dos híbridos, usando carmim acético 2% com glicerina, e a caracterização morfológica descrevendo as estruturas foliares localizadas no eixo central e ramos laterais e as estruturas florais dos seguintes híbridos complexos: (*A. ipaënsis* x *A. duranensis*)<sup>x4</sup> x (*A. hoehnei* x *A. helodes*)<sup>x4</sup>; (*A. ipaënsis* x *A. duranensis*)<sup>x4</sup> x (*A. gregoryi* x *A. linearifolia*)<sup>x4</sup>; (*A. gregoryi* x *A. linearifolia*)<sup>x4</sup> x (*A. hoehnei* x *A. cardenasii*)<sup>x4</sup>; (*A. gregoryi* x *A. linearifolia*)<sup>x4</sup> x (*A. hoehnei* x *A. helodes*)<sup>x4</sup>. O experimento foi realizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em condições de casa de vegetação e em laboratório com quatro repetições. O híbrido complexo (*A. ipaënsis* x *A. duranensis*)<sup>x4</sup> x (*A. gregoryi* x *A. linearifolia*)<sup>x4</sup> apresentou 51,4% de pólen corado com carmim acético. O resultado foi relevante quando comparado aos dos demais híbridos. Em (*A. gregoryi* x *A. linearifolia*)<sup>x4</sup> x (*A. hoehnei* x *A. cardenasii*)<sup>x4</sup>; (*A. gregoryi* x *A. linearifolia*)<sup>x4</sup> x (*A. hoehnei* x *A. helodes*)<sup>x4</sup> e (*A. ipaënsis* x *A. duranensis*)<sup>x4</sup> x (*A. hoehnei* x *A. helodes*)<sup>x4</sup>, a porcentagem de pólen corado foi de 7,5%, 1,75% e 0,5%, respectivamente. Os dados morfológicos obtidos a partir de 31 descritores mensurados foram utilizados na caracterização de cada combinação de híbridos e serão futuramente utilizados em processos de registros do germoplasma.

Apoio: Embrapa, FAP-DF, CNPq e ARAMAP.

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

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

**117 - BUSCA E OTIMIZAÇÃO DE PRIMERS MICROSSATÉLITES (SSR), DE GENES-CHAVE PARA CARACTERÍSTICAS BIÓTICAS E ABIÓTICAS DE FEIJÃO, MILHO E MANDIOCA (Search and optimization of microsatellite primers (SSR), of key genes for biotic and abiotic characteristic of beans, maize and cassava)**

Beltrão, L.H.B.<sup>1</sup>, Fontoura, T.B.<sup>1</sup>, Paiva, M.R.<sup>2</sup>, Cerqueira, A.A.<sup>2</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>3</sup>, Buso, G.S.C.<sup>4</sup>

Visando o manejo sustentável da agrobiodiversidade nos biomas Cerrado e Caatinga, no Programa Biodiversidade Brasil-Itália fez-se um trabalho participativo para levantar as características desejáveis de comunidades de pequenos agricultores em seu contexto ambiental e socioeconômico. Estas características vêm sendo alvos de atividades de pesquisas com marcadores moleculares a serem utilizados na genotipagem para dar subsídios à conservação, ao melhoramento genético e eventual seleção. Portanto, este trabalho teve como objetivo a procura, em *sílico*, desenho, síntese e otimização de marcadores microssatélites (SSR) para genes funcionais (key genes) visando características importantes apontadas pelas comunidades. Para milho foram definidas as seguintes características: eficiência na absorção e uso do nitrogênio; eficiência na absorção e uso de fósforo; tolerância ao estresse hídrico; tolerância ao alumínio. Para feijão: eficiência na absorção e uso do nitrogênio; tolerância ao estresse hídrico. Para mandioca: resistência a seca, resistência à doença leiteira ou bacteriose (Cassava Bacterial Blight) causada pela *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Até o momento 32 pares de primers foram encontrados e selecionados para síntese: 28 para milho, 2 para feijão e 2 para mandioca. Os testes dos primers foram feitos à temperatura inicial de 56°C e modificada conforme a necessidade. As reações foram realizadas com um volume total de 13 µl, contendo cada reação 3 µl de DNA a 3 ng/µl e visualizadas em gel de agarose 3,5 %. Para otimização dos primers foram feitas reações com 8 acessos representativos de mandioca, 2 de milho e 4 de feijão, todas mantidas pela Embrapa. Dos 32 primers testados, apenas 15 tiveram a sua temperatura de anelamento definida. Otimizada a temperatura de todos marcadores, esses poderão ser testados em amostras das culturas que segregam para as características determinadas.

Apoio: Programa Brasil-Itália.

---

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

<sup>2</sup>Biólogo, B.Sc., Centro Universitário de Brasília-UniCeub

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

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

## 118 - CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE *Ananas bracteatus* E SUA IMPORTÂNCIA ORNAMENTAL (Characterization of the species *Ananas bracteatus* and its ornamental importance)

Oliveira, J.R.P.<sup>1</sup>, Ferreira, F.R.<sup>2</sup>, Fávero, A.P.<sup>2</sup>

O Brasil é considerado um dos principais centros de diversidade genética do abacaxi, pois todas as suas variedades, tanto as cultivadas quanto as silvestres, podem ser encontradas por todo país. Na produção comercial de frutos de abacaxi (*Ananas comosus*), cerca de 70% da produção mundial provém da cultivar Smooth Cayenne. Devido ao reduzido número de cultivares no mercado é importante a conservação do germoplasma de espécies de abacaxi, visando reduzir a erosão genética e incentivar o uso dos recursos genéticos no melhoramento dessa espécie. A Embrapa Mandioca e Fruticultura e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia vêm desenvolvendo trabalhos de coleta, caracterização, avaliação, multiplicação e conservação do germoplasma de abacaxi em BAGs (Bancos Ativos de Germoplasma) existentes nos dois centros. Com o crescimento no País do mercado de flores e plantas ornamentais, algumas variedades do gênero *Ananas*, sobretudo as da espécie *A. bracteatus*, vêm sendo muito utilizadas para essa finalidade. Este trabalho objetivou descrever esta espécie, com base no material do BAG da Embrapa Cenargen em Brasília, o qual consiste de dez acessos encontrados no campo experimental, visando avaliação para importância ornamental. Embasado no documento denominado "Descritores morfológicos para caracterização e avaliação de abacaxi ornamental", que está sendo desenvolvido por pesquisadores da Embrapa, foram avaliadas algumas características julgadas cruciais para esse tipo de uso do abacaxi. Analisando os resultados obtidos chegou-se a conclusão de que, em termos gerais, as plantas da espécie em questão são bastante vigorosas, apresentam folhas verdes ou com variegação e espinhos grossos. Os frutos são suculentos e possuem um tamanho médio de pouco mais de 10 cm; as brácteas desses frutos são bem vistosas, com coloração vermelha ou cor-de-rosa; possuem pedúnculo com média de tamanho de 15 cm. A presença de antocianina e variegação em algumas folhas é uma importante característica ornamental. A presença de espinhos nas plantas contribui para a utilização de muitos acessos como cerca-viva, aliando essa finalidade à sua beleza exótica.

---

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

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

## 119 - CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DO COQUINHO (*Butia capitata*) (Characterization of *Butia capitata* oil)

Faria, J.P.<sup>1</sup>, Siqueira, E.M.A.<sup>2</sup>, Grimaldi, R.<sup>3</sup>, Barrera-Arellano, D.<sup>3</sup>, Vieira, R. F.<sup>4</sup>, Agostini-Costa, T.S.<sup>5</sup>

O coquinho, *Butia capitata*, é uma palmeira nativa na região do Cerrado. Os frutos suculentos e bastante aromáticos são muito apreciados para o consumo in natura; a polpa congelada é comercializada no Norte de Minas Gerais. O objetivo deste trabalho foi caracterizar as frações lipídicas do coquinho (*Butia capitata*). Os frutos foram adquiridos nos mercados da região de Montes Claros (MG) em novembro de 2005 e conservados por congelamento até o momento da análise. Na polpa foi feita a determinação da umidade por secagem em estufa (gravimetria, segundo AOAC), do extrato etéreo (AOCS), dos carotenóides e do valor pró-vitamina A, após extração, separação e identificação de cada carotenóide específico, segundo Rodriguez-Amaya. Na semente foi feita a determinação da umidade (gravimetria segundo AOAC), do extrato etéreo (AOCS) e da composição dos ésteres metílicos por cromatografia a gás, utilizando coluna capilar DB 23 Agilent 60m. A polpa de coquinho apresentou 85,4% de umidade, 17,5% de lipídeos totais (matéria seca), 2,3-3,2 mg de carotenóides por 100g de polpa e um valor de pró-vitamina A de 347 retinol equivalente por 100g de polpa. A amêndoa do coquinho apresentou 9,9% de umidade e 57,8% de lipídeos totais (matéria seca). A composição de ácidos graxos do óleo da amêndoa foi de ácido caprílico (0,39%); ácido caprílico (7,83%); ácido láurico (42,12%); ácido mirístico (10,52%); ácido palmítico (5,96%); ácido esteárico (5,96%); ácido oléico (16,91%); ácido linoléico (4,16%); ácido araquídico (0,09%) e ácido gadoléico (0,04%), totalizando 78,9% de ácidos graxos saturados e 21,1% de insaturados. A predominância de ácidos graxos saturados, como o ácido láurico, está de acordo com a composição do óleo de outras espécies de Palmae, como o óleo de coco (*Cocos nucifera*), o óleo de babaçu (*Orbignya phalerata*) e o óleo de macaúba (*Acrocomia intumescens*).

Apoio: Programa Biodiversidade Brasil-Itália.

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

<sup>2</sup>Ciências da Saúde, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup>Tecnologia de Alimentos, Ph.D., Universidade de Campinas-Unicamp

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

<sup>5</sup>Ciência de Alimentos, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 120 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA PARCIAL DE ACESSOS DE GERMOPLASMA DE BUCHA VEGETAL (*Luffa* SP.) [Partial morphological characterization of germplasm accessions of luffa sponge (*Luffa* sp.)]

Barrozo, L.V.<sup>1</sup>, Gomes, P.A.<sup>2</sup>, Silva, H.A.<sup>3</sup>, Nascimento, W.M.<sup>4</sup>, Ferreira, M.A.J.F.<sup>5</sup>

A bucha vegetal, da família Cucurbitaceae, é uma planta rasteira provavelmente originária da Ásia e seus frutos, depois de secos, são utilizados na fabricação de esponjas de banho, objetos artesanais e na medicina popular. Este trabalho teve como objetivo caracterizar morfológicamente 16 acessos de germoplasma de bucha coletados no Espírito Santo, Mato Grosso, Tocantins e Bahia e conservados na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Quatro sementes de cada acesso foram plantadas para caracterização, sendo que foi avaliada a porcentagem de germinação; descritores vegetativos (formato da folha [FF], cor das folhas [CF], textura da folha, pilosidade da folha, cor do ramo principal [CR], quantidade de ramificações, cor do pecíolo, pilosidade do pecíolo, quantidade de gavinhas) e reprodutivos (cor da pétala da flor [CL], tamanho da flor, macho fertilidade, proporção de flores femininas/masculinas e expressão sexual). A porcentagem de germinação variou de 0 a 100%, ao passo que em relação ao FF 93% foram pentolobadas e 7% inteiras (*Luffa operculata*). A CF variou de verde intenso (37%) a verde claro (7%), sendo que 100% delas foram ásperas e com pouca pilosidade. A CR foi predominantemente verde intermediário (57%) e verde intenso (40%). A maioria das plantas (70%) apresentou muitas ramificações secundárias. O pecíolo apresentou coloração verde intermediária (47%) e verde claro (53%) e com pouca pilosidade. Cerca de 77% das plantas apresentou muitas gavinhas. Em termos de caracteres das flores, observou-se que: 70% apresentaram CL amarela médio, 20% amarela intenso e 10% amarela claro; 53% apresentaram flores de tamanho médio, 23% pequenas e o mesmo para grandes; apenas uma planta apresentou macho infertilidade; todas as plantas foram monóicas com predominância de flores masculinas. Portanto, verificou-se que os acessos de germoplasma apresentam variabilidade genética para os descritores avaliados. Vale informar que estes acessos estão sendo caracterizados também para descritores de frutos.

---

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

<sup>2</sup>Eng. Agr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista CNPq/DTI-3

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

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

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

## 121 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA PARCIAL DE ACESSOS DE GERMOPLASMA DE *Cucurbita* SP. (Partial morphological characterization of germplasm accessions of *Cucurbita* sp.)

Gomes, P.A.<sup>1</sup>, Barrozo, L.V.<sup>2</sup>, Silva, H.A.<sup>3</sup>, Nascimento, W.M.<sup>4</sup>, Ferreira, M.A.J.F.<sup>5</sup>

O gênero *Cucurbita* apresenta uma alta diversidade genética e é constituído por 15 espécies, sendo as principais cultivadas: *Cucurbita maxima* (moranga), *C. Moschata* (abóbora) e *C. Pepo* (abobrinha). Economicamente, as abóboras são importantes por fazerem parte da alimentação básica das populações de várias regiões do país. Considerando sua diversidade genética no Brasil, foram coletados acessos de germoplasma no Espírito Santo, Mato Grosso, Bahia e Tocantins, que estão conservados na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Este trabalho teve como objetivo caracterizar 12 acessos em relação a descritores vegetativos (cor do ramo principal; formato, lóbulos, pilosidade, cor, brilho, proeminência e pigmentação da veia da folha; pilosidade e cor do pecíolo) e reprodutivos (expressão sexual, macho fertilidade, proporção de flores femininas/masculinas, tamanho da flor, cor da pétala). A definição dos descritores teve como base a relação definida pelo IPGRI para *Cucumis melo* (melão). As avaliações foram realizadas quando as plantas apresentavam o 10º e 11º nó. Em relação às características da folha, observou-se que: 100% dos acessos apresentaram formato inteiro da folha; 58% lóbulos rasos e 42% intermediários; 17% alta pilosidade, 58% pilosidade intermediária e 25% baixa; 42% cor verde intensa, 33% verde médio e 25% verde claro; 25% apresentaram folha brilhosa, 58% intermediária e 17% opaca; 100% apresentaram proeminência e pigmentação da veia; 25% apresentaram alta pilosidade no pecíolo, 67% intermediária e 8% baixa pilosidade; 33% apresentaram cor do pecíolo verde intenso, 50% verde médio e 17% verde claro. A cor do ramo principal variou de amarelo (8%), verde médio (42%) a verde intenso (50%). Todas as plantas foram monóicas com 100% de macho fertilidade e com predominância de flores masculinas. O tamanho das flores variou de pequena (17%) a grande (8%), sendo que 58% apresentaram cor amarela da pétala e 42% amarela média. Em suma, verificou-se que em relação aos descritores avaliados até então, os materiais de fato apresentam variabilidade genética. Estes acessos estão sendo caracterizados também para descritores de frutos.

<sup>1</sup>Eng. Agr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista CNPq/DTI-3

<sup>2</sup>Biologia, graduanda, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB, Bolsista CNPq

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

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

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

## 122 - CONSTRUÇÃO DE UM MAPA DE LIGAÇÃO PARA ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis*, POSSUIDORAS DE GENOMA BB, POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES (Construction of a linkage map for wild species of *Arachis* with BB genome using microsatellite markers)

Silva, R.C.<sup>1</sup>, Luzzi, S.G.<sup>1</sup>, Gouvea, E.G.<sup>2</sup>, Teixeira, C.C.<sup>3</sup>, Guimarães, P.M.<sup>4</sup>, Leal-Bertioli, S.C.M.<sup>5</sup>, Bertioli, D.J.<sup>6</sup>, Moretzsohn, M.C.<sup>7</sup>

O amendoim cultivado, *Arachis hypogaea* L., é uma espécie de grande importância econômica em vários países. É uma espécie alotetraplóide, possuidora de dois genomas (AA e BB), que são encontrados em espécies diplóides silvestres da seção *Arachis*, à qual pertence o amendoim. Várias dessas espécies possuem genes de resistência a fatores bióticos e abióticos, que não são encontrados em *A. hypogaea*. Para a introgressão mais eficiente desses genes no amendoim, são necessários mapas de ligação e o mapeamento dos genes de interesse. O objetivo deste trabalho foi, portanto, a construção de um mapa genético para espécies diplóides de *Arachis* com genoma BB, utilizando marcadores microssatélites, que são ideais para o desenvolvimento de mapas de ligação por serem codominantes, distribuídos por todo o genoma e multialélicos. Dos 575 marcadores testados, 151 (26,3%) mostraram-se polimórficos, sendo analisados em 93 indivíduos da população F2, resultante do cruzamento entre *Arachis ipaënsis* (acesso KG30076) e *Arachis magna* (acesso KG30097). Usando-se um LOD score mínimo de 4, 130 marcadores (87,1%) foram mapeados em 10 grupos de ligação, como esperado, uma vez que *Arachis ipaënsis* e *A. magna* são espécies diplóides com  $2n=20$  cromossomos. Os grupos variaram de 5,56 cM a 216,8 cM, com um comprimento total de 1028,4 cM e uma distância média de 7,9 cM entre marcadores. Cerca de 20% dos marcadores apresentaram distorções da segregação esperada. Novos marcadores estão sendo adicionados, para uma cobertura mais completa do genoma. A construção deste mapa contribuirá para o melhoramento do amendoim. A comparação com um mapa publicado para espécies diplóides de genoma A mostrou que as ordens dos marcadores são mantidas nos dois mapas, validando os marcadores mapeados. Genes de resistência estão sendo mapeados nessas populações, visando à implementação de seleção assistida por marcadores nos programas de melhoramento, o que irá acelerar consideravelmente o processo de introgressão desses genes no amendoim cultivado.

---

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

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

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

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

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

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

<sup>7</sup>Eng. Agr., doutorando, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## 123 - CONSTRUÇÃO DE UM MAPA GENÉTICO DE LIGAÇÃO PARA ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* COM GENOMA AA E SUA SINTENIA COM *Lotus japonicus* E *Medicago truncatula* (Construction of a genetic linkage map for wild species of *Arachis* with AA genome and its synteny with *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula*)

Gouvea, E.G.<sup>1</sup>, Silva, R.C.<sup>2</sup>, Luzzi, S.G.<sup>2</sup>, Guimarães, P.M.<sup>3</sup>, Leal-Bertioli, S.C.M.<sup>4</sup>, Bertioli, D.J.<sup>5</sup>, Moretzsohn, M.C.<sup>6</sup>

O amendoim cultivado (*Arachis hypogaea* L.) é uma leguminosa plantada nos trópicos e possui grande importância por ser rico em proteínas e óleo. É muito susceptível a estresses bióticos e abióticos, para os quais muitas das espécies silvestres são resistentes. Mapas de ligação são importantes no melhoramento de plantas, por possibilitarem o mapeamento de genes de interesse. Os objetivos deste trabalho foram a construção de um mapa de ligação para espécies diplóides de *Arachis* com genoma AA e a análise da sintenia de *Arachis* com leguminosas-modelo. O mapa foi construído usando uma população F<sub>2</sub>, com 93 indivíduos, resultantes do cruzamento entre *A. duranensis* e *A. stenosperma*. A análise de 489 locos microssatélites mostrou que 215 (44,0%) eram polimórficos. Esses marcadores, junto a 83 marcadores âncoras, que são marcadores gênicos, de cópias únicas e transferíveis entre as leguminosas, foram utilizados na construção do mapa. Usando um LOD score mínimo de 11, 66 marcadores âncoras e 182 microssatélites foram mapeados em 10 grupos de ligação. Um comprimento total de 1645 cM foi obtido, com uma distância média de 6,32 cM entre marcadores. Cerca de 136 (54,8%) dos 248 marcadores mapeados provavelmente representam genes, de possível interesse por estarem ligados à qualidade de semente e à resistência a doenças e à seca. Resultados preliminares mostraram que vários grupos de ligação apresentaram marcadores na mesma ordem nos genomas de *Arachis*, *Lotus* e *Medicago*. *A. hypogaea* possui um genoma cerca de dez vezes maior do que o de *Lotus*, cujo genoma está quase totalmente seqüenciado. Portanto, esses marcadores gênicos conservados entre as espécies irão facilitar sobremaneira a identificação de genes ortólogos no amendoim. Além disso, genes de resistência a doenças estão sendo mapeados nessas populações, visando à implementação de seleção assistida por marcadores nos programas de melhoramento para acelerar o processo de introgressão desses genes no amendoim.

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

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

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

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

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

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

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

Lamas, N.S.<sup>1</sup>, Ferreira, M.A.<sup>2</sup>, Junqueira, L.P.<sup>3</sup>, Ohse, B.J.G.<sup>4</sup>, Cerqueira, A.A.<sup>5</sup>, Cano, D.M.<sup>6</sup>, Santin, M.R.<sup>6</sup>, Amaral, Z.P.S.<sup>7</sup>, Buso, G.S.C.<sup>8</sup>

O feijão, *Phaseolus vulgaris*, constitui-se num dos alimentos básicos da população brasileira e é um dos principais fornecedores de proteína, ferro e carboidratos. Contudo, há necessidade de se desenvolver métodos que acelerem a capacidade analítica dos estudos genéticos de feijão. Sequências Simples Repetidas são marcadores genéticos poderosos, pois o conteúdo informativo de um loco SSR é bastante alto por se tratar de seqüências de alta taxa evolutiva. Mesmo em comparações de germoplasma de estreita base genética, detecta-se um alto número de alelos em um loco SSR. No entanto, por se tratar de uma reação PCR específica, somente um loco é analisado de cada vez. É possível maximizar a capacidade multiplex desenvolvendo reações PCR independentes, mas separando os fragmentos amplificados no mesmo gel. Para tanto, deve-se ter um conhecimento prévio da amplitude alélica, o tamanho de cada loco amplificado e o tempo de revelação de cada primer. Esse conhecimento é fundamental para que durante a corrida eletroforética em gel de poliacrilamida os locos não se sobreponham. Foram analisados 99 primers SSR de feijão para a formação de sistemas multiplex multi-carregamento, dos quais 87 foram agrupados em 29 triplexes e 12 primers foram agrupados em 3 tetraplexes, de acordo com o tamanho do loco, tempo de aplicação e revelação de cada primer. Para o sistema multiplex em uma única reação de PCR, um total de 30 primers foi estudado, e foram estabelecidos multiplexes de 01 conjunto de 04 primers, 06 de 03 primers, 03 de 02 primers, restando 02 primers, que por terem suas temperaturas de anelamento distintas não se encaixam em nenhum dos conjuntos pré-estabelecidos. A utilização de sistemas multiplex de marcadores SSR é uma ferramenta de grande importância para os estudos genéticos reduzindo o tempo para a geração de informação e aumentando a praticidade, uma vez que será processado mais do que um primer em um único gel.

Apoio: PRODETAB.

---

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

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

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

<sup>4</sup>Bióloga, mestranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

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

<sup>6</sup>Agronomia, graduando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>7</sup>Assistente de pesquisa, Embrapa Recursos Genéticos e biotecnologia

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

## 125 - DETERMINAÇÃO DE CARATENÓIDES EM COQUINHO (*Butia capitata*) (Carotenoids determination of *Butia capitata* pulp)

Faria, J.P.<sup>1</sup>, Vieira, R.F.<sup>2</sup>, Lima, L.H.C.<sup>3</sup>, Agostini-Costa, T.S.<sup>4</sup>

O coquinho, *Butia capitata*, é uma palmeira nativa na região do Cerrado. Os frutos suculentos e bastante aromáticos são muito apreciados para o consumo in natura; a polpa congelada é comercializada no Norte de Minas Gerais. O objetivo deste trabalho foi identificar e quantificar os carotenóides, compostos precursores de vitamina A e que apresentam atividade antioxidante, presentes no coquinho. Os frutos do coquinho foram adquiridos nos mercados da região de Montes Claros (MG) em outubro de 2004 e conservados por congelamento até o momento da análise. Os carotenóides extraídos em acetona foram saponificados e separados em coluna de óxido magnésio: hyflosupercel 1:2. Os carotenóides foram identificados considerando-se: a) a ordem de eluição na coluna; b) o valor de  $r_f$  em camada delgada de sílica gel; c) o perfil do espectro ultravioleta-visível; d) reações químicas específicas. A quantificação de cada fração foi realizada a partir das respectivas absorbâncias máximas e dos valores das absorvidades tabelados. O valor de vitamina A foi calculado a partir da atividade pró-vitáminica tabelada por Bauemfeind. O beta-caroteno (19  $\mu$ g/g) foi o principal carotenóide identificado, constituindo 58% dos carotenóides totais. Outros carotenóides encontrados em menor concentração foram o fitoeno, o fitoflueno, o alfa-caroteno, o zeta-caroteno, o gama-caroteno, o licopeno e um carotenóide ainda não identificado. A atividade pró-vitamina A, que foi atribuída ao beta-caroteno e ao gama-caroteno encontrados, foi de 347 RE/100g. Em comparação com outras frutas normalmente consumidas, o coquinho pode ser considerado uma fruta com elevado potencial pró-vitamina A.

Apoio: Programa Biodiversidade Brasil-Itália.

---

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

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

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

<sup>4</sup>Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 126 - DETERMINAÇÃO DE MINERAIS E TEOR DE FIBRA DA POLPA E DA SEMENTE DO COQUINHO (*Butia capitata*) (Mineral and dietary fiber determination of *Butia capitata* pulp and seed)

Faria, J.P.<sup>1</sup>, Siqueira, E.M.A.<sup>2</sup>, Almeida, F.<sup>3</sup>, Silva, L.C.R.<sup>4</sup>, Vieira, R.F.<sup>5</sup>, Agostini-Costa, T.S.<sup>6</sup>

O coquinho, *Butia capitata*, palmeira nativa da região do Cerrado, possui os frutos suculentos e muito aromáticos. A polpa congelada é comercializada no Norte de Minas Gerais e os frutos, consumidos in natura. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição mineral e quantificar o teor de fibra da polpa e da semente do coquinho (*Butia capitata*). Os frutos foram adquiridos nos mercados da região de Montes Claros (MG) em novembro de 2005 e conservados por congelamento até o momento da análise. A determinação de fibras detergente neutro (FDN) e detergente ácido (FDA) foi feita pelo método Van Soest e Wine; os minerais foram determinados por espectrometria de emissão por plasma e o teor de nitrogênio total por colorimetria. A polpa de coquinho apresentou 7,5% de fibra detergente neutro, 4,7% de fibra detergente ácido, 0,07% de nitrogênio total e 1,1% de resíduo mineral fixo, sendo fósforo (20mg/100g), potássio (560mg/100g), cálcio (30mg/100g), magnésio (13mg/100g) e enxofre (9mg/100g). Boro, cobre, ferro, manganês, zinco, alumínio e sódio foram encontrados em concentrações menores que 18 ppm. A amêndoa do coquinho apresentou 25% de FDN, 17% de FDA, 1,6% de nitrogênio, e 1,5% de resíduo mineral fixo, sendo fósforo (310mg/100g), potássio (327mg/100g), cálcio (46mg/100g), magnésio (114 mg/100g), enxofre (141 mg/100g). Boro, cobre, ferro, manganês, zinco, alumínio e sódio foram encontrados em concentrações menores que 38 ppm. Com relação ao fruto de outras palmeiras, como o buriti, o dendê, a polpa do coquinho apresenta menor teor de óleo. A polpa apresentou elevados teores de fibra dietética (FDN) e de potássio. A amêndoa apresentou elevados teores de fibra dietética e de fósforo, potássio, magnésio e enxofre.

Apoio: Programa Biodiversidade Brasil-Itália.

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

<sup>2</sup>Ciências da Saúde, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

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

<sup>4</sup>Eng. Florestal, mestrando, Universidade de Brasília-UnB

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

<sup>6</sup>Ciência de Alimentos, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **127 - DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE AS VARIEDADES VERMELHA E BRANCA DA RAÇA OVINA MORADA NOVA POR MEIO DE MARCADORES STRs (Genetic divergence between the varieties red and white of sheep breeds Morada Nova by means of STRs markers)**

Dias, C.<sup>1</sup>, Paiva, S.R.<sup>2</sup>, Faria, D.A.<sup>3</sup>, McManus, C.M.<sup>4</sup>, Silva, F.L.R.<sup>5</sup>, Facó, O.<sup>6</sup>, Villarroel, A.B.S.<sup>7</sup>, Castro, S.T.R.<sup>8</sup>, Egito, A.A.<sup>8</sup>, Albuquerque, M.S.M.<sup>9</sup>, Mariante, A. S.<sup>9</sup>

Os ovinos da raça Morada Nova constituem um dos grupos mais adaptados ao Sertão Nordestino sendo uma importante fonte de carne e pele. Existem atualmente duas variedades desta raça que pode ser vermelha ou branca. Com o intuito de verificar se este polimorfismo está apenas relacionado à cor da pelagem ou se existem diferenças genéticas fixadas entre as duas variedades foram genotipados, por meio de 19 marcadores microssatélites, de modo que 23 representaram a variedade vermelha (MNV), e 25 representaram variedade branca (MNB). As estimativas de variabilidade genética intrapopulacional mostraram que a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), a heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e o número médio de alelos foram, respectivamente de 0,68, 0,64 e 5,74 para a raça MNV e de 0,71, 0,70 e 6,21 para a raça MNB. Apenas a variedade branca se encontra em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p < 0,0199$ ). Em termos qualitativos, foram identificados 19 alelos exclusivos na MNV e 28 alelos para a MNB. A maior variabilidade genética e menor consangüinidade na variedade branca podem ser explicadas pelo maior efetivo populacional do rebanho da UFC em relação ao rebanho da Embrapa Caprinos, de maneira que o rebanho da variedade vermelha está mais susceptível a efeitos estocásticos como deriva genética. Em relação às comparações entre as variedades foi observado um valor de  $F_{ST}$  de 0,0702 ( $P < 0,0001$ ) entre os dois grupos e foi comprovado que as duas variedades diferem estatisticamente, devendo, portanto, ser consideradas unidades de manejo independentes.

Apoio: EMBRAPA, CNPq, UnB.

---

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

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

<sup>3</sup>Zootecnista, doutoranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

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

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Caprinos

<sup>6</sup>Zootecnista, Ph.D., Embrapa Caprinos

<sup>7</sup>Zootecnista, Ph.D., Universidade Federal do Ceará-UFC

<sup>8</sup>Med.Vet., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

## **128 - DIVERSIDADE GENÉTICA DE 23 LOCOS STRs EM CINCO POPULAÇÕES DE OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS (Genetic variation at 23 STRs loci in five Brazilian populations of Santa Inês hair sheep breed)**

Souza, C.A.<sup>1</sup>, Paiva, S.R.<sup>2</sup>, Faria, D.A.<sup>1</sup>, McManus, C.M.<sup>3</sup>, Oliveira, A.A.<sup>4</sup>, Grattapaglia, D.<sup>5</sup>, Castro, S.T.R.<sup>6</sup>, Egito, A.A.<sup>6</sup>, Albuquerque, M.S.M.<sup>7</sup>, Mariante, A. S.<sup>7</sup>

A raça Santa Inês é uma das principais raças naturalizadas de ovinos deslanados no Brasil principalmente por ser altamente adaptada aos mais diversos ecossistemas brasileiros. Como parte de esforços concentrados para aumentar seu potencial produtivo por meio de programas de seleção genética, é imperativo o uso de metodologias avançadas tanto para verificação de pedigrees como para estudos sobre a origem da raça. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo gerar um banco de dados de frequências alélicas para a raça Santa Inês em 23 loci STRs. Os loci genotipados foram INRA23, OARFCB304, MAF214, INRA63, OARHH35, INRA35, OMHC1, ILSTS87, ILSTS05, ILSTS11, MAF65, BM827, OARFCB20, OARCP20, OARAE129, INRA172, HUIJ616, SRCRS05, BM6526, OARCP49, OARFCB11, D5S2 e SPSP113, dos quais 13 estão incluídos no painel de marcadores recomendados pelo ISAG para o teste de comparação de paternidade em ovinos. Foram amostrados 285 animais, pertencentes a cinco populações distribuídas nas regiões Centro-Oeste e Nordeste do Brasil. Os locos tipados apresentaram uma média de 10 alelos por loco, valor de PIC de 0,712 e heterozigiosidade média esperada de 0,745. As probabilidades de exclusão de paternidade cumulativas, com e sem conhecimento prévio de um dos parentais (PE1 e PE2, respectivamente), foram de 0,999999 e 0,999989. Dentre os 23 locos genotipados, 11 não apresentaram desvio significativo do Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $P \leq 0,001$ ), de forma que três das cinco populações estudadas revelaram significativo déficit de heterozigotos ( $P \leq 0,001$ ). O banco de dados apresentado neste trabalho pode ter aplicação direta na verificação de paternidade em registros genealógicos da raça Santa Inês bem como em análises de diversidade e manejo genético de rebanhos.

Apoio: EMBRAPA, CNPq, UnB

—

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

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

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

<sup>4</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Tabuleiros Costeiros

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

<sup>6</sup>Med.Vet., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

## **129 - ESTRUTURA GENÉTICA DE CINCO RAÇAS NATURALIZADAS E COMERCIAIS DE SUÍNOS DO BRASIL (Genetic structure of five Brazilian naturalized and commercial pig breeds)**

Sollero, B.P.<sup>1</sup>, Paiva S.R.<sup>2</sup>, Faria, D.A.<sup>3</sup>, Guimarães, S.E.F.<sup>4</sup>, Egito, A.A.<sup>5</sup>, Albuquerque, M.S.M.<sup>6</sup>, Castro, S.T.R.<sup>5</sup>, Murata, L.S.<sup>7</sup>, Mariante, A.S.<sup>6</sup>

As raças naturalizadas de suínos, consideradas fontes potenciais de novas variantes genéticas, encontram-se em vias de extinção. Este trabalho teve como objetivo verificar a existência de estruturação genética entre populações representantes de três raças naturalizadas (Piau, Monteiro e Moura) e duas comerciais (MS60 e Landrace), a partir de 12 marcadores microssatélites. A Análise Molecular de Variância mostrou que 15,26% ( $P < 0,001$ ) da variação genética existente é em razão de diferenças inter-raciais, principalmente na raça Piau. Os 179 animais amostrados de diferentes regiões foram designados probabilisticamente por meio de inferência Bayesiana, a uma ou mais populações por meio do programa Structure. Seis populações foram sugeridas ( $K=6$ ), de forma que a maior sub-estruturação encontrada foi dentro das raças Piau e Landrace, bem como Piau e Monteiro. Valores de  $F_{st}$  obtido nas análises do software Arlequin confirmaram uma maior distância genética entre as raças Monteiro e Moura (0,2407), enquanto as raças Landrace e MS60 apresentaram-se mais próximas (0,0709). A detecção de sub-estruturação de populações neste estudo, principalmente dentro das raças naturalizadas, irá contribuir para o planejamento de futuros programas de conservação para essa espécie.

Apoio: EMBRAPA, UnB, UFV.

---

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

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

<sup>3</sup>Zootecnista, doutoranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>4</sup>Med. Vet., Ph.D., Universidade Federal de Viçosa-UFV

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

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

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

**130 - ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL DE *Manilkara huberi*- (DUCKE) A.CHEV. (SAPOTACEAE), MAÇARANDUBA, INFERIDA POR ANÁLISES DE cpSSR E SEQÜENCIAMENTO [Population genetic structure of *Manilkara huberi*- (Ducke) A.Chev. (Sapotaceae), maçaranduba, inferred from cpSSR and sequencing analysis]**

Azevedo, V.C.R.<sup>1</sup>, Kanashiro, M.<sup>2</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>3</sup>, Grattapaglia, D.<sup>4</sup>

A maçaranduba, *Manilkara huberi* (Sapotaceae) é uma espécie intensamente explorada pela indústria madeireira devido à alta densidade de sua madeira e atualmente se encontra sob manejo sustentável na Amazônia Brasileira. Nossos estudos em uma floresta primária localizada na FLONA Tapajós, Belterra PA, utilizando marcadores microsatélites do genoma nuclear indicaram que a espécie apresenta elevada diversidade genética, embora apresente endocruzamento significativo ( $f = 0,17$ ). Apresenta ainda um fluxo de pólen a distâncias limitadas (~47m), alta taxa de cruzamento entre parentes (27%) e estruturação espacial, estando os indivíduos aparentados distantes em até 300 metros entre si. Com base nestes resultados e visando confirmar a estrutura genética espacial da espécie e seu padrão de fluxo gênico, este estudo teve como objetivo avaliar a existência de estruturação genética matrilineal desta mesma população de 300 indivíduos adultos distribuídos em 200 ha, com base na análise de nove microsatélites no genoma de cloroplasto (cpSSR), associados ao seqüenciamento de duas regiões intergênicas de cpDNA e uma de ribossomo. Apesar de estudos relatarem a alta taxa de variação destes locos SSR em outras espécies, as análises de quatro cpSSRs não indicaram variação haplotípica dentro da população. O quinto loco analisado, entretanto, apresentou dois alelos por indivíduo indicando que provavelmente está duplicado no genoma plastidial de *M. huberi*, o que será confirmado por seqüenciamento dos dois fragmentos visando detectar SSR em ambos. Um destes alelos apresentou variação dentro da população, gerando no conjunto dos locos, três haplótipos dentro da população. Outros quatro cpSSRs estão sendo analisados, em conjunto com o seqüenciamento de três regiões de DNA citoplasmático. Estas informações genéticas conduzirão a uma definição de programas de manejo adequados para a espécie, que permitam a manutenção de seu potencial evolutivo a longo prazo.

Apoio: DFID/Dendrogene/CAPES.

---

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

<sup>2</sup>Eng. Florestal, Ph.D., Embrapa Amazônia Oriental

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

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



## **131 - ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE 162 LINHAGENS DE MELÃO UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES RAPD (Genetic variability study of 162 melon lines using molecular markers)**

Gontijo, S.L.<sup>1</sup>, Amaral, Z.P.S.<sup>2</sup>, Paiva, W.O.<sup>3</sup>, Buso, J.A.<sup>4</sup>, Buso, G.S.C.<sup>5</sup>

Com o aumento da demanda de produção do melão no mercado internacional, que passou de 1,3 milhões de toneladas em 1997 para cerca de 1,6 milhões em 2002, faz-se necessário o aumento da produção e da qualidade final do produto. Com base na importância econômica do melão, programas de melhoramento genético vêm sendo desenvolvidos para aumentar a eficiência do sistema produtivo. Uma forma eficiente de auxiliar os programas de melhoramento é a análise da variabilidade genética por meio da utilização de marcadores moleculares, pois detectam dissimilaridades entre diferentes acessos em nível de DNA. Um total de 162 linhagens desenvolvidas nos programas de melhoramento da Embrapa Agricultura Tropical e Embrapa Hortaliças foram analisadas por meio de marcadores RAPD visando à indicação do nível de similaridade entre elas. A análise demonstrou haver grande variabilidade genética entre as linhagens e poucos pares de linhagens que se apresentaram com similaridade acima de 0,85. Prevê-se que poderá ser obtido um número elevado de combinações híbridas a partir das linhagens avaliadas, mesmo selecionando-se linhagens com similaridade abaixo de 0,85.

---

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

<sup>2</sup>Assistente de pesquisa, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Agroindústria Tropical

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Hortaliças

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

## 132 - ESTUDO DAS RELAÇÕES GENÉTICAS DE ACESSOS *Anthurium* E *Etilingera* USANDO MARCADORES (Study of the genetic relationship of *Anthurium* and *Etilingera* accessions using molecular markers)

Carvalho, A.A.A.A.<sup>1</sup>, Diniz, B.T.<sup>2</sup>, Oliveira, D.S.<sup>3</sup>, Ferreira, M.A.<sup>4</sup>, Paiva, W.O.<sup>5</sup>, Buso, G.S.C.<sup>6</sup>

Os antúrios são de regiões tropicais e subtropicais nativos da América Central e do Sul. Pertencem à família Araceae e ao gênero *Anthurium*, sendo conhecidas mais de 600 espécies. O antúrio comumente cultivado para flor de corte é da espécie *Anthurium andreanum* Lind., entretanto, outras espécies têm potencial para uso de folhas cortadas ou como planta de vaso. A flor pertencente ao gênero *Etilingera*, popularmente conhecida como bastão do imperador, é originária da Indonésia e assim como os antúrios possui grande potencial ornamental. O agronegócio de plantas ornamentais no Brasil responde por um PIB estimado em US\$ 1,5 bilhões. Promove geração de empregos e é praticado em áreas de agricultura familiar. O Nordeste vem se destacando como grande produtor e exportador de flores tropicais. Visando o incremento do cultivo de antúrio e bastão do imperador nesta região, espécies exóticas e cultivadas foram coletadas em diferentes localidades. Para o melhoramento é necessário confirmar a classificação inicial e a distribuição da variabilidade genética dos acessos. Este trabalho teve por objetivo analisar a diversidade genética de acessos do gênero *Anthurium* e *Etilingera* do banco de germoplasma da Embrapa Agroindústria Tropical por meio de marcadores moleculares. A análise de 132 acessos de antúrio, compreendendo 8 espécies, e 21 acessos de bastão do imperador foi feita com marcadores RAPD. Até o momento foram utilizados 5 primers que possibilitaram a obtenção de 32 marcadores polimórficos. Pode-se verificar que as espécies exóticas de *Anthurium* provavelmente constituem-se em fontes ricas de variabilidade para o melhoramento genético. Foi observado que as diferentes espécies apresentaram bandas bem distintas entre elas o que propiciou o agrupamento dos indivíduos de acordo com as espécies propostas pela classificação com base em descritores morfológicos, no entanto dois acessos classificados inicialmente como *A. lindmanianum*, tiveram perfis de bandas comuns aos acessos classificados como *A. affine*.

---

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

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

<sup>3</sup>Eng. Agr., B.Sc., Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Químico, pesquisador, Embrapa recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., Embrapa Agroindústria Tropical

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

### **133 - ESTUDO DE DIFERENÇAS GENOTÍPICAS ENTRE INDIVÍDUOS DE *Agaricus blazei* BASEADO EM MARCADORES RAPD (Study of genotypic differences between individuals of *Agaricus blazei* based on RAPD markers)**

Marques, J.M.<sup>1</sup>, Urben, A.F.<sup>3</sup>, Buso, G.S.C.<sup>2</sup>

Nos últimos anos, a utilização de cogumelos aumentou consideravelmente, devido ao seu alto valor nutricional e as suas propriedades medicinais. Dentre esses cogumelos encontra-se o *Agaricus blazei* Muril, nativo do Brasil que foi encontrado por um imigrante japonês em 1965 na região de Piedade-SP. A comercialização desse cogumelo apresenta alto poder econômico, o mercado internacional, principalmente Estados Unidos e Japão, absorve grande parte da produção brasileira, mas há necessidade de se produzir muito mais para atender as demandas interna e externa. O objetivo desse trabalho foi analisar diferenças genotípicas entre acessos de *Agaricus blazei* com pequenas diferenças morfológicas. Utilizou-se a técnica de RAPD, eficiente na identificação de variabilidade genética, apresentando baixos custo e mão-de-obra. O DNA foi extraído dos corpos de frutificação seguindo o protocolo CTAB 2%. Analisou-se 4 acessos de fungos (18 indivíduos), sendo 3 de *Agaricus blazei*, cultivados por produtores diferentes e 1 de *Agaricus bisporus*. Foram testados 160 primers, que geraram várias bandas de DNA amplificado. Após análise destas bandas, verificou-se que não houve distinção, entre os acessos de *A. blazei* analisados, capaz de agrupá-los em espécies distintas. Apenas 2,7% dos primers empregados no estudo detectaram polimorfismo dentro da espécie *A. blazei*, no entanto, verificou-se que houve diferenças individuais, não formando grupos de indivíduos similares entre si. Dessa forma, com base nos locos RAPD verificados, geneticamente não há diferenças, em nível de espécie, entre os indivíduos de *A. blazei* analisados; provavelmente as pequenas diferenças morfológicas entre os acessos são justificadas por fatores ambientais.

---

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

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

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

## 134 - IDENTIFICAÇÃO DA RESISTÊNCIA À LAGARTA DE CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*) EM ACESSOS DE ESPÉCIES SILVESTRES DO GÊNERO *Arachis* (Identification of the resistance of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in accessions of wild species of *Arachis*)

Andrade, M.T.<sup>1</sup>, Martins, A.E.<sup>2</sup>, Alves, E.E A.<sup>3</sup>, Silva, P.A. P.<sup>4</sup>, Ramos, V. R.<sup>5</sup>, Custodio, A.R.<sup>6</sup>, Valls, J.F.M.<sup>7</sup>, Fávero, A.P.<sup>8</sup>

*Spodoptera frugiperda* é uma espécie de origem neotropical-subtropical ocorrendo na maior parte do continente americano. A lagarta de 1º instar se alimenta das camadas superficiais da folha e nos estágios mais avançados chega a perfurá-la, diminuindo a taxa fotossintética e a produtividade de grãos. As espécies silvestres do gênero *Arachis* apresentam alto grau de resistência a pragas e doenças da cultura do amendoim. Setenta acessos do gênero foram avaliados com o uso da técnica de folhas destacadas, em condições de laboratório, em que uma folha é acondicionada em placa de Petri, sobre uma camada de algodão e uma de papel de filtro umedecido com água destilada. Foram colocadas sobre a folha, em cada placa, duas lagartas no 1º instar. Acessos de *A. hypogaea* cultivares Tatu e Tatuí, foram utilizados como testemunhas. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com quatro repetições. A avaliação das folhas lesionadas foi feita no 8º dia após o início do bioensaio, quando foi observado o desenvolvimento das lagartas do 1º ao 5º instar, além da aparência da folha. Quinze acessos considerados aparentemente resistentes, quando submetidos às lagartas no 1º instar, foram selecionados para um novo bioensaio, com lagartas no 4º instar. Dentre os 70 acessos avaliados, observou-se diferentes níveis de resistência, sendo que *A. benensis*, da secção *Procumbentes* (acesso K 35005), destacou-se como um dos mais suscetíveis, tendo sido suas repetições totalmente perdidas; enquanto *A. kretschmeri* (V 14555), da mesma secção e *A. glandulifera* (V 13738) e *A. gregoryi* (V 14765), da secção *Arachis*, destacaram-se como os mais tolerantes ao ataque da lagarta. Nas condições deste trabalho, apontamos alguns acessos como promissores para uso no melhoramento do amendoim.

Apoio: Embrapa, CNPq, FAP-DF e GCP.

---

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

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

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

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

<sup>5</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade do Estado de São Paulo-Unesp/Botucatu

<sup>6</sup>Bióloga, doutoranda, Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC

<sup>7</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Bolsista CNPq

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

### **135 - MAPEAMENTO GENÉTICO DE UMA POPULAÇÃO DE *Capsicum annuum* UTILIZANDO MARCADORES DOMINANTES E CO-DOMINANTES (Genetic mapping of a *Capsicum annuum* population using dominants and co-dominants markers)**

Marques, J.M.<sup>1</sup>, Ferreira, M.A.<sup>2</sup>, Moretzsohn, M.C.<sup>3</sup>, Ribeiro, C.S.C.<sup>4</sup>, Buso, G.S.C.<sup>5</sup>

O cultivo de pimentas era uma característica de tribos indígenas brasileiras quando do descobrimento do Brasil. Atualmente o Brasil se destaca como um grande produtor de frutos do gênero *Capsicum*, cerca de 280 mil toneladas por ano. A produção dessa cultura é muito influenciada pela ocorrência de doenças, o que têm dificultado o cultivo de *Capsicum* no Brasil, afetando a qualidade dos seus frutos. Entre elas, destacam-se o mosaico, causado pelo potyvirus Pepper Yellow Mosaic Virus (PepYMV) e a murcha-de-fitófitora, causada pelo fungo *Phytophthora capsici*. Recentemente, o melhoramento genético de plantas está utilizando ferramentas que possibilitam a obtenção de resultados mais rápidos e precisos, dentre elas pode-se citar os mapas genéticos, obtidos por meio de marcadores moleculares co-dominantes e dominantes. Este trabalho objetivou o desenvolvimento de um mapa genético para *Capsicum annuum* utilizando marcadores microssatélites e RAPD. A população utilizada para o mapeamento é composta de 186 indivíduos F2, proveniente do cruzamento intraespecífico de cultivares contrastantes para resistência às referidas doenças. A genotipagem dos indivíduos F2 foi feita com o emprego de marcadores RAPD e microssatélites desenvolvidos no Laboratório de Genética de Plantas/Embrapa – Recursos Genéticos e Biotecnologia. O DNA foi extraído das folhas dos indivíduos parentais, F1 e F2 seguindo o protocolo CTAB 2%. Para amplificação do DNA foram feitas reações de PCR. O DNA amplificado nas reações de PCR foram visualizados em gel de agarose 3,5% com brometo de etídio fotografado sob luz UV e em gel de poliacrilamida 5% corado com nitrato de prata. Vários iniciadores microssatélites e primers de RAPD foram testados para avaliar o polimorfismo entre os parentais do cruzamento. Os que apresentaram polimorfismo foram empregados na construção do mapa por meio do programa Mapmaker, sendo mapeados em 12 grupos de ligação. Esses grupos variaram de 2.8 cM a 234.71 cM, totalizando um comprimento final de 992.535 cM sendo a distância média entre os marcadores de 25.45 cM.

---

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

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

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

<sup>4</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Hortaliças

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

### 136 - RECONSTRUINDO A HISTÓRIA DE CLONES ELITE DE *Eucalyptus* NO BRASIL COM BASE EM SNPS, MICROSSATÉLITES E MORFOMETRIA (Reconstructing the history of elite *Eucalyptus* clones in Brazil based on SNPs, SSR and morphometrics)

Vieira, M.C.<sup>1</sup>, Pádua, J.G.<sup>2</sup>, Missiaggia, A.A.<sup>3</sup>, Grattapaglia, D.<sup>2</sup>

O eucalipto foi introduzido no Brasil no século XIX, no Rio de Janeiro, mas a principal fonte de germoplasma das empresas brasileiras entre as décadas de 70 e 80 encontra-se no Horto de Rio Claro, atual Floresta Estadual Edmundo de Navarro (FEENA). Apesar deste grande sucesso, existem dúvidas quanto à pureza genética das espécies. Acessos de determinadas espécies podem ter sido disseminadas pelo país com identificação equivocada. Neste trabalho, está sendo realizada a investigação da composição genética de clones elite de *Eucalyptus* com o objetivo de reconstruir sua história no Brasil. As abordagens empregadas são: a utilização da metodologia denominada DNA *barcodes* juntamente com polimorfismos autossômicos de base individual (SNP); informação de ancestralidade e técnicas morfométricas. Um total de 10 folhas maduras e sadias de 10 plantas distintas foi coletado e digitalizado, de maneira que entre as bordas das folhas foram gerados 80 índices de dimensão fractal. Tais dados foram submetidos à análise de componentes principais e estes mostraram uma clara distinção entre espécies e espécimes de uma mesma espécie. Amostras de *E. grandis* obtiveram uma grande dispersão, sobrepondo-se ao grupo formado pelas amostras de *E. urophylla*. Este resultado levanta a hipótese da existência de híbridos entre *E. grandis* e *E. urophylla*. Pela análise molecular, foram detectados polimorfismos de base única (SNP) para duas plantas de *E. globulus* e uma região contendo um *indel*, capaz de distinguir *E. pellita* e *E. torelliana*, de um grupo composto de *E. globulus* e *E. urophylla* e, de outro composto por *E. grandis*. Com esses dados, pôde ser observado que essa região do intron do *trnL* apresenta-se bastante variável, capaz de gerar informações para análises taxonômicas, tanto no nível de espécie, quanto em níveis infra-específicos. A união de dados morfométricos e moleculares poderá ser utilizada para estudos taxonômicos e análises de *admixture*, permitindo a realização de inferências sobre a composição híbrida de espécies tidas como puras, além de confirmar a composição genética de híbridos elite.

Apoio: CNPq.

---

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

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

<sup>2</sup>Eng. Florestal, Ph.D., Aracruz Celulose

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

### **137 - RESISTÊNCIA DE ACESSOS DE *Pfaffia glomerata* A *Meloidogyne incognita* (Resistance of *Paffia glomerata* lines to *Meloidogyne incognita*)**

Gomes, A.C.M.M.<sup>1</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>2</sup>, Cioto, P.A.S.<sup>3</sup>, Mattos, J.K.A.<sup>4</sup>

*Pfaffia glomerata*, comumente denominada “ginseng brasileiro”, é uma Amaranthaceae nativa das Américas e África, sendo que o Brasil é o mais importante centro de coleta dessa espécie para fins medicinais, alimentícios e cosméticos. Existem vários problemas fitossanitários que podem prejudicar essa planta. Entre eles, destacam-se os nematóides de galhas, *Meloidogyne* spp, causadores de sérios danos ao sistema radicular, onde estão armazenados os princípios ativos. Acessos de *P. glomerata* foram selecionados, quanto à resistência a *Meloidogyne incognita* raça 1, a partir de coleções de plantas mantidas na Universidade de Brasília (UnB) e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen). As plântulas foram obtidas por mini estaquia a partir da planta mãe, inoculadas com 5.000 ovos quanto tinham aproximadamente 15 cm de comprimento, e mantidas sob condições controladas de temperatura. Noventa dias após a inoculação foram avaliados os sistemas radiculares quanto aos índices de galhas e de massas de ovos, pelo método proposto por (Hartman & Sasser, 1985), e os fatores de reprodução (FR), foram calculados dividindo-se o número total de ovos / planta pelo número de ovos inoculados. Os acessos São Luiz (MA), UFV (MG), Cenargen 1 (DF), Pedra de Guaratiba (RJ), Itabaiana (SE) e Cenargen 2213-6 foram considerados altamente resistentes (FR<1); IAPAR (PR), Cenargen 2216-10 e Cenargen 2216-16, medianamente resistentes (FR= de 1,9 a 2,3); Cenargen 2217-10 e UFC (CE), suscetíveis (FR=10,0) e os acessos (Farmacotécnica, DF e Cenargen 2217-9) altamente suscetíveis (FR >80,0). De acordo com esses resultados, a utilização de acessos resistentes poderá ser uma medida bastante promissora para o controle de *M. incognita*, em cultivos comerciais de *P. glomerata*.

---

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

<sup>2</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Biologia, graduando, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

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

## **138 - SELEÇÃO DE VARIEDADES DE ANANÁS COM POTENCIAL ORNAMENTAL (Selection of varieties of ananas with ornamental potential)**

Oliveira, J.R.P.<sup>1</sup>, Ferreira, F.R.<sup>2</sup>, Fávero, A.P.<sup>2</sup>, Teixeira, J.B.<sup>2</sup>, Cabral, J.R. S.<sup>3</sup>, Souza, F.V.D.<sup>2</sup>, Martins, V. A.<sup>1</sup>

O setor do agronegócio brasileiro envolvendo flores e plantas ornamentais está em ascensão. Segundo Junqueira & Peetz (2006), no ano de 2004, houve uma superação de 21%, nas exportações do mesmo segmento sobre o ano anterior. O abacaxi vem ganhando um crescente destaque entre as plantas tropicais utilizadas como ornamentais, pois muitas de suas espécies apresentam, além da durabilidade, uma beleza única, exótica e exuberante em suas inflorescências e coroas usadas em arranjos florais, além das plantas que podem ser usadas em vasos ou ambientes externos. A coleta, intercâmbio, caracterização, avaliação e conservação de germoplasma de abacaxi, podem indicar genótipos que apresentem potencial para utilização em programas de melhoramento genético, ou ainda que tenham interesse imediato para uso direto por parte dos produtores, já que a entrada contínua de novas variedades é determinante para manter aquecido o interesse desse exigente mercado. Os bancos de germoplasma de abacaxi, mantidos pela Embrapa, visam dar suporte aos programas de melhoramento a fim de se obter variedades para a produção de frutos. Recentemente despertou-se o interesse desses materiais para a produção de plantas ornamentais. Visando atender essa demanda, os materiais dos bancos de germoplasma são caracterizados e avaliados com base em descritores estabelecidos especificamente a fim de descrever germoplasma de abacaxi ornamental. Na coleção mantida na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília, foram selecionados oito acessos que se destacam por suas características ornamentais. São eles: BGA 12, BGA 21, BMTW 1045, FRF 202, FRF 1383, FRF 349, LBB 1443-B e TRICOLOR. Esses acessos foram submetidos à multiplicação rápida através de biorreator de imersão temporária objetivando-se a obtenção de lotes homogêneos para avaliações subseqüentes e hibridações intra e inter-específicas. Dos oito acessos, cinco tiveram alta taxa de multiplicação, sendo que nos três últimos respectivos acessos praticamente não houve multiplicação, e no TRICOLOR, além de não haver multiplicação, houve perda na característica variegada das folhas. As plantas estão em fase de aclimatação na casa de vegetação para em seguida serem levadas ao campo.

---

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

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

<sup>3</sup>Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Mandioca e Fruticultura



# Conservação



### **139 - ANÁLISE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE *Trithrinax brasiliensis* MART. (ARECACEAE) UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES RAPD (Genetic variability in populations of *Trithrinax brasiliensis* Mart. (Arecaceae) using RAPD markers)**

Sujii, P.S.<sup>1</sup>, Alegria, M.R.M.<sup>2</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>3</sup>

*Trithrinax brasiliensis* Mart. (Arecaceae), espécie endêmica da região Sul do Brasil, ocorre de maneira descontínua, em áreas restritas e isoladas e o Conselho Estadual do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul considerou-a em risco de extinção. A palmeira de Buriti, como é conhecida, é utilizada para ornamentação e fabricação de chapéus. A avaliação da variabilidade genética da espécie é um importante parâmetro para definir programas de manejo e de conservação, principalmente para espécies sob forte pressão antrópica. Nestes estudos é necessário o uso de marcadores moleculares, como o RAPD (Random Amplified Polimorphism DNA), que possibilitam analisar espécies das quais não se tem informação genética prévia, sendo uma técnica baseada em PCR, de baixo custo e que permite a análise de um grande número de indivíduos em curto prazo. A técnica RAPD foi utilizada objetivando avaliar a variabilidade genética em populações de *T. brasiliensis* ocorrentes na área do Aproveitamento Hidrelétrico (AHE) de Barra Grande, SC/RS. Para a análise genética, foi extraído DNA de folhas frescas de 47 indivíduos de duas populações. A seleção inicial de primers foi feita utilizando quatro indivíduos, dois de cada população, com 176 primers, dos quais 24 permitiram amplificações na média de 2,4 bandas/primer. A genotipagem dos 47 indivíduos permitiu gerar 58 marcas RAPD, que foram analisadas pelo programa NTSYS 2.1, utilizando o coeficiente DICE pelo método de agrupamento UPGMA. O dendrograma gerado mostrou similaridade de 60%, sem formação de grupos, diferenciando as duas populações. Devido à proximidade entre as populações (5 km), deve ocorrer fluxo gênico entre os indivíduos desta área, indicando ser uma única população remanescente. Os dados de similaridade nos levam a sugerir que uma coleta para conservação de sementes de material vegetal para banco de germoplasma de *T. brasiliensis* deva considerar o maior número possível de indivíduos dentro da população da AHE Barra Grande, no sentido de salvaguardar maior número de alelos da espécie. No entanto, para o desenvolvimento de estratégias de conservação, recomenda-se a realização de estudos utilizando outras técnicas de análise molecular, como a utilização de marcadores moleculares microssatélites, que forneceria resultados mais detalhados para o desenvolvimento de estratégias de conservação e manejo sustentável da espécie.

Apoio: FUNARBE e BAESA.

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

<sup>2</sup>Bióloga, mestranda, Universidade Federal de Lavras-UFLA

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

## 140 - AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DA PLANTAÇÃO TRADICIONAL DE MANDIOCA NA ALDEIA YAWALAPITI (Genetic variability of traditional cassava cultivation in a Yawalapiti indigenous tribes)

Cavalcante, L.L.M.<sup>1</sup>, Freitas, F.O.<sup>2</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>3</sup>

A mandioca - *Manihot esculenta*, Crantz - é a principal fonte de alimento da aldeia Yawalapiti, vivente no Parque Indígena do Xingu (nordeste do Estado do Mato Grosso) e apresenta uma grande variedade de raças locais dentro da aldeia. Analisou-se amostras obtidas na roça de um agricultor daquela aldeia, o qual possui uma distinta forma de manejo da espécie, incluindo o plantio de todos os tipos que possui, agregados, em dois montes, dentro da roça. O RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) é um dos marcadores moleculares indicados em análise genética, pois permite uma análise da variabilidade genética barata e rápida em populações naturais, populações de melhoramento e bancos de germoplasma . O presente estudo tem como objetivo analisar a variabilidade genética das variedades mantidas in vivo na aldeia por meio do marcador molecular RAPD. O material foliar foi coletado de dez indivíduos provenientes da mandioca via semente e de nove raças locais mantidas pelo agricultor, incluindo plantas dos dois montes mencionados. Após a extração e quantificação do DNA de *Manihot esculenta*, as amostras foram amplificadas via PCR, utilizando-se iniciadores RAPDs. A análise do polimorfismo dos marcadores RAPDs revelaram a maior similaridade de 90% entre os indivíduos de propagação vegetativa e 65% entre os indivíduos provenientes de semente. Estes resultados preliminares indicam que ao banco de germoplasma deverá ser enriquecido, porém para uma amostragem representativa, nova coleta foi realizada e as análises estão sendo processadas.

Apoio: Programa Biodiversidade Brasil-Itália.

---

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

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

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

## **141 - CALENDÁRIO SAZONAL KRAHÔ: LEVANTAMENTO PRELIMINAR DA DISPONIBILIDADE DE VARIEDADES AGRÍCOLAS (Krahô season calendar: preliminary survey of agricultural varieties availability)**

Toledo, L.V.<sup>1</sup>, Kraho, F.<sup>2</sup>, Dias, T.A.B.<sup>3</sup>

O povo indígena Krahô, um grupo Timbira da família lingüística Macro - Jê reuni cerca de 2.000 pessoas distribuídas em dezoito aldeias nos municípios de Itacajá e Goiatins, Estado do Tocantins. Adquirem seus recursos alimentares pela caça, coleta de frutos do cerrado, colheita agrícola, bem como através de compras externas, sendo a roça tradicional de coivara um de seus principais alicerces de segurança alimentar. Apesar dos registros e relatos do histórico empobrecimento varietal de suas lavouras, ainda possuem considerável número de variedades agrícolas que estruturam lógicas locais de preferências, gostos e de utilização do ambiente físico. O objetivo do trabalho foi levantar e organizar informações que subsidiem o desenvolvimento de estratégias de introdução e reintrodução de recursos genéticos no território indígena Krahô a fim de fortalecer as estratégias locais de segurança alimentar. Foram realizadas entrevistas semi-estruturadas com agricultor e professor indígena da Aldeia Santa Cruz em junho de 2006 e relacionadas variedades de mandioca, macaxeira, fava, arroz, andu, inhame, milho e batata-doce e suas respectivas épocas de plantio e colheita. Os dados foram organizados em gráficos sendo identificados os meses de menor disponibilidade de variedades aptas para colheita e os quadrimestres críticos, com menor número de variedades. Setembro a dezembro e janeiro a abril foram os períodos com menor número de variedades aptas para colheita. Os dados indicaram setembro como o mês mais crítico, estando disponível para colheita somente quatro variedades (duas de mandioca e duas de macaxeira). As estratégias para fortalecer a segurança alimentar do povo Krahô devem buscar diversificar a alimentação nos períodos críticos através da implementação de ações de introdução de novas variedades alimentares que possam ser colhidas prioritariamente nos meses de setembro a dezembro.

---

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

<sup>2</sup>Professor indígena, aldeia Santa Cruz.

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

**142 - CONSERVAÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DE *Sinningia lineata* (HJELMQ.) CHAUTEMS, RAINHA-DO-ABISMO (GESNERIACEAE) [Conservation and multiplication of *Sinningia lineata* (Hjelmq.) Chautems, (Gesneriaceae)]**

Viana, C.R.B.<sup>1</sup>, Cardoso, L.D.<sup>2</sup>, Medeiros, M.B.<sup>3</sup>, Mendes, R.A.<sup>4</sup>

*Sinningia lineata* é uma das espécies alvo da ação de resgate de germoplasma na flora da área do Aproveitamento Hidrelétrico Barra Grande, (RS/SC). A espécie encontra-se na lista da flora ameaçada de extinção. Esta espécie cresce apoiada ou totalmente verticalizada sobre rochas em despenhadeiros, geralmente em lugares úmidos, daí o seu nome comum. Possui como fonte de reserva uma estrutura chamada túbero, vulgarmente conhecida como batata, de onde, quando necessário, obtém água e nutrientes. O desenvolvimento deste trabalho teve como objetivo conservar o germoplasma desta espécie, já que seria uma das espécies afetadas diretamente pela formação do reservatório hidrelétrico. Sementes de *Sinningia lineata* foram obtidas de plantas coletadas e cultivadas no telado de sombrite da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. As sementes foram semeadas em substrato de Plantmax e após um período de 50 dias teve início a sua germinação. Após 30 dias de germinadas, algumas mudas foram retiradas do substrato e individualizadas em copos descartáveis com uma mistura de Plantmax e terra adubada, na proporção de 1:1. Após a retirada das mudas do local de germinação, pôde-se observar que as sementes continuavam a germinar e que novas mudas eram produzidas, demonstrando uma possível dormência. As mudas obtidas, em um total de 230, estão sendo cultivadas para serem reintegradas ao ambiente de origem.

---

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

<sup>2</sup>Assistente A, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

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

### 143 - CONSERVAÇÃO EX SITU DE *Gossypium mustelinum* L., UMA ESPÉCIE NATIVA BRASILEIRA (*Ex situ* conservation of *Gossypium mustelinum* L., a brazilian native specie)

Bartos, P.M.C.<sup>1</sup>, Wetzel, M.M.V.S.<sup>2</sup>, Pereira Neto, L.G.<sup>3</sup>, Pais, V.O.<sup>4</sup>, Tiburcio, L.M.<sup>4</sup>, Mamão, J.B.<sup>4</sup>

O gênero *Gossypium* (Malvaceae) apresenta ampla distribuição em diversas áreas do mundo. Atualmente, estão identificadas cerca de cinquenta espécies de algodão, distribuídas nos continentes da Ásia, África, Austrália e Américas. No Brasil, ocorre a espécie *Gossypium mustelinum* L. nativa e as espécies naturalizadas de *Gossypium barbadense* L., *Gossypium barbadense* var. *brasiliensis* L. e *Gossypium hirsutum* var. *marie galante* L.. Popularmente conhecido como algodão-bravo, *Gossypium mustelinum* é encontrado na Região Nordeste do Brasil. Populações foram localizadas nas serras secas do semi-árido, especialmente na Serra do Araripe – Crato-CE, na Serra da Formiga – Caicó-RN, na Serra de Tonã – Macururé-BA e nas Serras do município de Caraíba-BA. Por ter sido originariamente encontrado na cidade de Caicó-RN, *Gossypium mustelinum* L. foi inicialmente identificado como *Gossypium caicoense*. Hoje, essa espécie encontra-se em dois pólos muito específicos e concentrados, fazendo com que esteja ameaçada por práticas agrícolas, fatores ambientais e o extrativismo incontrolável. O objetivo deste trabalho visa apresentar a importância da conservação ex situ dessa espécie com risco de extinção. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia possui um banco de germoplasma de sementes de algodão contendo atualmente 47 espécies nativas, naturalizadas e exóticas, conservadas a mais de 26 anos em câmaras com temperatura de -20°C. A coleção de algodão está formada de 2.927 acessos, sendo que 12 acessos são de *Gossypium mustelinum*. Através dos testes de germinação pode-se observar que a média do percentual germinativo dos acessos de *Gossypium*, ao entrar na coleção foi de 66%. Após aproximadamente dez anos de armazenamento foram feitos novos testes de germinação que apresentaram uma média do potencial germinativo de 64% demonstrando manter estável a sua viabilidade. Em comparação com *Gossypium mustelinum* L. que apresentou uma média de 93% de germinação inicial pode-se concluir que a conservação ex situ tem sido eficaz no armazenamento do algodão e que a espécie *Gossypium mustelinum* também será armazenada com sucesso.

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

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

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

<sup>4</sup>Assistente da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**144 - DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA MANUTENÇÃO IN VITRO DE ARNICA - *Lychnophora ericoides* MART. E *L. pinaster* MART. (ASTERACEAE) [Development of protocol for *in vitro* maintenance of *Lychnophora ericoides* Mart. and *L. pinaster* Mart. (Asteraceae)]**

Silva, A.A.<sup>1</sup>, Cardoso, L.D.<sup>2</sup>, Vieira, R.F.<sup>3</sup>, Mendes, R.A.<sup>3</sup>

*Lychnophora ericoides* é uma espécie endêmica na região dos cerrados. Habita principalmente regiões montanhosas com afloramentos rochosos de quartzito ou arenito em Campos Rupestres com altitudes entre 800m a 2000m. A espécie se distribui pelos estados da Bahia, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Distrito Federal. Já a espécie *L. pinaster* é restrita aos campos rupestres de Minas Gerais. A crescente destruição dos ecossistemas através da conversão de paisagens naturais em agricultura e pastagens e do extrativismo predatório tem se constituído na principal ameaça a sua biodiversidade. Segundo dados da Sociedade Brasileira de Botânica, a arnica encontra-se ameaçada de extinção devido ao extrativismo predatório. Torna-se necessário e urgente a obtenção de informações científicas sobre seu comportamento em habitat natural e seus aspectos reprodutivos, visando futuramente a conservação e o manejo racional da espécie. Além de fornecer subsídios para cultivos com fins comerciais para a indústria farmacêutica. O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de germinação *in vitro* de sementes das duas espécies de arnica em diferentes meios de cultivo e estabelecer um protocolo para manutenção das plântulas *in vitro*. A coleta dos frutos de *L. ericoides* foi feita na Fazenda Água Limpa-FAL, UnB e os frutos de *L. pinaster* foram coletados na região de Montes Altos-MG. Por meio de teste densimétrico os aquênios foram separados em cheios e chochos, e posteriormente lavados com hipoclorito 1%. Dos aquênios foram extraídas as sementes, que após o tratamento com hipoclorito 0,5% foram inoculadas nos seguintes meios: ½ WPM e ¼ WPM. Após uma semana, algumas plântulas já apresentavam radículas. O tratamento de desinfestação foi eficiente, pois houve uma taxa de contaminação muito baixa. Desconsiderando-se os tubos contaminados, houve as seguintes taxas de germinação, com bom desenvolvimento da raiz, 45 dias após a inoculação: 85% (½ WPM) e 93% (¼ WPM) para *L. ericoides*; e 83% (½ WPM) e 82% (¼ WPM) para *L. pinaster*. As espécies *L. ericoides* e *L. pinaster* apresentaram potencial germinativo bastante semelhante e por meio da micropropagação podem ser conservadas *in vitro* em banco de germoplasma.

---

<sup>1</sup>Eng. Florestal, graduanda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup>Assistente A, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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



## 145 - FORMAÇÃO DE CALOS EM *Manihot anomala* POHL (EUPHORBIACEAE) (*Manihot anomala* Pohl (Euphorbiaceae) callus formation)

Santos, A.C.V.<sup>1</sup>, Cardoso, L.D.<sup>2</sup>, Mendes, R.A.<sup>3</sup>

*Manihot anomala* é uma das espécies silvestres de mandioca que ocorre no Brasil central, no Paraguai, no norte da Argentina e no sul do Peru. Ela é um arbusto com aproximadamente 3 metros de altura que produz látex quando ferido liberando um ligeiro odor de ácido cianídrico. Ela está incluída no repositório genético da mandioca (*M. esculenta*) com possibilidades de ser utilizada no seu melhoramento genético. O presente trabalho foi desenvolvido com material já in vitro com a finalidade de determinar as melhores concentrações do indutor para a produção de calo. Como explantes foram utilizados: ápices, folhas jovens, nós e entrenós. Eles foram inoculados no meio desenvolvido por Murashige e Skoog e acrescido de 2,4-D (Ácido 2,4 - diclorofenoxiacético). Foram utilizados 4 tratamentos com as seguintes concentrações de 2,4-D: 0,0mg/L; 3,0mg/L; 6,0mg/L e 12,0mg/L. O meio foi distribuído em placas de petri com 5cm de diâmetro e a inoculação realizada com um explante por placa. As placas foram mantidas em câmara com as seguintes características: temperatura de 25±2°C, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de 3000 lux. Todas as placas apresentaram desenvolvimento de calos ao final de 18 dias. Foi constatado que o explante que respondeu melhor a todos os tratamentos foi o ápice, que chegou a triplicar seu tamanho inicial, seguido pelo nó, folha e entrenó. O tratamento que produziu os maiores calos foi o de 6,0mg/L de 2,4-D. Todos os calos produzidos pela indução do 2,4-D se mostraram friáveis, porém, para o tratamento com 0,0mg/L de 2,4-D o calo formado foi de cicatrização.

---

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

<sup>2</sup>Assistente A, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

## 146 - LEVANTAMENTO DE ACESSOS CONSERVADOS EM CÂMARAS DE MÉDIO PRAZO NA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA COLETADOS NAS REGIÕES NORTE, NORDESTE E CENTRO-OESTE DO BRASIL (Survey of germplasm conserved in cold chambers collected during field trips to the North, Northeast and Central West of Brazil in the 1980's)

Bartos, P.M.C.<sup>1</sup>, Bustamante, P.G.<sup>2</sup>, Wetzel, M.M.V.S.<sup>2</sup>, Ferreira, F.R.<sup>2</sup>

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia desde a sua fundação, vem realizando ações de coleta que visam a conservação de germoplasma em longo prazo. Nos anos de 1980 e 1984, foram realizadas duas importantes expedições de coleta que enfatizaram espécies forrageiras, mas que também obtiveram outros produtos. A primeira expedição abrangeu as regiões Norte/Nordeste, no trecho entre Recife/PE e Belém/PA. A segunda expedição abrangeu as regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil, no trecho entre Brasília/DF e Santarém/PA. Os acessos coletados foram então armazenados em câmara de conservação de médio prazo, com a temperatura variando entre 10 e 12°C e umidade relativa do ar em torno de 10%. Parte significativa dos acessos coletados ainda não foi incorporada ao sistema de documentação e conservação de recursos genéticos da Embrapa. O presente trabalho teve por objetivo realizar o levantamento do material coletado naquelas expedições, mas que ainda está mantido em câmaras de médio prazo. Da expedição de 1980, estão conservados 289 acessos, sendo 24 acessos do gênero *Aschynomene*, 14 de *Calopogonium*, 16 de *Centrosema*, 32 de *Desmodium*, 161 de *Stylosanthes* e 41 de *Zornia*. Da expedição de 1984, dos 277 acessos coletados, 27 são do gênero *Aschynomene*, 21 de *Calopogonium*, 29 *Canavalia*, 7 de *Centrosema*, 39 de *Desmodium*, 63 de *Stylosanthes* e 41 de *Zornia*. Esses materiais estão sendo submetidos a testes de germinação e viabilidade, com o objetivo de que possam ser incorporados à Coleção de Base da Embrapa, mantida no Cenargen.

---

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

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

## 147 - MATURAÇÃO FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Sinningia lineata* (HJELMQ.) CHAUTEMS (GESNERIACEAE) [Physiological maturation of *Sinningia lineata* (Hjelmq.) Chautems seeds (Gesneriaceae)]

Viana, C.R.B.<sup>1</sup>, Cardoso, L.D.<sup>2</sup>, Medeiros, M.B.<sup>3</sup>, Mendes, R.A.<sup>4</sup>

A espécie *Sinningia lineata* é uma planta herbácea de até 120cm de altura com alto potencial ornamental. Por crescer em paredões rochosos é popularmente conhecida como “rainha-do-abismo”. Possui uma estrutura chamada túbero, que serve como reserva de água e nutrientes. Suas sementes são extremamente pequenas e sua maturação é pouco conhecida. A germinação de sementes coletadas antes da deiscência do fruto, mas próximo à sua maturação, contribuiu para a compreensão do processo de desenvolvimento fisiológico de suas sementes. Polinizações artificiais foram realizadas em plantas coletadas e mantidas em telado. As sementes obtidas de frutos indeiscêntes foram inoculadas com 25, 30 e 35 dias da polinização. O fruto foi inicialmente imerso em solução de álcool a 92,8° INPM e depois em água destilada com duas gotas de detergente sem enxágüe. A desinfestação do fruto foi feita com sua imersão em solução de hipoclorito de sódio à 2% durante 30 minutos. O enxágüe se deu com água esterilizada (destilada e autoclavada) por 3 vezes em ambiente estéril dentro da câmara de fluxo laminar contínuo. Com o auxílio de bisturi, retirou-se as sementes que foram inoculadas em placas de petri contendo meio MS (Murashige & Skoog) na metade da sua concentração. O tratamento de desinfestação mostrou-se bastante eficiente, já que a taxa de contaminação foi mínima. Foi possível observar que as sementes com 25 e 30 dias de polinização demoraram a germinar (média de 21 dias). Fato que não ocorreu com as sementes com 35 dias de polinização, que germinaram após 8 dias de inoculadas. A porcentagem de germinação in vitro para sementes com 25 dias foi de 14,13%, de 30 dias foi de 49,18% e com 35 dias foi de 85,33%. Isso demonstra que as sementes podem já estar maduras a partir dos 30 dias da polinização.

---

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

<sup>2</sup>Assistente A, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

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

**148 - MICROPROPAGAÇÃO DE *Mammillaria glassii* R.A.FOSTER (CACTACEAE) [*Mammillaria glassii* R.A.Foster (Cactaceae) micropropagation]**

Laurindo, D.R.<sup>1</sup>, Cardoso, L.D.<sup>2</sup>, Mendes, R.A.<sup>3</sup>

A denominação *Mammillaria* vem do termo latino que significa mamilo devido ao aspecto de suas areolas. Este gênero é muito rico no número de espécies e variações morfológicas. Existe cerca de 300 espécies, a maioria originada do México. O gênero possui como característica a planta na forma de um grupo de estruturas esféricas com espinhos originados das areolas distribuídas em toda sua superfície. Seu tamanho varia de 2,5 a 30cm e muitas espécies possuem o crescimento rápido e iniciam o florescimento em uma fase bastante jovem. Suas flores formam um anel no tecido desenvolvido na estação de crescimento anterior. A espécie *M. glassii* possui flores com cor creme pálido e seus frutos passam do verde para a coloração vermelha quando maduros. Os segmentos de suas brotações são facilmente destacados, podendo também ser propagado dessa forma. Sementes de frutos maduros foram postas para germinar in vitro em meio de Murashige & Skoog (MS) na metade de sua concentração. Ocorreu 89% de germinação aos 55 dias da inoculação. Para a obtenção dos explantes, as plântulas desenvolvidas foram divididas transversalmente em 3 a 4 partes medindo aproximadamente 3mm. A inoculação dos explantes foi na posição horizontal, na quantidade de um explante por tubo. Foram usados dois tratamentos com meio MS na metade de sua concentração, vitaminas na concentração total mais 0,4mg/L de ANA e duas concentrações de BAP, 2mg/L e 4mg/L. Os explantes foram incubados em câmara a 25°C de temperatura, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa média de 3000lux. Aos 90 dias de cultivo, para o tratamento com 2mg/L de BAP houve a formação de 0,91 brotação por tubo, enquanto que para a concentração de 4mg/L houve a formação de 1,53 brotação por tubo. A maior concentração de BAP possibilitou um maior aparecimento de brotações. Em alguns casos houve o aumento do tamanho do explante sem contudo haver o aparecimento de brotações.

---

<sup>1</sup>Estudante Nível Médio, Centro de Ensino Médio 10 da Ceilândia

<sup>2</sup>Assistente A, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

## **149 - RENOVAÇÃO DO CONSENTIMENTO PRÉVIO FUNDAMENTADO PARA PESQUISA NO TERRITÓRIO INDÍGENA KRAHÔ (Renovation of based informed approval process for research in Krahô indigenous territory)**

Toledo, L.V.<sup>1</sup>, Dias, T.A.B.<sup>2</sup>, Moreira, L.R.<sup>3</sup>, Bustamante, P.G.<sup>4</sup>

O Brasil como país signatário da Convenção da Diversidade Biológica – CDB vem construindo e aprimorando a legislação nacional relacionada ao acesso ao patrimônio genético e ao conhecimento tradicional associado. Através da Medida Provisória 2186-16/01 e do Decreto 3945/01 relacionado à criação do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGEN uma série de regulamentações vem sendo implementadas relacionadas ao tema. Esta legislação determina, entre outras coisas, 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 junto às comunidades locais ou indígenas, denominado Anuência Prévia Informada, a ser firmado pelas entidades representativas da comunidade. Neste aspecto, a Embrapa apresenta-se como uma instituição proativa quando no início do ano 2000, antes da existência de regulamentação nacional, já havia implementado contrato de pesquisa para acesso a recursos genéticos e ao conhecimento tradicional associado junto ao povo indígena Krahô do Estado do Tocantins. Posteriormente, adequando à legislação nacional, foi construído o primeiro processo de anuência prévia brasileiro, publicado no diário oficial de 13 de setembro de 2004, constituindo a autorização ASPc – PG/CTA 001/2004. Em 2006, buscando renovar esta autorização, foi realizada uma reunião com lideranças de quinze aldeias na sede da Associação União das Aldeias Krahô-Kapèy durante o período de 10 a 12 de agosto. O objetivo deste trabalho foi acompanhar, organizar e relatar este processo. Na reunião, os pesquisadores da Embrapa informaram as atividades já realizadas no território indígena relacionada à coleta de germoplasma e acesso ao conhecimento tradicional associado bem como explicaram a necessidade de renovação da autorização para a continuidade das pesquisas. O diálogo entre as partes foi filmado e fotografado, culminando a reunião com a assinatura pelo líder da Associação Kapèy e pelos caciques (pahis) das aldeias, da ata de reunião e do termo de renovação de anuência que constituíram processo a ser encaminhado ao Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGEN.

---

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

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

<sup>3</sup>Geógrafa, M.Sc., Embrapa Cerrado

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

## 150 - RESPOSTAS DE SEMENTES DE FLORESTA ESTACIONAL DECIDUAL AO CONGELAMENTO EM TEMPERATURAS SUBZERO (–20 e –196°C) (Seed from dry forest responses to exposure at –20°C and –96°C)

Lima, V.V.F.<sup>1</sup>, Salomão, A.N.<sup>2</sup>, Vieira, D.L.M.<sup>3</sup>, Mundin, R.C.<sup>4</sup>, Sevilha, A.C.<sup>5</sup>

A conservação de sementes em bancos de germoplasma a temperaturas abaixo de zero tem-se mostrado importante método para conservação da diversidade biológica *ex situ*. Localizado em Goiás e Tocantins, o Vale do Rio Paranã possui um dos principais enclaves de Floresta Estacional Decidual do Brasil. Devido ao alto valor madeireiro de suas espécies, esta região foi reduzida a fragmentos florestais, constantemente ameaçados pela ação humana, resultando em consideráveis perdas de recursos genéticos. Visando determinar melhores condições para o armazenamento de sementes a longo prazo, este trabalho buscou estudar a tolerância de sementes de árvores de Floresta Estacional Decidual ao armazenamento a –20°C e –196°C. O estudo foi realizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, com sementes de 18 espécies arbóreas pertencentes a 11 famílias botânicas. As sementes apresentaram uma média de germinação inicial de 84,5%. Após o período de armazenamento à –20°C e –196°C, a média de germinação foi de 79,6% e 85,8%, respectivamente. Sementes de *Acacia poliphylla* (Mimosaceae), *Amburana cearensis* (Fabaceae), *Anadenanthera colubrina* (Mimosaceae), *Astronium fraxinifolium* (Anacardiaceae), *Cavanillesia arborea* (Bombacaceae), *Cedrela fissilis* (Meliaceae), *Copaifera langsdorffii* (Caesalpiniaceae), *Cordia trichotoma* (Boraginaceae), *Enterolobium contortisiliquum* (Mimosaceae), *Jacaranda brasiliiana* (Bignoniaceae), *Lonchocarpus montanus* (Fabaceae), *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae), *Schinopsis brasiliensis* (Anacardiaceae), *Sterculia striata* (Sterculiaceae) e *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae) responderam de forma positiva para ambos os tratamentos. Para sementes de *Aspidosperma pyrifolium* (Apocynaceae) a germinação final em –196°C (43%) foi menor que o controle e –20°C (90%) (Teste de Tukey). Sementes de *Tabebuia impetiginosa* (Bignoniaceae) tiveram a germinação em –20°C (70%) menor que o controle (90%) e –196°C (90%). Para *Hymenaea courbaril* (Caesalpiniaceae) a germinação em –20°C (45%) foi maior que o tratamento a –196°C (10%). Os resultados indicam que as espécies estudadas resistiram às temperaturas de –20°C e/ou –196°C, podendo ser armazenadas em tais condições, para sua conservação a longo prazo, como forma complementar à conservação *in situ*.

Apoio: FMNA/EMBRAPA

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

<sup>2</sup>Eng. Florestal, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

<sup>4</sup>Assistente de Operação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

**151 - TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DA COLEÇÃO INTERNACIONAL DE INVERNO DE CEVADA (*Hordeum vulgare* L.) ARMAZENADA NA COLBASE (Tetrazolium test in long term seeds stored of the winter barley international collection)**

Carvalho, R.S.<sup>1</sup>, Goedert, C.O.<sup>2</sup>

A cevada (*Hordeum vulgare* L.) é um cereal de inverno pertencente à família das gramíneas. Representa a quinta maior colheita e uma das principais fontes de alimento para pessoas e animais. No Brasil a produção de cevada esta concentrada na Região Sul ocupando uma área de aproximadamente 144 mil hectares. Suas flores são dispostas em espigas na extremidade do colmo e as sementes são amareladas e ovóides, as quais fornecem uma farinha alimentícia, que é utilizada na fabricação da cerveja. Os grãos torrados e moídos são usados na fabricação de café natural sem cafeína. Devido a sua grande importância sócio-econômica a cevada é conservada objetivando o aumento e uso de sua variabilidade genética. Na Coleção de Base (COLBASE) do Cenargen está armazenada desde 1979, uma duplicata da coleção internacional de cevada, totalizando cerca de 19.000 acessos constituídos de material de inverno e de primavera. O germoplasma é mantido na forma de sementes, em câmaras frias (– 20° C), localizada na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia por aproximadamente 20 anos. A coleção de inverno conta com um acervo de aproximadamente 6.000 acessos, os quais apresentam uma grande diversificação no que tange a quantidade de sementes por acesso, variando desde zero semente a duas mil. Com objetivo de verificar a condição de sobrevivência dessa coleção, selecionou-se 141 acessos com número de sementes variando de zero a 100 sementes e realizou-se o teste de germinação e teste de tetrazólio. Nestes 141 acessos observou-se que, 61% estavam com sementes vivas e 39% mortas. Conclui-se que, a cevada por ser uma espécie portadora de sementes ortodoxas, conserva sua viabilidade por longos anos, quando desidratadas e armazenadas em condições controladas de temperatura. Os acessos com sementes mortas sugerem que os mesmos ao serem armazenados, já estavam com índices muito baixos de germinação.

---

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

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

**152 - VARIABILIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE PINHEIRO-BRAVO (*Podocarpus lambertii*) NA AHE BARRA GRANDE, UTILIZANDO-SE MARCADOR RAPD (Genetic variability in populations of *Podocarpus lambertii* in a hydroelectric project area (Barra Grande), using RAPD markers)**

Alegria, M.R.M.<sup>1</sup>, Sujii, P.S.<sup>2</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>3</sup>

*Podocarpus lambertii* Klotz (Podocarpaceae) é considerada espécie em risco de extinção, dependendo do local ou da população. Segundo a lista da IUCN red list 2006 (The World Conservation Union), apresenta uma distribuição natural formando um grupo de coníferas característico do Sul do Brasil. A espécie é utilizada em ornamentação, na recuperação de áreas degradadas, na confecção de palitos de fósforos, compensados, lápis e brinquedos. O componente genético é o fator responsável pelas diferenças em produtividade, adaptação e reprodução entre indivíduos de uma espécie nativa sob pressão antrópica e/ou com alto potencial econômico e ecológico. Desta forma, estudos de variabilidade genética são fundamentais na definição de estratégias de conservação e manejo. Nestes estudos, faz-se necessário o uso de marcadores moleculares, como o RAPD (Random Amplified Polimorphism DNA) que possibilita analisar espécies sem informação genética prévia de forma rápida e a baixo custo, em relação a outros marcadores. Neste trabalho, foi utilizada a técnica RAPD com o objetivo de avaliar a variabilidade genética em populações de *P. lambertii* ocorrentes na área de Aproveitamento Hidroelétrico de Barra Grande (AHE), SC/RS. Para a análise genética, foi extraído DNA de folhas frescas de 94 indivíduos de quatro populações. Uma seleção inicial de primers foi feita utilizando 4 indivíduos, um de cada população, com 115 primers, dos quais 19 permitiram ampliações na média de 3,8 bandas/primer. A genotipagem dos 94 indivíduos permitiu gerar 74 marcas RAPD, as quais foram analisadas pelo programa NTSYS 2.1, utilizando o coeficiente DICE pelo método de agrupamento UPGMA. O dendrograma gerado mostrou similaridade de 64% entre os indivíduos sem formação de grupos, indicando baixa variabilidade genética entre as populações. A análise AMOVA mostrou que a maior variabilidade genética ocorreu dentro das populações (92,45%  $P < 0,001$ ). Os dados de similaridade e AMOVA nos levam a concluir que uma coleta para conservação de sementes de material vegetal para banco de germoplasma de *P. lamibertii* deve considerar o maior número possível de indivíduos dentro da população da AHE Barra Grande, de maneira a representar o máximo da variação genética existente.

Apoio: FUNARBE e BAESA.

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda, Universidade Federal de Lavras-UFLA

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

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



**153 - VARIABILIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE XAXIM (*Dicksonia sellowiana*) NA AHE BARRA GRANDE, UTILIZANDO-SE MARCADOR RAPD (Genetic variability in populations of treefern (*Dicksonia sellowiana*) in a hydroelectric project area (Barra Grande), using RAPD marker)**

Alegria, M.R.M.<sup>1</sup>, Póvoa, J.S.R.<sup>2</sup>, Ciampi, A.Y.<sup>3</sup>

A extração irracional dos xaxins (*Dicksonia sellowiana* Hook.) para fins industriais e o desmatamento têm levado a espécie a ser caracterizada como em perigo de extinção. Estudos em nível genético-populacional são de suma importância para a definição de programas de manejo e conservação de espécies, principalmente para aquelas sob forte pressão antrópica e/ou com alto potencial econômico e ecológico. Nestes estudos, faz-se necessário o uso de marcadores moleculares, como o RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) que possibilita analisar espécies que não se tem informação genética prévia, sendo uma técnica baseada em PCR, de baixo custo e que permite a análise de um grande número de indivíduos em curto prazo. Neste trabalho foi utilizado RAPD com o objetivo de avaliar a variabilidade genética em quatro populações de *D. sellowiana* ocorrentes na área de Aproveitamento Hidroelétrico (AHE) de Barra Grande, SC/RS, totalizando 96 indivíduos. A extração de DNA seguiu o protocolo CTAB 2%. Para seleção dos primers foram feitas reações de amplificação com 4 indivíduos, sendo um de cada população, utilizando-se 107 primers. Destes, 10 foram selecionados para uma análise preliminar dos 96 indivíduos. Foram geradas 52 marcadores RAPD polimórficos os quais foram analisados pelo programa NTSYS 2.1, utilizando o coeficiente DICE pelo método de agrupamento UPGMA. O dendrograma para os indivíduos mostrou similaridade de 65% não havendo formação de grupos, indicando baixa variabilidade genética nas populações. Para as populações houve indícios de agrupamento entre os indivíduos das populações 2 e 3. O teste de correlação entre matrizes de similaridade indicou haver correlação significativa para ambos dendrogramas das populações ( $r = 0,89$ ,  $p = 0,087$ ) e gráfico de dispersão ( $r = 0,99$ ,  $p = 0,038$ ). Contudo, apesar de os resultados indicarem ser o gráfico de dispersão mais eficiente em mostrar a distribuição da variação genética entre as populações amostradas, somente a análise com mais marcadores permitirá avaliar a real condição das populações de xaxim estudadas. Assim, espera-se poder indicar áreas prioritárias dentro da AHE Barra Grande para coleta de material vegetal para banco de germoplasma da espécie.

Apoio: FUNARBE e BAESA.

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda, Universidade Federal de Lavras-UFLA

<sup>2</sup>Agrônoma, doutoranda, Universidade Federal de Lavras-UFLA

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



# **SEGURANÇA BIOLÓGICA**



## 154 - ANÁLISE DE RISCO DE PRAGAS E RASTREABILIDADE FITOSSANITÁRIA PARA A CULTURA DA MAÇÃ (Pest risk analysis and traceability to apple culture)

Silva, S.F.<sup>1</sup>, Gonçalves, G.C.P.C.<sup>2</sup>, Santos, A.C.A.<sup>3</sup>, Cruz, K.R.R.<sup>3</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>4</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>5</sup>

O Brasil em relação à produção de frutas é o terceiro maior do mundo, atrás apenas da China e Índia. A maçã é uma fruta de clima temperado com ótimo mercado nacional e internacional. O cultivo de maçã no país é recente datando da década de 1970, estando concentrado na Região Sul e Sudeste. O Sistema de Produção Integrada de Frutas (PIF) adotado em países da Comunidade Européia e na América do Sul é referência na exportação dessa *commodity*. No Brasil, a melhoria de processos por meio da rastreabilidade fitossanitária foi implantada no setor de frutas a partir de 1996 e é realizada pelo registro e controle de todas as etapas do processo de produção, garantindo melhor qualidade e competitividade desse produto. Objetivando contribuir com esse processo uma análise de risco de pragas foi realizada para *Malus pumila*. Neste trabalho foram identificados e alistados os insetos-praga dessa cultura. Os dados foram levantados por meio de buscas bibliográficas nas bases de dados do Portal periódicos CAPES e *sites* especializados da Internet, a fim de que uma planilha fosse construída apresentando os aspectos taxonômicos, as plantas hospedeiras relacionadas com a distribuição geográfica, a via de ingresso, a presença ou ausência no Brasil e os registros de intercepções pelo mundo. Vinte e sete pragas foram alistadas, sendo 6 presentes e 21 exóticas para o país e que se introduzidas podem vir a causar sérios prejuízos à cultura. Considerando que a comercialização de maçã com selos de Produção Integrada iniciou-se em 2003 e já em 2004, as exportações cresceram 100% em volume e 91,5% em valor, em conseqüência da melhoria de qualidade e competitividade nos mercados. É importante elaborar planos de contingência para as pragas de maior risco, para que o país mantenha sua posição nesse mercado.

---

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

<sup>2</sup>Bióloga, B.Sc., Fund. de Apoio à Pesq. e ao Agronegócio Brasileiro-FAGRO

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

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

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

## 155 - BANCO DE DADOS DE ÁCAROS ASSOCIADOS A *COMMODITIES* DE IMPORTÂNCIA PARA O AGRONEGÓCIO BRASILEIRO (Database of mites associated with commodities of importance to the Brazilian agrobusiness)

Reis, M.T.<sup>1</sup>, Navia, D.<sup>2</sup>

Organismos associados a *commodities* podem representar pragas potenciais, colocando em risco sistemas agrícolas e ambientes naturais dos países importadores. Entre estas pragas potenciais estão os ácaros fitófagos. As restrições fitossanitárias aplicadas no comércio internacional de *commodities* são dinâmicas e devem ser embasados em dados de literatura. A interceptação de pragas é facilitada quando se dispõe de informações atualizadas sobre os organismos que podem acompanhar as *commodities*. Como atividade da Rede de Pesquisa em Sanidade Vegetal, Embrapa, estruturou-se um banco de dados de ácaros fitófagos associados a frutíferas (banana, maçã, melão, pêssego, mamão, manga e uva) e ornamentais (rosa, gébera e crisântemo) importantes nas pautas de importação e/ou exportação do Brasil, consultando-se catálogos, livros, trabalhos técnico-científicos e bases de dados (CAB, BIOSIS). Foram incluídas informações sobre a distribuição das espécies. Para a cultura da banana foram listadas 40 espécies (3 Eriophyoidea, 3 Tenuipalpidae e 34 Tetranychidae), sendo 20 não relatadas no país; para a maçã 63 espécies (16 Eriophyoidea, 6 Tenuipalpidae e 41 Tetranychidae), sendo 48 não relatadas no país; para o melão 14 espécies (2 Tenuipalpidae e 12 Tetranychidae), sendo 5 não relatadas no país; para o pêssego 52 espécies (8 Eriophyoidea, 7 Tenuipalpidae e 37 Tetranychidae) sendo 36 não relatadas no país; para o mamão 39 espécies (4 Eriophyoidea, 3 Tenuipalpidae e 32 Tetranychidae) sendo 20 não relatadas no país; para a manga 38 espécies (21 Eriophyoidea, 2 Tenuipalpidae e 15 Tetranychidae) sendo 20 não relatadas no país; para a uva 55 espécies (12 Eriophyoidea, 1 Tarsonemidae, 1 Tenuipalpidae e 41 Tetranychidae) sendo 37 não relatadas no país; para a rosa 76 espécies (19 Eriophyoidea, 7 Tenuipalpidae e 50 Tetranychidae), sendo 52 não relatadas no país; para gébera 6 espécies (1 Eriophyoidea, 1 Tenuipalpidae e 4 Tetranychidae) sendo 2 não relatadas no país e para o crisântemo 22 espécies (2 Eriophyoidea, 4 Tenuipalpidae e 16 Tetranychidae) sendo 18 não relatadas no país. Este banco de dados será disponibilizado no site da Embrapa Cenargen ([www.cenargen.embrapa.br](http://www.cenargen.embrapa.br)). Os resultados evidenciam que há um grande número de ácaros-praga potenciais que podem ser introduzidos no país através do comércio internacional.

---

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

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

## 156 - BANCO DE DADOS DE INSETOS-PRAGAS (Insects-pests database)

Santos, A.C.A.<sup>1</sup>, Gonçalves, G.C.P.C.<sup>2</sup>, Silva, S.F.<sup>3</sup>, Cruz, K.R.R.<sup>4</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>5</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>6</sup>

O Projeto em Rede de Sanidade Vegetal que vem sendo desenvolvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) foi elaborado para atender às demandas em sanidade vegetal de algumas *commodities* do agronegócio brasileiro e desenhar um modelo organizacional fitossanitário em rede de pesquisa de auxílio ao mercado agrícola brasileiro. Um banco de dados denominado Área de Intercâmbio de Quarentena Cenargen (AIQCEN) foi criado e está sendo alimentado com informações sobre diversas espécies de insetos-praga que atacam várias culturas de expressão econômica para o país. No banco de dados, informações foram inseridas relativas à taxonomia, distribuição geográfica, plantas hospedeiras, via de ingresso, registros de intercepções no mundo e presença ou ausência no Brasil. Esse banco de dados tem como objetivo facilitar as consultas bibliográficas sobre insetos e contribuir para a elaboração de planos de contingência, Análise de Risco de Pragas, construção de modelos fitossanitários, subsídios para a elaboração de políticas públicas. Um número superior a 400 insetos-praga foram cadastrados no banco de dados AIQCEN, sendo que destes 36 estão associadas com a cultura do cravo (*Dianthus caryophyllus*), 35 com espécies de bonsai, 17 com a gérbera (*Gerbera jamesonii*), 98 com a manga (*Mangifera indica*), 91 com a uva (*Vitis vinifera*) e 130 com a mosca-branca. Muitos destes insetos estão presentes no Brasil, mas alguns são exóticos e se vierem a ser introduzidos no país poderão causar danos às culturas de frutíferas e ornamentais de expressão econômica para o Brasil. Com a formação do banco de dados algumas pragas podem ser eliminadas ou reduzir a sua população por meio de medidas fitossanitárias.

---

<sup>1</sup>Bióloga, B.Sc., Fund. de Apoio à Pesq. e ao Agronegócio Brasileiro-FAGRO

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

<sup>3</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

<sup>4</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>5</sup>Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

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

## **157 - BANCO DE DADOS DOS FUNGOS NÃO RELATADOS NO BRASIL EM ESSÊNCIAS FLORESTAIS (Database of fungi not related to forestry in Brazil)**

Ribeiro, F.N.<sup>1</sup>, Simões, L.G.<sup>2</sup>, Santos, C.E.N.<sup>3</sup>, Auer, C.G.<sup>4</sup>, Melo, L.A.M.P.<sup>5</sup>, Mendes, M.A.S.<sup>6</sup>

Para minimizar os riscos da introdução de doenças de importância quarentenária em produtos florestais no país, faz-se necessário a aplicação de normas legislativas e procedimentos fitossanitários preestabelecidos a serem implementados em germoplasma vegetal intercambiados. Com o objetivo de auxiliar na detecção e identificação dos patógenos não relatados no país em essências florestais, está sendo realizado na Estação Quarentenária Nível 1 (EQV) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, o levantamento bibliográfico para atualização dos fungos em essências florestais. O trabalho consta da consulta de informações publicadas em literatura científica nacional e internacional. Esses dados estão sendo armazenados eletronicamente em um banco onde estão incluídos a posição taxonômica do fungo, descrições sobre os sintomas, importância econômica, distribuição geográfica, forma de transmissão, métodos de detecção e referência bibliográfica. Durante o período de julho de 2005 a setembro de 2006 foram descritos 455 fungos fitopatogênicos não relatados no país em 360 hospedeiros florestais. Os resultados finais deverão ser publicados possivelmente, em março de 2007 em formato digital (Compact Disc).

---

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

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

<sup>3</sup>Eng. Florestal, M.Sc., Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup>Eng. Florestal, Ph.D., Embrapa Florestas

<sup>5</sup>Analista de Sistemas, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup>Eng. Agr., M. Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



## **158 - BANCO DE IMAGENS COMO SUPORTE À IDENTIFICAÇÃO DE ÁCAROS DE EXPRESSÃO ECONÔMICA E QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (Image database as a support for identification of economic and quarantine expression mites in Brazil)**

Souza, A.P.D.B.<sup>1</sup>, Rissoli, V.R.<sup>2</sup>, Passos, A.P.<sup>3</sup>, Navia, D.<sup>4</sup>

A introdução de organismos potencialmente nocivos em sistemas produtivos pode ter conseqüências sócio-econômicas e ambientais desastrosas. O fortalecimento do sistema de sanidade vegetal é vital para o sucesso do agronegócio brasileiro. A acurada identificação de organismos associados a material vegetal importado ou recém-introduzido no país é fundamental para a adoção de medidas fitossanitárias apropriadas. Este projeto tem como objetivo estruturar um banco de imagens de características morfológicas de ácaros de expressão econômica e quarentenária, pertencentes às famílias Acaridae, Eriophyoidea, Tarsonemidae e Tetranychidae. Este banco de dados está sendo estruturado utilizando espécimes depositados na Coleção de Ácaros de Referência do Laboratório de Quarentena Vegetal, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e interceptados em material de importação, exportação e trânsito interno. As imagens estão sendo tomadas utilizando um sistema composto por um microscópio de contraste de fase, conectado a uma câmera filmadora digital (OLY 200) e gravadas, processadas em um computador por meio do programa Power VCR II (Cyberlink). Algumas destas imagens necessitam de ajustes, que estão sendo realizados utilizando-se o programa Adobe Photoshop, o qual auxilia na confecção de imagens mais nítidas. As informações registradas na base de dados sobre o arquivo original da imagem capturada e catalogada no banco de dados são: estágio de desenvolvimento do espécime, sexo, posição relativa do organismo na imagem, data da captura da imagem, estrutura focalizada, aumento, formato do arquivo e dados de coleta do espécime (hospedeiro local e coletor). Em média são tomadas 15 imagens por espécie, procurando mostrar os aspectos taxonômicos relevantes para cada espécie, possibilitando sua identificação por um especialista, por exemplo, setas, estrias do tegumento, ornamentação de escudos e estruturas dos apêndices. Já foram capturadas cerca de 2.000 imagens de 75 espécies, sendo estas imagens armazenadas em um banco de dados objeto-relacional que possibilitará a manipulação ágil e segura de todos estes dados, independente destes serem dados informativos ou imagens.

---

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

<sup>2</sup>Ciência da Computação, doutorando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>3</sup>Ciência da Computação, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

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

## 159 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO ÁCARO *Brevipalpus chilensis* BAKER, ESPÉCIE QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (Molecular characterization of the mite *Brevipalpus chilensis* Baker, a quarantine species to Brazil)

Calvoso-Miranda, L.<sup>1</sup>, Monnerat, R.G.<sup>2</sup>, Navajas, M.<sup>3</sup>, Rodrigues, J.C.V.<sup>4</sup>, Navia, D.<sup>2</sup>

O fortalecimento do sistema de defesa fitossanitária do país é fundamental para garantir a competitividade dos produtos agrícolas nacionais. Restrições a exportações e importações de produtos de origem vegetal podem ser impostas devido à presença de pragas quarentenárias nos países. Diversas espécies do gênero *Brevipalpus* Donnadieu são pragas agrícolas, transmitindo importantes fitovirose. No Brasil, ocorrem algumas espécies de importância econômica, como *B. phoenicis*, *B. obovatus* e *B. californicus*. Entretanto, outras espécies desse gênero são quarentenárias para o Brasil e representam risco para culturas de relevância para o agronegócio nacional. Entre as espécies quarentenárias, está *B. chilensis*, praga de frutíferas no Chile (videiras, citros e kiwi). *B. chilensis* é morfologicamente muito próximo a *B. obovatus*, distinguindo-se unicamente pela ornamentação do propodosoma. O desenvolvimento de técnicas de diagnose molecular possibilitará uma rápida e acurada identificação de espécies destes ácaros, facilitando a interceptação ou desembaraço de produtos vegetais em trânsito. O primeiro passo para definição de primers específicos para *B. chilensis* é o sequenciamento de regiões do genoma e realização de análises filogenéticas, posicionando-o no grupo. Neste trabalho a região "Citochrome Oxidase I" (COI) do mt DNA de 14 populações de cinco hospedeiros, do Chile foi sequenciada e comparada com a de 21 populações de *B. phoenicis* e duas de *B. obovatus*, do Brasil, EUA e Honduras. Foi realizada extração de DNA de indivíduos isolados. A amplificação da região COI foi realizada através da técnica de PCR, utilizando-se 2µl de DNA e 25µl de volume final. O sequenciamento foi realizado diretamente. As análises filogenéticas foram conduzidas utilizando-se o programa MEGA (Borland Delphi). As análises filogenéticas evidenciam a formação de dois grupos principais, um com todas as populações de *B. phoenicis* e o outro com todas as de *B. chilensis* e *B. obovatus*. As populações de *B. chilensis* foram agrupadas e separadas das de *B. obovatus*, as quais, por sua vez, também permaneceram agrupadas entre si. Estes resultados preliminares indicam a independência desses dois táxons, apoiando a atual classificação taxonômica, esclarecendo a filogenia das espécies e respondendo ao questionamento de especialistas que sugeriam a sinonímia das mesmas. Estas seqüências serão utilizadas para o desenho de primers específicos.

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

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

<sup>3</sup>Bióloga, Ph.D., Centre de Biologie et Gestion des Populations

<sup>4</sup>Eng. Agr., Ph.D., University of Puerto Rico

## **160 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES ESPECÍFICOS PARA A DETECÇÃO DE BIÓTIPOS DE *Bemisia tabaci* (Molecular characterization and development of specific markers for detection of biotypes of *Bemisia tabaci*)**

Queiroz, P.R.<sup>1</sup>, Guimarães, M.N.K.<sup>2</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>3</sup>, Lima, L.H.C.<sup>3</sup>

A mosca branca (*Bemisia tabaci*) foi descrita pela primeira vez, em 1889, por Gennadius. A importância agrícola de *B. tabaci* vem do fato de que esta espécie é atualmente uma das pragas de maior expressão econômica para a agricultura mundial e muitas das epidemias relatadas têm sido identificadas como causadas pelo biótipo B, que já se encontra em todos os continentes. O conhecimento da diferenciação genética de *B. tabaci* no Brasil, envolvendo populações de diferentes plantas hospedeiras e regiões geográficas, como também, a ocorrência de variações genéticas dentro de populações, terão implicações importantes para as estratégias de controle da mosca branca no Brasil. Várias estratégias moleculares têm sido aplicadas nos estudos dos biótipos de *B. tabaci*, buscando-se a identificação e o desenvolvimento de marcadores específicos para a caracterização de populações naturais, permitindo o seu uso em associação a métodos mais eficientes, precisos e de maior sensibilidade de detecção. Dessa forma, marcadores moleculares baseados em RAPD podem ser utilizados na identificação, na caracterização genética e no desenvolvimento de marcadores específicos de DNA para a detecção dos diferentes biótipos de *B. tabaci*. A conversão dos marcadores RAPD em SCAR permite o desenvolvimento de marcadores mais precisos, fornecendo ferramentas moleculares para a diferenciação dos biótipos de *B. tabaci*. Os dados de caracterização molecular revelaram a extrema complexidade da espécie e as análises de variância molecular revelaram que a maior fonte de variabilidade era originária de diferenças entre as populações do que em relação a variações dentro das populações. Observou-se, também, que determinados marcadores RAPD foram encontrados em várias populações de um mesmo biótipo de *B. tabaci* quando coletadas em várias culturas de diferentes localidades do Brasil ao longo de diferentes anos de estudo, reforçando a possibilidade de desenvolvimento dos marcadores SCAR. O desenvolvimento de marcadores específicos para cada biótipo de *B. tabaci* é uma etapa decisiva para o estabelecimento de estratégias baseadas em DNA para a detecção e a prevenção da entrada de novos biótipos no Brasil, minimizando os riscos provocados pela entrada de insetos exóticos no agro-ecossistema brasileiro.

---

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

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

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

## 161 - COMPARAÇÃO DA EVOLUÇÃO POPULACIONAL DE BACTÉRIAS DOS GÊNEROS *Erwinia*, *Pseudomonas* E *Xanthomonas* NO EXTRATO DE FOLHAS DA PLANTA HOSPEDEIRA (Populational evolution comparison of bactéria from genus *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas* in the host plant leaf extract)

Fonseca, C.F.<sup>1</sup>, Damasceno, J.P.S.<sup>2</sup>, Marques, A.S.A.<sup>3</sup>

O enriquecimento bacteriano, que consiste em prover condições nutricionais para o aumento considerável de uma dada população num curto espaço de tempo, tem sido identificado como um passo importante na melhora da performance de diferentes métodos de detecção de fitobactérias. Esse processo, geralmente realizado em meios de cultura, seletivos ou não, líquidos ou sólidos, aumenta a sensibilidade de detecção de diversas técnicas, como as sorológicas e moleculares. O objetivo deste trabalho foi verificar a possibilidade de realizar o enriquecimento de *Erwinia psidii*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* utilizando, em lugar de meios de cultura, o extrato aquoso da planta hospedeira da espécie estudada, fumo, goiabeira e feijoeiro, respectivamente, sem a adição de qualquer componente nutricional. O estudo foi realizado em condições de temperatura ambiente, comparando-o ao incremento da população nas plantas em condições de casa de vegetação. O extrato foi preparado usando-se folhas jovens, a última completamente expandida, a qual foi esmagada após adição das suspensões bacterianas de  $10^5$  ufc/mL, na razão de 2 mL de líquido/g de tecido. A avaliação foi realizada a cada 12 h por diluição seriada, plaqueamento e contagem da população bacteriana. Para acompanhar a evolução da população bacteriana *in planta*, foram inoculadas folhas da mesma idade, por pulverização com suspensões bacterianas de  $10^5$  ufc/mL. Esta avaliação foi realizada a cada 48 h, tendo sido as folhas inoculadas esmagadas com tampão fosfato-salino na mesma razão de 2 mL/g de tecido enumerando-se a população bacteriana pela presença de colônias típicas, contadas após incubação por 48 h em estufa a 28°C. Os resultados mostraram que, para *Erwinia psidii* e *P. syringae* pv. *tabaci*, a população no extrato de folhas atingiu a concentração de  $10^8$  ufc/mL dentro do período de 36 horas enquanto que na planta permaneceu em  $10^6$  ufc/mL ao final dos 13 dias de análise. Para *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, verificou-se que a população desapareceu em 24 horas no extrato da planta. Essa evolução foi, então, acompanhada dentro desse período, tendo sido avaliada a cada duas horas. Observou-se que a população se manteve estável por 10 horas e após este período, diminuiu gradativamente até não ser possível observar quaisquer células viáveis a 24 horas. Na planta, *X. axonopodis* pv. *phaseoli* atingiu  $10^7$  a  $10^8$  ufc/mL, em 15 dias.

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

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

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

## 162 - DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS EM GERMOPLASMA VEGETAL IMPORTADO (Detection and identification of fungi in imported plant germoplasm)

Silva, V.A.M.<sup>1</sup>, Oliveira, A.S.<sup>2</sup>, Santos, M.R.<sup>3</sup>, Urban, A.F.<sup>4</sup> Mendes, M.A.S.<sup>5</sup>

Para suprir os programas de melhoramento genético, o Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA) realiza sistematicamente a importação de germoplasma vegetal. Visando minimizar os riscos de entrada de pragas exóticas no país, o germoplasma importado é analisado na Estação Quarentenária Nível 1 (EQV) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A EQV foi credenciada pelo Ministério da Agricultura e Pecuária por meio da Portaria Nº 11 de 15 de fevereiro de 2002, para realizar os procedimentos legais exigidos para a introdução de material propagativo no país. Na EQV todo material importado é analisado por sete Laboratórios (Acarologia, Entomologia, Plantas Infestantes, Bacteriologia, Micologia, Virologia e Nematologia). O presente trabalho descreve os procedimentos de detecção e identificação de fungos realizados pelo Laboratório de Micologia durante o período de janeiro a setembro de 2006. Os métodos utilizados para a detecção de fungos em material vegetal foram: exame direto, plaqueamento em papel de filtro ("Blotter test"), plaqueamento em meio de cultura BDA e lavagem-sedimentação. A identificação dos fungos foi realizada pelas características morfológicas e fisiológicas sob microscópio estereoscópio e microscópio óptico. Nesse período foram analisados 7.747 acessos pertencentes a 24 produtos diferentes, sendo com maior número de acessos o milho (2.613), *Amaranthus* spp. (2.308), soja (1.302) e trigo (360). Os fungos mais importantes economicamente detectados estão relacionados a seguir: milho - *Fusarium moniliforme*, *Curvularia eragrostidis*, *C. prasadii*, *Bipolaris spicifera* e *Bipolaris maydis*; girassol - *Phoma exigua* var. *exigua* e *Alternaria helianthi*; cana-de-açúcar - *Bipolaris spicifera*, *Alternaria* sp. e *Podoxyphium mayteni*; trigo - *Tilletia caries*, *Phoma* sp. *Stemphylium botryosum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium moniliforme* e *Pithomyces chartarum*; soja - *Phomopsis phaseoli* f. sp. *meridionalis*, *Phomopsis phaseoli* f. sp. *sojae*, *Fusarium culmorum*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*. Nenhuma espécie de fungo exótico foi detectada, porém a espécie *Fusarium oxysporum* possui raças não relatadas no Brasil. O germoplasma de soja infectado com *F. oxysporum* foi tratado quimicamente na EQV, re-analisado e liberado para o solicitante após confirmação da sua erradicação.

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

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

<sup>3</sup>Eng. Agr., M.Sc., Nidera Sementes Ltda

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

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

**163 - EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO ÚMIDO DE SEMENTES DE *Triticum aestivum* (L.) Thell NA ERRADICAÇÃO DO NEMATÓIDE *Aphelenchoides blastophthorus* (Effect of wet thermal treatment of *Triticum aestivum* (L.) Thell seeds in eradication of the nematode *Aphelenchoides blastophthorus*)**

Silva, H.A.N.S<sup>1</sup>, Pereira, J.C.<sup>2</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>3</sup>

O objetivo do presente estudo foi desenvolver um método para erradicar o nematóide exótico ao Brasil, *Aphelenchoides blastophthorus* de sementes de trigo (*Triticum aestivum*) que foram submetidas ao tratamento físico: térmico úmido, sem que houvesse prejuízo da viabilidade das sementes tratadas. O tratamento térmico testado inclui variações de temperatura e de período de exposição ao calor, tais como: 40°C por 30 minutos seguido da variação de 60°C por 8 minutos. Portanto, o ensaio teve o devido tratamento que incluiu a testemunha, para comparação. Cada repetição constou de 17g (aproximadamente 200 sementes), perfazendo um total de cinco repetições. Os parâmetros avaliados foram: infestação de nematóides e poder germinativo (uma semana após o tratamento). Os resultados mostraram que através do tratamento úmido obteve-se a erradicação dos nematóides das sementes quando comparadas a testemunha que apresentou a presença deste parasita. Quanto ao poder germinativo das sementes não foi afetado pelo tratamento térmico úmido, podendo, portanto, ser recomendado para esta espécie de nematóide e para pequenos lotes de semente de trigo.

---

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

<sup>2</sup>Estudante Nível Médio, Centro de Ensino Médio 01 do Paranoá-CEMP

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

## 164 - ESTUDO PRELIMINAR DO POTENCIAL DE ESTABELECIMENTO DE *Anguina tritici* NO BRASIL (Preliminary study of the potential establishment of *Anguina tritici* in Brazil)

Souza, W.R.<sup>1</sup>, Carrijo, T.S.<sup>2</sup>, Melo, L.A.M.P.<sup>3</sup>, Silva, H.R.F.<sup>4</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>5</sup>

Ao passar dos anos o Agronegócio Brasileiro vem apresentando acelerada modernização e competitividade mundial. Atualmente é responsável por cerca de 33% do Produto Interno Bruto, 42% das exportações totais e 37% dos empregos brasileiros. Para garantir qualidade na produção agrícola são necessárias diversas ações fitossanitárias, entre as quais o monitoramento de pragas exóticas, a fim de evitar seu estabelecimento e, assim, ameaçar a produtividade agrícola. O nematóide *Anguina tritici* é, atualmente, uma praga exótica de interesse econômico para o Brasil já detectada em diversos países na Ásia, África, Europa e América do Norte. Entre seus hospedeiros destacam-se a aveia (*Avena sativa*), centeio (*Secale cereale*), cevada (*Hordeum vulgare*) e trigo (*Triticum* spp.). Em relação a sobrevivência deste nematóide, o estágio J2 é o mais resistente devido a sua capacidade de entrar em anidrobiose: este é o estágio encontrado após a colheita em panículas contido nas sementes ou grãos. Relatos mostraram que essa espécie de parasita permanece viva e viável em tecidos secos, sendo reanimados, após o armazenamento por 28 e 35 anos. Este trabalho mostra um estudo preliminar para avaliar o potencial de estabelecimento de *A. tritici* no Brasil. Os procedimentos efetuados foram os seguintes: (1) levantamento bibliográfico sobre *A. tritici*; (2) com base no levantamento bibliográfico, determinou-se a faixa de temperatura ideal de desenvolvimento da praga; (3) em seguida, utilizando-se o Climex (software de Sistema de Informações Geográficas), mapeou-se para o Brasil, áreas de temperatura ideal de desenvolvimento da praga (Mapa 1); (4) utilizando-se o ArcView, outro software de Sistema de Informações Geográficas, foram mapeadas áreas no País, com produção significativa dos produtos mencionados (Mapa 2); (5) finalmente, no ambiente do ArcView foi realizada a sobreposição do Mapa 1 com o Mapa 2 gerando-se um mapa que aponta áreas do País onde o prejuízo de estabelecimento de *A. tritici* seria significativo. O estudo mostrou um teor informativo relevante para apoiar ações fitossanitárias mais fortes para pragas exóticas, embora o exercício foi implementação simples.

---

<sup>1</sup>Sistemas de Informação, graduando, Faculdade Michelangelo

<sup>2</sup>Relações Internacionais, B.Sc., Bolsista FAGRO

<sup>3</sup>Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup>Eng. Agr., M.Sc., Bolsista FAGRO

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



## 165 - IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE 22 POPULAÇÕES DE *Bemisia tabaci* DA ARGENTINA POR MEIO DE MARCADORES RAPD-PCR (Molecular identification and characterization of 22 populations of *Bemisia tabaci* from Argentina by RAPD-PCR markers)

Fragoso, V.M<sup>1</sup>, Hiragi, C.O<sup>2</sup>, Queiroz, P.R<sup>3</sup>, Truol, G.A.M<sup>4</sup>, Zerbini Junior, F.M.<sup>5</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>6</sup>, Lima, L.H.C.<sup>6</sup>

A *Bemisia tabaci* é uma praga que durante sua alimentação suga a seiva das plantas e ainda elimina uma secreção açucarada induzindo o aparecimento de fungos, o que causa o apodrecimento de ramos, folhas, flores e frutos; caracteriza-se também por ser transmissora de geminivírus que provocam fitoviroses. Essa praga teve uma dispersão rápida causando em diversas regiões do mundo danos na agricultura. Na Argentina, o aumento do cultivo da soja teve início em 1975 e após dez anos houve um aumento na ocorrência da praga *B. tabaci*, provocando prejuízos superiores a 30% da produção de soja de uma determinada área de plantio. A diferenciação morfológica desse inseto é extremamente difícil, por se tratar de uma coleção heterogênea de biótipos. A correta identificação e a caracterização da espécie são importantes para que as estratégias de controle sejam mais específicas e mais eficazes. Técnicas moleculares dão suporte aos estudos filogenéticos das populações das espécies-complexo *B. tabaci* que foram agrupadas de acordo com a sua localidade. A técnica RAPD-PCR detecta polimorfismos de fragmentos de DNA a baixos custos e com rapidez no processamento de dados. O objetivo desse trabalho foi a identificação de biótipos presentes nas vinte e duas populações da Argentina e caracterizá-las para posteriores estudos de variabilidade genética. Foram analisadas cinco amostras de adultos de cada população para dez primers de RAPD. Para detecção de biótipos específicos da referida espécie, foi empregada a técnica de SCAR que consiste na utilização de seqüências caracterizadas de regiões amplificadas. Foram analisadas 02 pares de iniciadores denominados T1 e T2, P1 e P2, e um controle positivo, com clones contendo regiões específicas da espécie. Os resultados demonstraram a variabilidade genética entre as populações estudadas, confirmando a predominância do biótipo B, mais agressivo no Brasil. Vale ressaltar que, além disso, foi detectada a persistência do biótipo BR na Argentina, mesmo em presença do biótipo B. Isso foi confirmado com a obtenção de um dendrograma que indicou a distribuição da população em dois agrupamentos principais com similaridade de 57% e outra com 90%.

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

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

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

<sup>4</sup>Eng. Agr., IFFIVE-INTA-Córdoba, Argentina

<sup>5</sup>Eng. Agr., Universidade Federal de Viçosa-UFV

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



## 166 - INSETOS-PRAGAS DA ORDEM COLEOPTERA COM POTENCIAL QUARENTENÁRIO PARA O BRASIL (Insects-pests of Coleoptera Order with quarantine potencial to Brazil)

Vilarinho, K.R.<sup>1</sup>, Silva, S.F.<sup>2</sup>, Gonçalves, G.C.P.C.<sup>3</sup>, Santos, A.C.A.<sup>4</sup>, Cruz, K.R.R.<sup>4</sup>, Paula-Moraes, S.V.<sup>5</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>6</sup>

Considera-se praga para fins de controle, os insetos fitófagos, a partir do momento em que atingem populações capazes de provocar danos de impacto econômico. O ataque pode ocorrer nas diferentes partes dos vegetais ocasionando queda de valor comercial, de produção e até morte das plantas. Na prevenção de pragas exóticas é importante a observação criteriosa das normas de quarentena ao se introduzir material vegetal, que possam conter ovos, fases jovens ou adultos de espécies fitófagas. Essas pragas podem encontrar no país um clima favorável, alta concentração de hospedeiros e baixa concentração de inimigos naturais, multiplicando-se rapidamente e tornando-se, em pouco tempo, um problema econômico para a espécie vegetal introduzida e até para as espécies nativas. Com o objetivo de fornecer subsídios para auxiliar os procedimentos fitossanitários, foi realizado um levantamento das principais espécies de coleópteros com potencial quarentenário para o Brasil. A metodologia utilizada apoiou-se na consulta em Bases de Dados, considerando as espécies que mesmo ainda não incluídas na lista de pragas quarentenárias para o país, apresentaram grande expressão econômica. Os seguintes critérios de avaliação foram utilizados: distribuição geográfica, número de hospedeiros, via de ingresso, potencial de entrada, sobrevivência no país, dispersão e danos econômicos. Um total de cento e sessenta e quatro espécies foram catalogadas, a grande maioria dos insetos desta ordem está presente na América do Norte, Ásia e Europa, possuem como plantas hospedeiras seiscentos e quinze espécies vegetais subdivididas em oitenta e três famílias, principalmente Pinaceae, Poaceae, Rosaceae, Fabaceae, Solanaceae e Cucurbitaceae. Milho, ervilha, batata-inglesa, pinheiro, abeto e arroz são os hospedeiros que abrigam o maior número de espécies de coleópteros quarentenários, que de acordo com o gênero usam como via-de-ingresso determinadas ou mesmo todas as partes da planta (folha, caule, pontos de crescimento, flor, fruto, sementes e raiz), madeira morta, grãos, tubérculos. Desta forma a realização deste trabalho torna-se importante no auxílio à aplicação de medidas quarentenárias ou na tomada de decisões caso estas pragas entrem no país pelo comércio, tráfico e trânsito de *commodities* e pessoas.

---

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

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

<sup>3</sup>Bióloga, B.Sc., Fund. de Apoio à Pesq. e ao Agronegócio Brasileiro-FAGRO

<sup>4</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Cerrados

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

## 167 - INSETOS-PRAGA DA ORDEM HEMIPTERA COM POTENCIAL QUARENTENÁRIO PARA O BRASIL (Insects-pests of Hemiptera Order with quarantine potential to Brazil)

Gonçalves, G.C.P.C.<sup>1</sup>, Santos, A.C.A.<sup>2</sup>, Cruz, K.R.R.<sup>2</sup>, Silva, S.F.<sup>3</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>4</sup>, Paula-Moraes, S.V.<sup>5</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>6</sup>

O Brasil, mesmo tendo posição de destaque mundial em relação ao agronegócio, necessita de melhor implementação da sustentabilidade para assegurar sua posição diante as exigências do mercado. Dentre as tendências mundiais relacionadas ao agronegócio, as mudanças na área de fitossanidade, com a certificação de produtos, apontam uma nova proposta baseada em produção + produtividade + sustentabilidade + qualidade. Ações fitossanitárias em um sistema integrado de produção e de pragas, áreas livres, monitoramento e dispersão são algumas abordagens utilizadas. No agronegócio, a importância de se adequar pesquisas visando às pragas dentro de uma cadeia produtiva, permite ao país fazer os ajustes necessários para tomada de ações e medidas fitossanitárias levando em consideração o risco. Com o objetivo de disponibilizar informações acuradas sobre os insetos-praga quarentenários da ordem Hemiptera, foi realizado um levantamento das principais espécies através de buscas bibliográficas em Bases de Dados. A partir da catalogação de noventa e quatro espécies constatou-se que esta ordem além de ser extremamente polífaga, possui ampla distribuição geográfica. Das 669 plantas hospedeiras, as espécies frutíferas (manga, goiaba, abacate, pêra, cacau, uva) são as que abrigam o maior número desses insetos que podem ingressar por qualquer parte aérea da planta. Os representantes dessa ordem têm como principal meio de dispersão as plantas ornamentais. Dentre as espécies listadas para essa ordem encontram-se: *Aleurocanthus woglumi* (mosca-negra-dos-citrus), considerada praga de expressão agrícola em vários países e detectada pela primeira vez no Brasil em 2001 e *Maconellicoccus hirsutus* (cochonilha-rosada-do-hibisco), praga quarentenária A1 para o Brasil, que se tornou problema sério em certos países, causando grandes perdas econômicas. As informações levantadas mostram-se úteis para evitar que o mesmo ocorra no Brasil e ainda para subsidiar a formulação de políticas ambientais e de sanidade vegetal oferecendo a possibilidade de se produzir mais e com melhor qualidade, degradando menos e ao mesmo tempo manter os custos competitivos, que são os atuais desafios do agronegócio.

<sup>1</sup>Bióloga, B.Sc., Fund. de Apoio à Pesq. e ao Agronegócio Brasileiro-FAGRO

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

<sup>3</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

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

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Cerrados

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

## 168 - INSETOS-PRAGA DA ORDEM LEPIDOPTERA COM POTENCIAL QUARENTENÁRIO PARA O BRASIL (Insects-pests of Lepidoptera Order with quarantine potencial to Brazil)

Silva, S.F.<sup>1</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>2</sup>, Gonçalves, G.C.P.C.<sup>3</sup>, Santos, A.C.A.<sup>4</sup>, Cruz, K.R.R.<sup>4</sup>, Paula-Moraes, S.V.<sup>5</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>6</sup>

O crescimento da produção levou ao aumento das exportações do agronegócio, colocando o Brasil na liderança em produção e exportação de álcool, açúcar, café e suco de laranja e no maior exportador do complexo soja e de tabaco. O agronegócio gerou, em 2005, 36,9% das exportações totais e 27,9% do Produto Interno Bruto (PIB), o país já é o detentor do maior saldo da balança comercial agrícola do mundo. No mesmo ano as importações brasileiras de produtos do agronegócio registraram um crescimento de 6,2%, totalizando US\$ 5,18 bilhões. As importações brasileiras são provenientes principalmente da Argentina, Estados Unidos, Paraguai, Uruguai, Chile e China. O desempenho do agronegócio nacional impressiona, mas preocupa com relação aos aspectos de fitossanidade das *commodities*. A fim de auxiliar a realização de procedimentos fitossanitários, preventivos contra a introdução e dispersão de pragas quarentenárias, foi realizado um levantamento das principais espécies de lepidópteros com potencial quarentenário para o Brasil. A consulta em Bases de Dados foi utilizada como metodologia que permitiu a coleta de dados de espécies que apresentaram grande expressão econômica. Um total de 125 espécies foram catalogadas, permitindo a constatação de que estão presentes na Ásia (94), Europa (48), África (44), América do Norte (39), Oceania (39), América do Sul (8) e América Central (6), possuem como plantas hospedeiras 730 espécies vegetais pertencentes a 113 famílias, destacando-se Fabaceae, Poaceae, Pinaceae, Rosaceae, Fagaceae e Solanaceae. Milho, maçã, arroz, manga, cana-de-açúcar, sorgo, pêssego, soja, tomate, mamona, uva e trigo são os hospedeiros que abrigam o maior número de espécies de Lepidópteros quarentenários, que têm como principal via de ingresso a parte aérea da planta. Considerando que os hospedeiros dessa ordem (trigo, frutas, arroz e milho) estão entre os principais produtos importados pelo Brasil, é preciso adotar medidas que impeçam a introdução dessas pragas. Na agricultura brasileira os lepidópteros são os insetos que possuem maior número de espécies nocivas e as espécies aqui introduzidas como a lagarta da maçã, *Cydia pomonella*, que se encontra em áreas urbanas e sob controle oficial preocupam produtores e autoridades pelo risco de atingir pomares comerciais.

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

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

<sup>3</sup>Bióloga, B.Sc., Fund. de Apoio à Pesq. e ao Agronegócio Brasileiro-FAGRO

<sup>4</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Cerrados

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

## **169 - INSPEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO ENTOMOLÓGICA NA QUARENTENA DE GERMOPLASMA VEGETAL DE 2004 A AGOSTO DE 2006 (Inspection and entomological identification on plant germplasm quarantine from 2004 to August of 2006)**

Gonçalves, G.C.P.C.<sup>1</sup>, Cruz, K.R.R.<sup>2</sup>, Santos, A.C.A.<sup>2</sup>, Silva, S.F.<sup>3</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>4</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>5</sup>

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia tem como uma de suas atividades prioritárias, o intercâmbio de germoplasma vegetal, destinado a coleções de base, a programas de melhoramento e demais projetos visando o enriquecimento do acervo nacional de recursos genéticos vegetais e sua caracterização. Com o objetivo de assegurar que este material vegetal intercambiado não represente ameaça, perigo e risco aos sistemas produtivos do agronegócio e ao meio ambiente, o mesmo tem sido submetido à análise fitossanitária e a quarentena de pós-entrada na Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal (EQGV). O Laboratório de Entomologia, no período de janeiro de 2004 a agosto de 2006, inspecionou 43.242 acessos de importação, exportação e trânsito interno de germoplasma vegetal e outros produtos vegetais com prescrição de quarentena. Para a detecção de insetos realizou-se inspeção direta com o auxílio do microscópio estereoscópico. Os insetos encontrados foram devidamente preservados em álcool 70% e etiquetados com os dados de coleta para compor a Coleção de Insetos de Referência para a Quarentena Vegetal. Está entre os materiais vegetais recebidos com maior frequência: sementes de milho, soja, trigo, melão, algodão, batata e abóbora. Analisaram-se amostras de sementes, estacas e mudas. Foram identificados insetos pertencentes às famílias Coleoptera; Heteroptera, Psocoptera e Lepidoptera. Dentre as espécies interceptadas encontra-se *Palpita unionalis*, uma praga exótica para o Brasil. Os insetos detectados podem causar danos à agricultura nacional, portanto, medidas de segurança biológica como as quarentenárias devem ser adotadas para que se impeça a introdução e ou dispersão destes organismos associados ao material vegetal importado.

---

<sup>1</sup>Bióloga, B.Sc., Fund. de Apoio à Pesq. e ao Agronegócio Brasileiro-FAGRO

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

<sup>3</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

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

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

## **170 - INTERCEPTAÇÃO DE NEMATÓIDES EXÓTICOS AO BRASIL EM MATERIAL VEGETAL DE IMPORTAÇÃO (Interception of exotic nematodes to Brazil in imported plant material)**

Gomes-Silva, E<sup>1</sup>, Sousa, A.I.M.<sup>2</sup>, Ciriaco, J.P.<sup>3</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>4</sup>, Cares, J.E.<sup>5</sup>, Prates, M.<sup>6</sup>

Com a finalidade de atender a demanda de análises nematológicas de germoplasma importado pelo Brasil para os programas de melhoramento genético da Embrapa, o Laboratório de Nematologia da Estação Quarentenária de Nível 1, realizou análises fitossanitárias, por meio de diversos procedimentos de extração, e evidenciou nematóides exóticos ao Brasil em nove processos dos 74 analisados de janeiro a setembro de 2006. Os materiais infectados foram: videira, milho (dois processos), girassol, trigo (três processos), cana-de-açúcar e lírio. Os nematóides fitoparasitas encontrados foram: *Aphelenchoides spicomucronatus*, *Aphelenchoides subtenuis* e *Aphelenchoides tumuliscaudatus* (videira); *Aphelenchoides blastophthorus* (milho e trigo); *Ditylenchus* sp. juvenil (milho); *Ditylenchus* sp. (girassol); *Anguina* sp. e *Aphelenchoides subtenuis* (trigo); *Aphelenchoides abyssinicus* (cana-de-açúcar e lírio); *Plectus* sp. (trigo). Com essas medidas fitossanitárias, o Laboratório de Quarentena da EMBRAPA vem colaborando ativamente para diminuir os riscos de introdução de novas espécies de fitonematóides no Brasil.

---

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

<sup>2</sup>Secretariado Executivo, graduando, CECAP

<sup>3</sup>Estudante Nível Médio, Centro de Ensino Médio 01 do Paranoá – CEMP

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

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup>Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

**171 - INTERCEPTAÇÃO DO ÁCARO QUARENTENÁRIO PARA O BRASIL, *Brevipalpus chilensis* (BAKER) (TENUIPALPIDAE), EM UVAS FRESCAS DO CHILE (Interception of the mite *Brevipalpus chilensis* (Baker) (Tenuipalpidae), a quarantine species to Brazil, in fresh grapes from Chile)**

Gonçalves, G.C.P.C.<sup>1</sup>, Reis, M. T. <sup>2</sup>, Návia, D.<sup>3</sup>

A cultura da uva vem se expandindo em diversas regiões do país. Uvas frescas representam uma importante *commoditie* para o agronegócio nacional. A produção de uva e a expansão da cultura no Brasil podem ser prejudicadas pela introdução de novas pragas, que venham a causar perdas severas ou elevar os custos de produção. Uma das principais vias de ingresso de pragas no país é o comércio internacional. Entre os grupos de organismos de expressão quarentenária estão os ácaros fitófagos, os quais apresentam diversas características que propiciam que se tornem espécies invasoras em sistemas de produção agrícola. Em Maio de 2006, a Vigilância Agropecuária Internacional do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em Dionísio Cerqueira, SC, encaminhou cinco lotes de uvas frescas, provenientes do Chile, para análise fitossanitária no Laboratório de Quarentena Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A análise acarológica das uvas foi realizada utilizando-se os métodos de: 1) exame direto ao microscópio estereoscópio e 2) lavagem em solução de detergente, seguido de peneiramento da solução através de peneiras granulométricas. Em três lotes foram detectados espécimes vivos de ácaros Tenuipalpidae, nos diversos estágios de desenvolvimento. Esses ácaros foram preservados em lâmina de microscopia, em meio de Hoyer, e identificados ao microscópio de contraste de fase como pertencentes à espécie *Brevipalpus chilensis* (Baker), a qual é quarentenária A1 para o Brasil. Esse ácaro apresenta distribuição restrita ao Chile, onde causa perdas de até 30% na produção das videiras. Este ácaro apresenta alto risco de ser introduzido no país através da importação de frutos, material de propagação vegetativa e plantas ornamentais. Caso o ácaro fosse introduzido no país, em área de cultivo de videiras, seu principal hospedeiro, além dos danos diretos que poderia causar às culturas hospedeiras, poderia levar a restrições na importação de produtos nacionais por parte de países da América do Norte, Europa e Ásia, muitos dos quais também consideram *B. chilensis* como uma espécie quarentenária. Portanto, ressalta-se a importância da adoção de medidas preventivas, como a inspeção detalhada de material vegetal em pontos de entrada e uma rápida e acurada identificação dos organismos interceptados, para a segurança biológica da agricultura.

---

<sup>1</sup>Bióloga, B.Sc., Fund. de Apoio à Pesquisa e ao Agronegócio Brasileiro-FAGRO

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

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

## **172 - LEVANTAMENTO DE INSETOS-PRAGA DAS ORDENS DIPTERA, HYMENOPTERA E THYSANOPTERA COM POTENCIAL QUARENTENÁRIO PARA O BRASIL (Survey of insects pests of the Orders Diptera, Hymenoptera and Thysanoptera with quarantine potential to Brazil)**

Santos, A.C.A.<sup>1</sup>, Gonçalves, G.C.P.C.<sup>2</sup>, Silva, S.F.<sup>3</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>4</sup>; Cruz, K.R.R.<sup>5</sup>, Paula-Moraes, S.V.<sup>6</sup>; Oliveira, M.R.V.<sup>7</sup>

O último século presenciou mudanças profundas em relação à segurança biológica em termos de proteção da vida humana, animal e vegetal. O gerenciamento de todos os riscos biológicos e ambientais provocados pelos deslocamentos de organismos nocivos passaram a ter prioridade. Os insetos-pragas são importantes neste processo, porque ao se dispersarem podem promover grandes impactos nos ecossistemas. Vários países tiveram suas economias profundamente abaladas pela presença de pragas em seus agroecossistemas. Com o objetivo de subsidiar a política pública de Sanidade Vegetal no país fêz-se um levantamento dos principais insetos de expressão quarentenária pertencentes às Ordens Diptera, Hymenoptera e Thysanoptera. A metodologia utilizada baseou-se na busca de informações em bases de dados por meio da consulta da literatura técnico-científica disponível. Dentro dessas Ordens um número total de 119 espécies apresentou potencial quarentenário para o país. A distribuição entre as Ordens foi: Diptera, 94; Hymenoptera, 26, e Thysanoptera, 14. Um total de 567 espécies vegetais subdivididas em 75 famílias foram consideradas plantas hospedeiras preferenciais dos insetos. Entre essas hospedeiras tem-se Fabaceae, Poaceae, Pinaceae e Rosaceae. Plantas como manga, pêssego, goiaba, maçã, uva, tomate, abeto, pinheiro e trigo foram observadas como sendo as culturas mais atacadas pelos insetos pertencentes a essas ordens. Com relação à distribuição geográfica, a América do Norte abriga o maior número de Hymenoptera (18) e Thysanoptera (11) listados, enquanto que para Diptera destaca-se a Ásia (41), América do Norte (32), Oceania (31) e África (28) com maior quantidade de espécies. Em termos de via-de-ingresso Thysanoptera pode estar associado a qualquer parte da planta, Hymenoptera por terem os pinheiros como hospedeiros principais preferem as acículas e os Diptera, as larvas ficam inseridas nos frutos. Os resultados obtidos nesse levantamento mostram a necessidade da elaboração de planos de contingência para as pragas de maior impacto, para os sistemas de produção agrícola e florestal para o país.

---

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

<sup>2</sup>Bióloga, B.Sc., Fundação de Apoio à Pesquisa e ao Agronegócio Brasileiro - FAGRO

<sup>3</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social UPI

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

<sup>5</sup>Biologia, graduanda, Faculdades Integradas da Terra de Brasília-FTB

<sup>6</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Cerrados

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

**173 - MONITORAMENTO DAS POPULAÇÕES DE *Anthonomus grandis* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE), NA CULTURA DO ALGODOEIRO EM BRASÍLIA-DF [*Anthonomus grandis* (Coleoptera, Cucurliionidae) population´s survey in cotton crop in Brasília-DF]**

Vilarinho, K.R.<sup>1</sup>, Silva, S.F.<sup>2</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>3</sup>, Monnerat, R.G.<sup>3</sup>

O Brasil já foi um dos maiores produtores mundiais de fibras de algodão. Até o início da década de 80, produzia uma quantidade de plumas superior ao consumo interno. Devido a uma série de problemas de ordem agrônômica e de mercado, a partir de 1986 a produção interna começou a cair gradativamente, levando a um desequilíbrio na balança comercial desse produto. Um fator significativo de ordem agrônômica foi à introdução e dispersão do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis*, pelo estado de São Paulo. Ele foi introduzido no país no início da década de 80, favorecido pelas condições do clima tropical. O descuido com restos culturais, provavelmente, contribuíram para a sua dispersão para todo o país. A partir desse momento a cadeia produtiva algodoeira dependente dessa fibra e de seus subprodutos passou a gerar ainda mais prejuízos. O bicudo é uma praga que devora os botões florais e as maçãs do algodão e em alta densidade populacional, os cotonicultores correm o risco de perder a colheita, pela queda na produtividade. Esse trabalho teve como objetivo realizar o monitoramento das populações de bicudo no campo por meio de visitas semanais e de amostragens aleatórias. Armadilhas com feromônios Bio Bicudo também foram utilizadas na coleta de indivíduos de bicudo. O monitoramento foi realizado em cinco áreas de plantio do Distrito Federal (Cooperbrás, Cabi, Aeronáutica, Rondon e Sete Veredas), compreendendo o período de março a setembro de 2006 e abrangeu todas as fases do algodão (pré-floração, floração e pós-floração). No período amostrado coletou-se os seguintes números de indivíduos: Fazenda Cooperbrás, 1.458; Cabi, 675; Aeronáutica, 267; Rondon, 275; Sete Veredas, 420. Os resultados obtidos revelaram que apesar das medidas fitossanitárias adotadas durante o período de cultivo do algodão a presença do bicudo foi constante, principalmente na Fazenda Cooperbrás. A relevância desses resultados indica que para diminuir o impacto do inseto sobre a cultura do algodoeiro será importante a adoção do Manejo Integrado de Pragas associado ao uso racional de agrotóxicos de forma a contribuir para o desenvolvimento sustentável da cultura do algodoeiro.

---

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

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

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



## 174 - OCORRÊNCIA DE *Colletotrichum* SP. EM PITOMBEIRA (*Talisia esculenta*, SAPINDACEAE) (Occurrence of *Colletotrichum* sp. in Pitombeira)

Ferreira, R. A. M.<sup>1</sup>, Santos, M. R.<sup>2</sup>, Oliveira, A. S.<sup>3</sup>, Mendes, M. A. S.<sup>4</sup>

A pitombeira, *Talisia esculenta* (Sapindaceae), é uma espécie frutífera com ampla distribuição no cerrado brasileiro. Há grande potencialidade para o seu cultivo tornar-se comercial em virtude do seu fruto ter grande apreciação no mercado consumidor nacional e internacional. Plantas de pitombeira coletadas no Distrito Federal apresentaram elevada incidência de lesões foliares que comprometiam a produtividade. As folhas com lesões necróticas, de formato irregular e queima da região apical, foram submetidas a dois métodos para detecção do agente etiológico, isolamento em meio de cultura BDA e exame direto. No isolamento em BDA, fragmentos de tecidos intermediários, sadios e necrosados, foram esterilizados superficialmente com álcool a 50% por 1 minuto, imersos em solução de hipoclorito de sódio a 2% pelo mesmo período e lavados em água destilada estéril. Os fragmentos foram colocados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e incubados por oito dias à temperatura de  $28 \pm 2^\circ$  C sob luz fluorescente constante. No método de exame direto, as folhas com lesões foram colocadas por três dias em condições de câmara úmida, sob luz NUV 12 horas luz e 12 horas escuro, à temperatura de  $20 \pm 2^\circ$  C. Após o período de incubação de 8 e 3 dias para os dois métodos, respectivamente, o fungo foi detectado e identificado pelas características morfológicas e fisiológicas sob microscópio estereoscópio e microscópio óptico. Utilizando-se de literatura específica, foi identificado *Colletotrichum* sp. em lesões foliares de pitombeira. A confirmação do agente causal desta doença está sendo feita por meio de testes de patogenicidade. Este é o primeiro relato de *Colletotrichum* sp. em pitombeira no Brasil.

---

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

<sup>2</sup>Eng. Agr., M.Sc., Nidera Sementes Ltda

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

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

**175 - OCORRÊNCIA DE *Tylenchocriconema alleni* E *Ditylenchus khani* NO BRASIL EM MATERIAL VEGETAL ANALIZADO PARA EXPORTAÇÃO (Occurrence of *Tylenchocriconema alleni* and *Ditylenchus khani* in Brazil in analysed plant material for exportation)**

Gomes-Silva, E.<sup>1</sup>, Sousa, A.I.M.<sup>2</sup>, Ciriaco, J.P.<sup>3</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>4</sup>, Cares, J.E.<sup>5</sup>, Prates, M.<sup>6</sup>

O Laboratório de Nematologia da Estação Quarentenária de nível 1 da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realiza análises nematológicas com intuito de disponibilizar germoplasma sadio ao evitar a disseminação de nematóides parasitas de plantas. Isto se dá através de diversos procedimentos de extração e identificação de fitonematóides. Dentre as diversas atividades desenvolvidas destaca-se a análise de material vegetal destinado a exportação. Das análises realizadas dois processos merecem destaque, pois nestes evidenciou-se a primeira ocorrência de duas espécies de nematóides, anteriormente exóticos ao Brasil. O fitonematóide *Tylenchocriconema alleni*, encontrado em bromélia (*Neoregelia carolinae*); e o *Ditylenchus khani* em espécies de *Tillandsia* spp. Ambas as amostras provenientes de La Bromelia de Brasília, Ltda, localizada no Núcleo Rural de Taquara, Chácara 15, cidade de Planaltina-DF. A espécie *T.alleni*, tem o gênero descrito por Raski e Siddiqui (1975) e já foi encontrado em solo ao redor de *Bromeliaceae* na Guatemala. Essa espécie é conhecida na literatura por parasitar *Tillandsia feabellata*. Sua ocorrência é relatada também na Califórnia (EUA) em ornamentais da família *Bromeliaceae*, e em viveiros dessas plantas na Holanda. *Ditylenchus khani* Fortuner (1982), desde sua descrição de Nova Deli na Índia, esta espécie foi encontrada em duas coleções de musgo da Polônia e Suíça e em uma coleção do solo semi-árido perto de Zacatecas, México, sendo um dos primeiros registros nesses países. Ambas espécies de nematóide são consideradas exóticas para o Brasil e são pragas não quarentenárias regulamentadas. Portanto, a Estação Quarentenária do CENARGEN tem contribuído para diminuir os riscos e perigos de introdução e disseminação de novas espécies de fitonematóides no Brasil e no exterior.

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

<sup>2</sup>Secretariado Executivo, graduanda, CECAP

<sup>3</sup>Estudante Nível Médio, Centro de Ensino Médio 01 do Paranoá-CEMP

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

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup>Assistente de Operações, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

**176- RASTREABILIDADE DE GERMOPLASMA VEGETAL INTERCEPTADO USANDO A BASE DE DADOS DAS ANÁLISES NEMATOLÓGICAS ATRAVÉS DO SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE GERMOPLASMA (Traceability of intercepted plant germplasm using the database of nematological analysis by germplasm information system)**

Ireno, H.N.<sup>1</sup>, Rissoli, V.R.V.<sup>2</sup>, Cares, J. E.<sup>3</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>4</sup>

O sistema computacional da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, denominado Sistema de Informação de Germoplasma (SIG), consiste em uma base de dados que permite uma interação acurada e rápida com os dados da interceptação de nematóides exóticos, pertencentes ao gênero a um dos principais gêneros parasitas de nematóides, *Pratylenchus*, desde de 1981 até Julho de 2006. Este sistema auxilia fortemente na rastreabilidade dos nematóides detectados em materiais importados pelo Brasil, podendo gerar rapidamente um alerta do risco fitossanitário para a agricultura nacional. A maioria das espécies interceptadas vem dos EUA, nos diferentes produtos: *Hermatiria*, Annona, carambola e sapoti. Em seguida, vem o Peru com duas introduções contaminadas com este parasita: mentha e alho. Os outros países só tiveram uma interceptação com *Pratylenchus*: Nova Guiné e França (abacaxi); Chile (milho); Colômbia (amendoim). Duas espécies importantes e exóticas ao país foram *P. crenatus* (videira, França) e *P. scribneri* (amendoim, Colômbia). Os demais interceptados estavam na forma juvenil e não foi possível chegar ao nível de espécie. Mas, todas as espécies do gênero *Pratylenchus* são parasitas importantes de plantas. Estes resultados mostraram a importância desta análise, do tipo de rastreabilidade e olhar para a troca de materiais genéticos e dar maior atenção, especialmente aos países mencionados.

---

<sup>1</sup>Sistema de Informação, graduando, Universidade Paulista-UNIP

<sup>2</sup>Ciência da Computação, doutorando, Universidade Católica de Brasília-UCB

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

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

## 177 - RASTREABILIDADE DE PRAGAS EXÓTICAS POTENCIAIS PARA OS PAÍSES QUE COMPÕEM A REGIÃO DO COSAVE (Traceability of potential exotic pests for the Cosave region)

Santos, A.C.A.<sup>1</sup>, Gonçalves, G.C.P.C.<sup>2</sup>, Silva, S.F.<sup>3</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>4</sup>, Cruz, K.R.R.<sup>1</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>5</sup>

O Brasil tem intensificado suas relações comerciais com vários outros países, especialmente entre os membros do Mercado Comum do Sul (Mercosul): Argentina, Brasil, Paraguai, Uruguai e Venezuela. Em 1989, um acordo entre Brasil, Argentina, Chile, Paraguai e Uruguai criou o Comitê de Sanidade Vegetal dos Países do Cone Sul (COSAVE), uma Organização Regional de Proteção Fitossanitária (ORPF) que harmoniza as normas internacionais de medidas fitossanitárias elaboradas no âmbito da Convenção Internacional de Proteção Vegetal (CIPV) e do Acordo sobre a Aplicação de Medidas Sanitárias e Fitossanitárias (Acordo SPS). O Chile e Bolívia participam do COSAVE, mas não do Mercosul. De modo a contribuir para essa harmonização de proteção fitossanitária a rastreabilidade de pragas exóticas de potencial quarentenário para os países que compõem o COSAVE foi realizada. Consultas em bases de dados dos insetos de maior expressão econômica foram feitas buscando informações sobre distribuição geográfica, plantas hospedeiras, via de ingresso, registros de intercepções no mundo e presença ou ausência no Brasil e número de relatos em revistas científicas. Um número total de 122 espécies de insetos apresentou potencial quarentenário para a região do COSAVE. A distribuição desses números entre as Ordens foram Coleoptera (37), Diptera (15), Hemiptera (18), Hymenoptera (7), Lepidoptera (44) e Thysanoptera (1). Constatou-se que Estados Unidos, Índia, China, Canadá e Itália foram os países que apresentam o maior número de publicações sobre relatos de pragas. Entre as plantas hospedeiras as famílias Pinaceae, Rosaceae, Rutaceae, Poaceae e Myrtaceae foram alvos preferenciais dos insetos. A importância da rastreabilidade de pragas para a cadeia produtiva agrícola e para a aplicação de medidas preventivas fitossanitárias pode ser demonstrada em exemplos como os de *Anastrepha suspensa*, *Ceratitis catonii*, *C. rosa* e *Ceroplastes rubens*, que além de apresentarem potencial quarentenário para importantes frutíferas no país também podem usar como refúgio e causar impacto ambiental em *Psidium cattleianum* (araçá), Myrtaceae, que ocorre naturalmente em vegetação de restinga e floresta ombrófila densa e é muito utilizada na recomposição de mata ciliar no Brasil.

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

<sup>2</sup>Bióloga, B.Sc., Fund. de Apoio à Pesq. e ao Agronegócio Brasileiro-FAGRO

<sup>3</sup>Geografia, graduanda, União Pioneira de Integração Social-UPIS

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

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

## **178 - RASTREABILIDADE FITOSSANITÁRIA DE PRAGAS EXÓTICAS POTENCIAIS NAS CULTURAS DE MELÃO, MAÇÃ, UVA, CRAVO E BONSAI (Traceability of potential exotic pests to melon, apple, grape, carnation and bonsai)**

Silva, S.F.<sup>1</sup>, Gonçalves, G.C.P.C.<sup>2</sup>, Santos, A.C.A.<sup>3</sup>, Cruz, K.R.R.<sup>3</sup>, Vilarinho, K.R.<sup>4</sup>, Paula-Moraes, S.V.<sup>5</sup>, Oliveira, M. R.V.<sup>6</sup>

O agronegócio mundial passa por inúmeros desafios relacionados à competitividade no mercado internacional. Isto implica a necessidade de adotar novas alternativas para que o país possa competir com os demais, tal como a rastreabilidade nas cadeias agroalimentares que possibilita ao consumidor ter a segurança de que o produto passou pelas etapas de certificação, uma vez que todos os procedimentos fitossanitários podem ser acompanhados do campo até a sua comercialização. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) desenvolve o Projeto em Rede de Sanidade Vegetal que objetiva melhorar e aumentar a competitividade dos produtos agrícolas brasileiros e diminuir os riscos fitossanitários da introdução de pragas exóticas. Assim, informações sobre insetos-praga que atacam as culturas das frutíferas *Cucumis melo*, *Malus pumila*, *Vitis vinifera* e plantas ornamentais *Dianthus caryophyllus* e espécies de bonsai encontrados por meio de buscas bibliográficas nas bases de dados CAB Abstract e FSTA, disponíveis no Portal periódicos CAPES e sites especializados da Internet foram organizados em uma planilha contendo taxonomia, distribuição geográfica, plantas hospedeiras, vias de ingresso, registros de interceptações no mundo e presença ou ausência no Brasil e estão sendo disponibilizados num banco de dados. Constatou-se que estas culturas podem ser hospedeiras de várias pragas, muitas delas quarentenárias, que se introduzidas no país podem causar sérios prejuízos de expressão econômica. Essas informações serão úteis para assegurar que a produção seja de qualidade, tanto para o padrão internacional quanto para o mercado interno e auxiliar na implementação de sistemas de rastreabilidade ou de certificação de produtos agrícolas.

---

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

<sup>2</sup>Bióloga, B.Sc., Fund. de Apoio à Pesq. e ao Agronegócio Brasileiro-FAGRO

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

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

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Cerrados

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

## **179 - REAÇÃO DE DIFERENTES CLONES DE BANANA NO DESENVOLVIMENTO DE DUAS RAÇAS DE *Meloidogyne incognita* (The reaction of different banana clones on the development of two *Meloidogyne incognita* races)**

Sousa, A.I.M.<sup>1</sup>, Silva, E.G.<sup>2</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>3</sup>, Fonsêca Junior, M.B.<sup>4</sup>

Este experimento está incluído em um projeto maior que estuda a reação de diferentes clones de bananeira a diversas espécies dos nematóides das galhas, *Meloidogyne*. Este ensaio foi realizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia para determinar a reação de 20 clones de bananeira, às raças 1 e 4 de *M. incognita*, sob condições de casa de vegetação. Os parâmetros avaliados foram: o índice de multiplicação (IR); o índice de inibição do nematóide (tipo de reação); peso da parte aérea e das raízes e altura da parte aérea das plantas. Os resultados mostraram que o valor mais alto no IR de *M. incognita* raças 1 e 4 foi na variedade Tropical, que foi o clone padrão para os cálculos do índice de inibição do nematóide. A faixa do IR, nesta variedade foi de 7,43 a 2,19 (raça 1) e 7,49 a 1,09 (raça 4). Os índices de reprodução para os demais clones estudados, respectivamente nas raças 1 e 4, foram: 4,53 e 5,46 (Grande Naine); 6,58 e 5,3 (PA 42-44); 3,8 e 6,43 (Thap Maeo); 4,25 e 7,3 (Prata Zulu) e somente para a raça 4, 6,34 (FHIA 2). Esses clones mostraram uma reação do tipo Baixa Resistência para ST 4231; ST4208; FHIA 18; Willians; Bucaneiro; Maçã; Prata Anã e Preciosa, para ambas as raças. Somente para raça 4, os clones PA 4219 e maçã fora de Baixa Resistência. Prata Anã e Preciosa mostram-se moderadamente resistentes à raça 4. Os resultados mostraram ainda que há diferenças para o peso das raízes e na altura das plantas. Entretanto, os resultados mostrados indicam possibilidade de encontrar resistência entre os clones estudados de bananeira.

---

<sup>1</sup>Secretariado Executivo, graduanda, CECAP

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

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

<sup>4</sup>Biólogo, graduado, Universidade Católica de Brasília-UCB

## **180 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA PARA ATUALIZAÇÃO DA BASE DE DADOS “FUNGOS EM PLANTAS DO BRASIL” (Bibliographic revision to bring up-to-date the database of plant fungi in Brazil)**

Simões, L.G.<sup>1</sup>, Guerra, V.C.A.<sup>2</sup>, Silva, V.A.M.<sup>3</sup>, Oliveira, A.S.<sup>4</sup>, Santos, M. R.<sup>5</sup>, Melo, L.A.M.P.<sup>6</sup>, Mendes, M.A.S.<sup>7</sup>

A revisão bibliográfica para atualizar a base de dados e compor a segunda edição do livro “Fungos em plantas no Brasil”, fez-se necessária devido às informações estarem desatualizadas em quatro e oito anos, respectivamente. O levantamento bibliográfico está sendo feito em revistas e sites (nacionais e internacionais) da área de Fitopatologia e armazenados em bancos de dados. Estão sendo levantadas informações sobre: espécie ou gênero do fungo, sua fase anamórfica/teleomórfica, sinônimas, planta hospedeira (nome científico e comum), nome comum da doença, sintomas, forma de transmissão, distribuição geográfica e referências bibliográficas; sempre que disponíveis. Até o momento, foram levantados mais de 200 (duzentos) novos relatos de espécies de fungos/ hospedeiros não descritos no banco de dados disponível, ou no livro. Com a primeira publicação impressa do livro “Fungos em plantas no Brasil” (Mendes *et al.*, 1998), foi possível o conhecimento de 4.193 fungos em 188 famílias e 2.506 hospedeiras. Essas informações são importantes, pois reúne todos os fungos patogênicos ou não, associados às plantas ou parte delas, descritos no Brasil. O acesso a esses dados tem facilitado o trabalho de profissionais de ciências agrárias, florestal, biológicas, fitopatológicas e profissionais de áreas afins, relacionados à extensão e à pesquisa, principalmente nas atividades de inspeção, detecção, identificação e controle de doenças. O resultado desta revisão dará origem à segunda edição do livro que deverá ser no formato Compact Disk (CD). O lançamento está previsto para janeiro de 2007 e propõe atualizar automaticamente o banco de dados disponível para consulta via internet, pelo site da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

---

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

<sup>2</sup>Eng. Agr., graduanda, Universidade Estadual do Piauí-UESPI

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

<sup>4</sup>Bióloga, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Nidera Sementes Ltda.

<sup>6</sup>Analista de Sistemas, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup>Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## **181 - SISTEMA DE INFORMAÇÕES PARA MANIPULAÇÃO DOS DADOS DAS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS BRASILEIRAS, DA EMBRAPA/CENARGEN COM A COOPERAÇÃO DA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE BRASÍLIA (Information system for database manipulation of Brazilian bibliographical references, of Embrapa/Cenargen with the cooperation of Catholic University of Brasília)**

Passos, A.P.<sup>1</sup>, Rissoli, V.R.V.<sup>2</sup>, Tenente, R.C.V.<sup>3</sup>

As pesquisas envolvidas na área de agronegócio contribuem para o avanço da agricultura nacional, além de constituir item expressivo na economia nacional. Para o sistema agroexportador brasileiro, os riscos de transmissão de pragas, em áreas com ocorrência limitada ou em áreas livres, tornou-se um problema grave e necessita de muita atenção. Desta forma, destaca-se a Nematologia, que compreende as pesquisas relacionadas aos nematóides parasitas de plantas, que causam sérios prejuízos à várias culturas. Este estudo é realizado em centros de pesquisa, como o Laboratório de Nematologia da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, tendo grande importância para o fortalecimento do sistema sanitário e fitossanitário, visando a proteção do setor agroexportador brasileiro. Neste contexto, após o levantamento bibliográfico dos trabalhos sobre nematóides do Brasil e o armazenamento dessas informações em um gerenciador de arquivos, a Embrapa, em 2001, tornou-se parceira da UCB e houve a transferência destes dados para o banco de dados cooperativo da Embrapa. Já em 2002, o levantamento da localização geográfica da ocorrência de nematóides no país, foi transferido para o banco separadamente e fornecendo o acesso via Internet de todos estes dados. Em 2006 está sendo entregue o Sistema de Informações das Referências Bibliográficas do Brasil (SIRBB), reformulado para a manipulação dos dados relacionados às referências bibliográficas, já com consulta via Internet. O sistema foi desenvolvido em uma ferramenta de quarta geração e fornece um ambiente gráfico intuitivo para o acesso fácil de usuários que não dominam a informática. Assim, por meio desta reformulação do sistema, será possível um rápido processo de atualização das referências bibliográficas relacionadas aos anos de 2004 a 2006, proporcionando ainda uma ferramenta de pesquisa mais ágil, segura e atual, para todos os pesquisadores, professores e interessados.

---

<sup>1</sup>Ciência da Computação, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>2</sup>Ciência da Computação, doutorando, Universidade Católica de Brasília-UCB

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



## 182 - UMA NOVA FERRAMENTA PARA DAR SUPORTE À IDENTIFICAÇÃO DE NEMATÓIDES DE EXPRESSÃO ECONÔMICA E QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL ( A new tool to support the identification of nematodes of economic and quarantine expression for Brazil)

Souza, A. P. D.B.<sup>1</sup>, Passos, A. P.<sup>2</sup>, Tenente, R. C. V.<sup>3</sup>, Rissoli, V. R. V.<sup>4</sup>, Cares, J. E.<sup>5</sup>, Hiragi, G. O.<sup>6</sup>

A agricultura desempenha um importante papel na economia brasileira, safras maiores a colocaram como cargo chefe das exportações. O sistema agroexportador brasileiro baseia-se na agricultura em grande escala, tornando-se necessário o fortalecimento do sistema sanitário e fitossanitário, pois qualquer desequilíbrio causado pela introdução de uma praga pode causar grande perda de divisas. Visando a proteção desta importante área geradora de divisas nacional, vem sendo elaborada uma base de dados que armazena e manipula imagens, fotos e diagramas de nematóides de expressão econômica e quarentenária para o Brasil. Com a organização desta base de dados almeja-se uma rápida e precisa identificação destas pragas. Esse banco de imagens vem sendo estruturado usando material depositado nas coleções da Embrapa, além dos novos espécimes capturados no material em trânsito ou de intercâmbio com pesquisadores de outros países. As imagens que compõem esta base estão sendo conseguidas através de um sistema composto por um microscópio de contraste de fase, conectado a uma câmera filmadora digital (OLY 200) que captura imagens e as envia ao processamento num microcomputador Pentium III, com placa de captura de imagem Playtv MPEG 2 modelo M 4900. As informações referentes a cada imagem foram armazenadas em um banco de dados, tais como: o estágio de desenvolvimento da praga, sexo, posição relativa do organismo na imagem, estrutura de foco principal que esta sendo fotografada, magnitude do aumento microscópico, formato do arquivo, nome do hospedeiro e a origem do material. Em média foram feitas 12 capturas por espécie, procurando mostrar as características morfológicas que a caracteriza como: estilete, esôfago, cauda, aparelho reprodutor, entre outras. Atualmente, este banco de imagens possui cerca de 800 imagens de nematóides, sendo trabalhadas mais de 40 espécies, principalmente dos gêneros *Aphelenchoides* (11), *Ditylenchus* (10), *Meloidogyne* (4) e *Pratylenchus* (4), devido a importância desses parasitas para o sistema de defesa fitossanitário e a carência de informações sobre as espécies que compõem estes gêneros.

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

<sup>2</sup>Ciência da Computação, graduando, Universidade Católica de Brasília-UCB

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

<sup>4</sup>Ciência da Computação, doutorando, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>5</sup>Eng. Agr., Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

<sup>6</sup>Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### **183 - USO DO MARCADOR SCAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE DIFERENTES POPULAÇÕES DE *Meloidogyne arenaria* (Use of scar marker to identify *Meloidogyne arenaria* populations)**

Santos, M.F.A.<sup>1</sup>, Tigano, M.S.<sup>2</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>2</sup>

Os nematóides de galhas, gênero *Meloidogyne*, incluem-se entre as principais pragas para as culturas agrícolas no Brasil e no mundo. Recentemente, marcador específico do tipo SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) foi desenvolvido para *M. arenaria*, uma das espécies mais disseminadas em vários continentes. Esse marcador foi validado para poucas populações dessa espécie. O objetivo do trabalho foi testar a especificidade do marcador are-A12-F/R com diferentes populações de *M. arenaria*, provenientes de diferentes continentes e apresentando diferentes perfis enzimáticos (esterase e malato-desidrogenase) típicos da espécie. Foram utilizadas 20 populações: *M. arenaria* (15), *M. morociensis* (1), *M. javanica* (1), *M. incognita* (1), *M. mayaguensis* (1) e *M. hapla* (1). Em condição de reação previamente descrita para o marcador SCAR, o par de primers are-A12-F/R amplificou um fragmento de 420pb em 13 populações de *M. arenaria* e uma de *M. morociensis*, e não apresentou amplificação para duas populações de *M. arenaria* e para as demais espécies de *Meloidogyne*. Os resultados mostraram uma alta especificidade dos primers are-A12-F/R, para os diferentes perfis enzimáticos de *M. arenaria* (A1N1, A2N1, A2N3, A3N1), embora duas populações dessa espécie não tenham sido identificadas e *M. morociensis*, espécie morfologicamente muito próxima, tenha sido amplificada por esse marcador.

---

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

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

## 184 - VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne arenaria* ATRAVÉS DA ANÁLISE DE MARCADORES RAPD (Genetic variability of *Meloidogyne arenaria* through rapd analysis)

Santos, M.F.A.<sup>1</sup>, Tigano, M.S.<sup>2</sup>, Almeida, M.R.A.<sup>3</sup>, Randig, O.<sup>4</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>2</sup>

*Meloidogyne arenaria* é uma espécie de nematóide de galhas que apresenta alta variabilidade: características morfológicas, citogenéticas, enzimáticas e moleculares. O objetivo deste trabalho foi estudar a variabilidade intraespecífica de 13 isolados de *M. arenaria* provenientes de diferentes regiões geográficas e com representantes dos quatro perfis isoenzimáticos (esterase e malato-desidrogenase), descritos para a espécie (A1N1, A2N1, A2N3, A3N1). Também foram incluídos no estudo, um isolado de *M. morocciensis* e dois de *Meloidogyne* sp. com perfis enzimáticos semelhantes aos encontrados em *M. arenaria*, assim como representantes das espécies *M. javanica*, *M. incognita* e *M. mayaguensis*. O DNA genômico foi purificado para cada um dos 19 isolados, e utilizados na análise de RAPD. Quarenta e sete primers randômicos de 10 pb foram avaliados, e 714 fragmentos foram selecionados para a análise dos resultados. Os dados foram analisados utilizando-se o programa NTSYS-pc v.2.0. A análise fenética dos dados confirmou a alta variabilidade entre os isolados de *M. arenaria*. Observou-se para os isolados dessa espécie dois grupos com similaridade superior a 50%, exceto o isolado, que representa a única população da raça 1, que parasita o amendoim. Este isolado se apresentou separadamente com baixa similaridade (<46%) com os isolados de *M. arenaria*, assim como com os isolados das espécies *M. incognita* (<30%) e *M. mayaguensis* (<25%). O grupo I de *M. arenaria* inclui os isolados com os perfis enzimáticos A3N1, A2N1 e A1N1, e *M. morocciensis*, que se agrupou com os isolados de fenótipo A3N1, com alta similaridade (>70%). No grupo II, observou-se o agrupamento dos isolados do fenótipo A2N3 de *M. arenaria*. Estudos morfológicos mais detalhados estão em andamento para esclarecer as relações detectadas entre os isolados de *M. arenaria* através de marcadores moleculares.

---

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

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

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



# OUTROS



## **185 - O ESTAGIÁRIO E A IMPLANTAÇÃO DO SISTEMA DE QUALIDADE NA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA (The trainee and the implementation of a quality system in the Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia)**

Galiza, V.S.<sup>1</sup>, Castro, C.S.P.<sup>2</sup>, Coutinho, M.V.<sup>3</sup>, Frazão, H.S.<sup>4</sup>, Marques, A.S.A.<sup>5</sup>, Santana, E.F.<sup>6</sup>, Amaral, Z.P.S.<sup>7</sup>

A implantação de um Sistema da Qualidade (SQ) é uma decisão estratégica da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, que busca por meio da permanente evolução do seu corpo técnico e gerencial e da adequação aos requisitos das normas NBR ISO/IEC 17025 e Boas Práticas de Laboratório, garantir a excelência dos resultados técnicos e manter-se competitiva na geração de tecnologias e na prestação de serviços. O Plano de Ação da implantação do SQ é composto por doze metas, que compreendem atividades de treinamento e sensibilização; diagnóstico; organização do SQ; elaboração dos documentos do SQ; mapeamento de processos; manutenção e calibração de equipamentos e instrumentos; controles de qualidade interno e externo dos resultados; adequação das instalações físicas dos laboratórios; implantação dos programas de gestão ambiental, 5S e auditoria interna; acreditação; ampliação do escopo do SQ. Diante de tantas atividades, qual a metodologia adotada para cumprir as metas e obter acreditação? A criação do Núcleo de Gestão da Qualidade (NGQ) e Comitê da Qualidade (CQ), unidades responsáveis pelo processo de implantação, acompanhamento, avaliação e melhoria contínua do SQ. Quem atua como apoio nas atividades executadas pelo NGQ e CQ? O estagiário de graduação, que se dedica 40 horas semanais, na organização de seminários, workshops, cursos e reuniões do NGQ; organização e manutenção do arquivo físico e eletrônico de documentos do SQ; divulgação da evolução da implantação do SQ por meio da atualização dos 13 murais da qualidade; elaboração e manutenção dos formulários da qualidade; formatação dos procedimentos operacionais padrões (POP); organização das logísticas de viagem dos membros do NGQ; solicitação de materiais de escritório; distribuição e recolhimento de documentos; organização e direcionamento das demandas da qualidade. E quais são os resultados de todo esse trabalho? realização de 2 seminários, 3 workshops, 10 cursos e 42 reuniões do NGQ; elaboração de 5 documentos base do SQ e 226 POP; realização de diagnósticos; calibração de equipamentos; implantação dos programas de gestão ambiental, 5 S e auditoria interna. A soma de todos resultados positivos representa o cumprimento de nove das doze metas que compõem o Plano de Ação de implantação do SQ.

<sup>1</sup>Pedagogia, graduanda, Fac. Brasília Tecnol., Ciências e Educação-FACBRAS

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

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

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

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

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

<sup>7</sup>Assistente, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia





## ÍNDICE DE AUTORES

(A numeração corresponde ao número do resumo)

Abreu, E.F.M. ....	006, 023
Agostini-Costa, T.S. ....	119, 125, 126
Aguiar, R.W.S.A. ....	067
Albuquerque, M.S.M. ....	114, 127, 128, 129
Alegria, M.R.M. ....	139, 152, 153
Allam, T.D. ....	087
Almeida, A.M. ....	069, 083, 086, 088, 100, 106
Almeida, E.R.P. ....	026
Almeida, F. ....	126
Almeida, J.D. ....	038
Almeida, J.P.S. ....	076
Almeida, L.M. ....	001
Almeida, M.R.A. ....	184
Alvarenga, D.O. ....	069, 083, 099, 100, 106
Alves, D.M.T. ....	040
Alves, E. E. A. ....	134
Alves, E.R. ....	010, 013
Alves, T.P.M. ....	037
Amaral, Z.P.S. ....	111, 124, 131, 185
Andrade, A.C. ....	009, 027, 032, 039
Andrade, A.E. ....	018, 041
Andrade, M.T. ....	134
Aquino, M.F.S. ....	072
Aragão, F.J.L. ....	006, 012, 023
Arantes, I.C. ....	035
Araújo, A.C.G. ....	001
Araújo, B. ....	016
Araújo, G.F.P. ....	006
Araújo, M.M. ....	042
Arboleda, J.W. ....	049
Átila-Santos, D. ....	011
Auer, C.G. ....	157
Ávila, Z.R. ....	092
Ayres, K.F. ....	085
Azevedo, F.I. ....	062
Azevedo, V.C.R. ....	130
Báo, S.N. ....	061
Barbosa, E.A. ....	009, 032
Barbosa, A.E.A.D. ....	015, 016, 036, 043
Barrera-Arellano, D. ....	119
Barros, E.V.S.A. ....	002, 029, 043
Barros, L.M.G. ....	038
Barrozo, L.V. ....	120, 121

Bartos, P.M.C. ....	143 , 146
Batista, J.A.N. ....	021
Beltrão, L.H.B. ....	117
Benintende, G. ....	071
Berry, C. ....	105, 108
Bertholdo-Vargas, L.R. ....	046
Bertioli, D.J. ....	020, 040, 122, 123
Beserra, V.A. ....	070, 074, 102
Bittar, P.D. ....	034
Bloch Jr., C. ....	009, 018, 032
Bodens, F.W.P. ....	007
Bonfim, K. ....	012
Borges, M. ....	064, 068, 072, 075, 077, 084, 091, 103
Bravo, A. ....	071
Brito, K.M. ....	027
Brunetta, P.S.F. ....	036
Buso, G.S.C. ....	111, 117, 124, 131, 132, 133, 135
Buso, J. A. ....	131
Bustamante, P.G. ....	146, 149
Butzke, G. ....	058
Buzar, A.G.R. ....	042
Cabral, G.B. ....	008
Cabral, J.R.S. ....	138
Cabrera, L. ....	071
Caetano, L.D. ....	064, 103
Calvacante, C. ....	091
Calvoso-Miranda, L. ....	159
Câmara, J.U. ....	059
Campos, L.A.O. ....	096
Campos, M.A. ....	017
Cano, D.M. ....	124
Capdeville, G. ....	003, 005, 063, 108
Carazzolle, M.F. ....	017
Cardoso, C.F. ....	076
Cardoso, C.R.S. ....	058
Cardoso, L.D. ....	142, 144, 145, 147, 148
Cardoso, S.E.A. ....	086
Cares, J.E. ....	170, 175, 176, 182
Carlini, C.R. ....	046
Carmo, J.R. ....	039
Carneiro, M. ....	038
Carneiro, R.M.D.G. ...	002, 003, 019, 029, 041, 078, 090, 093, 137, 183, 184
Carneiro, V.T.C. ....	001, 008, 010, 013, 014, 030
Carrijo, L.H.D. ....	059
Carrijo, T.S. ....	164
Carvalho, A.A.A.A. ....	132
Carvalho, R.S. ....	151

Castro, C.S.P. ....	185
Castro, E.A. ....	056
Castro, M.E.B. ....	062, 101
Castro, S.T.R. ....	114, 127, 128, 129
Cavalcante, C. ....	068, 091
Cavalcante, K.R. ....	082
Cavalcante, L.L.M. ....	140
Cavéchia, L.A. ....	076
Cerón, J. ....	071
Cerqueira, A.A. ....	117, 124
Cesca, M.S. ....	005
Chrispeels, M.J. ....	011
Ciampi, A.Y. ....	117, 130, 139, 140, 152, 153
Ciriaco, J.P. ....	170, 175
Cirotto, P.A.S. ....	078, 137
Citadin, C.T. ....	026
Costa, M.M.C. ....	033
Costa, P.H.A. ....	048
Costa, P.M. ....	002, 029
Costa, R.L. ....	063
Coutinho, M.V. ....	185
Cozzi, J. ....	071
Cruz, K.R.R. ....	154, 156, 166, 167, 168, 169, 172, 177, 178
Custodio, A.R. ....	109, 134
Damasceno, J.P.S. ....	161
Derner, R.B. ....	026
Dias, C. ....	127
Dias, S.C. ....	024, 048, 085, 096
Dias, T.A.B. ....	141, 149
Diniz, B.T. ....	132
Diniz, I. R. ....	089, 097
Dode, M.A.N. ....	050, 051, 053, 055, 060, 061
Driessen, K. ....	055, 059
Dumas, V. F. ....	065, 066, 104, 105
Dusi, D.M.A. ....	004, 008, 010, 030
Egito, A.A. ....	114, 127, 128, 129
Eira, M.T.S. ....	002, 018
Elpídio, W. ....	028
Erdmann, M. ....	082
Espinoza, A.M. ....	071
Estrela, A.B. ....	005
Evangelista, I.B.R. ....	007, 048
Facó, O. ....	127
Falcão, R. ....	002, 004, 008, 067, 094
Faria, D.A. ....	037, 114, 127, 128, 129
Faria, J.C. ....	012
Faria, J.P. ....	119, 125, 126

Faria, M.R. ....	087, 098
Farias, M.P. ....	042
Fávero, A.P. ....	110, 112, 113, 116, 118, 134, 138
Fernandes, A.F.A. ....	106
Fernandes, L.S. ....	005
Fernandez, D. ....	002
Fernandez, R.S. ....	067
Ferraz, M.L. ....	040
Ferreira, B.S.C. ....	064
Ferreira, D.L.A. ....	027
Ferreira, F.R. ....	118, 138, 146
Ferreira, M.A. ....	111, 124, 132, 135
Ferreira, M.A.J.F. ....	111, 120, 121
Ferreira, M.E. ....	033
Ferreira, R.A.M. ....	174
Fischmann, G.P.A. ....	023
Fonsêca Junior, M.B. ....	179
Fonseca, C.F. ....	161
Fonseca, F.C.A. ....	020
Fontes, E.M.G. ....	070, 074, 076, 079, 085, 089, 096, 097, 102
Fontoura, T.B. ....	117
Fragoso, R.R. ....	028, 041
Fragoso, V.M. ....	165
Franco, M.M. ....	050, 051, 052, 056, 057, 058
Franco, O.L. ....	018
Frazão, H.S. ....	087, 093, 098, 185
Freitas, F.O. ....	140
Freitas, S.M. ....	034
Galiza, V.S. ....	185
Gander, E.S. ....	047, 063
Giotto, A.C. ....	112, 113
Goedert, C.O. ....	151
Goldemberg, R. ....	004
Goldenberg, C.S. ....	065, 066
Gomes Júnior, J.E. ....	043
Gomes, A.C.M.M. ....	002, 003, 008, 010, 137
Gomes, D.M.P.A. ....	100
Gomes, P.A. ....	120, 121
Gomes, R.R. ....	063
Gomes-Silva, E. ....	170, 175
Gonçalves, G.C.P.C. ....	154, 156, 166, 167, 168, 169, 171, 172, 177, 178
Gontijo, S.L. ....	131
Gonzalez, S.P. ....	084
Gouvea, E.G. ....	122, 123
Grattapaglia, D. ....	031, 037, 044, 045, 128, 130, 136
Grimaldi, R. ....	119
Grossi-de-Sá, M. ....	015, 016

Grossi-de-Sá, M.F. 002, 007, 011, 015, 016, 019, 021, 022, 028, 029, 034, 035, 036, 041, 043, 046, 048, 049, 073, 085	
Guerra, V.C.A. ....	180
Guimarães Neto, A.G. ....	052
Guimarães, C.M. ....	033
Guimarães, L.A. ....	014, 030
Guimarães, L.M. ....	021, 041
Guimarães, M.N.K. ....	160
Guimarães, P.M. ....	020, 040, 122, 123
Guimarães, S.E.F. ....	129
Gurgel, F.L. ....	019, 041, 048
Hiragi, C.O. ....	080, 081, 165, 182
Ibarra, J.E. ....	071
Inglis, P.W. ....	005
Ireno, H.N. ....	176
Jeger, C. ....	079
Jorge, L.A.C. ....	103
Junqueira, L.P. ....	124
Junqueira, N. T. V. ....	092, 115
Kanashiro, M. ....	130
Koshino, L.L.N. ....	018
Kraho, F. ....	141
Lacerda, A.L.M. ....	008, 013
Lamas, N.S. ....	111, 124
Landim, A. ....	114
Lara, M.S. ....	096
Laspina, N.V. ....	013
Laumann, R.A. ....	064, 068, 072, 075, 077, 084, 091, 103
Laurindo, D.R. ....	148
Leal-Bertioli, S.C.M. ....	020, 040, 122, 123
Leme, L.O. ....	053, 055, 060
Lima, J.N. ....	049
Lima, L.H.C. ....	080, 081, 125, 160, 165
Lima, L.M. ....	048
Lima, M.A.P. ....	096
Lima, N.I. ....	012
Lima, V.V.F. ....	150
Lopes, A.P.S. ....	077
Lourenço, I.T. ....	028
Luzzi, S.G. ....	122, 123
Macedo, T.R. ....	070, 079, 085, 097
Magalhães, J.C.C. ....	022
Mamaní, E.M. ....	044
Mamão, J.B. ....	143
Marcellino, L. H. ....	047, 063
Mariante, A. S. ....	114, 127, 128, 129
Marinho, G.M. ....	060

Marques, A.S.A. ....	161, 185
Marques, G.A. ....	083, 099, 106
Marques, J.M. ....	133, 135
Martinez-ramirez, A. ....	071
Martins, A.C. ....	051, 059
Martins, A.E. ....	110, 134
Martins, C.F. ....	061
Martins, E.S. ....	065, 066, 067, 071, 080, 081, 108
Martins, I. ....	092, 093, 099, 115
Martins, N.F. ....	014, 017, 026, 029, 042
Martins, V. A. ....	138
Mattar, M.C.S. ....	048
Mattos, C.R. ....	086
Mattos, J.K.A. ....	003, 137
McManus, C. ....	114, 127, 128
Medeiros, M.A. ....	082
Medeiros, M.B. ....	142, 147
Mehta, A. ....	017, 018, 019, 029, 033, 041
Melatti, V.M. ....	067, 095
Mello, S.C.M. ....	069, 083, 086, 088, 092, 099, 100, 106, 115
Melo, D.F. ....	086, 088
Melo, E.O. ....	051, 056
Melo, F.R. ....	065, 066, 104
Melo, J.A.T. ....	032
Melo, L.A.M.P. ....	157, 164, 180
Melo, T. ....	004
Mendes, D.N. ....	025
Mendes, E. ....	012
Mendes, M.A.S. ....	157, 162, 174, 180
Mendes, R.A. ....	142, 144, 145, 147, 148
Menêzes, J.E. ....	005, 069
Menezes, R.S. ....	104
Mesquita, L.F.G. ....	078
Meza-Basso, L. ....	071
Michereff Filho, M. ....	087, 098
Missiaggia, A.A. ....	136
Mollo, M.R. ....	052, 054, 059
Monise, J.N.P. ....	047
Monnerat, R.G. ....	065, 066, 067, 071, 080, 081, 094, 095, 104, 105, 107, 108, 159, 173
Monte, D.C. ....	026
Moraes, M.C.B. ....	064, 068, 072, 075, 077, 084, 091, 103
Moreira, L.R. ....	149
Moretzsohn, M.C. ....	122, 123, 135
Mota, F.C. ....	078, 090
Mota, V.A. ....	089
Motta, L.S.M. ....	072, 077

Moura, M.T. ....	050, 057
Muchagata, I.S. ....	007, 048
Mulinari, F. ....	011, 034, 035, 046, 049
Mundim, A.D. ....	018
Mundim, T.C.D. ....	050, 051, 057
Mundin, R.C. ....	150
Murad, A.M. ....	073
Murata, L.S. ....	129
Nakasu, E.Y.T. ....	070, 082, 085, 096
Nascimento, W.M. ....	120, 121
Navajas, M. ....	159
Navia, D. ....	155, 158, 159, 171
Neves, F.A.R. ....	025
Nicole, M. ....	002
Nielen, S. ....	001, 020
Ohse, B.J.G. ....	124
Oliveira Jr., G. P. ....	063
Oliveira, A.A. ....	128
Oliveira, A.S. ....	162, 174, 180
Oliveira, D.S. ....	132
Oliveira, G.M. ....	076
Oliveira, G.R. ....	036
Oliveira, J.R.P. ....	118, 138
Oliveira, J.T.A. ....	041
Oliveira, M.R.V. ....	154, 156, 160, 165, 166, 167, 168, 169, 172, 173, 177, 178
Oliveira, R.S. ....	048
Oliveira-Neto, O.B. ....	046, 048, 049
Orduz, S. ....	071
Pádua, J.G. ....	045, 136
Pádua, R.R. ....	106, 115
Paes, N.S. ....	007, 019, 029, 041, 048
Pais, V.O. ....	143
Paiva, M.R. ....	117
Paiva, S.R. ....	056, 114, 127, 128, 129
Paiva, W.O. ....	131, 132
Palhares, L.A. ....	103
Pappas Júnior, G.J. ....	031, 045
Passos, A. P. ....	158, 181, 182
Paula-Moraes, S.V. ....	166, 167, 168, 172, 178
Paz, D.B. ....	091
Pegoraro, R.A. ....	062
Peixoto, J.R. ....	092, 115
Pereira, A.A. ....	002
Pereira, J.C. ....	163
Pereira, R.W. ....	037, 040
Pereira Neto, L.G. ....	143
Pessino, S. ....	013

Petroli, C.D. ....	114
Pires, C.S.S. .... 064, 070, 074, 076, 079, 085, 089, 096, 097, 102	
Pires, N. ....	015
Pivato, I. .... 052, 054, 059	
Pontes, N. ....	021
Póvoa, J.S.R. ....	153
Praça, L.B. .... 065, 066, 094, 095, 104, 105	
Prates, M. ....	170, 175
Queiroz, P.R. .... 071, 080, 081, 106, 107, 160, 165	
Quezado, M. ....	035
Rabello, A.R. ....	033
Rabello, F.R. ....	017
Ramiro, C. A. ....	107
Ramos, A.F. .... 052, 054, 059	
Ramos, F.R. ....	066
Ramos, H.B. ....	036
Ramos, V.R. ....	134
Randig O. ....	184
Rangel, P.H.N. ....	033
Rausell, C. ....	071
Real, M.D. ....	071
Reis, M.T. .... 155, 171	
Rezende, S.H.M.S. ....	101
Ribeiro, B.M. ....	067
Ribeiro, C.S.C. ....	135
Ribeiro, F. N. ....	157
Ribeiro, P. A. .... 089, 097	
Ribeiro, V.S. .... 002, 018	
Ribeiro, Z.M.A. ....	062
Rigden, D.J. ....	046
Rincon-Castro, M.C.D. ....	071
Rissoli, V.R.V. .... 158, 176, 181, 182	
Rocha, S.R. ....	019
Rocha, T.L. .... 015, 016, 022, 028, 048, 073	
Rodrigues, J.C.V. ....	159
Romano, E. .... 015, 016	
Rumpf, R. .... 050, 051, 052, 053, 054, 055, 057, 058, 059, 060, 061	
Sales, R.M.O.B. .... 019, 027, 033, 039, 041	
Salomão, A.N. ....	150
Sánchez, J. ....	071
Sansaloni, C.P. ....	031
Santana, C. G. ....	041
Santana, E.F. ....	185
Santin, M.R. ....	124
Santos, A.C.A. .... 154, 156, 166, 167, 168, 169, 172, 177, 178	
Santos, A.C.V. ....	145
Santos, C.E.N. ....	157



Santos, C.R. ....	042
Santos, D.B.M. ....	038
Santos, G.S. ....	098
Santos, M.R. ....	162, 174, 180
Santos, M.F.A. ....	183, 184
Santos, P.H.R. ....	070, 074, 087, 097, 102
Saraiva, M.R.M. ....	094
Sartori, R. ....	051, 052, 054, 059
Saueressig, M.G. ....	054
Schmidt, A.B. ....	109
Sena, J.S. ....	045
Sevilha, A.C. ....	150
Sihler, W. ....	024, 025, 062
Silva, A.A. ....	144
Silva, A.C. ....	017
Silva, E.G. ....	179
Silva, F.L.R. ....	127
Silva, F.R. ....	014, 019, 027, 033, 038, 039, 041
Silva, H.A. ....	120, 121
Silva, H.A.N.S. ....	163
Silva, H.R.F. ....	164
Silva, I.S. ....	085, 089
Silva, J.B.T. ....	069, 083, 086, 100, 106
Silva, L.C.R. ....	126
Silva, L.P. ....	009, 018, 032
Silva, M.C.F. ....	092, 099
Silva, M.C.M. ....	036
Silva, M.S. ....	017
Silva, P.A.P. ....	113, 116, 134
Silva, R.A.V. ....	114
Silva, R.C. ....	122, 123
Silva, S.F. ....	154, 156, 166, 167, 168, 169, 172, 173, 177, 178
Silva, T.S. ....	022
Silva, V.A.M. ....	162, 180
Silva, V.C. ....	032
Silva, W.S. ....	112, 113
Silveira, E.D. ....	013, 014, 030
Silveira, F.A. ....	076
Simeoni, L.A. ....	025
Simões, K.C.C. ....	080
Simões, L. G. ....	157, 180
Siqueira Filho, E. ....	054
Siqueira, C.B. ....	096
Siqueira, E.M.A. ....	119, 126
Sisson, D. ....	024
Soares, C.M. ....	105
Soberon, M. ....	071

Sobral, L.T. ....	038
Sollero, B.P. ....	129
Sousa, A.I.M. ....	170,175, 179
Sousa, F.R. ....	087, 098
Sousa, R.V. ....	057, 058, 060
Souza, A.P.D.B. ....	158, 182
Souza, C.A. ....	128
Souza, C.J.H. ....	056
Souza, D.S.L. ....	015, 016
Souza, F.V.D. ....	138
Souza, J.F. ....	087, 093, 098
Souza, J.R.P. ....	087, 098
Souza, K.F.A. ....	089
Souza, M.L. ....	024, 025, 062, 101
Souza, W.R. ....	164
Souza Júnior, M.T. ....	042
Stanisçuaski, F. ....	046
Sujii, E.R. 064, 070, 074, 076, 079, 082, 085, 087, 089, 095, 096, 097, 102	
Sujii, P.S. ....	139, 152
Teixeira, C.C. ....	122
Teixeira, F.M. ....	015, 016
Teixeira, J.B. ....	007, 018, 138
Tenente, R.C.V. ....	163, 164, 170, 175, 176, 179, 181, 182
Tiburcio, L.M. ....	143
Tigano, M.S. ....	093, 183, 184
Togawa, R.C. ....	033, 042
Togni, P.H.B. ....	070, 074, 082, 085, 097, 102
Toledo, L.V. ....	141, 149
Truol, G.A.M. ....	165
Urben, A.F. ....	133, 162
Valença, A.J. ....	049
Valls, J.F.M. ....	109, 112, 113, 134
Vasconcelos, E.A.R. ....	022
Viana, A.A.B. ....	021, 034
Viana, C.R.B. ....	142, 147
Vieira, A.R.A. ....	064, 075
Vieira, D.L.M. ....	150
Vieira, H.G. ....	068
Vieira, J.V. ....	111
Vieira, M.C. ....	136
Vieira, N.G. ....	027
Vieira, P.H.M. ....	064
Vieira, R. F. ....	119, 125, 126, 144
Vilarinho, K.R. ....	154,156, 166, 167, 168, 169, 172, 173, 177, 178
Villarroel, A.S. ....	127
Vinecky, F. ....	009, 027
Wetzel, M.M.V.S. ....	143, 146

Zerbini Junior, F.M. ....	165
Zimbres, B.Q.C. ....	101

## ÍNDICE DE ORIENTADORES

(A numeração corresponde ao número do resumo)

Abi Soares dos Anjos Marques .....	161
Alan Carvalho Andrade .....	009, 027, 032, 039
Alessandra Pereira Fávero .....	110, 113, 116, 134
Ana Cláudia Guerra de Araújo .....	001
Ana Yamagushi Ciampi .....	117, 130, 139, 140, 152, 153
Anderson Cássio Sevilha .....	150
Angela Mehta .....	017, 018, 019, 033, 041
Arthur da Silva Mariante .....	129
Carmen Sílvia Soares Pires .....	076, 085, 096
Clara Oliveira Goedert .....	151
Clarissa Silva Pires de Castro .....	185
Damares de Castro Monte .....	026
Dário Grattapaglia .....	031, 037, 044, 045, 136
David John Bertoli .....	020, 123
Denise Návia Magalhães Ferreira .....	155, 158, 159, 171
Diva Maria de Alencar Dusi .....	004
Edison Ryoiti Sujii .....	070, 074, 082, 102
Eduardo de Oliveira Melo .....	056
Eliana Maria Gouveia Fontes .....	079, 089, 097
Francisco José Lima Aragão .....	006, 012, 023
Francisco Ricardo Ferreira .....	118, 138, 146
Glauca Salles Cortopassi Buso .....	111, 117, 124, 131, 132, 133, 135
Guy de Capdeville .....	005
João Batista Tavares da Silva .....	069, 083, 086
José Francisco Montenegro Valls .....	109, 112
Lucília Helena Marcellino .....	047, 063
Luzia Helena Correa Lima .....	080, 081, 160, 165
Márcio de Carvalho Moretzsohn .....	122
Maria Aldete Justiniano da Fonseca Ferreira .....	120, 121
Maria Carolina Blassioli Moraes .....	068, 084
Maria Elita Batista de Castro .....	062
Maria Fátima Grossi de Sá ...	002, 007, 011, 015, 016, 021, 022, 034, 035, 036, 043, 046, 048, 049
Maria Magaly V. S. Wetzel .....	143
Maria Regina Vilarinho de Oliveira ....	154, 156, 166, 167, 168, 169, 172, 173, 177, 178
Marlinda Lobo de Souza .....	024, 025, 101
Marta Aguiar Sabo Mendes .....	157, 162, 174, 180
Mauro Carneiro .....	038
Miguel Borges .....	064, 091
Miguel Michereff Filho .....	087, 098
Myrian Silvana Tigano .....	093
Natália Florêncio Martins .....	042
Norma Santos Paes .....	029

Patrícia Goulart Bustamante .....	146
Raul Alberto Laumann .....	072, 075, 077, 103
Regina Maria D. G. Carneiro .....	003, 078, 090, 137, 183, 184
Renata Cesar Vilardi Tenente .....	163, 164, 170, 175, 176, 179, 181, 182
Roberto Sartori Filho .....	051, 059
Rodolfo Rumpf .....	050, 052, 053, 054, 055, 057, 058, 060, 061
Rose Gomes Monnerat ....	065, 066, 067, 071, 094, 095, 104, 105, 107, 108
Rui Américo Mendes .....	142, 144, 145, 147, 148
Samuel Rezende Paiva .....	114, 127, 128
Soraya Cristina de M. Leal-Bertioli .....	040
Sueli Corrêa Marques de Mello .....	088, 092, 099, 100, 106, 115
Tânia da Silveira Agostini-Costa .....	119, 125, 126
Terezinha Aparecida Borges Dias .....	141, 149
Thales Lima Rocha .....	028, 073
Vera Tavares Campos Carneiro .....	008, 010, 013, 014, 030



PÁGINA EM BRANCO - FRENTE

PÁGINA EM BRANCO - VERSO



## VERSO DA ÚLTIMA CAPA

# ÚLTIMA CAPA