

**IV WORKSHOP DO TALENTO ESTUDANTIL**

**1999**

**RESUMOS DOS TRABALHOS**



**ANAIS**

**Embrapa**

*Recursos Genéticos e  
Biotecnologia*



# **IV WORKSHOP DO TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA 1999**

**Anais**

**Resumos dos trabalhos**

***Embrapa***

---

*Recursos Genéticos e Biotecnologia*



**República Federativa do Brasil  
Presidente  
Fernando Henrique Cardoso**

**Ministério da Agricultura e do Abastecimento  
Ministro  
Marcus Vinícius Pratini de Moraes**

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa  
Diretor - Presidente  
Alberto Duque Portugal**

**Diretores - Executivos  
Dante Daniel Giacomelli Scolari  
Elza Angela Battaggia Brito da Cunha  
José Roberto Rodrigues Peres**

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

**Chefia Adjunta de Pesquisa e Desenvolvimento  
Arthur da Silva Mariante**

**Chefia Adjunta de Comunicação, Negócios e Apoio  
José Manuel Cabral de Sousa Dias**

**Chefia Adjunta de Administração  
Maria Viana de Almeida**

**IV WORKSHOP DO TALENTO  
ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS  
GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA  
1999**

**Anais**

**Resumos dos trabalhos**

**Brasília, DF  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
1999**

**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**  
**IV WORKSHOP DO TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA - 1999**

**Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:**

**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.**

SAIN Parque Rural – Final Av. W/5 Norte – Brasília, DF

CEP: 70770-900 Caixa Postal: 02372

PABX: (0XX61) 348-4739 Tel.: (0XX61) 348-4700

Fax: (0XX61) 340-3624 Telex: (0XX61) 1622

**[pmira@cenargen.embrapa.br](mailto:pmira@cenargen.embrapa.br)**

**Comitê de Publicações**

**Presidente:** José Manuel Cabral de Sousa Dias

**Secretária Executiva:** Miraci de Arruda Camara Pontual

**Membros:** Antônio Emídio Dias Feliciano da Silva

Marcos Rodrigues de Faria

Marisa de Goes

Marta Aguiar Sabo Mendes

Rui Américo Mendes

**Suplentes:** Maria Isabel de Oliveira Penteado

Sueli Corrêa Marques de Mello

**Tratamento Editorial:** Miraci de Arruda Camara Pontual

**Normalização Bibliográfica:** Maria Iara Pereira Machado

**Revisão Ortográfica e Resumos:** Responsabilidade dos Autores

**Editoração Eletrônica:** Roger Anderson Mayeda

Viviane Maria Dias Velásques Coelho

Tiragem: 200 exemplares.

IV WORKSHOP DO TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, 4., 1999, Brasília.

**Anais:** Resumo dos Trabalhos. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. 78p.

ISBN

1. Controle Biológico 2. Recurso Genético 3. Biotecnologia I.  
Título

CDD 575.1

© Embrapa – 1999

**EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA**



**COMISSÃO ORGANIZADORA DO IV WORKSHOP DO TALENTO ESTUDANTIL DA  
EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA - 1999.**

**Presidente:** João Batista Tavares da Silva.  
Edvalson Bezerra da Silva.  
Marluce Freire de Lima Araújo.  
Miraci de Arruda Camara Pontual.  
Patrícia Goulart Bustamante.  
Zilda Maria de Araújo Ribeiro.

**CORPO EDITORIAL.**

João Batista Tavares da Silva  
Miraci de Arruda Camara Pontual  
Zilda Maria de Araújo Ribeiro

**COMISSÃO JULGADORA DA APRESENTAÇÃO DOS TRABALHOS**

Concepta Pimentel McManus - Coordenadora da Pós-Graduação  
em Agronomia da UnB  
Kumiko Mizuta - Diretora da FAP/DF  
Lúcio Flávio de Alencar Figueiredo - Professor do Depto. de Biologia / UCB  
Rui Caldas - Consultor da Embrapa/Sede  
Thelma Maria Saueressig - Pesquisadora da Embrapa Cerrados  
Wellington Pereira - Pesquisador da Embrapa Hortaliças

## **APRESENTAÇÃO**

Desde 1996 a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia vem promovendo o “Workshop do Talento Estudantil”. Destina-se, fundamentalmente, a valorizar a atividade acadêmica em nosso Centro, incentivando a exposição, em forma oral e de painéis, dos resultados de pesquisas realizadas por estudantes de graduação e pós-graduação, orientados pelos pesquisadores e técnicos especializados do Centro e a premiar, ainda que simbolicamente, àqueles que mais se destacam.

O interesse em participar deste evento tem aumentado sistematicamente. Em 1996, quando do I Workshop Talento Estudantil, foram apresentados 29 trabalhos entre painéis e exposições orais. Já em 1997 foram apresentados 46 trabalhos e 79 em 1998. Em 1999, foram inscritos 110 trabalhos, quantia que, de forma inequívoca, demonstra o crescente interesse em participar e a consolidação dessa iniciativa.

Os trabalhos apresentados, tanto em forma oral como na forma de painéis, serão avaliados por uma comissão composta por cientistas externos à Unidade. Esses cientistas trabalham em outras unidades da Embrapa, em Universidades públicas e privadas, na Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal, e terão a incumbência de escolher os trabalhos que se destacam pelo mérito científico e qualidade de apresentação.

O IV Workshop do Talento Estudantil, neste ano de 1999, está sendo realizado como parte das comemorações do 25º aniversário do Centro, o que lhe confere, por um lado, um ar solene de evento de grande relevância e por outro, um ar festivo de conagração de orientados e orientadores que ao longo dos anos têm feito com que a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia seja considerada como um Centro de excelência na formação de pesquisadores.

Parabenizamos e agradecemos, antecipadamente, a todos os que participam da organização, apresentação de trabalhos e julgamento do IV Workshop do Talento Estudantil, com a certeza de que a nossa Unidade, através da realização deste evento, busca dar mais um passo em direção ao fortalecimento da pesquisa e do desenvolvimento tecnológico em recursos genéticos, biotecnologia e controle biológico, em benefício da sociedade.

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



# Sumário

<b>BIOLOGIA CELULAR</b> .....	<b>27</b>
<b>001 - ANÁLISE DA PLOIDIA DE SEMENTES APOMÍTICAS E SEXUAIS DE <i>Brachiaria brizantha</i> (A. RICH) STAPF (seed ploidy analysis of apomictic and sexual <i>Brachiaria brizantha</i> (A. Rich) Stapf.)</b> .....	<b>27</b>
Alves, E. R., Penteadó, M. I. O, Carneiro, V. T. C., Araújo, A.C.G <sup>3</sup> . .....	27
<b>002 - CONTROLE REPRODUTIVO DE PLANTAS DUPLICADAS DE <i>Brachiaria brizantha</i> (Reproductive Control of Plants of <i>Brachiaria brizantha</i> Induced Tetraploid.)</b> .....	<b>29</b>
Pereira, R. F. A, Pozzobon, M. T. <sup>1</sup> , Pinheiro, A. A., Araújo, A. C. G. Carneiro, V. T. C. <sup>2</sup> .....	29
<b>003 - EFEITO DA MANOSE NA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE <i>Brachiaria brizantha</i> (Effects of Mannose in Somatic Embryogenesis of <i>Brachiaria brizantha</i>)</b> .....	<b>31</b>
Leite, J. de A, Silveira, E. D. <sup>1</sup> , Cabral, G. B., Rodrigues, J.C.M., De Sá, R.R., Carneiro, V.T.C. ....	31
<b>004 - EFEITO DE INIBIDORES DE ETILENO NA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE CACAU - <i>Theobroma cacao</i> L. (Effect of ethylene inhibitors on somatic embryogenesis of cocoa - <i>Theobroma cacao</i> L.)</b> .....	<b>33</b>
Marbach, P. A. S., Souza, M. P., Teixeira, J. B. ....	33
<b>005 - ESTABELECIMENTO DE UM PROTOCOLO DE SUSPENSÃO CELULAR A PARTIR DE CALOS RADICULARES DE EUCALIPTO <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> (Establishment of a cellular suspension protocol from eucalyptus root calluses <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i> )</b> .....	<b>34</b>
Monteiro, J. S., Barreto Cid, L. P. ....	34
<b>006 - ESTUDOS SOBRE O PÓLEN DE <i>Brachiaria brizantha</i> (Hochstetter ex. A. Richard) Stapf (GRAMINEAE) APOMÍTICA (Studies on the pollen of apomictic of <i>Brachiaria brizantha</i> (Hochstetter ex. A. Richard) Stapf.)</b> .....	<b>35</b>
Alves, E.R., Falcão, R., Gomes, A.C. <sup>2</sup> , Carneiro, V.T.C., Araújo, A.C.G. <sup>3</sup> .....	35

---

<b>007</b> - HIBRIDAÇÃO SOMÁTICA POR FUSÃO DE PROTOPLASTOS EM BANANEIRA .....	37
(Somatic Hybridization by protoplast fusion in banana) .....	37
Lima, F. A., Morais, L. S., Matsumoto, K. ....	37
<b>008</b> - INDUÇÃO DE MULTIBROTAÇÃO EM ABACAXI( <i>Ananas comosus</i> L.) POR MEIO DE BIORREADORES " AIR-LIFT" ( Shoot induction of pineapple through "air-lift" bioreactor) .....	38
Sena, L. C. P. S., Barrueto Cid, L. P. ....	38
<b>009</b> - MICROPROPAGAÇÃO DE OITO CLONES DE ABACAXI ( <i>Ananas comosus</i> L.), EM MEIO SÓLIDO E EM MEIO LÍQUIDO, UTILIZANDO BIORREATOR DE IMERSÃO TEMPORÁRIA (Micropropagation of eight clones pineapple in solid and liquid medium, using bioreactor of temporal imersion) .....	39
Cruz, A.R.R., Ferreira, F.R., Teixeira, J.B. <sup>2</sup> .....	39
<b>BIOLOGIA MOLECULAR</b> .....	<b>40</b>
<b>010</b> - ANÁLISE DE PROMOTORES VISANDO A OBTENÇÃO DE PLANTAS DE SOJA TRANSGÊNICAS COM RESISTÊNCIA A NEMATÓIDES (Promoter expression analysis aiming resistance to phytosedentary nematodes in soybean) .....	40
Santana, F.M., Moreira Jr., D.J.F., Nishijima, M.L. , Guimarães. P.M. ....	40
<b>011</b> - AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE TOMATEIRO VISANDO RESISTÊNCIA A GEMINIVÍRUS DE GENOMA BIPARTIDO DO DISTRITO FEDERAL E DE PERNAMBUCO (Evaluation of tomato genotypes for resistance to bipartite geminiviruses from the Federal District and Pernambuco) .....	41
Santana, F. M., Ribeiro, S.G., Bezerra, I. C., Moreira Jr., D.J. F., Giordano, L.B. ....	41
<b>012</b> - CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA EM INTESTINOS DE BICUDO-DO-ALGODOEIRO ( <i>Anthonomus grandis</i> , Bohema, 1843) E ISOLAMENTO DE cDNAs DE PROTEINASES SERINA E CISTEINA (Characterization of the proteolytic activity in the midgut of <i>Anthonomus grandis</i> , Bohema, 1843 and isolation of cDNAs encoding serine and cysteine proteinases) .....	42
Oliveira-Neto, O.B., Batista, J.A.N., Fragoso R.R., Dias, S.C., Monnerat, R.G.; Grossi de Sá, M.F. <sup>5</sup> .....	42

---

- 013** - CLONAGEM E EXPRESSÃO DA CAPA PROTÉICA DE GEMINIVÍRUS DE TOMATEIRO EM *Escherichia coli* PARA ESTUDOS SOROLÓGICOS (Cloning and expression of the coat protein of tomato infecting geminivirus in *Escherichia coli* for serological studies) ..... 44  
Orlandini, D.R.S. Miranda, J.D.R.<sup>1</sup>, Inoue-Nagata, A.K., Nagata, T., Bezerra, I.C., Ávila, A.C. de , Ribeiro, S.G. .... 44
- 014** - CLONAGEM E EXPRESSÃO DE FRAGMENTO DE DNA QUE CODIFICA PARA A PROTEÍNA *rol A* DE *Agrobacterium rhizogenes* EM SISTEMA DE EXPRESSÃO DE LEVEDURA (Cloning and expression of the *Agrobacterium rhizogenes rol A* coding region in yeast expression system) ..... 46  
Assis, C. M., Oliveira, M.S., Sihler, W.3, Rocha, T.L. , Carneiro, M.<sup>4</sup> ..... 46
- 015** - DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE PLANTAS UTILIZANDO FRAGMENTOS DE DNA (Development of a protocol to genetically transform plants using DNA fragments) ..... 47  
Vianna, G. R., Rech, E. L. , Aragão, F. J. L. <sup>2</sup> ..... 47
- 016** - DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA PARA OBTENÇÃO DE PLANTAS DE FEIJÃO RESISTENTES AO VÍRUS DO MOSAICO DOURADO DO FEIJOEIRO (Development of a system for obtaining bean plants resistant to the Bean Golden Mosaic Virus ) ..... 48  
Jungmann, L. C., Albino, M.M.C., Dias, B.B.A., Vianna, G.R., Rech, E.L., Faria, J. C., Aragão, F. J. L.<sup>5</sup> ..... 48
- 017** - EFEITO DA 5-AZACITIDINA NA REGENERAÇÃO E TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE EUCALIPTO (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*) (5-azacytidine effect in the regeneration and genetic transformation of the eucalyptus (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*) ..... 50  
Sartoretto, L.M. Esmeraldo, M.V., Deus, S.O., Brasileiro, A.C.M. .... 50
- 018** - ENSAIOS PRELIMINARES DE TRANSFORMAÇÃO DE CAFEEIRO ATRAVÉS DO PROCESSO BIOBALÍSTICO ..... 51  
Araújo, G.B., Barros, E.V.S.A., Araújo, L.F.C., Brasileiro, A.C.M. .... 51
- 019** - EXPRESSÃO DA LECTINA TARINA 1 DE *Colocasia esculenta* EM *Nicotiana tabacum* (Expression of the lectin tarin1 from *Colocasia esculenta* in *Nicotiana tabacum*) ..... 52  
Pascoal, A.V., Bertoli, D., Guimarães, P.M. , Monte, D.C.<sup>3</sup> ..... 52
-



<b>020</b> - EXPRESSÃO DA TOXINA Cry1Ab DA ESTIRPE S93 DE <i>Bacillus thuringiensis</i> SUBSP. <i>kurstaki</i> EM SISTEMA HETERÓLOGO ( <i>Pichia pastoris</i> ) (Heterologous expression of <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> strain S93 Cry1Ab toxin in <i>Pichia pastoris</i> ) .....	53
Menegaz, N.E.V., Marques, A.R., Inglis, P.W., Grossi de Sá, M.F., Silva-Werneck, J.O. ....	53
<b>021</b> - INIBIDORES DE $\alpha$ -AMILASE DO TRIGO ATIVOS CONTRA $\alpha$ -AMILASES DE BRUQUÍDEOS E EXPLICAÇÃO ESTRUTURAL DAS ESPECIFICIDADES OBSERVADAS (Activity of wheat $\alpha$ -amylase inhibitors towards bruchid $\alpha$ -amylases and structural explanation of observed specificities) .....	54
Franco, O.L., Ridgen, D.J., Melo, F.R., Bloch Jr., C. , Grossi de Sá, M.F. ....	54
<b>022</b> - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE cDNAs CODIFICADORES DE ASPÁRTICO E SERINO PROTEASES DE NEMATÓIDES DE GALHA <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. javanica</i> (Isolation and characterization of cDNAs encoding aspartyl and serine proteinases from the root-knot nematodes <i>Meloidogyne incognita</i> and <i>M. javanica</i> ) .....	56
Fragoso, R.R., Batista, J.A.N., Pinto, A.C.M., Oliveira-Neto, O.B., Cordeiro, M.C.R., Grossi de Sá, M.F. ....	56
<b>023</b> - OBTENÇÃO DE PLANTAS TRANSGÊNICAS DE FEIJÃO ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L. ) TOLERANTES AO HERBICIDA PPT (Transgenic dry bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) resistant to the herbicide PPT) .....	58
Albino, M.M.C., Jungmann, L.C., Dias, B.B.A. <sup>1</sup> , Andrade, J.F., Vianna, G.R., Aragão, F.J.L., Rech, E.L. <sup>5</sup> .....	58
<b>024</b> - PROCESSO PARA A OBTENÇÃO DE PLANTAS TRANSGÊNICAS DE ALGODÃO UTILIZANDO O GENE <i>ahas</i> QUE CONFERE TOLERÂNCIA AO HERBICIDA IMAZAPYR (A process for obtention of transgenic cotton with the gene <i>ahas</i> to achieve tolerance to the herbicide Imazapyr) .....	59
Carvalho, S. B. R., Vianna, G.R., Rech, E.L. , Aragão, F. J. L. ....	59
<b>025</b> - SELEÇÃO DE INIBIDORES DE PROTEINASES CISTEÍNICAS ESPECÍFICOS PARA O BRUQUÍDEO <i>Acanthoscelides obtectus</i> ATRAVÉS DO USO DE BIBLIOTECA PHAGE DISPLAY (Sceening of cysteine proteinase inhibitors with specificity to bruchid <i>Acanthoscelides obtectus</i> using Phage Display library) .....	60
Melo, F.R., Mello, M.O., Silva Filho, M.C., Silva, M.C.M., Genú, A.M., Franco, O.L. , Grossi de Sá, M.F. ....	60

---

<b>026 - SOBREVIVÊNCIA E DETECÇÃO DE LINHAGENS CO-TRANSFORMADAS DE <i>Trichoderma harzianum</i> POR NESTED-PCR UTILIZANDO PRIMERS PARA O GENE DA <i>EGFP</i> (Survival and detection of co-transformed strains of <i>Trichoderma harzianum</i> by NESTED-PCR with primers to <i>egfp</i> gene) .....</b>	<b>62</b>
Queiroz, P.R., Inglis, P.W., Valadares-Inglis, M. C. ....	62
<b>027 - TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE CÉLULAS EMBRIONO GÊNICAS DE BANANA UTILIZANDO COMO AGENTE SELETIVO O HERBICIDA IMAZAPYR, VIA BIOLÍSTICA (Genetic transformation of embryogenic suspension cells of banana using as selection agent the herbicide imazapyr, via Biolística) .....</b>	<b>63</b>
Morais, L.S., Matsumoto, K., Aragão, F.J.L. <sup>2</sup> , Rech, E.L. <sup>2</sup> .....	63
<b>028 - VERIFICAÇÃO DO PADRÃO DE EXPRESSÃO ESPACIAL E TEMPORAL DOS PROMOTORES 2.5 E 1.38(4) EM PLANTAS TRANSGÊNICAS (Spatial and temporal verification of the expression pattern of the 2.5 and 1.38(4) promoters in transgenic plants) .....</b>	<b>65</b>
Viana, A.A.B., Barros, L.M.G., Barreto, C.C., Carneiro, M. ....	65
<b>CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA .....</b>	<b>67</b>
<b>029 - ANÁLISE DA HERANÇA DE LOCOS MICROSATÉLITES MARCADOS COM FLUORESCÊNCIA EM SUMAÚMA (<i>Ceiba pentandra</i>) E ESTIMATIVA DE FECUNDAÇÃO CRUZADA EM POPULAÇÕES NATURAIS (Heritance analysis of fluorescently labeled microsatellites loci in Sumauma (<i>Ceiba pentandra</i>) and estimation of outcrossing rate in natural populations) .....</b>	<b>67</b>
Missiaggia, A. A., Kirst, M., Silveira, F.Q., Gaiotto, F.A., Brondani, R.P.V., Gribel, R., Grattapaglia, D. ....	67
<b>030 - ANÁLISE GENÉTICA COM RAPD E MICROSSATÉLITES INDICAM FORTE ESTRUTURAÇÃO FAMILIAR NA REGENERAÇÃO DE <i>Cedrela odorata</i> EM MATA CILIAR NO CERRADO. (Genetic analysis with RAPD and microsatellite markers indicates strong family structure of the regeneration of <i>Cedrela odorata</i> in Cerrado Gallery Forest.) .....</b>	<b>69</b>
Soares, C.N., Grattapaglia, D. ....	69
<b>031 - ANÁLISE GENÉTICA DE ACESSOS DE ARROZ VERMELHO (<i>Oryza spp.</i>) COLETADOS NO BRASIL E NA VENEZUELA: HÍBRIDO INTERESPECÍFICO, VARIEDADE TRADICIONAL OU ERVA DANINHA? (Genetic analysis of red rice accessions (<i>Oryza spp.</i>) collected in Brazil and Venezuela: interespecific hybrid, traditional varieties or weed?) .....</b>	<b>71</b>
Lins, T.C.L., Silva, N.J.M.L., Amaral, Z.P.S., Rangel, P.H.N., Ferreira, M.E. <sup>4</sup> .....	71

---

- 032** - CARACTERIZAÇÃO DO GERMOPLASMA DE ARROZ DE ACORDO COM O AMBIENTE DE ORIGEM, ATRAVÉS DE SIG (Characterization of rice germplasm according to the environmental aspects of origin, using GIS). ..... 73  
Silva, J.C. M.M., Burle, M.L., Alves, R.B.N., Freire, M.S., Melo, L.A.M.P. de , Fonseca, J.R. .... 73
- 033** - CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE ABACAXI: INFLORESCÊNCIA E FLOR (Characterization and evaluation of pineapple germplasm: Inflorescence and flower) ..... 75  
Souza, J.L.B., Ferreira, F.R., Cabral, J.R.S., Duval, M.F. .... 75
- 034** - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICO-AGRONÔMICA DE GERMO-PLASMA DE ABACAXI: PLANTA E FRUTO (Morphological and horticultural characterization of pineapple germplasm: plant and fruit) ..... 76  
Santos, C.W.F., Ferreira, F.R., Cabral, J.R.S., Duval, M.F. .... 76
- 035** - CONSTRUÇÃO DE UM MAPA GENÉTICO REFERÊNCIA PARA O GÊNERO *Eucalyptus* BASEADO EM MARCADORES MICROSSATÉLITE (Construction of a reference genetic map for the *Eucalyptus* genus based on microsatellite markers) ..... 77  
Brondani, R.P.V., Grattapaglia, D. .... 77
- 036** - CONTAGENS CROMOSSÔMICAS EM NOVOS ACESSOS DE GERMOPLASMA DE ESPÉCIES DE *Paspalum* (Gramineae) DO RIO GRANDE DO SUL DO BRASIL (Chromosomic counts in new germoplasm accessions of *Paspalum* (Gramineae) species of Rio Grande do Sul of Brazil) ..... 78  
Machado, A.C. de C., Pozzobon, M.T., Valls, J.F.M., Santos, S. dos , Araujo, F.L.<sup>1</sup> ..... 78
- 037** - CORRELAÇÃO ENTRE DISTÂNCIA GENÉTICA DE PARENTAIS E PERFORMANCE DE HÍBRIDOS DE ARROZ (*Oryza sativa*) (Correlation between genetic distance of parents and performance of hybrids of rice (*Oryza sativa*) ..... 80  
Beló,A., Cavalheiro,S.T., Ferreira,M.A., Amaral,Z.P.S., Guimarães, E., Rangel, P.H.N. <sup>5</sup>, Ferreira, M.E. .... 80
- 038** - DISTRIBUIÇÃO REGIONAL DA VARIABILIDADE EM RAPD E cpDNA DE AROEIRA (*Myracrodruon urundeuva* - Anacardiaceae) (Regional distribution of RAPD and cpDNA variability in Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* – Anacardiaceae)) ..... 82  
Reis, A.M.M., Grattapaglia, D. .... 82
-



- 039** - FINGERPRINTING DE DNA NA AVALIAÇÃO DE DUPLICAÇÕES DE GENÓTIPOS NO BANCO DE GERMOPLASMA DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) (DNA fingerprinting of rice germoplasm (*Oryza sativa* L.), aiming evaluation of genotypic duplications) ..... 83  
Silva, N.J.M.L., Lins, T.C. L., Amaral, Z., Rangel, P.H.N., Ferreira, M.E.<sup>4</sup> ..... 83
- 040** - HÍBRIDOS ENTRE ESPÉCIES DO GÊNERO *Arachis* (*Leguminosae*) COM 2n=18 CROMOSSOMOS (Hybrids between species of genus *Arachis* (*Leguminosae*) with 2n=18 chromosomes) ..... 85  
Peñaloza, A. de P. de S. , Valls, J.F.M. .... 85
- 041** - HISTÓRIA DAS CULTIVARES COMERCIAIS DE *Arachis pintoi* (*Leguminosae*) ..... 86  
(History of the commercial cultivars of *Arachis pintoi* (*Leguminosae*))  
Paganella, M.B. , Valls, J.F.M. .... 86
- 042** - MAPEAMENTO DE GENES EXPRESSOS E CO-LOCALIZAÇÃO COM QTLs CONTROLANDO CARACTERÍSTICAS DE INTERESSE ECONÔMICO EM *Eucalyptus* (Gene mapping and co-localization with QTLs controlling commercially important traits in *Eucalyptus*) ..... 87  
Esmeraldo, M.V., Kirst, M. , Grattapaglia, D. .... 87
- 043** - MICROSSATÉLITES FLUORESCENTES: UMA PODEROSA FERRAMENTA NO ESTUDO DE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Euterpe edulis* (PALMITO JUÇARA) (Fluorescent-labeled microsatellite markers: a powerful tool for population genetic study of heart of palm “palmito” (*Euterpe edulis*) ..... 88  
Gaiotto, F.A., Kirst, M., Grattapaglia, D., Vencovsky, R. .... 88
- 044** - NOVAS ESPÉCIES DE *Capsicum* COLETADAS NA MATA ATLÂNTICA BRASILEIRA E SUA RELAÇÃO GENÉTICA COM ESPÉCIES CULTIVADAS DE PIMENTA: UMA PRIMEIRA ABORDAGEM GENÉTICA UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES. (New putative *Capsicum* species collected in the brazilian Atlantic Forest and their genetic relationship with cultivated peppers: a first genetic view using molecular markers) ..... 90  
Lourenço, R.T., Bianchetti, L.B., Lins, T.C.L., Lemos, N.J.M., Buso, G.S.C., Pozzobon, M. T., Ferreira, M.E.<sup>5</sup> ..... 90
- 045** - VARIAÇÃO GENÉTICA EM NOVE LOCOS MICROSSATÉLITE, CARACTERIZADOS EM CINCO PROCEDÊNCIAS DE *Eucalyptus grandis* (Genetic variation of nine microsatellites in five provenances of *Eucalyptus grandis*) ..... 92  
Kirst, M. , Grattapaglia, D. .... 92
-

<b>CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS .....</b>	<b>93</b>
<b>046 - A DISTRIBUIÇÃO DE AROEIRA <i>Astronium urundeuva</i> (Fr. All.) Engl., E SUA ASSOCIAÇÃO COM VARIÁVEIS GEOAMBIENTAIS: UM ESTUDO PRELIMINAR (The distribution of <i>Astronium urundeuva</i> (Fr. All.) Engl. and its association with geographical and environmental variables: a preliminary study) .....</b>	<b>93</b>
Almeida, F. D. de, Leite, E.J., Melo, L.A.M.P. de, Silva, J.A. da <sup>2</sup> .....	93
<b>047 - ANA E IBA NA INDUÇÃO DE ENRAIZAMENTO EM ASPARGO (<i>Asparagus officinalis</i>) (ANA and IBA to induce garden asparagus rooting - <i>Asparagus officinalis</i>) .....</b>	<b>95</b>
Silva, A.G. da, Cardoso, L.D. , Mendes, R.A. ....	95
<b>048 - BANCO DE GERMOPLASMA DE <i>Bacillus</i> spp. ENTOMOPATOGÊNICOS (A culture collection of entomopathogenic <i>Bacillus</i> spp.) .....</b>	<b>96</b>
Silva , S.F. , Monnerat, R.G. ....	96
<b>049 - COLETAS DE <i>Phaseolus lunatus</i> NO BRASIL ( Collecting of <i>Phaseolus lunatus</i> in Brazil) .....</b>	<b>97</b>
Gonçalves, L.F., Silva, D.J.H., Wetzel, M.M.V.S. , Casali, V.W.D <sup>2</sup> .....	97
<b>050 - CONSERVAÇÃO A LONGO PRAZO DE SEMENTES DE <i>Sclerolobium paniculatum</i> (Vogel. var. <i>subvelutinum</i> Benth.) (CARVOEIRO) (Long term conservation of <i>Sclerolobium paniculatum</i> seeds (Vogel.var. <i>subvelutinum</i> Benth.) (Carvoeiro)) .....</b>	<b>98</b>
Bueno, P.C., Sampaio, P. E. A., Wetzel, M.M. V. da S.....	98
<b>051 - CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS DE EUCALIPTO (Eucalypt genetic resources conservation) .....</b>	<b>99</b>
Pinto, D.C. de C., Moura, V.P.G., Faiad, M.G.R., Wetzel, M.M.V.da S. ....	99
<b>052 - CRIOPRESERVAÇÃO DE <i>Euterpe edulis</i> E <i>E. oleracea</i>, PALMAE (Cryopreservation of <i>Euterpe edulis</i> and <i>Euterpe oleracea</i>, Palm.) .....</b>	<b>100</b>
Lopes, A. de O., Lopes, G. de O., Scariot, A. , Salomão, A.N. ....	100
<b>053 - DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE GERMINAÇÃO E DO COMPORTAMENTO PARA FINS DE CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Tapirira guianensis</i> Aubl. (Determination of the germination temperature and behavior of <i>Tapirira guianensis</i> Aubl. seeds for conservation) .....</b>	<b>102</b>
Bueno, P.C., Ramos, K.M.O., Salomão, A. N. ....	102

---

<b>054 - DETERMINAÇÃO DO COMPORTAMENTO PARA FINS DE CONSERVAÇÃO DE DUAS ESPÉCIES DA FAMÍLIA CONNARACEAE (Storage behavior in two species of Connaraceae family) .....</b>	<b>103</b>
Bueno, P.C. , Wetzel, M.M.V. ....	103
<b>055 - DIMINUIÇÃO NO FORNECIMENTO DO OXIGÊNIO NA CONSERVAÇÃO IN VITRO DE MANDIOCA (Oxygen reduction to cassava in vitro conservation) .....</b>	<b>104</b>
Batista, A.C., Labuto, L.B.D. , Mendes, R.A. ....	104
<b>056 - EFEITO DA DESIDRATAÇÃO NAS FASES DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Tapirira guianensis</i> AUBL (Effect of dehydration of <i>Tapirira guianensis</i> Aubl. seeds in diferent germination phases) .....</b>	<b>105</b>
Bueno, P.C., Ramos, K.M.O., Salomão, A.N. ....	105
<b>057 - ESTRATÉGIAS DE MARKETING PARA O BANCO BRASILEIRO DE GERMOPLASMA – GENEBANCO ( Marketing Strategies for the Brazilian Germoplasm Bank – GENEBANCO ) .....</b>	<b>106</b>
Haraguchi, C.A.T. , Souza, J.V. ....	106
<b>058 - FENOLOGIA REPRODUTIVA DE <i>Euterpe edulis</i> (PALMAE) EM UMA MATA DE GALERIA DO PARQUE NACIONAL DE BRASÍLIA – DF (Reproductive Phenology of <i>Euterpe edulis</i> (Palm) in a Gallery Forest in the Brasília National Park, DF) .....</b>	<b>107</b>
Lopes, G. de O., Lopes, A. de O. <sup>1</sup> , Gonçalves, K.G.C. , Scariot, A. ....	107
<b>059 - FENOLOGIA REPRODUTIVA DE <i>Geonoma pohliana</i> (PALMAE) EM UMA MATA DE GALERIA DO PARQUE NACIONAL DE BRASÍLIA – DF (Reproductive Phenology of <i>Geonoma pohliana</i>, Palm, in a Gallery Forest in the Brasília National Park, DF) .....</b>	<b>108</b>
Lopes, A. de O., Lopes, G. de O. <sup>1</sup> , Gonçalves, K.G.C. , Scariot, A. ....	108
<b>060 - GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES DE SEMENTES DE FRUTO IMATURO DA ORQUÍDEA <i>Bletia catenulata</i> (Embryo germination and development of seeds from unmaturred orchid <i>Bletia catenulata</i> fruit) .....</b>	<b>109</b>
Mello, C.M.C. de, Mendes, R.A., Cardoso, L.D. , Caldas, L.S. ....	109
<b>061 - ORGANIZAÇÃO DOS DADOS DE PASSAPORTE DOS ACESSOS DE ARROZ NA COLEÇÃO DE BASE (Management of acessions passport data in the rice base collection) .....</b>	<b>110</b>
Pereira, G.A., Faiad, M.G.R. , Alves, R.B.N. <sup>2</sup> .....	110

---



<b>062</b> - PARÂMETROS DEMOGRÁFICOS DE <i>HYMENAEA COURBARIL</i> L. E <i>COPAIFERA LANGSDORFFII</i> DESF. EM MATAS DE GALERIA NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL (Demographic parameters of <i>Hymenaea courbaril</i> L. and <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. in Gallery Forests in the Federal District, Brazil) .....	111
Guarino, E.S.G., Walter, B.M.T. ....	111
<b>063</b> - REDE DE CONSERVAÇÃO DE RECURSOS FITOGENÉTICOS (Plant Genetic Resources Conservation Network) .....	112
Amorim, A.R.F. , Bustamante, P.G. ....	112
<b>064</b> - RESÍDUOS ORGÂNICOS DA DESCASCA DA PUPUNHA UTILIZADOS COMO SUBSTRATOS PARA O CULTIVO DE DUAS VARIEDADES DE <i>Pleurotus ostreatus</i> (Organic residues of Pupunha bark used as substrate for cultivation of the two varieties of <i>Pleurotus ostreatus</i> ) .....	113
Oliveira, H.C.B. de, Urben, A.F. , Santos, J.K.P. ....	113
<b>065</b> - USO DE CÂMERAS FOTOGRÁFICAS AUTOMÁTICAS PARA ESTIMATIVA DO TAMANHO POPULACIONAL E PERÍODO DE ATIVIDADE DE PACA ( <i>Agouti paca</i> ) (The use of camera-traps to estimate population size and activity in paca ( <i>Agouti paca</i> )) .....	114
Sacramento, M.F., Tomas, W.M., Miranda, G.H.B. de, Kutchenski Jr, F.E. <sup>1</sup> .....	114
<b>CONTROLE BIOLÓGICO</b> .....	<b>116</b>
<b>066</b> - ÁCIDO BÓRICO AUMENTA O NÚMERO DE CÉLULAS DO INTESTINO DE <i>Anticarsia gemmatalis</i> INFECTADAS COM DOIS RECOMBINANTES DO NUCLEOPOLYHEDROVIRUS DE <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Boric acid increases the number of <i>Anticarsia gemmatalis</i> midgut cells infected with two recombinant <i>Anticarsia gemmatalis</i> nucleopolyhedrovirus) .....	116
Melo, A.A.M., Pontes, A.R.M., Soares, J. de S., Siqueira, C.B., Ribeiro, B.M., Castro, M.E.B. ....	116
<b>067</b> - AVALIAÇÃO DO CICLO DE VIDA DO PREDADOR <i>Nephaspis geminii</i> (Coleoptera, Coccinellidae) PARA CONTROLE DE <i>Bemisia tabaci</i> RAÇA B (Hemiptera, Aleyrodidae) EM PLANTAS DE COUVE (Life history of the predator <i>Nephaspis geminii</i> (Coleoptera, Coccinellidae) for <i>Bemisia tabaci</i> control in cabbage) .....	118
Gonçalves, P.R.V. , Oliveira, M.R.V. ....	118

---

- 068** - BIONOMIA DO BICUDO DO ALGODOEIRO CRIADO EM DIETA ARTIFICIAL (Bionomy of bollweevil reared on artificial diet) ..... 120  
Nobre, S.D.N., Sujii, E. R., Schimidt, F.G.V., Dias, S.C., Lauman, R., Monnerat, R.G. .... 120
- 069** - CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E MOLECULAR DE ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis* PATOGÊNICOS PARA INSETOS (Biochemical and molecular characterization of *Bacillus thuringiensis* strains pathogenic against insects) ..... 121  
Bonfim, K., Silva, S.F.<sup>1</sup>, Silva-Werneck, J.O., Dias, S.C., Monnerat, R.G. .... 121
- 070** - CARACTERIZAÇÃO ELETROFORÉTICA DE PROTEÍNAS DE *Bacillus thuringiensis* PATOGÊNICOS PARA DÍPTERO E LEPIDÓPTERO (Electrophoretic characterization of proteins of *Bacillus thuringiensis* pathogenic diptera and lepidoptera) ..... 123  
Silva, S.F., Oliveira-Neto, O.B. , Monnerat, R. G. .... 123
- 071** - CRESCIMENTO DE *Cercospora Caricis* EM MEIO ADICIONADO DE HERBICIDAS ..... 124  
Caixeta, C.B., Carvalho, I.M., Graziotti, P.H., Mello, S.C.M. .... 124
- 072** - DESENVOLVIMENTO DE ARMADILHAS COM FEROMÔNIO SEXUAL PARA O MONITORAMENTO DO COMPLEXO DE PERCEVEJOS DA SOJA (Development of sexual feromone trap for monitoring of stink bug in soybean field) ..... 125  
Almeida, J. R M. de, Vieira, W. B., Pires, C. S. S., Sujii, E. R., Schimidt, F. G. V., Borges, M., Zarbin, P.H.G. .... 125
- 073** - EFEITO DA QUALIDADE DO ALIMENTO NA FERTILIDADE DA CIGARRINHA-DAS-PASTAGENS, *Deois Flavopicta* (Effect of food quality on the fertility of spittlebug) ..... 127  
Figueiredo, A.L.P., Sujii, E.R. , Pires, C. S. S. .... 127
- 074** - EFICIÊNCIA DE *Cercospora caricis* NO CONTROLE BIOLÓGICO DA TIRIRICA, COM E SEM A CULTURA DA SALSA (*Petroselinum crespum*), EM CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO (Efficiency of *Cercospora caricis* in purple nutsedge biology control, with and without parley (*Petroselinum crespum*), under greenhouse conditions) ..... 128  
Teixeira, E.A., Carvalho, I.M. , Mello, S.C.M. .... 128
-



- 075** - EFICIÊNCIA DE *Cercospora caricis* NO CONTROLE DE TIRIRICA, EM CULTURA DO MILHO, SOB CONDIÇÕES DE CAMPO (Efficiency of *Cercospora caricis* for the control of purple nutsedge on maize under field conditions) ..... 129  
Teixeira, E.A., Gangana, F.S.F. , Mello, S.C.M. .... 129
- 076** - INFECTIVIDADE DE *Cercospora caricis* EM PLANTAS DE TIRIRICA, PRODUZIDAS ATRAVÉS DE DIFERENTES EXPLANTES, EM CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO (Infectivity of *Cercospora caricis* in purple nutsedge plants produced from different explants, under greenhouse conditions) ..... 130  
Teixeira, E. A., Caixeta, C. B. , Mello, S. C. M. .... 130
- 077** - INFLUÊNCIA DA PLANTA HOSPEDEIRA SOBRE O PARASITISMO DE *Bemisia tabaci* (GENNADIUS) RAÇA B POR *Encarsia formosa* GAHAN (Host plant influence on the *Bemisia tabaci* raça B ninfal stage parasitism by the parasitoid *Encarsia formosa*) ..... 131  
Moraes, F.A.B. , Laumann, R. A., Oliveira, M.R.V..... 131
- 078** - ISOLAMENTO DE NOVAS ESTIRPES BRASILEIRAS DE *Bacillus thuringiensis* E DETERMINAÇÃO DA SUA PATOGENICIDADE CONTRA *Anticarsia gemmatalis* E *Spodoptera frugiperda* (Isolation of new Brazilian strains of *Bacillus thuringiensis* and determination of their pathogenicity against *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda*) ..... 132  
Aguiar, M.S., Bonfim, K., Pessanha, R., Monnerat, R.G. .... 132
- 079** - METODOLOGIA DE BIOENSAIO UTILIZANDO *Bacillus thuringiensis* CONTRA O BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*) (Biossay methodologies using *Bacillus thuringiensis* against boll weevil) ..... 133  
Dias, S.C., Grossi de Sá, M.F., Oliveira-Neto, O.B., Monnerat, R.G.<sup>2</sup> ..... 133
- 080** - MODELO DA DINÂMICA DO FUNGO *Nomuraea rileyi* EM POPULAÇÕES DE *Anticarsia gemmatalis* NA REGIÃO DO DISTRITO FEDERAL (Dynamic model of the fungus *Nomuraea rileyi* in *anticarsia gemmatalis* populations in the region of Federal District). ..... 134  
Carvalho, V.A.M., Soares, C.M.S., Sujii, E.R., Tigano, M.S. .... 134
- 081** - PRODUÇÃO DE HIDROLASES POR ISOLADOS DE *TRICHODEMA* SP. COM POTENCIAL ANTAGÔNICO CONTRA *Crinipellis pernicioso* E CARACTERIZAÇÃO DE UMA QUITINASE E UMA PROTEASE (Hydrolases production from *Trichodema* sp.with antagonism against *Crinipellis pernicioso* and characterization of one chitinase and one protease) ..... 135  
De Marco, J.L., Felix, C.R., Valadares-Inglis, M.C. .... 135
-

<b>082</b> - SUSCEPTIBILIDADE DE SEIS LINHAGENS CELULARES AO NUCLEOPOLIÉDROVÍRUS DE <i>Anticarsia gemmatalis</i> (AgMNPV) (Susceptibility of six insect cell lines to <i>Anticarsia gemmatalis</i> Nucleopolyhedrovirus) .....	136
Pontes, A.R. de M., Ribeiro, Z.M. de A. , Castro, M.E.B. ....	136
<b>083</b> - SUSCETIBILIDADE EM ACESSOS DE TIRIRICA A <i>Cercospora caricis</i> , SOB CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO (Susceptibility of purple nutsedge accessions to <i>Cercospora caricis</i> under greenhouse conditions) .....	138
Teixeira, E.A., Mello, S.C.M., Pereira, W., Cordeiro, C. ....	138
<b>084</b> - TAXA DE PREDACÃO DE <i>Nephaspis geminii</i> (Coleoptera, Coccinellidae) SOBRE OVOS E NINFAS DE <i>Bemisia tabaci</i> RAÇA B (Hemiptera, Aleyrodidae) NAS PLANTAS DE COUVE E MELÃO (Predation tax of <i>Nephaspis geminii</i> (Coleoptera, Coccinellidae) on eggs and ninfal of <i>Bemisia tabaci</i> raça B (Hemiptera, Aleyrodidae) in the cultures of cabbage and cantaloup) .....	139
Gonçalves, P.R.V., Laumann, R. A., Oliveira, M.R.V. ....	139
<b>085</b> - TÉCNICAS DE COLHEITA DE CONÍDIOS DE <i>Metharizium anisopliae</i> VAR. <i>acidum</i> (Harvesting techniques of <i>Metharizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i> conidia) .....	140
Rangel, L.C., Magalhães, B.P. ....	140
<b>086</b> - VARIABILIDADE MORFOLÓGICA E GENÉTICA DE ISOLADOS DE <i>Cercospora caricis</i> , AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO PARA TIRIRICA ( <i>Cyperus rotundus</i> ) (Morphological and Genetic variability of Brazilian isolates of <i>Cercospora caricis</i> , a biological control agent of purple nutsedge ( <i>Cyperus rotundus</i> )) .....	141
Teixeira, E.A., Inglis, P.W., Valadares-Inglis, M.C., Mello, S.C.M. ....	141
<b>087</b> - VIABILIDADE E INFECTIVIDADE DE LOTES DE INÓCULOS DE <i>Alternaria cassiae</i> EM DIFERENTES PERÍODOS DE ARMAZENAMENTO (Viability and infectivity of <i>Alternaria cassiae</i> inoculum after different periods of storage) .....	142
Carvalho, I.M., Caixeta, C.B., Mello, S.C.M. ....	142
<b>INTERCÂMBIO E QUARENTENA</b> .....	<b>143</b>
<b>088</b> - ÁCAROS ERIOFÍDEOS ASSOCIADOS À CULTURA DA MANGA, NOVOS PARA A FAUNA BRASILEIRA (Eriophyidae mites associated to mango, new records to the Brazilian fauna) .....	143
Dantas, A.B., Navia, D., Flechtmann, C.H.W. ....	143

---

<b>089</b> - DETECÇÃO DE POTYVÍRUS EM <i>Passiflora</i> spp. POR TÉCNICAS MOLECULARES (Determination of potyvirus in <i>Passiflora</i> spp. by molecular techniques) .....	144
Moreira Jr., D.J.F., Vidal, A.S., Marinho, V.L.A. ....	144
<b>090</b> - DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM POTYVÍRUS EM <i>Passiflora</i> sp. ATRAVÉS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA (Potyvirus detection and characterization in <i>Passiflora</i> sp. by electron microscopy) .....	145
Moreira Jr, D.J.F., Vidal, A.S., Falcão, R., Santana, E.F., Marinho, V.L.A. ....	145
<b>091</b> - DOENÇAS FÚNGICAS EM CULTURAS FLORESTAIS DE IMPORTÂNCIA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (Fungi diseases in forest cultures of quarantine importance to Brazil) .....	147
Santos, C.E.N. dos, Mendes, M.A.S., Santos, M. de F., Urben, A.F., Simões, R.S., Barros, P.C. ....	147
<b>092</b> - ESTRUTURAÇÃO DA COLEÇÃO ACAROLÓGICA DE REFERÊNCIA PARA A QUARENTENA VEGETAL NO BRASIL (Structuring the reference mite collection to the plant quarantine in Brazil) .....	148
Dantas, A.B., Navia, D. ....	148
<b>093</b> - FUNGOS EXÓTICOS EM FRUTIFERAS TROPICAIS (Exotic fungi in tropical fruit trees to Brazil) .....	149
Simões, R.S., Mendes, M.A.S., Santos, C.E.N. dos, Santos, M. de F., Urben, A.F. ....	149
<b>094</b> - FUNGOS PATOGÊNICOS NÃO RELATADOS NO BRASIL EM PLANTAS ORNAMENTAIS (Pathogenic fungi still not related in Brazil in ornamental plants) .....	150
Barros, P.C., Mendes, M.A.S., Santos, C.E.N. dos, Simões, R.S., Santos, M. de F., Urben, A. F. ....	150
<b>095</b> - MÉTODOS TRADICIONAIS DE EXTRAÇÃO DE NEMATÓIDES SÃO EFICAZES PARA SEMENTES DE <i>Panicum</i> ? (Are traditional nematode technique efficient to <i>Panicum maximum</i> seeds?) .....	151
Bueno, E., Tenente, R.V., Prates, M. ....	151
<b>096</b> - PRESENÇA DA FAMÍLIA Aleyrodidae NO BRASIL (Aleyrodidae family in Brazil) .....	152
Gonçalves, P.R.V. , Oliveira, M.R.V. ....	152

---



<b>097 - TERMO E QUIMIOTERAPIA, APLICADOS ÀS SEMENTES, AFETAM O DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO INFECTADAS POR <i>Ditylenchus dipsaci</i>? (Thermal and chemical treatments, applied on seeds, can affect the development of maize plants, infected by <i>Ditylenchus dipsaci</i>?)</b> .....	153
Rodrigues, V., Tenente, R., Gonzaga, V., Tarchetti, P. ....	153
<b>098 - TERMOTERAPIA OU QUIMIOTERAPIA PODE OU NÃO ERRADICAR FITOPATÓGENOS DE SEMENTES? (Thermal or Chemical treatments can eradicate plant pathogens from seeds ?)</b> .....	154
Garcia, J., Tenente, R., Mendes, M. ....	154
<b>099 - UM NOVO <i>Meloidogyne</i> (Nemata: Meloidogynidae) PARASITANDO O KIWI NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL ( A new <i>Meloidogyne</i> parasitising kiwi in Rio Grande do Sul State)</b> .....	155
Vivas, J.P., Carneiro, R.M.D.G. ....	155
<b>REPRODUÇÃO ANIMAL</b> .....	156
<b>100 - ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS EM OVÓCITOS BOVINOS MATURADOS <i>IN VITRO</i> (Chromosome alterations in <i>in vitro</i> matured bovine oocytes)</b> .....	156
Luna, H.S., Rumpf, R., Luna, H., Câmara, J.U., Carmo, T.F.M.V. , Ferrari, I. ....	156
<b>101 - ANÁLISE DO PERFIL PROTÉICO DE OVÓCITOS BOVINOS DURANTE A MATURAÇÃO <i>IN VITRO</i> (Analysis of proteic profile from bovine oocytes during <i>in vitro</i> maturation Resultados preliminares)</b> .....	158
Cordeiro, D.M., Bloch Jr., C., Rumpf, R. ....	158
<b>102 - EFEITO DA SUPEROVULAÇÃO NA INSTABILIDADE CROMOSSÔMICA DE NOVILHAS (Superovulation effect on the heifers chromosomal instability)</b> .....	159
Carmo, T.F.M., Luna, H.S., Luna, H., Peixer, M.A.S., Nascimento, N.V., Rumpf, R. ....	159
<b>103 - EFEITO DO FLUSHING NUTRICIONAL ASSOCIADO OU NÃO AO bST NA PRODUÇÃO QUALI-QUANTITATIVA DE EMBRIÕES EM VACAS DAS RAÇAS SIMENTAL E BLOND D'AQUITAINE (Nutritional flushing effect associated or not to bST on the embryos production in Simental and Blond D'aquitaine cows)</b> .....	161
Cavaliere, F.L.B., Peixer, M.A.S., Pereira, D.C., Pivato, I., Paiva-Neto, M.A., Santos, G.T.V., Rumpf, R. ....	161

---

- 104** - ÍNDICE DE RECUPERAÇÃO, QUALIDADE E POTENCIAL DE DESENVOLVIMENTO DE OVÓCIOS DE BEZERRAS ZEBUINAS DE 2 a 4 MESES DE IDADE - *Resultados Preliminares* (Level of harvesting, quality and growth potential of oocytes of zebu heifers between 2 to 4 months of age - *preliminary data*) ..... 163  
Malard, P.F., Cordeiro, D.M., Peixer, M.A.S., Pereira, D.C., Marques Júnior, A.P.V., Rumpf, R. .... 163
- 105** - INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZÓIDE COMO TÉCNICA DE PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS *IN VITRO* - RESULTADOS PRELIMINARES ..... 165  
(Intracytoplasmic sperm injection to produce bovine embryos in vitro - preliminary results) ..... 165  
Salles, H.O., Oliveira, R.R. de, Rumpf, R. .... 165
- 106** - ISOLAMENTO, CULTIVO E CRIOPRESERVAÇÃO DE FIBROBLASTOS FETAIS BOVINOS (Isolation, culture and criopreservation of bovine foetal fibroblasts) ..... 167  
Oliveira, R.R. de, Rumpf, R., Luna, H.S. & Carmo, T.F.M. .... 167
- 107** - ISOLAMENTO DE FOLÍCULOS OVARIANOS PRÉ-ANTRAIS (FOPA) DE VACAS ZEBUÍNAS: DESENVOLVIMENTO E EFICIÊNCIA DE UM MÉTODO MECÂNICO ESPECÍFICO (Isolation of ovarian preantral follicles from zebu cows: development and efficiency of a specific mechanical method) ..... 169  
Lucci, C.M., Rumpf, R., Figueiredo, J.R., Bão, S.N. .... 169
- 108** - METODOLOGIA DE RECUPERAÇÃO DE OVÓCITOS DE BEZERRAS ZEBU (A surgical method to harvest oocytes from zebu heifers) ..... 171  
Malard, P.F., Peixer, M.A.S., Cordeiro, D. M., Pivato, I., Marques Júnior, A.P., Rumpf, R. .... 171
- 109** - PUNÇÃO FOLICULAR EM ANIMAIS SUPEROVULADOS EM D2 e D4 (Ovum pick-up (opu) in heifers superovulated in d2 and d4) ..... 173  
Pivato, I., Peixer, M.A.S., Pereira, D.C., Nascimento, N. V, Rumpf, R .... 173
- 110** - VIABILIDADE DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO* SUBMETIDOS A CONGELAÇÃO COM ETILENOGLICOL (Viability of *in vitro* produced bovine embryos submitted to cryopreservation with ethylene glycol) ..... 175  
Pereira, D.C., Pivato, I., Cordeiro, D.M., Peixer, M.A.S., Câmara, J.U., Rumpf, R. .... 175
-

ÍNDICE DE AUTORES ..... 178

ÍNDICE DE ORIENTADORES ..... 182

OBS:

- 1) OS RESUMOS DOS TRABALHOS APRESENTADOS NA SESSÃO ORAL ESTÃO IDENTIFICADOS NO SUMÁRIO
- 2) A RELAÇÃO DOS RESUMOS É DE INTEIRA RESPONSABILIDADE DOS AUTORES



## BIOLOGIA CELULAR

### 001 - ANÁLISE DA PLOIDIA DE SEMENTES APOMÍTICAS E SEXUAIS DE *Brachiaria brizantha* (A. RICH) STAPF (seed ploidy analysis of apomictic and sexual *Brachiaria brizantha* (A. Rich) Stapf.)

Alves, E. R.<sup>1</sup>, Penteadó, M. I. O<sup>2</sup>, Carneiro, V. T. C.<sup>3</sup>, Araújo, A.C.G<sup>3</sup>.

Em plantas sexuais o embrião é geralmente formado pela fusão da oosfera reduzida e um núcleo espermático, originando um embrião diplóide. A fusão de outro núcleo masculino com o núcleo polar origina um endosperma triplóide. Em plantas apomíticas, que apresentam um modo assexual de reprodução através de sementes, os embriões desenvolvem partenogeneticamente a partir da oosfera não reduzida. Análises prévias de gramíneas apomíticas sugerem que o desenvolvimento da semente depende da fertilização do núcleo polar não reduzido por um gameta masculino, originando um endosperma triplóide. Em algumas plantas, somente o estímulo da polinização é suficiente para o desenvolvimento do endosperma. Para caracterizar o desenvolvimento do endosperma em *B. brizantha*, analisamos por citometria de fluxo, o nível de ploidia de tecido endospermático e embrionário de acessos BRA 00591 ( $2n = 4x = 36$ ), apomítico e do acesso BRA 002747 ( $2n = 2x = 18$ ), sexual. Cerca de 4000 núcleos foram analisados em cada amostra de endosperma e 2500 núcleos em cada amostra de tecido embrionário. Análise de 19 amostras de endosperma correspondendo a embriões diplóides mostraram que 50% foram pentaplóide. Os outros foram diplóide, sugerindo desenvolvimento autônomo do endosperma. Endosperma triplóide não foi detectado. Das 19 amostras de endosperma correspondente a embriões partenogenético, todas foram heptaplóide. Sabe-se que o conteúdo de DNA do endosperma pode variar dependendo da origem deste tecido e que o sucesso do seu desenvolvimento depende de dosagens específicas entre o genoma materno e paterno, usualmente esta proporção é 2:1 em plantas sexuais e

---

<sup>1</sup> Bióloga, Pós-graduanda, M.Sc, UnB.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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



apomíticas apospóricas. Entretanto, estudos recentes mostram variações nesta proporção tais como resultados obtidos em *B. brizantha*, indicando que este balanço genético não é crítico para o desenvolvimento do endosperma nesta espécie.

## 002 - CONTROLE REPRODUTIVO DE PLANTAS DUPLICADAS DE *Brachiaria brizantha* (Reproductive Control of Plants of *Brachiaria brizantha* Induced Tetraploid.)

Pereira, R. F. A.<sup>1</sup>, Pozzobon, M. T.<sup>1</sup>, Pinheiro, A. A.<sup>3</sup>, Araújo, A. C. G.<sup>2</sup>, Carneiro, V. T. C.<sup>2</sup>

*Brachiaria* é uma forrageira tropical, da África, largamente usado no Brasil, por sua adaptação a diferentes condições edafo-climáticas. *B. brizantha* tem plantas tetraplóides ( $2n=36$ ), e com modo de reprodução caracterizado como apomítico, e diplóides ( $2n=18$ ), sexuais. A planta sexual tem um saco embrionário octanucleado, do tipo Polygonum, enquanto a espécie de apomítica tem um saco embrionário tetranucleado, do tipo Panicum. Em programas de melhoramento de *Brachiaria*, a hibridização artificial é dificultada pelo fato das espécies comerciais serem tetraplóides apomíticas. A indução da poliploidia em plantas sexuais (B105) pela colchicina será uma ponte genética inter e intraespecífica. Para isso, o acesso sexual de *B. brizantha* teve o número de cromossomos duplicado, conferido através de citometria de fluxo e análises de células de meristemáticas em pontas de raiz. Este trabalho tem como objetivo a análise do comportamento reprodutivo de 2 plantas (C14 e C48) duplicadas, durante 3 períodos de floração sucessivos (3 anos). A maioria das associações cromossômicas, formou-se em diacinese e metáfase, era bivalente e quadrivalente, enquanto univalentes e trivalentes aconteceram em menor número (0,04I; 15,25II; 1,36IV em C14 e 0,14I; 15,63II; 0,05III; 1,11IV em C48). Foram observadas irregularidades também como disjunção desigual em anáfase, movimentação acelerada dos cromossomos, laggards, pontes, viscosidade, micronúcleos com deficiência orgânica de polaridade na telófase II. Essas anormalidades resultam em produtos meióticos não equilibrados como células trinucleadas, tétrades anormais com, além de células extranumerárias, políades, células com tamanho desigual. A variação encontrada na área do pólen (C14:  $X = 994,7 \mu\text{m}^2$ ; C48:  $X = 947,1 \mu\text{m}^2$ ), comparando com os resultados achados no diplóide sexual (B105:  $X = 275,97 \mu\text{m}^2$ ) provavelmente é causado por esta segregação irregular. Para a análise da estrutura dos sacos embrionários, ovários clarificados foram analisados em microscopia interferencial diferencial de Normarski. Todos os ovários analisados mostraram uma estrutura do tipo

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

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

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

Polygonum, com alterações no volume das antípodas. Nossos resultados mostram que a duplicação não interfere na estrutura do saco embrionário e sugerem que as plantas mantêm o modo sexual de reprodução. Mas, para a confirmação desses resultados é necessário estudar a progênie dessas plantas.

### 003 - EFEITO DA MANOSE NA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE *Brachiaria brizantha* (Effects of Mannose in Somatic Embryogenesis of *Brachiaria brizantha*)

Leite, J. de A.<sup>1</sup>, Silveira, E. D.<sup>1</sup>, Cabral, G. B.<sup>2</sup>, Rodrigues, J.C.M.<sup>3</sup>, De Sá, R.R.<sup>4</sup>, Carneiro, V.T.C.<sup>5</sup>

Genes de resistência a antibióticos ou herbicidas são utilizados como marcadores para seleção de possíveis transformantes. Uma vez que sua presença pode ser indesejável, novas alternativas têm sido buscadas. Uma destas é a utilização do gene PMI (fosfomanose isomerase), que confere à planta capacidade de metabolizar manose utilizando-a como fonte de esqueleto carbônico. O objetivo desse trabalho foi verificar a toxicidade da manose na indução de calos embriogênicos de *Brachiaria brizantha* visando a utilização do gene PMI na transformação e seleção desta forrageira. Para isso, embriões maduros foram cultivados em meio M1 (Lenis, 1998) no escuro total a  $27^{\circ}\text{C} \pm 2$ . Com oito dias eles foram transferidos para meio M1 modificado, com concentrações de sacarose fixas em 0g/L, 15g/L e 30g/L que foram combinadas com 0g/L, 2,5g/L, 5g/L e 8g/L de manose. Após duas semanas, em tratamentos com 15g/L de sacarose observamos uma gradual inibição de formação de calos friáveis com o aumento da concentração de manose. Na ausência de sacarose não houve desenvolvimento dos calos mostrando que *B. brizantha* não metaboliza manose. Com 30g/L de sacarose não foi possível observar a influência da manose pois o crescimento dos calos foi semelhante ao controle sem manose. Os resultados sugerem que a manose não é metabolizada por *B. brizantha*, afetando a formação de calos embriogênicos e que é possível sua utilização para seleção de plantas transformadas de *B. brizantha* com o gene PMI. Lenis-Manzano, S. (1998).

---

<sup>1</sup> Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de Ciências Biológicas, UnB.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

<sup>4</sup> Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante secundarista.

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

Desenvolvimento de um Método de Transformação Genética de *Brachiaria spp*, por bombardeamento de partículas. Brasília: UnB. Dissertação Mestrado.



#### 004 - EFEITO DE INIBIDORES DE ETILENO NA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA DE CACAU - *Theobroma cacao* L. (Effect of ethylene inhibitors on somatic embryogenesis of cocoa - *Theobroma cacao* L.)

Marbach, P. A. S.<sup>1</sup>, Souza, M. P.<sup>2</sup>, Teixeira, J. B.<sup>3</sup>

O agronegócio cacau está enfrentando uma crise sem precedentes desde 1989, quando foi detectado no sul da Bahia a doença conhecida como vassoura de bruxa, causada pelo fungo *Crinipellis pernicioso*. As Variedades clonais tolerantes à vassoura de bruxa são propagadas via enraizamento ou enxertia de ramos, técnicas que possuem baixa taxa de propagação. A micropropagação do cacaueteiro via embriogênese somática tem sido apontada como alternativa promissora, pois possui altas taxas de propagação. Para melhor compreensão da embriogênese somática em cacau, foi estudado o envolvimento dos principais fitohormônios nesta via morfogênica. Assim, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito da inibição do etileno na embriogênese somática de cacau. Foram testadas várias concentrações (entre 1.0 e 20.0  $\mu\text{M}$ ) de  $\text{AgNO}_3$  e aminoetoxivinilglicina (AVG), respectivamente inibidores de ação e de síntese de etileno, na indução e no desenvolvimento dos embriões somáticos. Utilizou-se como explantes estaminódeos de botões florais imaturos. Tanto nitrato de prata como AVG inibiram a embriogênese somática. Nitrato de prata inibiu 100% em todas as concentrações testadas, enquanto que AVG inibiu apenas a frequência de calo embriogênico. A inibição foi proporcional às concentrações testadas, sendo maior, 61.8%, na concentração de 20  $\mu\text{M}$ . O nitrato de prata teve efeito inibitório apenas quando foi adicionado ao meio de indução, indicando que o etileno está envolvido na indução da competência e/ou determinação das células embriogênicas de cacau.

---

<sup>1</sup> Biólogo, Bolsista RHA/CNPq – ITI.

<sup>2</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB.

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

**005 - ESTABELECIMENTO DE UM PROTOCOLO DE SUSPENSÃO CELULAR A PARTIR DE CALOS RADICULARES DE EUCALIPTO *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* (Establishment of a cellular suspension protocol from eucalyptus root calluses *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*)**

Monteiro, J. S.<sup>1</sup>, Barreto Cid, L. P.<sup>2</sup>

Este trabalho tem como objetivo obter um eficiente protocolo de estabelecimento de suspensão celular de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* tendo em vista sua importância comercial no reflorestamento e obtenção de celulose. Raízes de plantas com 60 dias foram inoculadas em meio sólido SP-0 (MS modificado) suplementado com 4 µM de Picloram e mantidas no escuro a uma temperatura de 27° ± 2°C durante 30 dias. Após este período, observou-se a formação de calos no decorrer da superfície da raiz, apresentava uma cor amarelada e nodular. Os calos foram transferidos para erlenmeyers de 125 ml de capacidade com 50 ml de meio líquido SP-0 + 7,5µM de 2,4D + 1,25µM de BAP permanecendo em agitação de 70 rpm por 3 dias, fotoperíodo de 16h e temperatura de 27° ± 2°C (condição padrão). Após este período o material foi filtrado a fim de se aproveitar somente a suspensão e a cada 7 dias fazia-se a troca de meio e repicagem do material, esta última foi feita transferindo-se 3 ml de células para um novo frasco e completando com 47 ml de meio fresco. Em um curto espaço de tempo observou-se uma abundância de células. Células no pico de multiplicação (3 a 4 dias após a repicagem), foram transferidas para placas de Petri contendo meio SP-0 + 1 µM de TDZ em condição padrão de luz e temperatura, após 15 a 20 dias obteve-se uma massa calogênica amarelada. Os presentes resultados incentivam a continuação do trabalho visando a regeneração desses calos.

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Biologia, UCB.

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

**006 - ESTUDOS SOBRE O PÓLEN DE *Brachiaria brizantha* (Hochstetter ex. A. Richard) Stapf (GRAMINEAE) APOMÍTICA (Studies on the pollen of apomitic of *Brachiaria brizantha* (Hochstetter ex. A. Richard) Stapf.)**

Alves, E.R.<sup>1</sup>, Falcão, R.<sup>2</sup>, Gomes, A.C.<sup>2</sup>, Carneiro, V.T.C.<sup>3</sup>, Araújo, A.C.G.<sup>3</sup>

Estudos sobre o modo de reprodução apomítico, forma natural de clonagem por semente, vêm sendo conduzidos utilizando *B. brizantha*. Análises sobre a biologia floral, desenvolvimento e estrutura do pólen foram realizadas visando a melhor compreensão da apomixia. Flores em diferentes estágios de desenvolvimento foram acompanhadas através de microscopia interferencial e secções histológicas. Pólen maduro foi analisado em microscopia de luz e eletrônica de varredura. Viabilidade polínica foi determinada através da correlação com aceto-carmin e morfologia do pólen. A germinação e crescimento do tubo polínico foram acompanhados após polinização controlada. A presença do microsporocito ocorre no estágio I, enquanto que no estágio II, ocorre microsporos contendo pequenos vacúolos e núcleo centralizado. Em estágio III foram observados microsporos com vacúolo único e núcleo periférico. Estágio IV apresenta microsporos binucleados acumulando amido. Em antese, o pólen está preenchido por amido e apresenta três núcleos. O pólen maduro com aproximadamente 37µm de diâmetro, apresenta um único poro, com diâmetro aproximado de 3,4 µm e a camada de exina apresenta um aspecto rugoso. A viabilidade polínica é de aproximadamente 54%. O número de pólen/flor foi estimado em 6000 e pólen/estigma, em 1750. A germinação iniciou após 45 min; 2-3 tubos alcançaram o estilete após 4h, o ovário após 6h e a micrópila após 8h.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Pós-graduanda, MSc, UnB.

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

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

Foi realizada a auto-polinização e não houve incompatibilidade para o crescimento do tubo polínico. Estes dados são importantes para a continuidade do estudo sobre a fertilização do núcleo polar (para formação do endosperma) e não fertilização da oosfera (para formação do embrião) encontradas em plantas apomíticas.

## 007 - HIBRIDAÇÃO SOMÁTICA POR FUSÃO DE PROTOPLASTOS EM BANANEIRA

(Somatic Hybridization by protoplast fusion in banana)

Lima, F. A.<sup>1</sup>, Morais, L. S.<sup>2</sup>, Matsumoto, K.<sup>3</sup>

A banana é uma cultura sócio e economicamente importante para os países tropicais e subtropicais. Um grande problema da bananicultura nacional é a falta de variedades produtivas e resistentes às principais doenças, tais como, mal-do-panama, sigatoca-amarela e negra e dos nematóides. O melhoramento genético será muito importante para a criação de novos genótipos que reúnem várias características desejáveis. Entretanto, o melhoramento convencional de polinização cruzada é bastante difícil em bananeira, porque a maioria das cultivares são genomicamente triplóides e produzem poucas sementes ou quase nenhuma. A hibridação somática é uma alternativa muito promissora, permitindo introduzir numa planta comercial uma resistência a doença de poligenes de plantas selvagens de outras espécies ou até outro gênero. Este trabalho tem por objetivos obter híbridos, resistentes a doenças fúngicas, particularmente as de mal-do-panama e sigatoca-negra, através da fusão de protoplastos utilizando corrente elétrica. Como material vegetal foi utilizado protoplastos de uma variedade, Maçã (musa sp., grupo AAB) e uma variedade não cultivada de híbrido diplóide (musa sp., grupo AA). Os protoplastos originados de células em suspensão de Maçã e de calos do híbrido diplóide foram misturados e colocados em câmaras de eletrodo ligadas a manipulador celular ECM 200 (BTX Inc.). Foram testados 2 câmaras de eletrodo: 3.0 e 3.2 mm. da distância entre eletrodos. Após o tratamento elétrico para induzir fusão, os protoplastos foram cultivados usando a técnica de cultura protetora. Foram então testadas 3 tipos de membranas para isolar protoplastos e células protetoras: Isopore, Milipore e papel e filtro. Não houve diferença na eficiência da fusão entre duas câmaras de eletrodo. As regenerações de embriões e posteriormente de plântulas foram obtidas somente quando a Isopore foi usada na cultura protetora.

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Biologia, UCB.

<sup>2</sup> Eng. Agr., MSc, Bolsista RHAE/CNPq – DTI.

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



## 008 - INDUÇÃO DE MULTIBROTAÇÃO EM ABACAXI (*Ananas comosus* L.) POR MEIO DE BIORREATORES "AIR-LIFT" (Shoot induction of pineapple through "air-lift" bioreactor)

Sena, L. C. P. S.<sup>1</sup>, Barreto Cid, L. P.<sup>2</sup>

Visando aperfeiçoar um protocolo de multibrotação "in vitro" em grande escala e baixo custo, foi usado um biorreator "air-lift" para multiplicar abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merr. cv. Pérola). O biorreator utilizado, consistiu em um recipiente de vidro autoclavável com um litro de capacidade e tampa de plástico igualmente resistente à autoclavagem, provida de dois orifícios: um para penetração de ar e agitação do meio líquido no interior do recipiente e o outro, para saída e descompressão do sistema. O ar foi impelido para o interior dos biorreatores ( $\approx 3$  litros/ min.) por meio de uma mangueira ligada a um compressor. Tanto para entrada como para saída de ar, utilizou-se filtros para evitar a contaminação. Sob condições estéreis o biorreator foi carregado com 500 ml de meio MS líquido suplementado com  $10\mu\text{M}$  de BAP,  $1\mu\text{M}$  de ANA e 5 pequenos explantes (previamente mantidos em meio MS sólido + BAP), contendo em média 5 brotos cada explante. Após 45 dias na luz (fotoperíodo de 16 hrs) e temperatura de  $27 \pm 2^\circ \text{C}$ , a avaliação do número de brotos final revelou um aumento de 21x do número de brotos do inóculo inicial. Estes resultados encorajam a continuidade desta linha de pesquisa com o objetivo de aprimorar o sistema de micropropagação comercial desta espécie no país, ainda muito precário em termos de oferta de mudas.

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Biologia, UCB.

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

**009 - MICROPROPAGAÇÃO DE OITO CLONES DE ABACAXI (*Ananas comosus* L.), EM MEIO SÓLIDO E EM MEIO LÍQUIDO, UTILIZANDO BIORREATOR DE IMERSÃO TEMPORÁRIA (Micropropagation of eight clones pineapple in solid and liquid medium, using bioreactor of temporal imersion)**

Cruz, A.R.R.<sup>1</sup>, Ferreira, F.R.<sup>2</sup>, Teixeira, J.B. <sup>2</sup>

Um estudo foi realizado objetivando maximizar o protocolo de micropropagação de abacaxi (*A. comosus* L.). Foram testados oito genótipos , sendo quatro variedades, Pérola, Perolera, Primavera e Smooth Cayenne e quatro clones derivados de coleta de germoplasma. As gemas foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 1%, posteriormente inoculadas em meio MS, suplementado com 10 µM de BAP e 2,5 µM de ANA, subcultivadas a cada quatro semanas, totalizando cinco subcultivos. Posteriormente, os agregados foram transferidos para meio de alongamento e enraizamento, sem reguladores de crescimento, por dois subcultivos. A taxa de multiplicação foi determinada pelo número de agregados no final de cada subcultivo, a maior taxa foi observada para 'Primavera' (130 agregados/gema), seguido por 'Pérola' (70), 'Perolera'(63) e 'Smooth Cayenne' (20). Nos genótipos restantes, a maior taxa foi obtida com FRF 820 (69), seguido de FRF632 (65), 'Comum'(55) e FRF 168/BA(32). Alternativamente, 44,9 g de agregados de 'Pérola' foram inoculados em três biorreatores com meio de alongamento e enraizamento, por oito semanas. Após este período, obteve-se 268 g, num total de 312 plântulas, estas foram aclimatizadas em casa-de-vegetação. Tomando como base o peso de agregados, a taxa de multiplicação em biorreator foi de 6. Os resultados preliminares com biorreator mostraram sua viabilidade para a fase de alongamento e enraizamento de plântulas de abacaxi. A taxa de sobrevivência em casa-de-vegetação foi de 100%.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., bolsista CAPES, Mestranda UnB.

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

## BIOLOGIA MOLECULAR

### 010 - ANÁLISE DE PROMOTORES VISANDO A OBTENÇÃO DE PLANTAS DE SOJA TRANSGÊNICAS COM RESISTÊNCIA A NEMATÓIDES (Promoter expression analysis aiming resistance to phytosedentary nematodes in soybean)

Santana, F.M.<sup>1</sup>, Moreira Jr., D.J.F.<sup>2</sup>, Nishijima, M.L.<sup>3</sup>, Guimarães. P.M.<sup>4</sup>

Os nematóides fitoparasitas sedentários estão entre as principais pragas de culturas de clima tropical e subtropical, causando prejuízos superiores a US\$ 100 bilhões por ano. Na cultura da soja, os nematóides que causam maiores prejuízos são *Heterodera glycines*, *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. Embora estes parasitas possam ser controlados por agroquímicos, a forma mais eficiente de controle consiste no uso de variedades resistentes. As bases genéticas das respostas hipersensitivas envolvem uma interação "gene-a-gene", onde o produto de um alelo da planta (R) interage com o produto de um alelo do patógeno (avr). A reação de hipersensibilidade (HR) pode ser obtida em plantas transgênicas que expressem esses genes **R** e **avr**, controlados por promotores que respondam à invasão do nematóide. Além disso, tais plantas também podem expressar genes que codificam para a produção de proteínas tóxicas, ou inibidoras de proteinases, controladas por promotores ativos nos sincícios ou células gigantes. O objetivo deste trabalho é a seleção de promotores em plantas transgênicas de soja que apresentem alta expressão em sítios de alimentação de nematóides. Para tal, utilizou-se construções gênicas contendo versões deletadas do promotor 35s e o gene GUS. A transformação da soja foi realizada através de bombardeamento de partículas e a análise das plantas foi feita através de reações de PCR utilizando-se primers para o gene GUS.

---

<sup>1</sup> Eng. Agr., MSc, Bolsista RHAE/CNPq – DTI.

<sup>2</sup> Biólogo, Pós-graduando, MSc., UnB.

<sup>3</sup> Eng. Agr., MSc, Bolsista Fundação Dalmo Giacometti.

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

**011 - AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE TOMATEIRO VISANDO RESISTÊNCIA A GEMINIVÍRUS DE GENOMA BIPARTIDO DO DISTRITO FEDERAL E DE PERNAMBUCO (Evaluation of tomato genotypes for resistance to bipartite geminiviruses from the Federal District and Pernambuco)**

Santana, F. M.<sup>1</sup>, Ribeiro, S.G.<sup>2</sup>, Bezerra, I. C. <sup>3</sup>, Moreira Jr., D.J. F.<sup>4</sup>, Giordano, L.B.<sup>5</sup>

O objetivo deste trabalho foi avaliar a reação de alguns genótipos de *Lycopersicon* spp., previamente avaliados utilizando-se mosca-brancas infectadas com Geminivírus do DF, na presença de isolado de Geminivírus de Pernambuco inoculado por meio de enxertia. Foram utilizadas cinco plantas por genótipo, sendo os genótipos a serem avaliados utilizados como porta-enxerto. Os genótipos 'TX-468-1', 'Ty-197', 'Ty-198' e LA 1967, quando avaliados por meio de inoculação utilizando-se moscas-brancas virulíferas (Geminivírus DF), apresentaram completa ausência de sintomas. Estes mesmos genótipos quando avaliados por meio de enxertia apresentaram sintomas leves, exceto LA 1967, que se manteve assintomático. Os genótipos 'Ty 52' e 'Viradoro' apresentaram sintomas severos na presença dos diferentes isolados e métodos de inoculação.

---

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

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

<sup>3</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Embrapa Hortaliças.

<sup>4</sup> Biólogo, pós-graduando, MSc, UnB.

<sup>5</sup> Eng. Agr., Dr. Embrapa Hrtaliças.

**012 - CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA EM INTESTINOS DE BICUDO-DO-ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*, Bohema, 1843) E ISOLAMENTO DE cDNAs DE PROTEINASES SERINA E CISTEINA (Characterization of the proteolytic activity in the midgut of *Anthonomus grandis*, Bohema, 1843 and isolation of cDNAs encoding serine and cysteine proteinases)**

Oliveira-Neto, O.B.<sup>1</sup>, Batista, J.A.N.<sup>2</sup>, Fragoso R.R.<sup>3</sup>, Dias, S.C.<sup>4</sup>, Monnerat, R.G.<sup>5</sup>; Grossi de Sá, M.F.<sup>5</sup>

A perda da produção agrícola mundial devido ao ataque de pragas e doenças tem sido estimada em 37%, das quais 13% são causados pelos insetos. Os métodos convencionais utilizados para a proteção das culturas empregam principalmente os agroquímicos. Entretanto, o uso dos mesmos aumentam consideravelmente os custos de produção, podem causar desequilíbrio ambiental, além de deixarem seus resíduos no ambiente. Assim, o estudo da resistência de plantas a pragas e patógenos tem recebido considerável importância, e neste sentido, a engenharia genética oferece a possibilidade da introdução de genes que podem tornar as plantas menos susceptíveis a insetos. O Brasil é o sexto maior produtor de algodão, porém sua produção representa apenas 3% do total. O bicudo-do-algodoeiro (coleóptero:curculionidae) é a principal praga do algodoeiro no continente americano. No intestino dos insetos são encontradas diferentes proteinases que são fundamentais para a manutenção e desenvolvimento dos mesmos.

---

<sup>1</sup> Eng. Agr., doutorando, UnB.

<sup>2</sup> Biólogo, doutorado, Bolsista CNPq.

<sup>3</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de Agronomia, UnB.

<sup>4</sup> Bióloga, doutorada, UnB.

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

A inibição dessas proteinases por um inibidor específico tem sido utilizada como estratégia de combate aos insetos-praga. Os experimentos *in vitro* da atividade proteolítica mostraram que as proteases do tipo serina são mais abundantes que as cisteína, tanto no estágio larval como no adulto. Para isolar os genes que codificam as proteases serina e cisteína foi desenhado oligonucleotídeos homólogos degenerados nas regiões conservadas destas proteases. A amplificação por RT-PCR com estes oligonucleotídeos usando o RNA total da larva permitiu o isolamento de cDNAs incompletos de pelo menos três diferentes genes para as proteases serina e um para cisteína. A obtenção das sequências completas está em progresso usando o 5' - 3' RACE. A seguir tentaremos a expressão destas proteases *in vitro* e a seleção específica de inibidores em uma biblioteca de inibidores mutantes por *phage display*. Fontes financiadoras: EMBRAPA e CNPq.

**013 - CLONAGEM E EXPRESSÃO DA CAPA PROTÉICA DE GEMINIVÍRUS DE TOMATEIRO EM *Escherichia coli* PARA ESTUDOS SOROLÓGICOS (Cloning and expression of the coat protein of tomato infecting geminivirus in *Escherichia coli* for serological studies)**

Orlandini, D.R.S.<sup>1</sup> Miranda, J.D.R.<sup>1</sup>, Inoue-Nagata, A.K.<sup>2</sup>, Nagata, T.<sup>3</sup>, Bezerra, I.C.<sup>4</sup>, Ávila, A.C. de<sup>5</sup>, Ribeiro, S.G.<sup>6</sup>

O surgimento de geminivirose em plantações de tomate por todo o Brasil demanda um sistema de diagnóstico que seja eficiente e simples. A detecção de geminivírus tem sido feita através de hibridizações com sondas moleculares ou por PCR, que apresentam alta eficiência, mas necessitam de uma boa estrutura laboratorial para serem realizadas. Testes sorológicos são uma alternativa mais simples podendo ser utilizados por um número maior de laboratórios. O objetivo deste trabalho foi a clonagem e expressão da capa protéica de geminivírus isolados de tomateiro da Bahia, Pernambuco e Distrito Federal, em sistema de bactéria para a produção de anticorpos policlonais que possam ser utilizados na diagnose e estudo de interação vírus-planta-vetor. O gene da capa protéica foi amplificado por PCR, a partir de DNA total de plantas infectadas, utilizando-se primers específicos, deduzidos a partir de sequências de geminivírus já caracterizados. Os fragmentos foram clonados em vetor de expressão pQE 31 e transformados em *Escherichia coli* linhagem M15. A expressão foi induzida e o extrato proteico total foi

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UnB.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., Dra., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

<sup>4</sup> Eng. Agr., MSc, Embrapa Hortaliças.

<sup>5</sup> Eng. Agr., PhD, Embrapa Hortaliças.

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



analisado em gel de poliacrilamida. Pôde-se observar que houve a expressão de uma proteína de aproximadamente 30 kDa que estava ausente no controle. Western blots das proteínas expressadas utilizando-se anticorpos policlonais e monoclonais deram sinal positivo confirmando o sucesso da expressão. A proteína do isolado do Distrito federal foi purificada usando-se colunas de afinidade. Coelhos foram imunizados com frações de proteínas purificadas para produção de antissoro policlonal. O anticorpo obtido reagiu somente com proteína desnaturada, porém não com extrato bruto de planta infectada em testes de DAS- ELISA e Dot-ELISA.

**014 - CLONAGEM E EXPRESSÃO DE FRAGMENTO DE DNA QUE CODIFICA PARA A PROTEÍNA *rol A* DE *Agrobacterium rhizogenes* EM SISTEMA DE EXPRESSÃO DE LEVEDURA (Cloning and expression of the *Agrobacterium rhizogenes rol A* coding region in yeast expression system)**

Assis, C. M.<sup>1</sup>, Oliveira, M.S.<sup>2</sup>, Sihler, W.<sup>3</sup>, Rocha, T.L.<sup>4</sup>, Carneiro, M.<sup>4</sup>

O gene *rol A*, de *Agrobacterium rhizogenes*, vem sendo amplamente estudado devido à sua capacidade de interferir no desenvolvimento de plantas. Sua expressão em tabaco provoca redução de porte e inibição do crescimento da raiz. O sistema de clonagem e expressão em levedura *Pichia pastoris* está sendo utilizado neste trabalho para obtenção de quantidades significativas desta proteína, necessárias para sua cristalização e caracterização. A sequência codificante do gene *rol A* foi amplificada através de PCR utilizando oligonucleotídeos com extremidades compatíveis para liberação do fragmento com as enzimas de restrição *Sna* BI e *Not* I. O fragmento obtido foi purificado de gel de agarose, clivado com as enzimas acima e inserido no plasmídeo pPIC9. Os clones contendo o gene foram selecionados em células de *Escherichia coli* (DH5 $\alpha$ -F<sup>-</sup>) através de resistência à ampicilina. O DNA plasmidial dos potenciais recombinantes foram analisados através de seu perfil de restrição. Em seguida foi feita a recombinação da construção correta em *P. pastoris*, GS 115, através de eletroporação. Colônias contendo o fragmento foram selecionadas através de hibridização com sonda radioativa da sequência de *rol A*. Estas últimas estão sendo analisadas através SDS-PAGE após indução em meio de cultura para expressão da proteína.

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Ciências Biológicas, UnB.

<sup>2</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Ciências Biológicas, UCB.

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

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

## 015 - DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE PLANTAS UTILIZANDO FRAGMENTOS DE DNA (Development of a protocol to genetically transform plants using DNA fragments)

Vianna, G. R.<sup>1</sup>, Rech, E. L.<sup>2</sup>, Aragão, F. J. L.<sup>2</sup>

Genes para resistência a antibióticos estão presentes em plantas transgênicas, sob controle de promotores de eucariotos e procaríotos, como resultado de sua utilização para a seleção de células transformadas. Entretanto, avaliações tem sido realizadas, objetivando estudar os potenciais impactos destes genes para a saúde humana e para o meio ambiente. Apesar de não haverem evidências sobre efeitos deletérios da utilização de plantas transgênicas, existe uma tendência de que genes que conferem resistência a antibióticos deixem de ser utilizados na geração de produtos comerciais. O objetivo do presente trabalho foi o desenvolvimento de um processo para a introdução de fragmentos de DNA no genoma da planta, contendo apenas o promotor, a seqüência codante e o terminador, evitando a utilização de genes que conferem resistência a antibióticos. Os plasmídios, foram clivados com enzimas de restrição, em sítios específicos, de maneira a produzir fragmentos contendo apenas a região de interesse que foram separados por eletroforese em gel de agarose 0,9%. O fragmento com o tamanho conhecido (1,5 Kb), foi extraído do gel e purificado utilizando-se um kit apropriado (QIAquick Gel Extration Kit - QIAGEN). Fragmentos de DNA contendo gene de tolerância ao herbicida *bar* de *Streptomyces hygroscopicus*, sob o controle do promotor 35S do vírus do mosaico dourado da couve-flor, foram utilizados como agente seletivo, na transformação de meristemas apicais de embriões de feijão, via biobalística. Nossos resultados demonstraram freqüências de transformação semelhantes às obtidas utilizando o vetor intacto, esta freqüência foi de 1%. Estes resultados demonstraram a viabilidade do processo de introdução e expressão de genes, utilizando fragmentos de DNA.

---

<sup>1</sup> Eng. Agr., MSc, Bolsista CNPq/Doutorando.

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

## 016 - DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA PARA OBTENÇÃO DE PLANTAS DE FEIJÃO RESISTENTES AO VÍRUS DO MOSAICO DOURADO DO FEIJOEIRO (Development of a system for obtaining bean plants resistant to the Bean Golden Mosaic Virus )

Jungmann, L. C.<sup>1</sup>, Albino, M.M.C.<sup>2</sup>, Dias, B.B.A.<sup>3</sup>, Vianna, G.R.<sup>4</sup>, Rech, E.L.<sup>5</sup>, Faria, J. C.<sup>6</sup>, Aragão, F. J. L.<sup>5</sup>

O feijão é fonte protéica importante na dieta do povo brasileiro. O mosaico dourado do feijoeiro é uma das principais doenças do feijão na América Latina, especialmente no Brasil, sendo responsável por perdas em condições de campo em torno de 40 a 85%. Essa doença é causada por um geminivírus, o Bean Golden Mosaic Virus (BGMV), transmitido pela mosca branca *Bemisia tabaci* Gennadius. O vírus é composto por duas partículas icosaédricas e seu genoma formado por duas moléculas de DNA circular de fita simples, DNA-A e DNA-B. Estudos objetivando o controle dessa doença através de resistência varietal vêm sendo conduzidos desde a década de 1970, Porém, nenhum germoplasma foi encontrado com imunidade ao vírus no Brasil, Guatemala, República Dominicana, México e Argentina. Uma replicase (Rep), codificada pelo gene AC1, encontrado no DNA-A, tem sido muito estudada nos últimos anos. Na literatura consta que mutantes letais do gene Rep são eficientes inibidores da replicação de geminivírus. Duas mutações foram introduzidas em dois sítios diferentes desta proteína. Uma na seqüência "NTP-binding motif" [1]; e outra no sítio de clivagem do DNA [2]. Três construções foram feitas: uma com a

---

<sup>1</sup> Bióloga, Bolsista de Aperfeiçoamento.

<sup>2</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Estudante de graduação, Biologia, UCB.

<sup>3</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Estudante de graduação, Biologia, UCB.

<sup>4</sup> Eng. Agr., Doutoranda, UnB.

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

<sup>6</sup> Eng. Agr., PhD, Embrapa Recursos Arroz e Feijão.

mutação [1], outra com a mutação [2] e uma terceira com ambas. A seqüência viral está sob controle do promotor "double 35S com AMV leader sequence". As construções foram usadas para transformar feijão pelo método de biobalística. Eixos embrionários de feijão foram isolados dos cotilédones e os meristemas apicais foram bombardeados em placas contendo meio MS. Cinco dias após o bombardeamento foram transferidos frascos contendo meio MS. Os explantes foram cultivados *in vitro* por aproximadamente 30 dias. Análises de PCR utilizando-se primers específicos para a seqüência AC demonstraram que foram obtidos transformantes para as 3 construções. Estas plantas estão sendo desafiadas com o BGMV por inoculação com moscas brancas infectadas, em casa de vegetação.

**017 - EFEITO DA 5-AZACITIDINA NA REGENERAÇÃO E TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE EUCALIPTO (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*) (5-azacytidine effect in the regeneration and genetic transformation of the eucalyptus (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*))**

Sartoretto, L.M.<sup>1</sup> Esmeraldo, M.V.<sup>2</sup>, Deus, S.O.<sup>3</sup>, Brasileiro, A.C.M.<sup>4</sup>

*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* é um híbrido de relevada importância econômica para a indústria de celulose. Como uma ferramenta adicional para os programas de melhoramento, a transformação genética permite a incorporação de características de interesse econômico em clones "elites". Antibióticos como geneticina e cefotaxima são utilizados para selecionar células transformadas em protocolos descrito para a obtenção de plantas transgênicas. Entretanto, recentemente, foi observado que alguns antibióticos podem causar a hipermetilação do DNA, induzindo o silenciamento de genes. O protocolo de transformação de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* utiliza como vetor de transferência de genes a *Agrobacterium tumefaciens*. O objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito de diferentes concentrações de 5-azacitidina (azaC), um composto demetilador, na regeneração e transformação de eucalipto. Explantes de cotilédone e hipocótilo foram cultivados em meio de cultura SP-0 acrescidos de diferentes concentrações de azaC (5, 15 e 30 µM), durante 20, 30 ou 40 dias. O efeito das diferentes concentrações de azaC também foi avaliada na expressão transiente do gene *gus*, 4 dias após a inoculação dos explantes com a linhagem de *Agrobacterium* AGL1 pGUSINT. A regeneração de plantas foi mais eficiente a partir de explantes cultivados com 5 µM de azaC por um período de 40 dias. A presença de 5 µM de azaC também teve um efeito positivo na expressão transiente do gene *gus* (50% dos explantes), após 4 dias em cultura. Estas observações indicam que a adição do composto demetilador nos meios de cultura poderá ser um procedimento importante na recuperação de plantas transgênicas de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., Doutoranda, UnB.

<sup>2</sup> Bióloga, Mestranda, UnB.

<sup>3</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB.

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

## 018 - ENSAIOS PRELIMINARES DE TRANSFORMAÇÃO DE CAFEIEIRO ATRAVÉS DO PROCESSO BIOBALÍSTICO

Araújo, G.B.<sup>1</sup>, Barros, E.V.S.A.<sup>2</sup>, Araújo, L.F.C.<sup>3</sup>, Brasileiro, A.C.M.<sup>4</sup>

O café (*Coffea arabica*) é um dos mais importantes produtos comerciais do mercado internacional. O Brasil é líder na produção de café, que representa a fonte de renda de milhões de pessoas. Embora os programas de melhoramento genético de cafeeiro tenham sido aplicados com sucesso para o aumento da produtividade destas plantas, o longo ciclo biológico desta cultura perene é uma limitação para o melhoramento. A transformação genética poderia auxiliar a superar esta limitação através da introdução direta de características desejáveis. O processo biobalístico é considerado um dos mais eficientes métodos utilizados para esse propósito. Desse modo, o objetivo desse trabalho é estabelecer os procedimentos básicos de cultura de tecidos para o cultivo de embriões zigóticos de sementes de café, bem como determinar as condições de seleção as quais os embriões serão submetidos após o bombardeamento. Com esta finalidade, sementes de *C. arabica* (cv.lapar-59), gentilmente cedidas pela Dr. Maria C. L. L. Dias (IAPAR-PR), foram esterilizadas e seus embriões removidos foram cultivados em meio MS modificando. Os eixos dos embriões foram então bombardeados com um plasmídeo contendo o gene *ahas*, que confere resistência ao herbicida imazapyr, e o gene *gus*. Após o bombardeamento, os embriões foram transferidos para um meio de cultura contendo imazapyr e mantidos em seleção por uma semana. A concentração ótima do herbicida utilizado para a seleção foi determinada antes do procedimento de transformação. A eficiência de transformação foi analisada pela expressão transiente do gene *gus*. A expressão estimada nos tecidos de cafeeiro indica que este método pode ser viável para a transformação genética de cafeeiro.

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB.

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

<sup>3</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

<sup>4</sup> Eng<sup>a</sup>. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.



**019 - EXPRESSÃO DA LECTINA TARINA 1 DE *Colocasia esculenta* EM *Nicotiana tabacum* (Expression of the lectin tarin1 from *Colocasia esculenta* in *Nicotiana tabacum*)**

Pascoal, A.V.<sup>1</sup>, Bertioli, D.<sup>2</sup>, Guimarães, P.M.<sup>3</sup>, Monte, D.C.<sup>3</sup>

Ao longo do processo evolutivo, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa contra parasitas e predadores, incluindo a produção de substâncias (como lectinas) que as tornem tóxicas, impalátáveis ou indigestas (Peumans & Van Damme, Trends in Food Science & Tech., 132, 1996). As lectinas se ligam a carboidratos, sendo a função mais provável a defesa (Etzler, Ann. Rev. Plant Physiol., 209, 1985). Várias lectinas são tóxicas a insetos causando atrasos no desenvolvimento, diminuição da fecundidade ou morte (Hilder *et al.*, Trans.Res.,18, 1995). Além disto, certas lectinas se ligam ao aparato sensorial de nematóides, podendo dificultar a localização do hospedeiro (Aumann, Fund. Appl. Nem., 381,1993). O gene *tar1* codifica uma lectina de corno de inhame (*C. esculenta*) e apresenta-se promissor para o controle de nematóides e outras pragas. Para estudar o efeito da tarina 1 nestes fitoparasitas, um vetor binário contendo a região codante e o terminador do gene *tar1* sob o controle do promotor 35S-Benfey foi construído e introduzido em *N. tabacum* via *Agrobacterium tumefaciens*. Das plantas regeneradas em meio seletivo, nove apresentaram um produto de PCR equivalente ao gene *tar1* e quatro expressão da tarina 1 em Western blot. O número de loci do transgene por planta foi avaliado através da segregação na progênie e variou de um a três loci. As plantas expressando a tarina 1 serão submetidas a bioensaios envolvendo nematóides e outras pragas e, caso a tarina 1 se mostre efetiva, poderá ser utilizada em programas de melhoramento genético.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Mestranda, UnB.

<sup>2</sup> Botânico, PhD, Oxford University – Inglaterra.

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

**020 - EXPRESSÃO DA TOXINA Cry1Ab DA ESTIRPE S93 DE *Bacillus thuringiensis* SUBSP. *kurstaki* EM SISTEMA HETERÓLOGO (*Pichia pastoris*) (Heterologous expression of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* strain S93 Cry1Ab toxin in *Pichia pastoris*)**

Menegaz, N.E.V.<sup>1</sup>, Marques, A.R.<sup>2</sup>, Inglis, P.W.<sup>3</sup>, Grossi de Sá, M.F.<sup>4</sup>, Silva-Werneck, J.O.<sup>5</sup>

*Bacillus thuringiensis* é uma bactéria que durante o processo de esporulação sintetiza inclusões cristalinas compostas por uma ou várias proteínas, denominadas  $\delta$ -endotoxinas ou proteínas Cry. Estas proteínas têm atividade tóxica específica para insetos e outros invertebrados, não causando danos a insetos não-alvo, plantas, vertebrados e meio-ambiente. Bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* vêm sendo utilizados com sucesso no controle de insetos há mais de 50 anos. Este trabalho objetiva a expressão da toxina Cry1Ab a fim de se avaliar a atividade da mesma para diferentes espécies de insetos, estudar afinidade toxina-receptor, produzir anticorpos e estabelecer metodologia para superexpressão de proteínas de *B. thuringiensis* em sistema heterólogo (*Pichia pastoris*). A sequência codante do gene *cry1Ab*, isolada da estirpe S93 de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* e clonada em pUC18, foi amplificada através de PCR, inserindo-se sítios de restrição para *Bam* HI. O fragmento de DNA foi clonado no vetor de transferência pCR 2.1 (Invitrogen), em seguida subclonado no vetor de expressão de levedura pHILS1 (Invitrogen) em *Escherichia coli* XL1-Blue. Células de *P. pastoris* GS115 foram transformadas por eletroporação com DNA de um clone cortado com *Sal* I, e os transformantes selecionados por "Western blot". Após indução de um transformante para expressão, foi feita análise por SDS-PAGE e "Western blot", verificando-se bons níveis de produção com 72 horas de crescimento.

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UnB.

<sup>2</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Ciências Farmacêuticas, UnB.

<sup>3</sup> Biólogo, PhD, consultor da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

## 021 - INIBIDORES DE $\alpha$ -AMILASE DO TRIGO ATIVOS CONTRA $\alpha$ -AMILASES DE BRUQUÍDEOS E EXPLICAÇÃO ESTRUTURAL DAS ESPECIFICIDADES OBSERVADAS (Activity of wheat $\alpha$ -amylase inhibitors towards bruchid $\alpha$ -amylases and structural explanation of observed specificities)

Franco, O.L.<sup>1</sup>, Ridgen, D.J.<sup>2</sup>, Melo, F.R.<sup>3</sup>, Bloch Jr., C.<sup>4</sup>, Grossi de Sá, M.F.<sup>5</sup>

Três bruquídeos-pestes economicamente importantes que atacam o feijão armazenado (*Acanthoscelides obtectus*, *Zabrotes subfasciatus* e *Callosobruchus maculatus*) são responsáveis por grandes perdas na agricultura brasileira. Com o intuito de encontrar inibidores ativos contra esta praga, proteínas foram extraídas de grãos de trigo e aplicadas em HPLC de Fase Reversa. As 4 frações principais foram denominados E-H, onde observou-se atividade inibitória contra as  $\alpha$ -amilases estudadas. O pico E, rico em inibidores do tipo 0.19, mostrou atividade inibitória para  $\alpha$ -amilases dos 3 bruquídeos e para  $\alpha$ -amilase de pâncreas de porco (PPA). O pico F, rico em inibidor 0.53, apresentou atividade contra os três bruquídeos testados, mas não mostrou atividade contra PPA. O pico G, rico em inibidor WRP25, mostrou atividade contra *C. maculatus* e contra *Z. subfasciatus*, enquanto que o pico H, rico em WRP26, mostrou atividade inibitória somente contra amilase de *C. maculatus*. Os inibidores 0.19 e 0.53 podem ser considerados os primeiros fatores de resistência encontrados para o *A. obtectus* devido a inibição de sua  $\alpha$ -amilase. Usando estruturas de complexos provenientes de cristalização, modelos de  $\alpha$ -amilases de mamíferos e insetos ligados ao inibidor 0.19 foram construídos e refinados e algumas questões foram postuladas. Por que o inibidor WRP27 foi incapaz de inibir as  $\alpha$ -amilases estudadas? Por que o WRP25 é um bom inibidor de  $\alpha$ -amilase de *Z. subfasciatus*, enquanto o

---

<sup>1</sup> Biólogo, Mestrando, UnB.

<sup>2</sup> Biólogo, PhD, Bolsista CNPq.

<sup>3</sup> Bióloga, Doutoranda, UnB.

<sup>4</sup> Biólogo, PhD, UnB.

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

WRP26 a inibe fracamente, apesar da alta similaridade de sequência? Por que o inibidor 0.53 não inibe PPA, enquanto o 0.19, que apresenta 94% de identidade, é capaz de inibi-la? Tamanho e cargas dos resíduos, comprimento de algumas alças e diferenças de conformação estrutural nas moléculas são provavelmente os fatores responsáveis pelas diferenças em especificidade.

**022 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE cDNAs CODIFICADORES DE ASPÁRTICO E SERINO PROTEASES DE NEMATÓIDES DE GALHA *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* (Isolation and characterization of cDNAs encoding aspartyl and serine proteinases from the root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*)**

Fragoso, R.R.<sup>1</sup>, Batista, J.A.N.<sup>2</sup>, Pinto, A.C.M.<sup>3</sup>, Oliveira-Neto, O.B.<sup>4</sup>, Cordeiro, M.C.R.<sup>5</sup>, Grossi de Sá, M.F.<sup>6</sup>

Nematóides endoparasitas sedentários de plantas são pragas de grande importância para a agricultura. Entre estes, os causadores de galha (*Meloidogyne* spp.) se destacam por atacar uma ampla variedade de plantas cultivadas em diversas regiões do mundo. As atuais formas de controle têm apresentado alto custo e baixa eficácia, além de estarem contaminando o meio ambiente. Assim, pesquisas com novas tecnologias têm sido motivadas, tais como a estratégia visando a expressão de proteínas com poder nematicida (por exemplo, os inibidores de proteases) no sítio de alimentação de nematóides. O passo inicial dessa pesquisa é a caracterização da atividade proteolítica dos nematóides da galha *M. incognita* e *M. javanica* e o isolamento de seus respectivos genes. A partir do extrato total de proteínas obtido de fêmeas e larvas, a atividade proteolítica foi mensurada utilizando-se substratos fluorogênicos e inibidores de proteases de diferentes classes. Estes ensaios acusaram que serino e cisteíno proteases predominam em *M. incognita*, e serino e aspártico proteases em *M. javanica*. Para isolar genes codificadores dessas proteases, oligonucleotídeos degenerados foram desenhados para cada protease. A amplificação por RT-PCR do

---

<sup>1</sup> Bolsista RHAEC/CNPq, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

<sup>2</sup> Biólogo, Doutorando, UnB.

<sup>3</sup> Farmacêutica Bioquímica, Doutoranda, UFRJ.

<sup>4</sup> Eng. Agr., Doutorando, UnB.

<sup>5</sup> Bióloga, PhD, Embrapa Cerrados.

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

RNA total de fêmeas e larvas de ambas espécies com oligonucleotídeos para serino e aspártico proteases permitiu-nos o isolamento de cDNAs incompletos, codificadores de diferentes serino e aspártico proteases. O isolamento da seqüência completa destes cDNAs está em andamento através do 3' e 5' RACE. A completa caracterização e a disponibilidade destes genes permitirão a seleção de inibidores específicos e o uso destes na transformação de plantas, visando a introdução de resistência a estes nematóides.



## 023 - OBTENÇÃO DE PLANTAS TRANSGÊNICAS DE FEIJÃO ( *Phaseolus vulgaris* L. ) TOLERANTES AO HERBICIDA PPT (Transgenic dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) resistant to the herbicide PPT)

Albino, M.M.C.<sup>1</sup>, Jungmann, L.C.<sup>2</sup>, Dias, B.B.A.<sup>1</sup>, Andrade, J.F.<sup>3</sup>, Vianna, G.R.<sup>4</sup>, Aragão, F.J.L.<sup>5</sup>, Rech, E.L.<sup>5</sup>

A obtenção de plantas transgênicas de feijão tolerantes a herbicidas, deverá facilitar uma utilização racional da aplicação de herbicidas e conseqüentemente redução no custo de produção e disponibilidade no meio ambiente. O presente estudo objetivou a obtenção de plantas de feijoeiro tolerantes ao herbicida PPT (fosfinotricina). Os eixos embrionários foram retirados das sementes e as folhas primárias removidas para exposição da região do meristema apical. Os explantes foram posicionados em meio MS contendo 10 mg/ L de BAP (Benzil Amino - purina) e bombardeados com um vetor contendo o gene *bar* de *Streptomyces higroscopicus*, que confere tolerância ao herbicida PPT, sob o controle do promotor 35S, do vírus do mosaico do couve-flor, utilizando o sistema biobalística. Após o bombardeamento, os embriões foram cultivados por 2-3 semanas. As plantas desenvolvidas, foram submetidas a uma aplicação do herbicida PPT (glufosinato de amônio 0,5%). As plantas sobreviventes foram transferidas para casa de vegetação e submetidas à análises moleculares. A eficiência de transformação foi de 1% . A presença do gene foi confirmada nas plantas sobreviventes, por PCR e Southern Blot. Estas plantas foram introduzidas no programa de melhoramento da EMBRAPA , visando a obtenção de uma linhagem comercial de feijão cv. Olathe, com tolerância à dose comercial do herbicida PPT.

---

<sup>1</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB.

<sup>2</sup> Bióloga, Bolsista CNPq.

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

<sup>4</sup> Eng. Agr., Doutorando, UnB.

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

**024 - PROCESSO PARA A OBTENÇÃO DE PLANTAS TRANSGÊNICAS DE ALGODÃO UTILIZANDO O GENE *ahas* QUE CONFERE TOLERÂNCIA AO HERBICIDA IMAZAPYR (A process for obtention of transgenic cotton with the gene *ahas* to achieve tolerance to the herbicide Imazapyr)**

Carvalho, S. B. R.<sup>1</sup>, Vianna, G.R.<sup>2</sup>, Rech, E.L.<sup>3</sup>, Aragão, F. J. L.<sup>3</sup>

Devido à importância do algodão para a economia mundial, existe o interesse na utilização da tecnologia do DNA recombinante na introdução de diferentes características agrônômicas. A transformação genética via biobalística oferece a possibilidade de introdução de genes exógenos no genoma da planta, sem perda das características superiores de uma cultivar comercial. Entretanto, para que este recurso seja utilizado, é necessário que o protocolo de seleção das células transformadas, esteja bem definido. O objetivo do presente foi o desenvolvimento de um processo para obtenção de plantas transgênicas de algodão, via biolística, tolerantes ao herbicida Imazapyr. Embriões de algodão foram bombardeados com um vetor contendo o gene *ahas*, de *Arabidopsis thaliana*, que confere resistência ao herbicida Imazapyr, sob o controle do promotor do próprio *ahas* (pAHAS). Em seguida, os embriões foram inoculados em meio de cultura MS acrescido com BAP 3,0 mg/L e Imazapyr 300nM. Posteriormente, as brotações desenvolvidas, foram transferidas para um novo meio MS de enraizamento contendo 0,1% de carvão ativado. Dentre as plantas obtidas, a eficiência de transformação foi de 1%. A presença do gene foi confirmada por PCR. A técnica desenvolvida deverá permitir futuras introduções de genes de interesse econômico na cultura do algodão.

---

<sup>1</sup> Eng. Florestal, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

<sup>2</sup> Eng. Agr., Doutorando, UnB.

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

## 025 - SELEÇÃO DE INIBIDORES DE PROTEINASES CISTEÍNICAS ESPECÍFICOS PARA O BRUQUÍDEO *Acanthoscelides obtectus* ATRAVÉS DO USO DE BIBLIOTECA PHAGE DISPLAY (Screening of cysteine proteinase inhibitors with specificity to bruchid *Acanthoscelides obtectus* using Phage Display library)

Melo, F.R.<sup>1</sup>, Mello, M.O.<sup>2</sup>, Silva Filho, M.C.<sup>3</sup>, Silva, M.C.M.<sup>4</sup>, Genú, A.M.<sup>5</sup>, Franco, O.L.<sup>6</sup>, Grossi de Sá, M.F.<sup>7</sup>

O bruquídeo *Acanthoscelides obtectus*, é um dos insetos de maior importância de grãos armazenados, causando danos significativos em culturas do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*). Inibidores de enzimas digestivas têm sido utilizados no controle de diferentes pragas. Os inibidores de  $\alpha$ -amilase e de proteinase até agora estudados não mostraram atividade para amilases e proteases de *A. obtectus*. Com o objetivo de se obter um inibidor de proteinase com atividade sobre o desenvolvimento de *A. obtectus* caracterizamos e purificamos as proteinases do inseto que foram utilizadas para a seleção de inibidores mutantes com atividade sobre as mesmas. A caracterização das proteinases, mostrou que as proteinases mais abundantes nas larvas do inseto foram as do tipo cisteínicas. Estas, foram então purificadas através de cromatografias de troca iônica (CM-Celulose) e hidrofóbica (Fase reversa /HPLC). Desta forma, iniciou-se então a seleção de inibidores de proteinases cisteínicas específicos para as proteinases purificadas. Nesta etapa, utilizamos duas bibliotecas "Phage Display" contendo bacteriófagos filamentosos M13, os quais estavam expondo  $3 \times 10^3$  e  $3 \times 10^6$  diferentes inibidores mutantes em sua superfície. As bibliotecas foram construídas a partir de mutações no sítio ativo de um gene de inibidor de proteinase cisteínica originado do nematóide *Onchocerca volvulus* (OV7). Três "screenings" de seleção foram feitos utilizando as proteínas obtidas em cromatografia de troca iônica.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Doutoranda, UnB.

<sup>2</sup> Eng. Agr., PhD, Bolsista FAPESP.

<sup>3</sup> Eng. Agr., PhD, USP.

<sup>4</sup> Bióloga, Doutoranda, UnB.

<sup>5</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

<sup>6</sup> Biólogo, Mestrando, UnB.

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

Foram obtidos vários clones positivos e o sequenciamento foi feito através de método automático. Duas sequências mostraram-se bastante repetitivas e serão utilizadas para a expressão destes inibidores em sistema heterólogo. Estes inibidores serão então usados em testes biológicos.

026 - SOBREVIVÊNCIA E DETECÇÃO DE LINHAGENS CO-TRANSFORMADAS DE *Trichoderma harzianum* POR NESTED-PCR UTILIZANDO PRIMERS PARA O GENE DA *EGFP* (Survival and detection of co-transformed strains of *Trichoderma harzianum* by NESTED-PCR with primers to *egfp* gene)

Queiroz, P.R.<sup>1</sup>, Inglis, P.W.<sup>2</sup>, Valadares-Inglis, M. C.<sup>3</sup>

Green e Jensen (Phytopathology, 1995) usaram uma linhagem de *T. harzianum* transformada com o gene GUS para monitorar a presença desta quando liberada no ambiente. Contudo, os ensaios para GUS não permitem a detecção da expressão gênica *in vivo*. Linhagens marcadas de *T. harzianum* 1051, antagonista de *Crinipellis pernicioso* (vassoura-de-bruxa), foram usadas para estudos de expressão e monitoramento em solo usando o gene *egfp* que codifica a proteína fluorescente verde, permitindo estudos *in vivo* (Chalfie, Science, 1994). Colônias dos co-transformantes TE10 e TE41, apresentando resistência a benomil e fluorescência, foram obtidas nas amostras coletadas durante as 4 semanas de incubação em solo sob condições controladas. Através de microscopia, mais de 80 % das colônias obtidas apresentaram fluorescência, demonstrando a estabilidade do gene em solo. Utilizando o DNA extraído das linhagens isoladas do solo para análise por nested-PCR, foi possível detectar o gene *egfp* nos co-transformantes durante as 4 semanas de incubação. Controles sem co-transformantes e as linhagens selvagens não portadoras do gene *egfp*, não apresentaram bandas de amplificação. O controle positivo, para o gene *egfp*, apresentou as bandas de 700 e 300 bp como esperado para os dois conjuntos de primers. Linhagens de *Trichoderma* com o gene *egfp* podem ser usadas em experimentos de interação com *Crinipellis*, bem como em experimentos de campo, visando estudos de transferência de genes e impacto ambiental.

---

<sup>1</sup> Biólogo, Mestrando UnB.

<sup>2</sup> Biólogo, PhD, Consultor da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

**027 - TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE CÉLULAS EMBRIO\_ GÊNICAS DE BANANA UTILIZANDO COMO AGENTE SELETIVO O HERBICIDA IMAZAPYR, VIA BIOLÍSTICA (Genetic transformation of embryogenic suspension cells of banana using as selection agent the herbicide imazapyr, via Biolística)**

Morais, L.S.<sup>1</sup>, Matsumoto, K.<sup>2</sup>, Aragão, F.J.L.<sup>2</sup>, Rech, E.L.<sup>2</sup>

A banana é a quarta planta alimentícia mais importante no mundo e a principal fonte de alimento para milhões de pessoas. A ausência de variedades resistentes a doenças fúngicas e virais tem induzido ao desenvolvimento de novas estratégias para a criação de cultivares resistentes, que pelos métodos de melhoramento convencionais é bastante difícil, principalmente devido a maioria das espécies serem estéreis e com um sistema de reprodução sexual extremamente difícil. Através da tecnologia do DNA recombinante, nova variabilidade vem sendo gerada a partir de plantas transgênicas. O processo de biolística tem se mostrado a técnica mais versátil e promissora para a maioria das espécies vegetais. Este processo consiste na aceleração de partículas a altas velocidades em direção ao tecido alvo, carregando para o seu interior o DNA de interesse. Este trabalho teve por objetivo testar diferentes doses do herbicida imazapyr em células embriogênicas de banana cv Maçã e posteriormente, aplicar a melhor dose em células bombardeadas. Foi testado as doses de 0, 250, 500, 1000 e 2000 nM do herbicida, em 0,5ml de PCV(packed cell volume) de células em suspensão, cultivadas em MS, subcultivadas semanalmente com seleção, sob agitação em sala de crescimento. Após 30 dias obteve-se como melhor resultado 1000 nM e este foi utilizado como base para seleção das células bombardeadas. Para bombardeamento foi utilizado o plasmídeo pAG1 contendo o gene *ahas*, que confere

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Bolsista RHAE/CNPq – DTI.

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



resistência ao herbicida imazapyr, sob o controle do promotor do próprio *ahas* (pAHAS) de *Arabidopsis thaliana*. As células foram bombardeadas e depois cultivadas em meio de cultura MS sólido. Em seguida, as células foram selecionadas, e os pró-embriões formados, foram testados para expressão da GUS. Houve formação de plântulas, as primeiras 11 foram analisadas por PCR, todas foram positivas para presença do gene *ahas*.

## 028 - VERIFICAÇÃO DO PADRÃO DE EXPRESSÃO ESPACIAL E TEMPORAL DOS PROMOTORES 2.5 E 1.38(4) EM PLANTAS TRANSGÊNICAS (Spatial and temporal verification of the expression pattern of the 2.5 and 1.38(4) promoters in transgenic plants)

Viana, A.A.B.<sup>1</sup>, Barros, L.M.G.<sup>2</sup>, Barreto, C.C.<sup>3</sup>, Carneiro, M.<sup>4</sup>

A expressão do gene *rolA* de *Agrobacterium rhizogenes* ocasiona uma série de aberrações no crescimento e desenvolvimento de plantas sendo as mais expressivas o enrugamento foliar, escurecimento da coloração, encurtamento dos entrenós (Dehio *et al.*, 1993) e empobrecimento das raízes (Carneiro & Vilaine, 1993). Entretanto, a função deste gene ainda não é conhecida, tendo sido postulado que o mesmo atue como regulador de expressão gênica. Consiste no objetivo deste projeto o teste da hipótese em questão. Para isso, foram isolados fragmentos de DNA de *Arabidopsis thaliana* que possuíam afinidade pela proteína RolA, e estes clonados individualmente a um vetor (pBluescript) contendo um promotor mínimo e a seqüência codante do gene GUS. A análise da expressão transiente em protoplastos de *Nicotiana tabacum* transformados com estas construções demonstraram que os fragmentos 2.5 e 1.38(4) promoveram a expressão do gene GUS, quando comparados aos controles. Resta então se fazer uma análise da expressão estável, no decorrer do desenvolvimento da planta verificando em quais tecidos ou células esses promotores (2.5 e 1.38) são capazes de comandar a expressão do gene reporter GUS. Cada fragmento, ligado ao promotor mínimo e o gene GUS, foi clonado no vetor binário pBIN19. Após a construção desses plasmídios (pBSG 25 e pBSG 1384), cada um foi inserido individualmente em bactérias *A. tumefaciens* GV 3101, e estas colocadas separadamente em contato com discos foliares de tabaco. Após a infecção, os discos transformados foram colocados em meio de indução e regeneração de calos, e os brotos então

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

<sup>2</sup> Bióloga, Doutoranda, IACR-Rothamsted, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

<sup>3</sup> Bióloga, MSc, Bolsista CNPq.

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

transferidos para meio de enraizamento. Após um enraizamento satisfatório, as plântulas foram aclimatadas no solo em casa de vegetação. Amostras de tecidos foram retiradas em diversos estágios do desenvolvimento das plantas, e utilizadas para ensaios histoquímicos. Resultados preliminares indicam que ambos os fragmentos possuem eficiência promotora na expressão de GUS no pólen de todas as repetições. Sementes formadas por auto-fecundação de cada planta foram germinadas *in vitro* e ensaios serão realizados para a caracterização da expressão.

## CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA

**029 - ANÁLISE DA HERANÇA DE LOCOS MICROSATÉLITES MARCADOS COM FLUORESCÊNCIA EM SUMAÚMA (*Ceiba pentandra*) E ESTIMATIVA DE FECUNDAÇÃO CRUZADA EM POPULAÇÕES NATURAIS (Heritance analysis of fluorescently labeled microsatellites loci in Sumauma (*Ceiba pentandra*) and estimation of outcrossing rate in natural populations)**

Missiaggia, A. A.<sup>1</sup>, Kirst, M.<sup>2</sup>, Silveira, F.Q.<sup>3</sup>, Gaiotto, F.A.<sup>4</sup>, Brondani, R.P.V.<sup>5</sup>, Gribel, R.<sup>6</sup>, Grattapaglia, D.<sup>7</sup>

A Sumaúma é a maior árvore das florestas de várzea da Amazônia e suas populações vem sendo intensamente exploradas para produção de compensados. O objetivo deste trabalho é estudar o alcance do fluxo de pólen entre árvores e a paternidade das sementes em populações fragmentadas na região de Manaus, visando subsidiar práticas de manejo e exploração que mantenham o potencial evolutivo da espécie. Foi analisado, via PCR, um conjunto de seis locos microsatélites marcados com fluorocromos. Foram genotipadas 295 plântulas originadas de sementes coletadas de sete árvores nativas e 69 plântulas obtidas a partir de sementes de duas árvores plantadas na área urbana. Cinco das sete árvores estudadas, todas ocorrendo nas florestas sazonalmente inundadas das várzeas, apresentaram zero a 4% das sementes originadas por auto-fecundação. Em contraste, duas árvores que ocorrem em área de terra firme, mostraram-se fortemente auto-compatíveis, produzindo 69,7 e 97,8% de sementes por auto-fecundação. Dois indivíduos plantados lado a lado na área urbana apresentaram sistema de cruzamento predominantemente alógamo, com apenas 4,0 e 9,1% de sementes originadas por auto-fecundação. Foi possível identificar a paternidade para 69 das 222 plântulas originadas por fecundação cruzada, sugerindo a ocorrência de emigração de pólen de fora da área de estudo. Apesar da maioria dos cruzamentos, onde foi possível determinar o doador de pólen, ocorrer entre árvores próximas (< 500 m), foram identificados casos em que o fluxo de pólen alcançou distâncias superiores a 10 km. Esses dados

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB.

<sup>2</sup> Eng. Florestal, Mestrando, UFV.

<sup>3</sup> Bióloga, MSc, Bolsista CNPq.

<sup>4</sup> Bióloga, Doutoranda, ESALQ-SP.

<sup>5</sup> Bióloga, Doutoranda, UnB.

<sup>6</sup> Eng. Florestal, PhD, INPA.

<sup>7</sup> Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

reforçam informações de estudos anteriores sobre a ecologia reprodutiva dessa espécie, que sugerem fluxo de pólen extensivo devido a polinização promovida por morcegos filostomídeos.

**030 - ANÁLISE GENÉTICA COM RAPD E MICROSSATÉLITES INDICAM FORTE ESTRUTURAÇÃO FAMILIAR NA REGENERAÇÃO DE *Cedrela odorata* EM MATA CILIAR NO CERRADO. (Genetic analysis with RAPD and microsatellite markers indicates strong family structure of the regeneration of *Cedrela odorata* in Cerrado Gallery Forest.)**

Soares, C.N.<sup>1</sup> , Grattapaglia, D.<sup>2</sup>

O cedro (*Cedrela odorata* L., Meliaceae) é uma espécie florestal de elevada importância econômica devido a utilização bastante diversificada de sua madeira. A regeneração de cedro resulta em áreas com alta densidade de indivíduos, entretanto acredita-se que estes regenerantes se originam de poucos adultos remanescentes da floresta primária, criando agrupamentos familiares. Se esta hipótese for correta, estas áreas não deverão ser prioritárias para a conservação da espécie *in situ*. Este trabalho teve como objetivo testar a hipótese utilizando marcadores RAPD e microssatélites. Polimorfismos em 7 locos microssatélites foram analisados em eletroforese e paralelamente, foi realizada uma análise com 18 *primers* RAPD gerando 28 marcadores. Uma análise de similaridade genética com base nos dados de RAPD separaram geneticamente a população em 3 grandes grupos, onde os indivíduos que apresentavam classes diamétricas menores se posicionaram num único grupo com alta similaridade. Os dados de microssatélite corroboraram este resultado apresentando genótipos multiloco idênticos para os mesmos indivíduos que apresentaram máxima similaridade com os marcadores RAPD. Foi observada uma congruência

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB.

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



entre os dados de campo e os dados genéticos sugerindo que a maior similaridade genética está associada a uma maior proximidade física, uma vez que os indivíduos com máxima similaridade são oriundos das mesmas parcelas ou parcelas contíguas. Claramente, estes resultados confirmam a hipótese de que a regeneração de cedro em clareiras apresenta uma forte estruturação familiar. Estes resultados serão fundamentais para pautar recomendações de conservação *in situ* em áreas de mata primária e possivelmente, manejo de regeneração em matas secundárias.

**031 - ANÁLISE GENÉTICA DE ACESSOS DE ARROZ VERMELHO (*Oryza spp.*) COLETADOS NO BRASIL E NA VENEZUELA: HÍBRIDO INTERESPECÍFICO, VARIEDADE TRADICIONAL OU ERVA DANINHA? (Genetic analysis of red rice accessions (*Oryza spp.*) collected in Brazil and Venezuela: interespecific hybrid, traditional varieties or weed?)**

Lins, T.C.L.<sup>1</sup>, Silva, N.J.M.L.<sup>2</sup>, Amaral, Z.P.S.<sup>3</sup>, Rangel, P.H.N.<sup>4</sup>, Ferreira, M.E.<sup>4</sup>

Acessos de arroz com grãos de coloração vermelha são conhecidos como “arroz vermelho”. Alguns possuem características similares às variedades a que são associados, diferenciando-se destas pela coloração do grão, sendo considerados erva daninha. Outros acessos possuem vigor acentuado e germinam mais rapidamente que a cultivar. Acessos de arroz vermelho do Banco de Germoplasma foram analisados por marcadores RAPD para compreender sua variabilidade e o grau de relacionamento genético destes acessos com espécies cultivadas e silvestres de genoma diplóide. Tais resultados permitirão identificar acessos silvestres ou os oriundos de cruzamento interespecífico, discriminar as variedades de *O. sativa* que possuem grãos vermelhos, distinguir acessos quase-isogênicos ou oriundos de mutação de variedades comerciais e compreender o processo de disseminação de arroz vermelho. Foram estudadas 169 amostras, distribuídas em 98 acessos de arroz vermelho coletados no Brasil e 64 na Venezuela e 7 controles. Foram utilizados 60 marcadores RAPD para estimar índices de similaridade genética e agrupamento pelo método UPGMA. Acessos anteriormente considerados como variedades tradicionais de *O. sativa* formam grupo intermediário entre *O. sativa* e espécies silvestres de arroz. Cerca de 88% das amostras possuem “background” genético do indica.

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Química, UnB.

<sup>2</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

<sup>3</sup> Assistente de Operações I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

Um alto nível de similaridade genética (> 97%) foi observado entre acessos de arroz vermelho e cultivares de arroz plantadas no Sul do País. Alguns acessos considerados silvestres foram confirmados como variedades tradicionais. A análise molecular de acessos de arroz vermelho é essencial para seu conhecimento genético, facilitando seu controle em lavouras comerciais e emprego em programas de melhoramento.

## 032 - CARACTERIZAÇÃO DO GERMOPLASMA DE ARROZ DE ACORDO COM O AMBIENTE DE ORIGEM, ATRAVÉS DE SIG (Characterization of rice germplasm according to the environmental aspects of origin, using GIS).

Silva, J.C. M.M.<sup>1</sup>, Burle, M.L.<sup>2</sup>, Alves, R.B.N.<sup>3</sup>, Freire, M.S.<sup>4</sup>, Melo, L.A.M.P. de<sup>5</sup>, Fonseca, J.R.<sup>6</sup>

A caracterização do germoplasma torna-se fundamental para facilitar o uso de recursos genéticos, pois pouco se conhece sobre o germoplasma armazenado em grandes coleções. a importância do estudo de caracterização do germoplasma de arroz é evidenciada pelo estreitamento da base genética dos cultivares mais utilizados no programa de melhoramento desse produto. a dificuldade em caracterizar um germoplasma pelos métodos tradicionais, e a constatação que a origem do germoplasma pode expressar, em alto grau, a sua variabilidade genética e a sua adaptação ambiental, apontam para o interesse pelo conhecimento do ambiente de origem do germoplasma. assim, o conhecimento do local de coleta pode auxiliar na identificação de genótipos com adaptação a condições adversas (solos ácidos, solos salinos, climas mais frios, etc.). contudo há pouca informação disponível neste aspecto, pois os dados de passaporte apenas fornecem os dados relativos a localização da coleta, como a longitude, latitude, municípios, rodovias próximas. o objetivo do trabalho é caracterizar o germoplasma de arroz armazenado no bag arroz de acordo com o ambiente de origem, através de mapas ambientais armazenados em sig. utilizou-se o arcinfo 7.1.1 no qual armazenou-se as informações dos locais de coleta do germoplasma de arroz (latitude, longitude e altitude). foi realizado o cruzamento, em sistemas de informação geográfica (sig), desses dados com os mapas ambientais (mapa de biomas, de vegetação, de solos e mapas climáticos). o arc view 3.0 a

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

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

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

<sup>4</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Embrapa Arroz e Feijão.

<sup>5</sup> Ciência da Computação, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

<sup>6</sup> Eng. Agr., MSc, Embrapa Arroz e Feijão.

foi utilizado para consultas dos dados armazenados no arcinfo e para a produção de mapas. sem dúvida o uso de mapas ambientais em sig desponta como excelente ferramenta para a caracterização do germoplasma de grandes coleções.

### 033 - CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE ABACAXI: INFLORESCÊNCIA E FLOR (Characterization and evaluation of pineapple germplasm: Inflorescence and flower)

Souza, J.L.B.<sup>1</sup>, Ferreira, F.R.<sup>2</sup>, Cabral, J.R.S.<sup>3</sup>, Duval, M.F.<sup>4</sup>

O Brasil é atualmente o segundo maior produtor de abacaxi, com 13,3% da produção mundial. O *Ananas* é um gênero endêmico da América do Sul, e o Brasil é considerado um dos maiores centros de diversidade genética do abacaxi. Pode-se encontrar no Brasil, além do *Ananas comosus* (L.) Merrill, todas as espécies de *Ananas* na forma silvestre ou cultivada, porém existe apreciável erosão genética e grande vulnerabilidade da cultura, devido principalmente a utilização de apenas uma ou duas cultivares na maioria dos plantios brasileiros e mundiais. Diante disto a EMBRAPA, com apoio da Comunidade Européia, desenvolve projetos de coleta e caracterização de germoplasma de abacaxi, através dos quais tem sido possível resgatar apreciável gama de variabilidade genética, a qual foi incorporada ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Abacaxi, localizado na Embrapa Mandioca e Fruticultura, sendo constituído atualmente de 720 acessos, dos quais 476 são de *Ananas comosus* e 244 de espécies afins. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia mantém uma duplicata de parte deste BAG com cerca de 190 acessos, os quais estão sendo caracterizados e avaliados com base em 20 descritores da inflorescência e da flor. O trabalho está em andamento, tendo sido avaliados até o momento 22 acessos e 12 estão em fase de avaliação. Os resultados preliminares mostram que, tanto os descritores qualitativos como aqueles quantitativos estão tendo ampla variação entre os acessos avaliados, indicando que são descritores importantes para o processo de caracterização e avaliação de germoplasma de abacaxi.

---

<sup>1</sup> Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UNICEUB.

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

<sup>3</sup> Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Mandioca e Fruticultura.

<sup>4</sup> Bióloga, Pesquisadora visitante do CIRAD/França.

## 034 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICO-AGRONÔMICA DE GERMOPLASMA DE ABACAXI: PLANTA E FRUTO (Morphological and horticultural characterization of pineapple germplasm: plant and fruit)

Santos, C.W.F.<sup>1</sup>, Ferreira, F.R.<sup>2</sup>, Cabral, J.R.S.<sup>3</sup>, Duval, M.F.<sup>4</sup>

Originário na América do sul, o abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merrill) tem no Brasil um dos principais centros de diversidade genética, porém, o seu cultivo está disseminado por mais de 70 países. Não obstante enorme gama de variabilidade genética que ocorre no *A. comosus*, assim como em outras espécies do gênero *Ananas*, mais de 70% da produção mundial baseia-se em apenas uma cultivar, a Smooth Cayenne, o que mostra a vulnerabilidade desta cultura. Os programas de melhoramento devem procurar reverter esta situação, buscando aumentar a base da variabilidade genética nas variedades comerciais. Um dos fatores limitantes, para a utilização do germoplasma disponível, é a ausência de informações sobre o mesmo. Este trabalho tem como objetivo promover a caracterização de germoplasma de abacaxi, disponibilizando as informações para o público usuário. O trabalho foi desenvolvido na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em Brasília-DF, com o apoio da Comunidade Européia, onde foram avaliados 48 acessos, sendo 37 de *A. comosus*, 6 de *A. bracteatus* e 5 de *A. ananassoïdes*. Utilizou-se o manual de descritores publicado pelo IBPGR, sendo que foram avaliados 23 descritores da planta e 44 do fruto. Os dados foram submetidos ao cálculo de média e desvio padrão. Os resultados preliminares indicam que houve grande variação fenotípica entre os acessos estudados, sendo que a variação foi maior entre os acessos de espécies diferentes, do que dentro da mesma espécie. As variações foram mais acentuadas nas características mensuráveis do que nas características não mensuráveis.

---

<sup>1</sup> Eng. Agr., MSc, Bolsista CAPES.

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

<sup>3</sup> Eng. Agr., M. Sc., Embrapa Mandioca e Fruticultura.

<sup>4</sup> Bióloga, Pesquisadora visitante do CIRAD/França.

### 035 - CONSTRUÇÃO DE UM MAPA GENÉTICO REFERÊNCIA PARA O GÊNERO *Eucalyptus* BASEADO EM MARCADORES MICROSSATÉLITE (Construction of a reference genetic map for the *Eucalyptus* genus based on microsatellite markers)

Brondani, R.P.V.<sup>1</sup>, Grattapaglia, D.<sup>2</sup>

Marcadores microssatélites tem sido utilizados preferencialmente no mapeamento e análise genética de seres humanos e várias espécies de animais e plantas que sirvam como organismo-modelo ou que tenham importância econômica. Atualmente está sendo desenvolvido um mapa genético referência usando uma população segregante de 94 indivíduos F<sub>1</sub> provenientes de um cruzamento interespecífico entre *E. grandis* e *E. urophylla*. Setenta marcadores microssatélites foram integrados em um mapa genético construído com marcadores RAPD. Destes 70 marcadores, 62 foram mapeados em *E. grandis* e 54 em *E. urophylla*, distribuídos em 11 grupos de ligação em ambas espécies (n= 11 no gênero *Eucalyptus*). Quarenta e seis marcadores foram completamente informativos segregando em ambos parentais, possibilitando o reconhecimento de grupos de ligação homólogos nas duas espécies. Sessenta e cinco locos foram caracterizados para o conteúdo de informação de polimorfismo (PIC), e mostraram-se altamente informativos, com uma média de  $14,87 \pm 3,78$  alelos por loco, e com 95% dos microssatélites com heterozigosidade acima de 8,0. A total transferibilidade dos microssatélites foi observada entre as duas espécies, as quais pertencem ao mesmo subgênero (*Symphyomyrtus*). Além dos 70 microssatélites, uma bateria adicional destes marcadores está sendo desenvolvida. Dentre estes marcadores, aqueles altamente informativos e distribuídos ao longo de todo genoma serão selecionados, e serão utilizados como locos âncora, a fim de possibilitar estudos de mapeamento comparativo e buscas diretas de novos alelos a QTLs dentro e entre espécies.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Doutoranda, UnB.

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



**036 - CONTAGENS CROMOSSÔMICAS EM NOVOS ACESSOS DE GERMOPLASMA DE ESPÉCIES DE *Paspalum* (Gramineae) DO RIO GRANDE DO SUL DO BRASIL (Chromosomic counts in new germoplasm accessions of *Paspalum* (Gramineae) species of Rio Grande do Sul of Brazil)**

Machado, A.C. de C.<sup>1</sup>, Pozzobon, M.T.<sup>2</sup>, Valls, J.F.M.<sup>3</sup>, Santos, S. dos<sup>4</sup>, Araujo, F.L.<sup>1</sup>

O gênero *Paspalum* ocorre em todo o território brasileiro. No entanto, a maior concentração das coletas já realizadas provém da região Sul do Brasil, onde o gênero tem grande importância na composição florística das comunidades vegetais e onde o potencial de gramíneas forrageiras nativas vem sendo investigado há várias décadas. Grupos, tais como Dilatata, Notata e Plicatula, são de interesse para a área subtropical, pois além de possuírem bom valor forrageiro, são compostos por espécies com diferentes níveis de ploidia, com ocorrência de apomixia e sexualidade. Em Caespitosa, as espécies mostram similaridades morfológicas com *P. notatum*, sendo bem adaptadas ao pastejo e pisoteio. Entre elas, *P. indecorum*, diploide, sexual, tem interesse pela qualidade de sua forragem e resistência, tanto à seca quanto à inundação, nas áreas de ocorrência natural. Foram coletadas plantas dos grupos Caespitosa, Ceresia, Conjugata, Corcovadensia, Dilatata, Dissecta, Disticha, Livida, Modesta, Notata, Paniculata, Plicatula, Quadrifaria e Virgata, ao todo 29 espécies. A quantidade de grupos e espécies, por si só justifica a determinação do número cromossômico, objetivo deste trabalho. Até o momento, os

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

<sup>4</sup> Técnico de Laboratório, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

números determinados, pela análise mitótica em pontas-de-raíz, coincidem com os dados encontrados na literatura. Obteve-se as primeiras contagens cromossômicas para acessos brasileiros de *P. arenarium* ( $2n=20$ ), *P. corcovadense* ( $2n=20$ ) e *P. acuminatum* ( $2n=40$ ). Um acesso identificado a campo como *P. dilatatum* biotipo "Virasoro", mas com caracteres discrepantes, por apresentar anteras roxas, mostrou  $2n=50$ , número também discrepante. O conhecimento dos números cromossômicos destas espécies poderá indicar novas opções para o melhoramento genético de *Paspalum*.

### 037 - CORRELAÇÃO ENTRE DISTÂNCIA GENÉTICA DE PARENTAIS E PERFORMANCE DE HÍBRIDOS DE ARROZ (*Oryza sativa*) (Correlation between genetic distance of parents and performance of hybrids of rice (*Oryza sativa*))

Beló, A.<sup>1</sup>, Cavalheiro, S.T.<sup>2</sup>, Ferreira, M.A.<sup>3</sup>, Amaral, Z.P.S.<sup>4</sup>, Guimarães, E.<sup>5</sup>, Rangel, P.H.N.<sup>5</sup>, Ferreira, M.E.<sup>6</sup>

A utilização de híbridos de arroz é uma opção à estagnação dos patamares de produtividade da cultura. Com a utilização de macho-esterilidade grande quantidade de sementes híbridas pode ser produzida, entretanto, a dificuldade para se avaliar todas as combinações de cruzamentos impede o desenvolvimento de híbridos comerciais. O objetivo do trabalho foi testar a existência de correlação entre distância genética de parentais e performance a campo dos híbridos, a fim de desenvolver um método rápido e eficiente na escolha de parentais para a produção de híbridos. Marcadores amplificados ao acaso (RAPD) foram usados na caracterização genética de 4 linhagens macho-estéreis, 43 mantenedoras e 216 restauradoras em *índica*, *japônica* ou *misturas* e análise de distância genética pelo coeficiente de DICE. Trinta e cinco *primers* amplificaram 98 marcadores RAPD, incluindo 4 específicos para as subespécies *índica* ou *japônica*. Linhagens restauradoras geneticamente mais divergentes, mais similares e intermediárias em relação a cada linhagem macho-estéril foram usadas para produção de híbridos, avaliados para rendimento num

---

<sup>1</sup> Eng, Agr., Mestrando, UFSC.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., Doutoranda, UnB.

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

<sup>4</sup> Assistente de Operações I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

<sup>5</sup> Eng. Agr., Embrapa Arroz e Feijão.

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

delineamento de blocos completos casualizados. Não foi encontrada correlação significativa entre rendimento a campo e distância genética ( $p < 0,05$ ). Para um macho-estéril *índica* e suas respectivas linhagens restauradoras *índica*, a correlação foi significativa ( $p < 0,05$ ) para alguns componentes de rendimento. A partir destes resultados concluímos que não há correlação entre rendimento e distância genética e que pode existir correlação entre componentes de rendimento para alguns grupos de parentais, porém, são necessários mais estudos para sua comprovação e caracterização.

**038 - DISTRIBUIÇÃO REGIONAL DA VARIABILIDADE EM RAPD E cpDNA DE AROEIRA (*Myracrodruon urundeuva* - Anacardiaceae) (Regional distribution of RAPD and cpDNA variability in Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* – Anacardiaceae))**

Reis, A.M.M.<sup>1</sup>, Grattapaglia, D.<sup>2</sup>

Marcadores RAPD e o sequenciamento de uma região não codificadora do DNA de cloroplasto foram utilizados para analisar, em escala regional, a contribuição da dispersão do pólen e da semente na distribuição da variabilidade genética no cpDNA e DNA nuclear de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* - Anacardiaceae), uma espécie tropical de ampla distribuição geográfica. A maior parte da variabilidade genética para DNA nuclear está dentro de populações (82%). Em contraste, uma forte estrutura geográfica foi encontrada entre populações para a sequência de cpDNA analisada. A diferenciação das populações pelo cpDNA foi baseada na presença de uma inserção/deleção de 6 pares de bases acompanhada de uma transição C-T encontrada pelo sequenciamento e visualizada como polimorfismo de comprimento em um total de 192 amostrada distribuídas ao longo da área de ocorrência da espécie no Brasil central. Este polimorfismo encontra-se extremamente estruturado geograficamente já que todos os indivíduos localizados mais na zona norte e leste possuem a inserção 5'-GAAAAA-3' enquanto todos os indivíduos localizados mais ao centro e sudoeste não possuem a inserção. Os resultados demonstram que polimorfismos de inserção/deleção no cpDNA podem ser encontrados em estudos intraespecíficos e constituem, como no caso da aroeira, marcadores bastante úteis para identificação em escala regional de acessos para manejo de germoplasma e procedimentos de conservação e utilização. A limitada diferenciação entre populações para marcadores nucleares contrastando com a alta diferenciação para o DNA de cloroplasto, sugere uma contribuição significativamente maior da polinização no intercâmbio genético entre populações de aroeira.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup>. Florestal, MSc, Bolsista PADCT/CNPq.

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

**039 - FINGERPRINTING DE DNA NA AVALIAÇÃO DE DUPLICAÇÕES DE GENÓTIPOS NO BANCO DE GERMOPLASMA DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) (DNA fingerprinting of rice germoplasm (*Oryza sativa* L.), aiming evaluation of genotypic duplications)**

Silva, N.J.M.L.<sup>1</sup>, Lins, T.C. L.<sup>2</sup>, Amaral, Z.<sup>3</sup>, Rangel, P.H.N.<sup>4</sup>, Ferreira, M.E.<sup>4</sup>

Germoplasma vegetal vem sendo conservado no mundo, em coleções *ex situ*, constatando -se para cereais, duas tendências: o estreitamento da base genética dos programas de melhoramento pelo uso de pequeno conjunto de linhagens aparentadas, causando estagnação da produtividade e carência de informações sobre os acessos conservados, dificultando sua utilização. É possível que nas coleções existentes observe-se significativo número de acessos com igual denominação que podem ou não possuir a mesma identidade genética. É provável também que acessos com nomes distintos sejam geneticamente idênticos. O estudo de polimorfismos de sequências de DNA, através de técnicas de alta capacidade multiplex, viabiliza a análise de grande número de acessos conservados em Bancos de Germoplasma. O corolário é uma inversão de prioridades, onde o "fingerprinting" molecular em larga escala precede a avaliação agrônômica e morfológica dos acessos, possibilitando a eliminação de duplicações antes que as análises que demandam tempo e mão-de-obra sejam executadas. Neste estudo, 94 variedades tradicionais de arroz coletadas no Sudeste do Brasil foram analisadas com marcadores RAPD previamente selecionados. O polimorfismo dos 92 marcadores foi utilizado para estimar índices de similaridade genética e agrupados pelo

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

<sup>2</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Química, UnB.

<sup>3</sup> Assistente de Operações I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

método UPGMA. Cerca de 20% das variedades testadas são do tipo indica e 80% do tipo japônica. Variedades com o mesmo nome tendem a se agrupar e apresentam alto índice de similaridade genética. No entanto, observa-se que algumas sinonímias são geneticamente diferentes. Cerca de 5% dos acessos possuem fingerprinting molecular idêntico, enquanto 15% possuem índice de similaridade acima de 95%, evidenciando duplicações na coleção.

**040 - HÍBRIDOS ENTRE ESPÉCIES DO GÊNERO *Arachis* (*Leguminosae*)  
COM 2n=18 CROMOSSOMOS (Hybrids between species of genus  
*Arachis* (*Leguminosae*) with 2n = 18 chromosomes)**

Peñaloza, A. de P. de S.<sup>1</sup> , Valls, J.F.M.<sup>2</sup>

*Arachis decora*, *A. palustris* e *A. praecox* são espécies anuais (2n=18 cromossomos) e comportam-se como um subgrupo da secção *Arachis*. As demais espécies são diplóides (2n=2x=20) ou tetraplóides (2n=2x=40). Apesar das dificuldades para se hibridizar essas espécies com outras do gênero, tentativas tem sido feitas visando a transferência características úteis para o amendoim, *A. hypogaea*. As cerdas nas estípulas, pecíolo e ráquis diferenciam *A. decora* de *A. praecox* e *A. palustris*. Entretanto, só 4 dos 27 acessos disponíveis, identificados como *A. decora*, mostram tal característica. Realizaram-se cruzamentos intra e interespecíficos para verificar a cruzabilidade entre as espécies de 2n = 18. Plantas de *A. decora* V 13478 (flor branca, sem cerdas) e *A. decora* V 9955 (flor laranja, com cerdas) foram utilizadas como progenitores femininos, e *A. palustris* V 13023, *A. praecox* V 6416 e outras populações de *A. decora*, como os progenitores masculinos. Obtiveram-se sementes de *A. decora* V 9955 x *A. decora* V 13478 (uma) e *A. decora* V 13478 x *A. palustris* V 13023 (uma). A semente obtida do último cruzamento originou uma planta normal, sem cerdas, com flores laranja, fértil e com corabilidade de pólen de 70-80%. Após a primeira floração foram coletadas 29 sementes F2. Desta progênie, ¾ apresentaram flores laranja e ¼, brancas. O indivíduo F1 não apresentou o ciclo anual dos progenitores, se mantém viva e produzindo poucas sementes há dois anos. Os indivíduos F2 apresentam viabilidade de pólen entre 60-99%. Novos ensaios de cruzabilidade entre estas espécies e representantes de diferentes genomas do gênero estão sendo realizados, para a melhor compreensão deste grupo de plantas com características econômicas para o melhoramento do amendoim, principalmente para regiões áridas, onde o ciclo mais curto possibilita o escape às condições adversas.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., Doutoranda UNESP – Botucatu.

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



**041 - HISTÓRIA DAS CULTIVARES COMERCIAIS DE *Arachis pintoï* (*Leguminosae*)**  
**(History of the commercial cultivars of *Arachis pintoï* (*Leguminosae*))**

Paganella, M.B.<sup>1</sup> , Valls, J.F.M.<sup>2</sup>

A introdução de novas leguminosas forrageiras produtivas e persistentes, que satisfaçam o requerimento animal, determina aumentos de produção de leite e carne. *Arachis pintoï* Krapov. & W. C. Gregory destaca-se por tais características, já tendo-se tornado forrageira comercial. A partir do acesso coletado pelo Prof. Geraldo Pinto, em 1954, na Bahia, foram lançadas as cultivares "Amarillo", na Austrália, "Maní Forrajero Perenne" na Colômbia (CIAT 17434), "Pico Bonito", em Honduras e "Maní Mejorador", na Costa Rica. A cultivar colombiana passou a ser multiplicada e comercializada na Bolívia, pela empresa SEFO-SAM. No Brasil, as Sementes Matsuda lançaram a cv. "Amarillo-MG-100" proveniente de importação de sementes da SEFO-SAM. Mais recentemente a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira-CEPLAC lançou, a cultivar "Belmonte", correspondente a um acesso distinto (BRA-031828). Na Malásia, foi lançada a cv. "Golden Glory" e, no Panamá, a cv. "Maní Forrajero", esta última, um composto de dois acessos. Na Costa Rica, foi lançada a cv. "Porvenir", dita oriunda do acesso CIAT 18744 (BRA-012122), coletado em Minas Gerais, em 1981 por J. Valls e W. Werneck (VW 5895), e considerada superior no rendimento de forragem e de sementes ao CIAT 17434. Outros acessos tem demonstrado a mesma superioridade com maior produção de semente ou rendimento de Matéria Seca (MS), em locais distintos. Avaliações em andamento em várias instituições demonstram a disponibilidade de acessos de elite para incorporação aos sistema agrícolas e no melhoramento genético da espécie.

---

<sup>1</sup> Eng. Agr., Mestrando, UnB.

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

## 042 - MAPEAMENTO DE GENES EXPRESSOS E CO-LOCALIZAÇÃO COM QTLs CONTROLANDO CARACTERÍSTICAS DE INTERESSE ECONÔMICO EM *Eucalyptus* (Gene mapping and co-localization with QTLs controlling commercially important traits in *Eucalyptus*)

Esmeraldo, M.V.<sup>1</sup>, Kirst, M.<sup>2</sup>, Grattapaglia, D.<sup>3</sup>

Mapas genéticos constituídos de centenas de marcadores anônimos ou microssatélites foram construídos nos últimos anos para espécies de *Eucalyptus*, permitindo a localização de QTLs controlando características de importância econômica. Embora QTLs sejam úteis do ponto de vista de melhoramento e delimitem regiões genômicas efetivamente envolvidas na determinação dos fenótipos de interesse, não fornecem informações diretas sobre quais genes estão envolvidos nesta determinação. Por outro lado as bases de dados internacionais fornecem uma fonte contínua de genes de potencial interesse. O objetivo deste trabalho é iniciar a geração de um mapa transcricional para *Eucalyptus* utilizando informações de seqüências disponíveis em bases de dados. Os genes selecionados para serem mapeados estão relacionados com a via metabólica da síntese de lignina, florescimento e genes induzidos por auxina. Seqüências destes genes foram obtidas do GenBank. Partindo dessas seqüências foram desenhados *primers* visando amplificar regiões de aproximadamente 500 pb. Para o mapeamento buscou-se a detecção de polimorfismo entre os parentais do pedigree referência. Esta busca envolveu géis de agarose, sequenciamento direto dos produtos de PCR e corte com enzimas de restrição. Dos genes analisados até o momento, somente o induzido por auxina apresentou polimorfismo. Embora o descobrimento de polimorfismos em seqüências derivadas de cDNA's seja difícil, a probabilidade é aumentada pelo fato dos parentais pertencerem a diferentes espécies (*E. grandis* e *E. urophylla*). O posicionamento destes genes no mapa possibilitará uma comparação com a posição dos QTLs anteriormente mapeados e possíveis inferências sobre os genes que efetivamente os constituem QTLs.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Mestranda, UnB.

<sup>2</sup> Eng. Florestal, Mestrando, UFV.

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

**043 - MICROSSATÉLITES FLUORESCENTES: UMA PODEROSA FERRAMENTA NO ESTUDO DE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Euterpe edulis* (PALMITO JUÇARA) (Fluorescent-labeled microsatellite markers: a powerful tool for population genetic study of heart of palm "palmito" (*Euterpe edulis*))**

Gaiotto, F.A.<sup>1</sup>, Kirst, M.<sup>2</sup>, Grattapaglia, D.<sup>3</sup>, Vencovsky, R.<sup>4</sup>

Marcadores microssatélites ou SSR são considerados uma poderosa ferramenta em estudos genéticos como mapeamento, caracterização de germoplasma, análise forense e genética de populações naturais. Microssatélites são marcadores codominantes, altamente multialélicos e uniformemente distribuído por todo o genoma, apresentando um elevado conteúdo informativo por loco. A detecção destes marcadores por fluorescência aumenta a rapidez e a acurácia na obtenção de genótipos, através da análise de muitos indivíduos e diferentes locos simultaneamente em ensaios multiplex, utilizando um sequenciador automático de DNA. As condições de PCR foram otimizadas para a amplificação de 6 locos SSR, variando a temperatura de anelamento dos "primers" (de 56°C to 64°C). As populações foram demarcadas em matas de galeria de áreas de preservação do DF e são constituídas por indivíduos adultos e juvenis (regenerantes) de *Euterpe edulis* (271 na população 1 e 241 na população 2). A obtenção dos genótipos das duas populações de palmitero foi realizada através do sistema multiplex (6 locos em uma única pista do gel) e os dados foram analisados nos programas GeneScan e Gentyper. O número médio de alelos por loco foi 14,2, a heterozigozidade observada ( $H_o$ ) foi 0,60 e a diversidade gênica ( $H_e$ ) foi 0,747. Quando os adultos foram analisados, observou-se uma significativa diferenciação ( $F_{ST} = 0,047$ ),

---

<sup>1</sup> Bióloga, Doutoranda, ESALQ/USP.

<sup>2</sup> Eng. Florestal, Mestrando, UFV.

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

<sup>4</sup> Eng. Agr., Dr, ESALQ/USP.

mas não foi encontrada endogamia significativa entre tais indivíduos. Porém, significativos  $F_{IT}$  e  $F_{IS}$  foram observados quando o grupo dos regenerantes foi analisado. Tais resultados são condizentes com trabalhos realizados com plantas preferencialmente alógamas, indicando, desta maneira, o poder deste tipo de marcador em estudos de estrutura genética de populações.

**044 - NOVAS ESPÉCIES DE *Capsicum* COLETADAS NA MATA ATLÂNTICA BRASILEIRA E SUA RELAÇÃO GENÉTICA COM ESPÉCIES CULTIVADAS DE PIMENTA: UMA PRIMEIRA ABORDAGEM GENÉTICA UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES. (New putative *Capsicum* species collected in the brazilian Atlantic Forest and their genetic relationship with cultivated peppers: a first genetic view using molecular markers)**

Lourenço, R.T.<sup>1</sup>, Bianchetti, L.B.<sup>2</sup>, Lins, T.C.L.<sup>3</sup>, Lemos, N.J.M.<sup>4</sup>, Buso, G.S.C.<sup>5</sup>, Pozzobon, M. T.<sup>6</sup>, Ferreira, M.E.<sup>5</sup>

Pimentas ( *Capsicum* spp.) são os condimentos mais utilizados no mundo. O gênero *Capsicum* é composto de 20-25 espécies das quais cinco são cultivadas: *C. annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum*, *C. frutescens* e *C. pubescens*. Pouco se sabe sobre as espécie silvestres de pimenta originárias do Brasil. O conhecimento deste germoplasma é importante para a completa compreensão do gênero, pois potencialmente comporta genes de importância agrônômica, tais como genes de resistência à doenças, de rendimento e de qualidade de fruto. Recentemente, uma expedição de coleta à Mata Atlântica brasileira recuperou acessos de espécies silvestres de *Capsicum*. Dez acessos foram selecionados após estudo morfológico com descritores botânicos, dos quais cinco possivelmente são novas espécies de *Capsicum* e outras cinco foram classificadas como espécies já conhecidas. Os marcadores polimórficos de DNA amplificado ao acaso ( RAPD) gerados para estes novos acessos foram comparados ao "fingerprint" de RAPD de quarenta e sete acessos de *C.annuum*, vinte dois de *C.baccatum*, oito do *C. chinense* e quatro de *C. frutescens*. Os índices de similaridade genética foram estimados utilizando-se o coeficiente de Jaccard e uma análise de UPGMA foi executada para agrupar os acessos.

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

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

<sup>3</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Química, UnB.

<sup>4</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

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

<sup>6</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

À exceção dos dez acessos silvestres brasileiros, todos os acessos cultivados foram agrupados de acordo com a sua espécie (*C. annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum* e *C. frutescens*). Os acessos silvestres formaram conjuntos com similaridade menor do que 0.50 , à exceção de dois acessos novos que se agruparam com índice de similaridade de 0.70. Os resultados indicam que os acessos coletados na Mata Atlântica podem representar novas espécies de *Capsicum*.

**045 - VARIAÇÃO GENÉTICA EM NOVE LOCOS MICROSSATÉLITE, CARACTERIZADOS EM CINCO PROCEDÊNCIAS DE *Eucalyptus grandis* (Genetic variation of nine microsatellites in five provenances of *Eucalyptus grandis*)**

Kirst, M.<sup>1</sup> , Grattapaglia, D.<sup>2</sup>

Marcadores microssatélites são uma das ferramentas mais eficientes para discriminação de indivíduos e estudos de parentesco. A análise destes locos via PCR usando *primers* marcados com fluorocromos e detecção com sequenciador de DNA permite a geração de dados com alta acurácia e eficiência. Neste estudos utilizamos três sistemas de genotipagem semi-automatizados, baseados na amplificação de nove microssatélites, para acessar a variabilidade destes locos em cinco procedências de *E. grandis*. Um conjunto de 48 indivíduos de cada uma das procedências: Atherton, Davies Ck., Mt. Spec, Tinaroo e Wild River, foram usados para a geração de tabelas de freqüências alélicas. Diversos parâmetros de conteúdo de informação genética foram estimados, incluindo a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), conteúdo de informação de polimorfismo (PIC), a probabilidade de identidade (I) e o poder de exclusão (Q). Todos os microssatélites foram considerados altamente informativos, com  $H_e$  e PIC variando de 0,72 – 0,93 e 0,69 – 0,93, respectivamente. A probabilidade de encontrar dois indivíduos com o mesmo genótipo para os locos avaliados, ou a probabilidade de identidade combinada, foi inferior a  $1.10^{-14}$ . O poder de exclusão, por sua vez, foi superior a 99,99%. O teste exato de Fisher mostrou que há diferenças significativas na distribuição de freqüências alélicas entre procedências, para todos os locos ( $p < 0,01$ ). Finalmente, para analisar a variabilidade genética entre e dentro das procedências, foi feita uma análise da variância molecular (AMOVA). Conforme esperado, observou-se uma diferença significativa entre as procedências ( $P < 0,05$ ), a qual foi responsável por apenas 8,02% da variação, cujo restante (91,98%) foi detectado dentro de procedências.

---

<sup>1</sup> Eng. Florestal, Mestrando, UFV.

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

## CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS

046 - A DISTRIBUIÇÃO DE AROEIRA *Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl., E SUA ASSOCIAÇÃO COM VARIÁVEIS GEOAMBIENTAIS: UM ESTUDO PRELIMINAR (The distribution of *Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl. and its association with geographical and environmental variables: a preliminary study)

Almeida, F. D. de<sup>1</sup>, Leite, E.J.<sup>2</sup>, Melo, L.A.M.P. de<sup>3</sup>, Silva, J.A. da<sup>2</sup>

A aroeira (*Astronium urundeuva*) é dentre as várias espécies nativas, uma das que encontra-se em perigo devido a ação antrópica nos diversos ecossistemas de sua ocorrência. Segundo Carvalho (1994), está na lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção, na categoria vulnerável. Ocorre entre as latitudes 03° 30' S (Brasil, CE) e 25° S (Argentina), sendo o seu limite meridional no Brasil a 23° S no Estado de São Paulo. Visando a conservação da espécie foram realizadas, desde 1987, em diversas localidades do território brasileiro, expedições de coletas de germoplasma-semente. Para verificação da associação entre a ocorrência de aroeira e variáveis geoambientais diversas (clima, solo, relevo, bioma, etc.) utilizou-se software de SIG (Arc-Info/Arc-View) onde se realizou o georeferenciamento de mapas de pontos de ocorrência/coleta de aroeira, confeccionado com dados obtidos dos relatórios de coleta e cadernetas de campo, sobre mapas temáticos diversos (clima, solo, bioma, rios, etc.). Após o georeferenciamento, constatou-se, entre outras, que a variável geoambiental referente a solos com alto teor de cálcio é discriminante para a ocorrência de aroeira, em conformidade com as informações citadas por Carvalho (1994) que coloca a espécie

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de Geografia, UniCeub.

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

<sup>3</sup> Analista de Sistemas, M. Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.



como calcífila. Uma vez identificadas as variáveis geoambientais discriminantes para presença de aroeira, obteve-se um mapa delineando áreas potenciais de ocorrência da espécie e, com isso, é possível otimizar o planejamento de futuras expedições de coleta, em termos financeiros e de rota a percorrer.

**047 - ANA E AIB NA INDUÇÃO DE ENRAIZAMENTO EM ASPARGO  
(*Asparagus officinalis*) (ANA and IBA to induce garden asparagus rooting  
- *Asparagus officinalis*)**

Silva, A.G. da<sup>1</sup>, Cardoso, L.D. <sup>2</sup>, Mendes, R.A.<sup>3</sup>

Para a conservação de germoplasma de aspargo *in vitro* têm sido utilizados os macro e micronutrientes do meio de cultura MS em sua concentração total, adicionado a esse um complexo vitamínico específico para a espécie. As seguintes vitaminas foram usadas na concentração de 1mg.l<sup>-1</sup>: pantotenato de cálcio, ácido nicotínico, piridoxina, tiamina, biotina e glicina. A utilização desse meio de cultura e o cultivo das plantas em câmara com temperatura de 20°C, fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de 3000 lux, tem permitido o desenvolvimento das partes aéreas das plantas sem o desenvolvimento das raízes. Para a indução do enraizamento foram utilizados tratamentos com imersão do explante em solução de ANA (Ácido Naftaleno Acético) e AIB (Ácido Indol Butírico) na concentração de 0,5mg.l<sup>-1</sup> por 1 minuto e inoculação precedida ou não de enxugamento do excesso da solução em papel absorvente. Os tratamentos não apresentaram efeito no enraizamento dos explantes, porém o número médio de brotações por tratamento variou de 1,37/tubo para ANA e 0,79/tubo para AIB quando o excesso das soluções não foram enxugadas e, 2,04/tubo para ANA e 1,25/tubo para AIB quando o excesso das soluções foram enxugadas antes da inoculação.

---

<sup>1</sup> Estagiária, estudante secundarista Técnico em Contabilidade, CEPS.

<sup>2</sup> Laboratorista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

048 - BANCO DE GERMOPLASMA DE *Bacillus* spp.  
ENTOMOPATOGÊNICOS (A culture collection of entomopathogenic  
*Bacillus* spp.)

Silva, S.F.<sup>1</sup>, Monnerat, R.G.<sup>2</sup>

Dentre os agentes de controle biológico já disponíveis e em utilização em todo mundo, os bacilos entomopatogênicos apresentam especial importância. Dentre esses, podemos destacar o *Bacillus thuringiensis* e o *Bacillus sphaericus* como as espécies mais importantes. Produtos à base de Bt são comercializados há mais de cinquenta anos, com um mercado anual estimado em 100 milhões de dólares. Até o momento, foram descritas mais de 120 tipos de toxinas e diversos grupos que trabalham com **Banco de Bacilos** procuram isolar e caracterizar outras estirpes de modo a encontrar toxinas diferentes das já existentes. *B. sphaericus* tem sido amplamente utilizado no controle do mosquito urbano *Culex quinquefasciatus*. O objetivo deste trabalho foi isolar, identificar, caracterizar e conservar estirpes de bacilos entomopatogênicos que possam ser utilizados na produção de bioinseticidas ou como doadoras de genes para estudos científicos ou construção de organismos transgênicos com potencial larvicida. A metodologia de isolamento utilizada foi a descrita pela OMS (1985) com algumas alterações. Foram realizados testes de patogenicidade contra as ordens díptera (*Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*), lepidóptera (*Anticarsia gemmatalis*, *Plutella xylostella* e *Spodoptera frugiperda*) coleóptera (*Tenebrio molitor*). Os isolados obtidos foram armazenados em ampolas com tiras de papel previamente esterilizadas que conservam as estirpes por 20 anos. Atualmente o Banco contém 1494 acessos sendo 663 *Bacillus cereus*, 404 *B. thuringiensis*, 302 *B. sphaericus*, 101 *B. sp.*, 21 *B. laterosporus*, 02 *B. subtilis* e 01 *B. pumillus*.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Bolsista CNPq.

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

## 049 - COLETAS DE *Phaseolus lunatus* NO BRASIL ( Collecting of *Phaseolus lunatus* in Brazil)

Gonçalves, L.F.<sup>1</sup>, Silva, D.J.H.<sup>2</sup>, Wetzel, M.M.V.S.<sup>3</sup>, Casali, V.W.D<sup>2</sup>

Tem sido aceito que todas as espécies do gênero de *Phaseolus* originaram-se na América Tropical, especificamente, no México, Guatemala e Peru. Estas leguminosas são importante fontes de proteína, sendo a mistura do milho (carboidratos) e feijão, alimento básico do homem por muito tempo. Considera-se que o *Phaseolus lunatus* tenha sido originado no México, sul dos Estados Unidos e no Peru, pelas escavações arqueológicas encontradas. Atualmente, é cultivado em todas as Américas, África e a Ásia. Existe uma diferenciação de tamanho de grão nas formas silvestres e cultivadas, sendo maior tamanho em grão encontrado no Peru, o tamanho médio no México e Guatemala, e as formas pequenas e redondas no Caribe e Brasil. Este fato tem sugerido que no Brasil possa existir formas silvestres. Diversas coletas tem sido realizadas com o objetivo de aumentar a sua variabilidade genética e obter material para o estudo de sua evolução. A Universidade Federal de Viçosa em conjunto com a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia tem realizados estas coletas. O acervo do material coletado tem cerca de 500 acessos com a seguinte distribuição: Minas Gerais-300, Bahia-10, Sergipe-12, Alagoas-05, Pernambuco 12, Pará-05, Goiás-10, Mato Grosso-12, São Paulo-05, Espírito Santo-51, Rio de Janeiro 03, Distrito Federal-54, Rio Grande do Sul-18, Paraná-02, Maranhão-01. Apresentam diversas cores, formas e tamanho de grãos, com a predominância do tamanho grande. Estes acessos estão armazenados a longo prazo na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e estão sendo caracterizados e avaliados na Universidades Federal de Viçosa.

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Geografia, UPIS.

<sup>2</sup> Eng. Agr., PhD, Universidade Federal de Viçosa.

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

**050 - CONSERVAÇÃO A LONGO PRAZO DE SEMENTES DE *Sclerolobium paniculatum* (Vogel. var. *subvelutinum* Benth.) (CARVOEIRO) (Long term conservation of *Sclerolobium paniculatum* seeds (Vogel.var. *subvelutinum* Benth.) (Carvoeiro))**

Bueno, P.C.<sup>1</sup>, Sampaio, P. E. A.<sup>2</sup>, Wetzel, M.M. V. da S.<sup>3</sup>

Sementes de *S. paniculatum* coletadas em 09/1995 foram estudadas quanto à: resistência a dessecação, tolerância à -20°C e -196°C, e suas respectivas influências na germinação. O teor de umidade inicial foi de 9,8% e o poder germinativo foi de 80%. Os testes de germinação foram realizados entre papel à 25°C constante. Sementes foram tolerantes à dessecação até níveis de 4% de umidade, mantendo a viabilidade inicial. Sementes quando expostas à -20°C foram tolerantes, mantendo também, a viabilidade inicial. Sementes com 4,3% de umidade expostas à -196°C, sofreram redução da porcentagem de germinação de 80% para 63%. A redução do grau de umidade até valores próximos de 4% não causou diminuição significativa da viabilidade. A tolerância das sementes à -20°C permite a conservação a longo prazo em bancos de germoplasma, enquanto que para -196°C mais experimentos são necessários para a averiguação do melhor grau de umidade para a conservação a esta temperatura.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup>. Florestal, Bolsista CNPq.

<sup>2</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB.

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

## 051 - CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS DE EUCALIPTO (Eucalipt genetic resources conservation)

Pinto, D.C. de C.<sup>1</sup>, Moura, V.P.G.<sup>2</sup>, Faiad, M.G.R.<sup>3</sup>, Wetzel, M.M.V.da S.<sup>4</sup>

O manejo do uso de recursos genéticos visando o melhor benefício sustentável para a presente geração e mantendo seus potenciais para as necessidades de gerações futuras caracteriza a conservação de recursos genéticos, que é essencial para sustentar valores produtivos da floresta. As florestas homogêneas implantadas utilizando-se espécies de rápido crescimento possibilitam a utilização da madeira em curtas rotações. Porém, essa rotação curta, o crescimento demográfico e a pressão por desenvolvimento econômico e social na maioria dos países tropicais têm contribuído para a diminuição das áreas cobertas por florestas, o que pode ocasionar uma erosão genética. Os aspectos ligados à produtividade, à qualidade e uniformidade dos produtos, à simplicidade de manejo e regeneração, ressaltam as vantagens dos estabelecimentos de povoamentos puros de Eucalipto. O gênero possui madeira de rápido crescimento com bom potencial para celulose, serraria e laminação, fabricação de móveis, produção de lenha e carvão vegetal, postes e dormentes, sendo, por isso, o gênero mais utilizado para reflorestamento. Segundo Ewart(1908), as sementes são ortodoxas e resistem a 10 anos se armazenadas em temperatura ambiente. Boland(1986) diz que não há perda de viabilidade passados 5-20 anos desde que armazenadas entre 3 e 5°C e umidade relativa entre 4 e 8%. O armazenamento a temperaturas abaixo de 0°C e umidade relativa entre 4 e 6% é recomendado por Krugman(1974a). Para que não se perca nenhum material genético desse gênero, é realizada a conservação "ex-situ" de Eucalipto.

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB.

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

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

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

## 052 - CRIOPRESERVAÇÃO DE *Euterpe edulis* E *E. oleracea*, PALMAE (Cryopreservation of *Euterpe edulis* and *Euterpe oleracea*, Palm.)

Lopes, A. de O.<sup>1</sup>, Lopes, G. de O.<sup>2</sup>, Scariot, A.<sup>3</sup>, Salomão, A.N.<sup>4</sup>

*Euterpe edulis* (juçara) ocorre na Floresta Atlântica e em matas de galeria do Brasil Central. *E. oleracea* (açazeiro) ocorre principalmente no estuário do Rio Amazonas. Ambas as espécies têm sido ameaçadas pelo extrativismo que visa a obtenção do palmito. Tanto *E. edulis* quanto *E. oleracea*, possuem sementes recalcitrantes que não podem ser conservadas em condições convencionais de Bancos de Germoplasma. Este trabalho tem como objetivo determinar um protocolo de criopreservação dos eixos embrionários de *E. edulis* e *E. oleracea* como alternativa de conservação *ex situ*. As sementes de *E. edulis* e *E. oleracea* foram coletadas no Parque Nacional de Brasília - DF (15°35'a 15°45' S e 47°43'a 48°05'W) e em Muaná (1°31'43'' S e 49°13'00''W) – PA (Ilha de Marajó). As sementes foram despulpadas e tiveram seus eixos embrionários exsicados e esterilizados em hipoclorito de sódio 0,1% por cinco minutos. Os eixos embrionários de *E. edulis* foram desidratados em sílica gel para redução do peso inicial em 50%, 60% e 70% e *E. oleracea* para redução de 20%, 40% e 60% do peso inicial. Amostras de eixos embrionários submetidas a cada nível de desidratação foram imersas em nitrogênio líquido (-196°C) por 24 horas e posteriormente descongeladas em temperatura ambiente. Para os testes de regeneração *in vitro* utilizou-se tubos de ensaio contendo meio de cultura ½ MS, com carvão ativado, sob temperatura de incubação de 25°C. A regeneração dos eixos embrionários não submetidos à desidratação (testemunha) foi de 55% e

---

<sup>1</sup> Eng. Florestal, PIBIC/UnB.

<sup>2</sup> Eng. Florestal, Bolsista PIBIC/UnB.

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

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

60% para *E. edulis* e *E. oleracea*, respectivamente. Para *E. edulis* não há diferença significativa entre a regeneração dos eixos embrionários não desidratados e os submetidos aos diferentes níveis de desidratação. Já *E. oleracea* teve taxas de regeneração bem menores para os eixos embrionários desidratados a 40% e 60%. As amostras imersas em nitrogênio líquido não apresentaram regeneração. Os eixos embrionários de *E. edulis* e *E. oleracea* suportam a parcial desidratação entretanto, nenhuma destas espécies parece suportar a criopreservação em nitrogênio líquido.



**053 - DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE GERMINAÇÃO E DO COMPORTAMENTO PARA FINS DE CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE *Tapirira guianensis* Aubl. (Determination of the germination temperature and behavior of *Tapirira guianensis* Aubl. seeds for conservation)**

Bueno, P.C.<sup>1</sup>, Ramos, K.M.O.<sup>2</sup>, Salomão, A. N.<sup>3</sup>

*Tapirira guianensis* (Anacardiaceae) é uma espécie arbórea pioneira, heliófita e seus frutos são consumidos pela fauna em geral. O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor temperatura de germinação e determinar a classificação fisiológica das sementes de *T. guianensis*. Frutos de *T. guianensis*, foram friccionados em peneira e as sementes foram lavadas com detergente seguindo com sucessivos enxágues. Testes de germinação foram conduzidos com sementes que apresentaram 40% de umidade inicial, nas temperaturas constantes de 5, 10, 15, 20, 25, 30 e alternadas de 20-30°C, com 4 repetições de 20 sementes, em substrato rolo de papel. A melhor temperatura de incubação foi a de 30°C onde as sementes atingiram 100% de germinação em dois dias. Sementes com 42% de umidade inicial foram desidratadas em sílica gel por 8, 24, 32, 48, 56, 72 e 96 horas. Após cada período de desidratação testes de umidade (U), germinação (G) e viabilidade (Tetrazólio à 0,75%) foram realizados. Sementes com 42% de umidade apresentaram 81% de germinação e 90% de viabilidade. Em sementes com 11% de U (24 h de desidratação) houve redução significativa do poder germinativo (37%) e da viabilidade (40%). A perda total do poder germinativo e da viabilidade ocorreu a partir de 48h de desidratação, quando as sementes atingiram 7,5% de U. Os resultados desse estudo indicam que para sementes de *T. guianensis*, a redução do conteúdo de umidade resulta em perda progressiva de viabilidade, portanto essas sementes podem ser classificadas como de comportamento recalcitrante para fins de conservação.

---

<sup>1</sup> Eng. Florestal, Bolsista CNPq.

<sup>2</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Biologia, UnB.

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

## 054 - DETERMINAÇÃO DO COMPORTAMENTO PARA FINS DE CONSERVAÇÃO DE DUAS ESPÉCIES DA FAMÍLIA CONNARACEAE (Storage behavior in two species of Connaraceae family)

Bueno. P.C.<sup>1</sup> , Wetzel, M.M.V.<sup>2</sup>

A escassez de trabalhos referentes às espécies do cerrado fez com que estudos que analisassem as mesmas fosse priorizado, uma vez que o Cerrado ocupa aproximadamente 22% do território nacional. A família estudada foi a Connaraceae, representada apenas por duas espécies: *Connarus suberosus* e *Rourea induta*. Na classificação fisiológica de sementes, existem três categorias; ortodoxas (resistentes à dessecação e que podem ser armazenadas em temperaturas abaixo de 0°C), recalcitrantes (não resistentes à dessecação e à baixas temperaturas ou subzero) e intermediárias. Para cada espécie foram analisados 06 acessos. As sementes foram avaliadas através de testes de germinação – PG (entre papel à 25°C) e determinação do grau de umidade – U (estufa, 105 ± 3°C, 24h). O teste de tetrazólio foi utilizado para confirmar a viabilidade das sementes quando estas não germinaram sob as condições oferecidas. O material foi desidratado em câmara de secagem (22°C/15%UR) por aproximadamente 30 dias e em seguida os testes de germinação foram refeitos. *C. suberosus* apresentou como resultado médio inicial: PG 80,8% / U 39,4% e após a secagem: PG 0% / U 4,33%. Para *R. induta* o resultado médio inicial foi: PG 36,3% / U 54% e após secagem: PG 0% / U 5,74%. A ausência de embrião não foi constatada nas espécies analisadas. Os resultados desse estudo indicam que para sementes de *C. suberosus* e *R. induta*, a redução do grau de umidade resulta na perda de viabilidade, logo estas sementes podem ser classificadas como de comportamento recalcitrante para fins de conservação.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup>. Florestal, Bolsista CNPq.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>.,PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

## 055 - DIMINUIÇÃO NO FORNECIMENTO DO OXIGÊNIO NA CONSERVAÇÃO *IN VITRO* DE MANDIOCA (Oxygen reduction to cassava *in vitro* conservation)

Batista, A.C.<sup>1</sup>, Labuto, L.B.D.<sup>2</sup>, Mendes, R.A.<sup>3</sup>

Na conservação de germoplasma *in vitro*, um fator importante é o tempo entre os subcultivos. Para fazer frente a isso e dilatar os espaços entre os subcultivos, as plântulas são submetidas a estresse para induzir seu crescimento lento. No Cenargen, o fator utilizado no crescimento lento é o fator físico da redução da temperatura das câmaras a 20°C para as plantas tropicais e 10°C para as plantas temperadas. Além da redução da temperatura, outros fatores como diminuição da intensidade luminosa, aumento da pressão osmótica do meio, redução na concentração dos macro e micronutrientes, e redução no fornecimento do oxigênio são utilizados no crescimento lento. O estresse imposto tem a finalidade de permitir um crescimento lento garantindo a sobrevivência das plantas. Objetivando estudar a conservação *in vitro* em temperatura de 20°C com redução no fornecimento de oxigênio através de uma coluna de óleo mineral sobre a planta e o meio de cultura, foi estabelecido um experimento com quatro acessos (dois com período entre subcultivo inferior a um ano e dois com período superior a um ano, quando conservados à temperatura de 20°C). Além da testemunha sem óleo foram utilizados dois outros tratamentos: a) adicionado óleo imediatamente após o subcultivo e; b) adicionado óleo sete dias após o subcultivo. O meio de cultura utilizado foi o G (MS modificado). Aos 285 dias depois de instalado o experimento, a testemunha estava com todas as plantas vivas. Nos tratamentos adicionados de óleo mineral somente sobreviveu o acesso CCG 1036; com 83% das plântulas vivas quando o óleo foi colocado 2 semanas após e 28% quando o óleo foi colocado imediatamente após o subcultivo.

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UniCEUB.

<sup>2</sup> Laboratorista, estudante de graduação, Pedagogia, AEUDF.

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

## 056 - EFEITO DA DESIDRATAÇÃO NAS FASES DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Tapirira guianensis* AUBL (Effect of dehydration of *Tapirira guianensis* Aubl. seeds in different germination phases)

Bueno, P.C.<sup>1</sup>, Ramos, K.M.O.<sup>2</sup>, Salomão, A.N.<sup>3</sup>

*Tapirira guianensis* (Anacardiaceae) é uma espécie pioneira usada para fins ornamentais e ecológicos. Sementes desta espécie não apresentam dormência e a germinação ocorre em dois dias, com a temperatura de incubação de 30°C. O objetivo desse trabalho foi verificar se o conteúdo de umidade das sementes é um fator que altera as fases de embebição e absorção de água durante a germinação. Sementes com 42% de umidade inicial foram desidratadas, em sílica gel, por 8, 24 e 32 h. Após cada período de desidratação foram realizados testes de umidade e de germinação, mensurando a absorção de água a cada 30 minutos durante as seis primeiras horas e a cada 24h até o início da germinação (emissão de radícula). A germinação de *Tapirira guianensis* foi trifásica, independente do conteúdo de umidade das sementes. Sementes com 42% (testemunha) de umidade não apresentaram uma transição nítida entre a fase I (embebição) e a fase II (absorção), e a transição entre a fase II e a fase III (absorção) foi melhor definida. Para as sementes desidratadas, a transição entre as fases foi típica de germinação trifásica. A germinação ocorreu 48h após o plantio para sementes com 42% e 30% (8h de desidratação) de umidade. Sementes com 15% (24h de desidratação) e 10% (32h de desidratação), iniciaram a germinação 72h após o plantio. Os resultados sugerem que para sementes de *Tapirira guianensis* o conteúdo de umidade influencia a duração de cada fase e a velocidade de germinação, sem contudo, alterar o padrão trifásico da curva de germinação.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup>. Florestal, Bolsista CNPq.

<sup>2</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Biologia, UnB.

<sup>3</sup> Eng<sup>a</sup>. Floresta, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

## 057 - ESTRATÉGIAS DE MARKETING PARA O BANCO BRASILEIRO DE GERMOPLASMA – GENEBANCO ( Marketing Strategies for the Brazilian Germoplasm Bank – GENEBANCO )

Haraguchi, C.A.T.<sup>1</sup> , Souza, J.V.<sup>2</sup>

O *marketing* é uma ferramenta poderosa para as organizações conhecerem e melhorarem o relacionamento com os seus públicos. No sentido de complementar os recursos financeiros provenientes do Orçamento da União para as atividades de Ciência e Tecnologia no Brasil, faz-se necessário o relacionamento da Embrapa com outras fontes de recursos e, portanto, a aplicação de estratégias de *marketing*. O objetivo deste trabalho foi encontrar uma forma de incentivar e manter a participação do setor privado no financiamento de atividades de Ciência e Tecnologia desenvolvidas nesta unidade da Embrapa, especificamente para o novo projeto Banco Brasileiro de Germoplasma – GENEBANCO por meio do desenvolvimento de uma marca a ser licenciada às empresas interessadas em projetar uma imagem institucional positiva. Para tanto foram organizadas as informações existentes e as ações já desenvolvidas dentro da empresa e sistematizadas de acordo com as teorias de *marketing*. Foi realizada uma revisão da literatura sobre Ciência e Tecnologia, *marketing*, estratégia de *marketing*, *mix* de *marketing* e *marketing* de relacionamento. Em seguida, realizou-se uma pesquisa com os possíveis parceiros no financiamento para investigar suas motivações e avaliar a viabilidade de um projeto de patrocínio. Os resultados obtidos mostraram a importância da questão ambiental para as empresas pesquisadas, especialmente para a valorização de sua imagem. Por último, foram feitas análises sobre as ações de *marketing* já desenvolvidas, em relação às teorias e aos resultados encontrados, e sugestões para a complementação de um projeto de patrocínio para as atividades do Banco Brasileiro de Germoplasma.

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Administração, UnB.

<sup>2</sup> Relações Internacionais, Bel., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

**058 - FENOLOGIA REPRODUTIVA DE *Euterpe edulis* (PALMAE) EM UMA MATA DE GALERIA DO PARQUE NACIONAL DE BRASÍLIA – DF (Reproductive Phenology of *Euterpe edulis* (Palm) in a Gallery Forest in the Brasília National Park, DF)**

Lopes, G. de O.<sup>1</sup>, Lopes, A. de O.<sup>1</sup>, Gonçalves, K.G.C.<sup>2</sup>, Scariot, A.<sup>3</sup>

*E. edulis* (palmitreiro) é uma espécie endêmica do Brasil, Paraguai e Argentina, intensamente explorada para extração de palmito. A exploração de *E. edulis* sem planejamento pode resultar em declínio ou extinção de populações. Conhecer a fenologia reprodutiva das espécies é fundamental para iniciativas de conservação e manejo das populações. A fenologia reprodutiva de *E. edulis* foi conduzida por um ano em uma população na mata de galeria do Córrego Três Barras, no Parque Nacional de Brasília (15°35' a 15°45' S e 47°43' a 48°05' W). O número de espatas fechadas, inflorescências, infrutescências imaturas e maduras, foi anotado semanalmente para cada um dos 125 indivíduos adultos monitorados. A produção de espatas de inflorescências ocorre ao longo do ano, sendo que a maioria das espatas estão visíveis de outubro a junho, e conseqüentemente estando disponíveis como inflorescências principalmente de outubro a julho. As infrutescências com frutos em estágio de desenvolvimento ocorreram também ao longo do ano, porém em menor número de outubro a janeiro, e estas infrutescências tinham frutos imaturos (porém formados) de agosto a dezembro, com ápice em novembro com 179 cachos. Em outubro, começaram a surgir os frutos maduros, coincidindo com início das chuvas, e estes estão disponíveis até abril, porém a maioria dos cachos estão com frutos maduros de dezembro a fevereiro. Nesta região, em áreas com populações sob exploração, devem ser evitados o corte de estipes de *E. edulis* entre dezembro e fevereiro, pois neste período existe maior disponibilidade de frutos para a regeneração das populações, dispersão pela fauna e alimentação desta. A não observação destes cuidados pode afetar ainda mais a persistência de populações mesmo que sob planos de manejo.

---

<sup>1</sup> Bolsista, CNPq/PIBIC, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB.

<sup>2</sup> Eng. Florestal, MSc, Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

**059 - FENOLOGIA REPRODUTIVA DE *Geonoma pohliana* (PALMAE) EM UMA MATA DE GALERIA DO PARQUE NACIONAL DE BRASÍLIA – DF (Reproductive Phenology of *Geonoma pohliana*, Palm, in a Gallery Forest in the Brasília National Park, DF)**

Lopes, A. de O.<sup>1</sup>, Lopes, G. de O.<sup>1</sup>, Gonçalves, K.G.C.<sup>2</sup>, Scariot, A.<sup>3</sup>

A fenologia reprodutiva é importante para subsidiar planos de cultivo, manejo e conservação, tanto *ex situ* como *in situ*. *G. pohliana* é uma palmeira que ocorre na Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e em matas de galeria associadas aos cursos d'água em regiões dominadas pelo Cerrado no Brasil Central. A espécie possui potencial ornamental por formar touceiras, característica importante para o cultivo em vasos. A fenologia reprodutiva de *G. pohliana* foi conduzida por um ano em uma população na mata de galeria do Córrego Três Barras, no Parque Nacional de Brasília (15°35' a 15°45' S e 47°43' a 48°05' W). O número de espatas fechadas, inflorescências, infrutescências imaturas e maduras foi anotado semanalmente para cada um dos 125 indivíduos adultos monitorados. A floração ocorre durante todo o ano apesar do número de inflorescências ser maior de julho a novembro (máximo de 324 cachos em setembro). O mesmo ocorre com os frutos verdes, sendo que o maior número destes é de maio a setembro (máximo de 320 cachos em junho). Os frutos maduros ocorrem o ano todo, com maior número de novembro a janeiro, sendo que o pico da frutificação ocorre em dezembro, quando observou-se 205 cachos. Desta forma, embora haja frutos maduros o ano todo, o melhor período para a coleta de sementes de *G. pohliana* é de novembro a janeiro.

---

<sup>1</sup> Bolsista, CNPq/PIBIC, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB.

<sup>2</sup> Eng. Florestal, MSc, Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

**060 - GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES DE SEMENTES DE FRUTO IMATURO DA ORQUÍDEA *Bletia catenulata* (Embryo germination and development of seeds from unmaturred orchid *Bletia catenulata* fruit)**

Mello, C.M.C. de<sup>1</sup>, Mendes, R.A.<sup>2</sup>, Cardoso, L.D.<sup>3</sup>, Caldas, L.S.<sup>4</sup>

O Cerrado possui 96 gêneros de orquídeas com um total de 515 espécies (Mendonça, R.C. et al, Cerrado ambiente flora, 289-556, 1998). Porém, está havendo uma redução drástica no número de indivíduos e muitas populações têm desaparecido. Isso se deve a coletas desordenadas e de rapina e pelas alterações que vem sofrendo o meio ambiente, seja pelas queimadas sistemáticas ou pela expansão da fronteira agrícola. Quando maduros, os frutos das orquídeas são deiscências. Em expedições de coleta, dificilmente são encontrados em estágio de pré-deiscência, estando ainda verdes ou já maduros e abertos com a liberação total das sementes pelo vento. Obtendo a germinação de sementes de frutos imaturos, há uma maior facilidade na coleta de germoplasma e propagação dessas plantas. A espécie *Bletia catenulata* é uma orquídea terrestre do Cerrado cujos frutos se abrem cerca de 75 dias após a polinização. Fruto imaturo com 30 dias após a polinização artificial foi coletado e suas sementes, após secagem, foram submetidas por um período de 72 horas aos seguintes tratamentos: +5°C (geladeira), -20°C (freezer), -196°C (nitrogênio líquido) e temperatura ambiente (testemunha). As sementes que passaram por temperaturas abaixo da temperatura ambiente, germinaram após 120 dias de cultivo *in vitro*, em meio sólido de MS na metade de sua concentração, em câmara com 25°C de temperatura e fotoperíodo de 12 horas. Sementes que não sofreram esse tipo de estresse não germinaram. Assim, para *B. catenulata*, esses tratamentos a frio, estimulando a germinação, permitem a coleta e aproveitamento de frutos imaturos, com menos da metade do período normal de maturação e deiscência.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>o</sup>, SEMATEC, Mestranda, UnB.

<sup>2</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

<sup>4</sup> Fisiologia Vegetal, PhD, UnB.



## 061 - ORGANIZAÇÃO DOS DADOS DE PASSAPORTE DOS ACESSOS DE ARROZ NA COLEÇÃO DE BASE (Management of accessions passport data in the rice base collection)

Pereira, G.A.<sup>1</sup>, Faiad, M.G.R.<sup>2</sup>, Alves, R.B.N.<sup>2</sup>

O arroz (*Oryza sativa* L.), originário da Ásia, é o segundo cereal mais produzido no mundo perdendo apenas para o trigo. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia conserva a longo prazo na sua Coleção de Base (Colbase) uma coleção de arroz com cerca de 7400 acessos, procedentes de várias instituições de pesquisa do Brasil, exterior e obtidos por coletas. No Banco ativo de Germoplasma de arroz (BaG-arroz), localizado na Embrapa Arroz e Feijão, em Goiânia – GO são conservados aproximadamente 9500 acessos. Dados de passaporte referem-se ao conjunto de informações relacionadas a forma de obtenção do acesso, denominação e/ou siglas, códigos e dados ecogeográficos e são de fundamental importância para a sua identificação. Com o objetivo de organizar e manter uma adequada identificação dos dados de documentação dos acessos de arroz da Colbase, foi realizado um levantamento nos dados de passaporte. Os dados foram analisados utilizando-se os relatórios de arroz da Colbase, a tela de registro do Sistema Brasileiro de Informações de Recursos Genéticos (Sibrargen), as informações constantes dos processos da Introdução e Quarentena e aquelas obtidas do BaG-arroz. Com base nestas informações verificou-se que cerca de 10% dos acessos de arroz mantidos na Colbase eram duplicações. Foram realizadas as devidas correções e adequações e gerados novos relatórios que serão analisados numa segunda etapa do trabalho.

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB.

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

**062 - PARÂMETROS DEMOGRÁFICOS DE *HYMENAEA COURBARIL* L. E *COPAIFERA LANGSDORFFII* DESF. EM MATAS DE GALERIA NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL (Demographic parameters of *Hymenaea courbaril* L. and *Copaifera langsdorffii* Desf. in Gallery Forests in the Federal District, Brazil)**

Guarino, E.S.G.<sup>1</sup>, Walter, B.M.T.<sup>2</sup>

*Hymenaea courbaril* (jatobá) e *Copaifera langsdorffii* (copaíba) são leguminosas de grande valor econômico. No bioma Cerrado ambas sofrem com a ação antrópica, tornando urgente elaborar estratégias para conservar *in situ* populações remanescentes. Para subsidiar tais estratégias, realizou-se um estudo da estrutura populacional dessas espécies em duas Matas de Galeria no Parque Nacional de Brasília (15°35', 15°45'S; 48°05', 48°53'WGr). Nas Matas do Capão Comprido (CC) e Três Barras (TB), foram lançados 25 transectos perpendiculares aos córregos (15 no CC; 10 no TB), de borda a borda. Distanciados em 100m, cada transecto compôs-se de parcelas contíguas de 10x20m (200m<sup>2</sup>). Em cada Mata foram sorteadas 50 parcelas para jatobá (2,0ha de área total) e 25 para copaíba (1,0ha), obtendo-se dados de altura, diâmetro na base e localização das plantas na amostra. Foram encontradas 476 plantas de jatobá (384/CC; 92/TB) e 1288 de copaíba (631/CC; 657/TB). Calculados os intervalos de classe ideais para cada população (diâmetro e altura), nas duas espécies detectou-se distribuições de tamanho não balanceadas. Ambas concentram seus indivíduos nas menores classes de tamanho (regenerantes), sendo poucos os adultos. Analisadas em separado, tanto as distribuições de regenerantes (jatobá - 357/CC, 80/TB; copaíba - 508/CC, 643/TB) quanto de adultos (jatobá - 12/CC, 9/TB; copaíba - 21/CC, 14/TB), tenderam ao J invertido. Isso demonstra equilíbrio das populações nas duas espécies, mesmo que poucas plantas alcancem a fase adulta. É alto o investimento em reprodução, resultando em poucas plantas que se tornam reprodutivamente ativas. Medidas de proteção devem conservar os adultos estabelecidos dessas espécies, responsáveis pela manutenção das populações.

---

<sup>1</sup> Bolsista, RHA/CNPq – ITI, estudante de graduação, Engenharia Florestal, UnB.

<sup>2</sup> Engenheiro Florestal, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

## 063 - REDE DE CONSERVAÇÃO DE RECURSOS FITOGENÉTICOS (Plant Genetic Resources Conservation Network )

Amorim, A.R.F.<sup>1</sup> , Bustamante, P.G.<sup>2</sup>

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, desde que foi criada em 1974, vem trabalhando no sentido de integrar os bancos ativos de germoplasma distribuídos pelo país, em especial, nas instituições de pesquisa, e universidades. O Programa de Conservação e Uso dos Recursos Genéticos (Programa 2) do Sistema Embrapa de Planejamento (SEP), com a secretaria executiva sediada na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, tem como objetivo enriquecer e conservar os recursos genéticos exóticos e nativos de importância sócio-econômica atual e potencial para o país e promover e aumentar a sua utilização em programas de melhoramento, para o desenvolvimento de uma agricultura sustentável. Desde que foi criado, o Programa 2 tem suas atividades básicas desenvolvidas através de projetos financiados pelo Ministério da Agricultura. O presente trabalho buscou realizar um levantamento da conservação de recursos genéticos vegetais no âmbito do Programa 2. Os resultados obtidos traçam o perfil da conservação de recursos fitogenéticos no âmbito da Embrapa e instituições parceiras: atualmente, estão sendo conservados mais de 85.000 acessos de 85 produtos , em 110 bancos ativos de germoplasma. Os 29 curadores de produto que atuam no Cenargen, interagem com os curadores de bancos de germoplasma em 20 estados brasileiros.

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UniCEUB.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

**064 - RESÍDUOS ORGÂNICOS DA DESCASCA DA PUPUNHA UTILIZADOS COMO SUBSTRATOS PARA O CULTIVO DE DUAS VARIETADES DE *Pleurotus ostreatus* (Organic residues of Pupunha bark used as substrate for cultivation of the two varieties of *Pleurotus ostreatus*)**

Oliveira, H.C.B. de<sup>1</sup>, Urben, A.F.<sup>2</sup>, Santos, J.K.P.<sup>3</sup>

Os resíduos orgânicos encontrados no meio agrícola crescem a uma velocidade superior a capacidade do ambiente de degradá-los. Alguns fungos, atuam na reciclagem destes resíduos além de serem fontes consideráveis de proteínas, sais minerais e vitaminas. O objetivo deste trabalho foi testar descascas de Pupunha (*Bactris gasipaes*), proveniente da extração de palmito procedente de Belém – PA, como substrato para o cultivo de duas variedades de *Pleurotus ostreatus*, China e H<sub>1</sub>, cogumelos comestíveis e com propriedades farmacológicas. O experimento foi conduzido em bloco ao acaso, com 6 tratamentos e 5 repetições. O material foi fragmentado (2-3 cm) e imerso em água durante 24 horas. Após ter retirado o excesso de água, o material contendo cerca de 700 g do substrato foi colocado em sacos de polipropileno, esterilizado a 120°C durante 1 h e 30' e posteriormente inoculados. O micélio foi desenvolvido em "sala de corrida", sem luminosidade, temperatura ambiente, em torno de 25-28°C. Os cogumelos foram produzidos em condições de casa de vegetação. Os tratamentos que deram maior produtividade, foram os que utilizaram como substratos a 1ª descasca (196,1 g de peso úmido e 18,9 g de peso seco, var. China) e a combinação entre a 1ª e 2ª descascas (157,9 g de peso úmido e 15,7 g de peso seco da var. H<sub>1</sub>).

---

<sup>1</sup> Eng. Agr., Mestrando, UFCE.

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

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

**065 - USO DE CÂMERAS FOTOGRÁFICAS AUTOMÁTICAS PARA ESTIMATIVA DO TAMANHO POPULACIONAL E PERÍODO DE ATIVIDADE DE PACA (*Agouti paca*) (The use of camera-traps to estimate population size and activity in paca (*Agouti paca*))**

Sacramento, M.F.<sup>1</sup>, Tomas, W.M.<sup>2</sup>, Miranda, G.H.B. de<sup>3</sup>, Kutchenski Jr, F.E.<sup>1</sup>

Espécies animais de hábitos noturnos e secretivos, que ocorrem em baixa densidade, e são de difícil captura e recaptura constituem um desafio quando o objetivo é estimar o tamanho populacional. Técnicas indiretas, como o uso de pegadas e outros sinais, geralmente não são confiáveis. Este trabalho busca testar o uso da fotografia para estimar o tamanho populacional e período de atividade de pacas em um trecho de mata galeria do ribeirão Três Barras, no Parque Nacional de Brasília. Neste experimento foram utilizadas 8 câmeras com sensores de infra-vermelho e posicionadas a cada 500 m, ao longo de matas galeria, para detectar a presença de animais. Maçãs foram utilizadas como isca. As câmeras foram reguladas para obter fotos apenas à noite, com intervalo mínimo de 3 minutos entre uma foto e outra, durante 14 dias consecutivos. Os indivíduos detectados nas fotos foram identificados e catalogados de acordo com suas manchas laterais. As fotos obtidas foram agrupadas em faixas horárias de uma hora, e sua frequência relativa foi calculada em relação ao total de registros. A atividade de animais com pelo menos 10 registros foi analisada considerando indivíduos como unidades amostrais e em intervalos de duas horas. Foram identificados 7 indivíduos num total de 102 registros fotográficos. A densidade observada foi de 2,5 indivíduos/km<sup>2</sup> de mata.

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB.

<sup>2</sup> Med. Veterinário, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

<sup>3</sup> Biólogo, MSc, UCB.

Sessenta e nove por cento dos registros foram obtidos no período entre 18 e 24 horas. As pacas apresentam atividade mais acentuada no período entre 20 e 22 horas, sendo que há um declínio de atividade após a meia noite. O equipamento mostrou-se eficiente e de grande potencial para se estimar tamanho populacional de pacas, bem como determinar o horário e os locais mais adequados para trabalhos de captura e coleta de material.

## CONTROLE BIOLÓGICO

**066 - ÁCIDO BÓRICO AUMENTA O NÚMERO DE CÉLULAS DO INTESTINO DE *Anticarsia gemmatalis* INFECTADAS COM DOIS RECOMBINANTES DO NUCLEOPOLYHEDROVIRUS DE *Anticarsia gemmatalis* (Boric acid increases the number of *Anticarsia gemmatalis* midgut cells infected with two recombinant *Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus)**

Melo, A.A.M.<sup>1</sup>, Pontes, A.R.M.<sup>2</sup>, Soares, J. de S.<sup>3</sup>, Siqueira, C.B.<sup>4</sup>, Ribeiro, B.M.<sup>5</sup>, Castro, M.E.B.<sup>6</sup>

Os baculovírus constituem um grupo de vírus de DNA fita dupla que infecta principalmente insetos da ordem Lepidoptera. Estudos prévios mostraram que o ácido bórico aumenta a patogenicidade do nucleopoliedrovírus de *Anticarsia gemmatalis* (AgNPV) em larvas de *A. gemmatalis*. Para determinar o seu efeito quanto ao aumento da patogenicidade, utilizamos ácido bórico e dois recombinantes de AgNPV (vAgEGTΔ-*lacZ* e vAgGALA2) para infecção em larvas *A. gemmatalis*. Os vírus recombinantes contêm o gene da β-galactosidase (*LacZ*) de *Escherichia coli* sob o comando do promotor constitutivo (hsp70 para vAgEGTΔ-*lacZ*) e um gene viral de expressão muito tardia (gene da poliedrina, *polh*, para vAgGALA2). Larvas de *A. gemmatalis* (3<sup>o</sup>/4<sup>o</sup> instar) foram tratadas em dieta artificial contendo poliedros dos dois vírus recombinantes na presença ou ausência de ácido bórico (0,045g/100ml de dieta). Em diferentes horas após infecção (h p.i.), intestinos de larvas infectadas foram removidos, fixados e incubados em solução de X-gal

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UnB.

<sup>2</sup> Bióloga, Bolsista RHAE/CNPq – ITI.

<sup>3</sup> Biólogo, Mestrando, UnB.

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

<sup>5</sup> Biólogo, PhD, UnB.

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

para detecção da expressão do *lacZ*. Focos virais foram visualizados com auxílio do microscópio estereoscópio. Células infectadas foram inicialmente visualizadas a 6h p.i., para o vAgEGT $\Delta$ -*lacZ* com ou sem ácido bórico. Entretanto, na presença do ácido bórico, um número maior de células infectadas foi observado. Para o vírus vAgGALA2 com ácido bórico, observaram-se células infectadas a 9h p.i. e, sem ácido bórico, apenas a 12h p.i. Nossos resultados indicam que o ácido bórico pode estar aumentando a patogenicidade viral permitindo ou facilitando a entrada de maior número de partículas virais em células do intestino. Isso pode ser devido a modificações na membrana peritrófica, fusão do vírus com microvilosidades de células intestinais ou descamação celular.



**067 - AVALIAÇÃO DO CICLO DE VIDA DO PREDADOR *Nephaspis geminii* (Coleoptera, Coccinellidae) PARA CONTROLE DE *Bemisia tabaci* RAÇA B (Hemiptera, Aleyrodidae) EM PLANTAS DE COUVE (Life history of the predator *Nephaspis geminii* (Coleoptera, Coccinellidae) for *Bemisia tabaci* control in cabbage)**

Gonçalves, P.R.V.<sup>1</sup> , Oliveira, M.R.V.<sup>2</sup>

As moscas brancas estão entre as pragas mais sérias em nível mundial. No Brasil as populações da raça B de *Bemisia tabaci* tem causado prejuízos, os quais ultrapassam R\$ 2 bilhões. A adaptação de o inseto condições climáticas especialmente microclimas e a dispersão de suas populações dificultam a elaboração de métodos rápidos e eficientes. O manejo integrado é a única forma capaz de diminuir as populações do inseto bem como o nível de resistências que estes indivíduos adquirem facilmente aos produtos fitossanitários. No manejo, os inimigos naturais ( parasitóides, predadores e patógenos ) são de grande importância para o controle das populações desses insetos, além de uma técnica eficiente e ambientalmente segura favorecendo à agricultura sustentável. Pela primeira vez no país foi estudado o ciclo de vida do predador *Nephaspis geminii* ( Coleoptera, Coccinellidae ) em plantas de couve ( *Brassica oleracea*) sobre ninfas do biótipo de B de *Bemisia tabaci* tendo em vista a utilização desse agente de controle no manejo integrado de pragas. No laboratório de Quarentena Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnológicos foram realizados bioensaios. As plantas foram transplantadas em tubetes e colocadas em contato com o adulto da mosca branca na colônia de criação

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB.

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

por 24h. Posteriormente essas plantas foram levada para as gaiolas onde haviam adultos de predador e deixados por 24h. Em seguida procedeu-se a contagem de ovos que, para o ciclo de vida, eram observados individualmente até a sua fase adulta. O ciclo de vida do predador dura em média de 23,5 dias e a taxa de mortalidade desses indivíduos foi de 50% . O terceiro estágio apresentou o maior índice de mortalidade e o número de fêmeas emergidas foi muito superior ao número de machos.

## 068 - BIONOMIA DO BICUDO DO ALGODOEIRO CRIADO EM DIETA ARTIFICIAL (Bionomy of bollweevil reared on artificial diet)

Nobre, S.D.N.<sup>1</sup>, Sujii, E. R.<sup>2</sup>, Schimidt, F.G.V.<sup>3</sup>, Dias, S.C.<sup>4</sup>, Lauman, R.<sup>5</sup>, Monnerat, R.G.<sup>6</sup>

Estudos sobre a bionomia do bicudo-do-algodoeiro criado em dieta artificial são fundamentais para obtenção de indivíduos padronizados e em quantidades adequadas para a realização de bioensaios com microorganismos. A criação massal está sendo realizada em insetário com temperatura de 25° C; umidade relativa de 60% e fotoperíodo de 12/12. Os insetos são alimentados com dieta artificial que consiste em uma mistura de farelo de soja, gérmen de trigo, glicose, farelo de algodão e suplemento de minerais e vitaminas. O ciclo de vida do bicudo foi em média 5,47 dias para a fase de ovo e 15 dias para as fases de larva e pupa. Na fase adulta o período médio de pré-oviposição foi de 5,6 dias, oviposição 60,64 dias e pós-oviposição 15,12 dias para fêmeas. A oviposição foi iniciada a partir de quatro dias de emergência, sendo que em média a população colocou mais de 90% dos ovos até 73 dias após a eclosão. O número médio de ovos colocados foi de 129,64 com variação entre 11 e 260 ovos. A longevidade média da fase adulto foi de 80 dias para fêmeas e 61,96 dias para machos e foi observada uma razão sexual de 0,4313 (fêmeas/machos + fêmeas). Baseado na curva de sobrevivência do bicudo a taxa de crescimento intrínseco da população foi 5,24. Foi observada uma crescente adaptação do bicudo à dieta considerando o aumento de sua capacidade reprodutiva ao longo de diferentes gerações seguidas.

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

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

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

<sup>4</sup> Bióloga, Bolsista CNPq.

<sup>5</sup> Biólogo, PhD, Bolsista CNPq.

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

**069 - CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E MOLECULAR DE ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis* PATOGÊNICOS PARA INSETOS (Biochemical and molecular characterization of *Bacillus thuringiensis* strains pathogenic against insects)**

Bonfim, K.<sup>1</sup>, Silva, S.F.<sup>1</sup>, Silva-Werneck, J.O.<sup>2</sup>, Dias, S.C.<sup>3</sup>, Monnerat, R.G.<sup>4</sup>

*Bacillus thuringiensis* (Bt) é uma bactéria que durante o processo de esporulação produz cristais compostos por  $\delta$ -endotoxinas, com atividade tóxica específica para insetos e alguns outros invertebrados. A caracterização molecular dos isolados de *B. thuringiensis* pertencentes ao Banco de Germoplasma de *Bacillus* sp. da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia é feita usando-se a técnica de PCR, que permite a identificação de genes *cry* conhecidos, e também através de SDS-PAGE, a fim de se conhecer o número e massa molecular das  $\delta$ -endotoxinas produzidas e identificar o grupo Cry a que pertencem. A caracterização de 13 isolados de *B. thuringiensis* pertencentes ao Banco e que apresentam patogenicidade para mais de uma ordem de insetos (lepidópteros, dípteros e coleópteros) através de PCR mostrou que dos 9 isolados que são tóxicos para lepidópteros e dípteros, 6 apresentaram produtos do tamanho esperado para genes *cry1A*, e destes, 4 apresentaram produtos esperados para *cry2A* e em nenhum dos 9 foram identificados genes *cry4A* ou *cry4B*. Entre os 3 isolados tóxicos para lepidópteros e dípteros que não mostraram bandas esperadas para genes *cry1A*, um apresentou apenas o produto para gene *cry2A*. Dos 3 isolados que são tóxicos para lepidópteros e coleópteros, somente um apresentou produto de PCR esperado para genes *cry1A* e nenhum mostrou o produto esperado para *cry3A* ou *cry3B*.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Bolsista de Aperfeiçoamento CNPq.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

<sup>3</sup> Bióloga, Doutorada, UnB.

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

O isolado que é tóxico para lepidóptero, díptero e coleóptero não apresentou produtos esperados para nenhum dos primers testados. Contudo, vários isolados mostraram bandas inespecíficas para os sete pares de primers utilizados, indicando a presença de genes diferentes dos padrões. A análise de SDS-PAGE dos isolados mostrou um perfil protéico diversificado em relação aos padrões.

**070 - CARACTERIZAÇÃO ELETROFORÉTICA DE PROTEÍNAS DE *Bacillus thuringiensis* PATOGÊNICOS PARA DÍPTERO E LEPIDÓPTERO (Electrophoretic characterization of proteins of *Bacillus thuringiensis* pathogenic diptera and lepidoptera)**

Silva, S.F.<sup>1</sup>, Oliveira-Neto, O.B.<sup>2</sup>, Monnerat, R. G.<sup>3</sup>

*Bacillus thuringiensis* é uma bactéria gram positiva que produz no momento de sua esporulação inclusões protéicas cristalinas que contém proteínas denominadas delta-endotoxinas. Produtos a base desta bactéria estão sendo utilizados há mais de cinquenta anos para o controle de pragas. O objetivo deste trabalho foi determinar uma metodologia para analisar o perfil protéico de 109 estirpes de *Bacillus thuringiensis* que apresentaram patogenicidade positiva contra díptero e lepidóptero. Foram analisadas 03 metodologias Schenkel et al, 1991, Lecadet et al, 1991 e Lecadet et al, 1991 modificado. Essas cepas são pertencentes ao Banco de Germoplasma Microbiano da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Foram testadas três metodologias de extração do complexo esporo-cristal. A análise eletroforética foi feita em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) a 10%. As cepas, também foram comparadas com as estirpes padrão kurstaki HD1-EUA e israelensis IPS 82-França e todas mostraram um perfil protéico semelhante ao da estirpe padrão patogênica para lepidóptero, com a presença de uma banda de aproximadamente 130 kDa e da estirpe padrão para díptero que é de aproximadamente 135 a 128 kDa.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Bolsista de Aperfeiçoamento CNPq.

<sup>2</sup> Eng. Agr. PhD, UnB.

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

## 071 - CRESCIMENTO DE *Cercospora Caricis* EM MEIO ADICIONADO DE HERBICIDAS

Caixeta, C.B.<sup>1</sup>, Carvalho, I.M.<sup>2</sup>, Graziotti, P.H.<sup>3</sup>, Mello, S.C.M.<sup>4</sup>

A utilização do fungo *Cercospora caricis* como bioherbicida é promissora para o controle de tiririca (*Cyperus rotundus*) e a tolerância deste fungo a herbicida poderá ampliar essa tecnologia pela associação do método biológico com o químico. Assim, avaliou-se o crescimento deste em presença a Glyphosate (Gly), Paraquat (Par) e 2,4-D (2,4D) em meio de cultura. Para isso, o fungo foi crescido em frascos de 125 mL contendo 50 mL de meio V8 suplementado com herbicida, sob agitação (150 rpm) a 28 °C por 5 dias. O crescimento de *C. caricis* foi influenciado diferentemente pela adição de Gly, Par e 2,4D (0, 5, 50, 500, 5.000 g L<sup>-1</sup>). Na dosagem de 5.000 g L<sup>-1</sup>, os três herbicidas reduziram o crescimento em torno de 63%. No entanto, o Par estimulou o crescimento na dose de 5 g L<sup>-1</sup> e o 2,4D, na dose de 50 g L<sup>-1</sup>, enquanto que para o Gly nenhum estímulo foi observado. Para os três herbicidas, o maior efeito negativo sobre o crescimento do fungo foi observado a partir da dose de 500 g L<sup>-1</sup>. Estes resultados indicam tolerância de *C. caricis* aos três herbicidas testados, nas dosagens comerciais (em g L<sup>-1</sup>, 7,2 para o Gly, 4,0 para o Par e 13,7 para o 2,4D) sugerindo a possibilidade de utilização associada dos tratamentos.

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, CEUB.

<sup>2</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

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

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

**072 - DESENVOLVIMENTO DE ARMADILHAS COM FEROMÔNIO SEXUAL PARA O MONITORAMENTO DO COMPLEXO DE PERCEVEJOS DA SOJA (Development of sexual feromone trap for monitoring of stink bug in soybean field)**

Almeida, J. R. M. de<sup>1</sup>, Vieira, W. B.<sup>2</sup>, Pires, C. S. S.<sup>3</sup>, Sujii, E. R.<sup>4</sup>, Schimidt, F. G. V.<sup>5</sup>, Borges, M.<sup>6</sup>, Zarbin, P.H.G.<sup>7</sup>

O feromônio de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae), atrai fêmeas das diferentes espécies de percevejos da soja, abrindo assim, possibilidade de controle ou monitoramento destas pragas através de armadilhas contendo este feromônio. Este trabalho teve por objetivo avaliar em áreas de plantio comercial de soja, a eficiência de armadilhas cilíndricas contendo diferentes proporções dos componentes feromonais de *E. heros*, na captura das diferentes espécies do complexo de percevejos. Foram distribuídas, no delineamento experimental de quadrado latino, 25 armadilhas com os tratamentos: T1) Composto maior (metil-2,6,10 trimetiltridecanoato), T2) Composto maior + Composto menor (metil-2,6,10 trimetildodecanoato) 3:1, T3) Composto maior + Composto menor - 20:1, T4) Composto maior + Composto menor + 2,4 decadienoato - 44:3:53, T5) N-hexano (testemunha). As armadilhas, distando entre si de 25 metros, foram colocadas na plantação a partir do estágio fenológico R5. A comparação da estrutura da taxocenose

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Biologia, UnB.

<sup>2</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UnB.

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

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

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

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

<sup>7</sup> Químico, PhD, UFPR.



demonstrou que os tratamentos T1 e T4 são proporcionalmente os que mais se assemelham a amostragem por Pano de batida, sugerindo serem estas as formulações mais adequadas para o uso no monitoramento populacional. A ausência de diferenças no número total de percevejos coletados nos tratamentos, parece ter ocorrido devido a baixa capacidade de retenção da armadilha, que é em média de 57% para *Piezodorus guildinii*. Não foi observada correlação entre as amostragens por armadilhas e o por Pano de batida. Os resultados do presente estudo nos mostram a necessidade do desenvolvimento de armadilhas com maior poder de retenção de insetos.

### 073 - EFEITO DA QUALIDADE DO ALIMENTO NA FERTILIDADE DA CIGARRINHA-DAS-PASTAGENS, *Deois Flavopicta* (Effect of food quality on the fertility of spittlebug)

Figueiredo, A.L.P.<sup>1</sup>, Sujii, E.R.<sup>2</sup>, Pires, C. S. S.<sup>3</sup>

A cigarrinha-das-pastagens, *D. flavopicta* Stal (Homoptera: Cercopidae), principal praga de pastagens cultivadas nas regiões de Cerrado, ocorre em picos populacionais intercalados com anos de baixa densidade durante a estação chuvosa do ano. Neste trabalho, foi avaliado o potencial biótico do inseto e o efeito de variações na qualidade da planta hospedeira na sua fertilidade e conseqüentemente na sua dinâmica populacional. A avaliação do efeito da planta hospedeira sobre a capacidade reprodutiva de *D. flavopicta* foi feita a partir de adultos recém emergidos de ninfas, criadas desde o estágio de ovo, em vasos contendo as gramíneas *Axonopus marginatus* e *Brachiaria ruziziensis*. Os adultos que emergiram em cada hospedeira foram transferidos, em casais individualizados, para gaiolas de oviposição contendo uma ou outra espécie citada. As fêmeas de *D. flavopicta* alimentadas quando adultas com *B. ruziziensis* produziram mais ovos que aquelas alimentadas com *A. marginatus* independente da hospedeira utilizada durante a fase ninfal. O efeito da densidade do inseto sobre a sua capacidade reprodutiva foi avaliado em gaiolas de oviposição contendo, 1 a 6 casais com fêmeas virgens e plantas de *B. decumbens* padronizadas. Este estudo, mostrou que densidades acima de 100 adultos/m<sup>2</sup> podem reduzir significativamente a produção de ovos devido aos danos produzidos à planta hospedeira. A auto-regulação na população observada a partir de cerca de 100 adultos/m<sup>2</sup> ocorre tardiamente em relação ao nível econômico de dano da praga, estimado em 30 adultos/m<sup>2</sup>, não servindo para o manejo da praga em pastagens cultivadas. Estes resultados contribuem para o entendimento dos mecanismos que diferenciam a dinâmica populacional do inseto em áreas cultivadas e no Cerrado.

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB.

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

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

**074 - EFICIÊNCIA DE *Cercospora caricis* NO CONTROLE BIOLÓGICO DA TIRIRICA, COM E SEM A CULTURA DA SALSA (*Petroselinum crispum*), EM CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO (Efficiency of *Cercospora caricis* in purple nutsedge biology control, with and without parley (*Petroselinum crispum*), under greenhouse conditions)**

Teixeira, E.A.<sup>1</sup>, Carvalho, I.M.<sup>2</sup>, Mello, S.C.M.<sup>3</sup>

O fungo *Cercospora caricis* foi selecionado para estudos visando ao desenvolvimento de um micoherbicida para controle da tiririca (*Cyperus rotundus* L.). Este trabalho teve como objetivo determinar a eficiência deste fungo no controle da tiririca, em presença ou ausência da cultura da salsa (*Petroselinum crispum*). Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, utilizando o delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (2 x 4). Os tratamentos constituíram-se de parcelas onde a tiririca, com e sem a salsa, recebeu uma, duas e três aplicações de uma suspensão de *C. caricis* e testemunha, cujas plantas de tiririca, com e sem a salsa, não foram tratadas com o fungo. Cada parcela consistiu de uma caixa plástica (26 x 39 cm), com solo previamente autoclavado, contendo nove plântulas de tiririca intercaladas ou não com plantio de salsa. A condução dos experimentos se deu em duas épocas distintas: de abril a julho e de agosto a novembro de 1998. Os resultados obtidos, independentemente da época considerada, indicaram que três aplicações de *C. caricis* promoveram redução significativa nos componentes de crescimento da tiririca, tanto na presença quanto na ausência da cultura da salsa, apontando para um aumento da eficácia do patógeno em controlar esta espécie, por meio de aplicações sucessivas do fungo. Isto foi claramente verificado com relação aos dados de porcentagem de área foliar infectada e de redução na produção de tubérculos (mais de 40% de redução), que é o principal meio de propagação desta espécie daninha. Portanto, conclui-se que o controle efetivo da tiririca, possivelmente, poderá ser alcançado a médio e/ou longo prazo através do uso do fungo em cultivos subseqüentes, pela exaustão do banco de tubérculos existente no solo.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Mestranda, UnB.

<sup>2</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

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

**075 - EFICIÊNCIA DE *Cercospora caricis* NO CONTROLE DE TIRIRICA, EM CULTURA DO MILHO, SOB CONDIÇÕES DE CAMPO (Efficiency of *Cercospora caricis* for the control of purple nutsedge on maize under field conditions)**

Teixeira, E.A.<sup>1</sup>, Gangana, F.S.F.<sup>2</sup>, Mello, S.C.M.<sup>3</sup>

A tiririca (*Cyperus rotundus* L.) é considerada uma das plantas daninhas mais importantes na agricultura mundial e brasileira, devido sua ampla distribuição, capacidade de competição e agressividade, além de apresentar características reprodutivas que dificultam seu controle e erradicação. O fungo *Cercospora caricis* tem se destacado como agente de biocontrole para esta planta, porém seu potencial para utilização como bioherbicida, em sistema de cultivo, ainda não foi estudado. Portanto, determinou-se a eficiência de *C. caricis* no controle de tiririca, interferindo com a cultura do milho, sob condições de campo. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com cinco repetições e seis tratamentos (1,3 e 5 aplicações de *C. caricis*; 1 aplicação do herbicida 2,4 D (3,0 L i.a./ha); 2 capinas e uma testemunha não inoculada). As aplicações do fungo *C. caricis*, isolado CEN66, foram feitas através de pulverizações com suspensão a base de micélio fresco (75g/L), adicionada do surfactante Tween 20. Os resultados obtidos mostram que o fungo *C. caricis*, em três aplicações, foi tão eficiente quanto ao herbicida 2,4 D e capina, na redução de peso e número de tubérculos, indicando que este patógeno poderá, no futuro, ser integrado aos sistemas de manejo de tiririca.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Mestranda, UnB.

<sup>2</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, CEUB.

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

**076 - INFECTIVIDADE DE *Cercospora caricis* EM PLANTAS DE TIRIRICA, PRODUZIDAS ATRAVÉS DE DIFERENTES EXPLANTES, EM CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO (Infectivity of *Cercospora caricis* in purple nutsedge plants produced from different explants, under greenhouse conditions)**

Teixeira, E. A.<sup>1</sup>, Caixeta, C. B.<sup>2</sup>, Mello, S. C. M.<sup>3</sup>

A obtenção de plantas de tiririca (*Cyperus rotundus* L.) para estudos relacionados ao seu biocontrole vem sendo conseguida através da multiplicação, tanto de bulbos quanto de tubérculos. Este trabalho teve como objetivo comparar a infectividade de *Cercospora caricis* em plantas tiririca, produzidas através de dois tipos de explantes. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (2 x 2), com 15 repetições, sendo a parcela constituída por um vaso contendo um explante. Os tratamentos consistiram no plantio de tiririca utilizando bulbo basal destacado do tubérculo, com três folhas e tubérculo, com três a quatro folha e aplicação de suspensão aquosa contendo ou não o patógeno. As aplicações do fungo (isolado CEN66) foram realizadas utilizando uma suspensão de 75g de micélio fresco/L, em aspersão na superfície das plantas, quando as mesmas apresentavam cerca de 15 dias de idade. As inoculações foram seguidas de incubação das plantas em câmara úmida por 24 h, mantendo-se as mesmas em casa de vegetação, até serem avaliadas quanto à severidade e incidência da doença e quantidade de matéria seca produzida. A análise de variância dos dados obtidos mostrou que não houve diferença significativa quanto ao dois tipos de explantes utilizados, na infecção de tiririca por *C. caricis*. Portanto, para as condições experimentais adotadas, ambas as formas de multiplicação da planta podem ser empregadas, embora, o uso de bulbo basal pareça ser vantajoso, pelo fato de dar origem a plantas mais uniformes, contribuindo assim, para uma melhor padronização do suporte experimental.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr.<sup>a</sup>, Mestranda, UnB.

<sup>2</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, CEUB.

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

**077 - INFLUÊNCIA DA PLANTA HOSPEDEIRA SOBRE O PARASITISMO DE *Bemisia tabaci* (GENNADIUS) RAÇA B POR *Encarsia formosa* GAHAN ( Host plant influence on the *Bemisia tabaci* raça B ninfal stage parasitism by the parasitoid *Encarsia formosa*)**

Moraes, F.A.B.<sup>1</sup>, Laumann, R. A.<sup>2</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>3</sup>

*Bemisia tabaci* (Gennadius) raça B (= *B. argentifoli*) é uma das principais pragas de ecossistemas agrícolas em várias regiões do mundo. No Brasil, populações deste inseto tem causado inúmeros prejuízos, os quais ultrapassam R\$ 2 bilhões. Grande parte do sucesso do controle biológico depende da interação planta inseto fitófago inimigo natural, já que algumas associações favorecem os inimigos naturais e outras não. Existem vários parasitóides com potencialidade para controle de populações de *B. tabaci*, especialmente os do gênero *Encarsia*, entre eles, *E. formosa*. Esta espécie tem sido utilizada com sucesso para controle de moscas brancas especialmente em casa de vegetação. Neste trabalho avaliou-se a possível influência de distintos cultivares de melão no parasitismo de *B. tabaci* pelo parasitóide *E. formosa*. Em gaiolas com os cultivares de melão (*Cucumis melo* L.) AF 646, AF 682 e Cantaloup, infestadas com ninfas de *B. tabaci* foram colocadas três fêmeas do parasitóide por 24h. Após 10 dias, foram contados o número total de ninfas de *B. tabaci* e o número de ninfas parasitadas por *E. formosa*. Não se observou diferenças significativas no nº de ninfas parasitadas por *E. formosa* (  $F = 2,69$   $p = 0,10$   $gl = 2,25$ ), nem nas porcentagem de parasitismo (  $F = 0,217$   $p = 0,86$   $gl = 2,25$ ). Analisando os resultados obtidos pôde-se concluir que os três cultivares avaliados não afetaram a relação entre o parasitóide e seu hospedeiro já que os níveis de parasitismo por *E. formosa* resultaram similares.

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, biologia, UCB.

<sup>2</sup> Biólogo, Dr., Bolsista CNPq.

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

**078 - ISOLAMENTO DE NOVAS ESTIRPES BRASILEIRAS DE *Bacillus thuringiensis* E DETERMINAÇÃO DA SUA PATOGENICIDADE CONTRA *Anticarsia gemmatalis* E *Spodoptera frugiperda* (Isolation of new Brazilian strains of *Bacillus thuringiensis* and determination of their pathogenicity against *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda*)**

Aguiar, M.S.<sup>1</sup>, Bonfim, K.<sup>2</sup>, Pessanha, R.<sup>3</sup>, Monnerat, R.G.<sup>4</sup>

O emprego de bacilos entomopatogênicos em controle biológico constitui-se numa alternativa promissora sob o ponto de vista técnico, econômico e ambiental, pois sua ação restringe-se somente aos insetos-alvo não causando efeitos danosos ao ecossistema nem a outros organismos, auxiliando assim, na produção de alimentos menos contaminados. Os bioinseticidas à base do *Bacillus thuringiensis* tem apresentado resultados positivos contra larvas de lepidópteros, dípteros e coleópteros. Esta bactéria apresenta ampla distribuição, sendo isolada com facilidade a partir de amostras de solo, água e insetos mortos. Estão registradas mais de 40.000 estirpes, sendo que mais de 100 toxinas diferentes foram descritas. Laboratórios em todo o mundo procuram por outras novas estirpes desta bactéria na tentativa de se obter isolados com espectros de ação diferentes ou maior eficácia dos que os já descritos. O objetivo deste trabalho foi isolar novas estirpes de *B. thuringiensis* de amostras brasileiras de solo e testar sua patogenicidade contra as lagartas do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*) e lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*). Para isso, foram processadas 65 amostras de solo de diferentes regiões, de onde foram isoladas 46 estirpes de *B. thuringiensis*. Desses, 15 apresentaram toxicidade para *A. gemmatalis* e 4 para *S. frugiperda*.

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Biologia, UCB.

<sup>2</sup> Bióloga, Bolsista CNPq.

<sup>3</sup> Med. Veterinária, pesquisadora visitante, UFV.

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

## 079 - METODOLOGIA DE BIOENSAIO UTILIZANDO *Bacillus thuringiensis* CONTRA O BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*) (Biossay methodologies using *Bacillus thuringiensis* against boll weevil)

Dias, S.C.<sup>1</sup>, Grossi de Sá, M.F.<sup>2</sup>, Oliveira-Neto, O.B.<sup>3</sup>, Monnerat, R.G.<sup>2</sup>

O bicudo é uma das pragas mais sérias da cotonicultura no continente americano, sendo controlado através de produtos químicos. Visando a redução do uso destes produtos por meio de técnicas biológicas alternativas, foram testadas metodologias de bioensaio para avaliar a eficiência de cepas de *Bacillus thuringiensis* no controle deste inseto. Inicialmente, foram estudadas a possibilidade da utilização de ovos ou larvas. Posteriormente foram determinados parâmetros como método de incorporação da bactéria na dieta artificial, idade larval a ser utilizada e tempo de contato entre as larvas e a bactéria. Os resultados de um total de oito bioensaios mostraram a impossibilidade da utilização de ovos devido a baixa taxa de eclosão dos mesmos e pouca visualização da mortalidade larval. O método de espalhamento da bactéria na superfície da dieta artificial mostrou resultados muito irregulares na mortalidade larval. A metodologia mais eficiente para avaliação das cepas foi o método da incorporação do bacilo na dieta na proporção de 25%. Também foi padronizada a idade larval de 48 horas, já que se observou que bioensaios realizados com larvas com 72 horas produziam menor mortalidade. A leitura final dos bioensaios foi estabelecida em 15 dias, utilizando-se como controle positivo o *Bacillus thuringiensis* subspécie *tenebriones* e água como controle negativo. Baseado nessa metodologia quatro cepas de *B. thuringiensis* pertencentes ao Banco de *Bacillus* spp.entomopatogênicos do Cenargen foram identificadas como eficazes contra este inseto.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Doutoranda, UnB.

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

<sup>3</sup> Eng. Agr., Doutorando, UnB.



**080 - MODELO DA DINÂMICA DO FUNGO *Nomuraea rileyi* EM POPULAÇÕES DE *Anticarsia gemmatalis* NA REGIÃO DO DISTRITO FEDERAL (Dynamic model of the fungus *Nomuraea rileyi* in *anticarsia gemmatalis* populations in the region of Federal District).**

Carvalho, V.A.M.<sup>1</sup>, Soares, C.M.S.<sup>2</sup>, Sujii, E.R.<sup>3</sup>, Tigano, M.S.<sup>4</sup>

O fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi* é um agente de controle biológico natural que causa verdadeiras epizootias em populações da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis*, nas regiões tropicais e subtropicais. Foi desenvolvido um modelo matemático para simular a dinâmica da interação *N. rileyi*-*A. gemmatalis* nas condições da região da Flórida, EUA. No entanto, para a região do Distrito Federal, a curva epizootica simulada por este modelo não correspondeu à observada. Com o objetivo de adaptar o modelo para as condições locais foi avaliado o potencial de inóculo do fungo através da determinação da quantidade de conídios produzidos pelos cadáveres da praga. Lagartas de segundo ínstar de *A. gemmatalis* foram infectadas com o isolado CG 724 de *N. rileyi* e mantidas em dieta artificial. Os cadáveres foram acondicionados individualmente em câmara úmida até que a superfície dos mesmos estivesse totalmente recoberta por conídios de *N. rileyi*. Visando adequar os dados deste estudo às amostragens de campo, os cadáveres foram classificados em lagartas pequenas ( $\leq 2,5$  cm) e grandes ( $\geq 2,6$  cm). A quantidade média de conídios por cadáver foi de  $2,42 \times 10^8 \pm 1,16 \times 10^8$  conídios/lagarta pequena, e  $5,65 \times 10^8 \pm 2,10 \times 10^8$  conídios/lagarta grande. Esses dados quando introduzidos no modelo demonstraram níveis de infecção de lagartas menores que aqueles observados no campo. Tal resultado sugere que as condições ambientais que predominam no campo favoreçam o aumento do potencial de inóculo do fungo. Portanto, há necessidade de estudos sobre a interação destes fatores ambientais com a esporulação do fungo relacionada à quantidade de conídios simulada pelo modelo.

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

<sup>2</sup> Eng. Agr., PhD, Bolsista CNPq.

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

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

**081 - PRODUÇÃO DE HIDROLASES POR ISOLADOS DE *TRICHODEMA* SP. COM POTENCIAL ANTAGÔNICO CONTRA *Crinipellis perniciosa* E CARACTERIZAÇÃO DE UMA QUITINASE E UMA PROTEASE (Hydrolases production from *Trichoderma* sp.with antagonism against *Crinipellis perniciosa* and characterization of one chitinase and one protease)**

De Marco, J.L.<sup>1</sup>, Felix, C.R.<sup>2</sup>, Valadares-Inglis, M.C.<sup>3</sup>

*Trichoderma harzianum* é um dos agentes de biocontrole de inúmeros fungos patógenos de plantas. Foi verificado que dois isolados (TVC e T 1051) de *Trichoderma* com capacidade antagônica sobre *C.perniciosa* em condições que simulem o micoparasitismo, produzem quantidades significativas de hidrolases, tais como: quitinases, N-acetilglicosaminidases, amilases, celulases e proteases, em comparação com a cepa de *T.harzianum* 39.1. O isolado 1051 de *T.harzianum* foi testado quanto a capacidade de antagonizar o fitopatógeno *C.perniciosa* em culturas pareadas. Verificou se que o isolado de *Trichoderma* sobrepôs-se completamente ao fitopatógeno. Análises microscópicas dos micélios em crescimento na zona de superposição revelou a realização de processo de micoparasitismo entre os dois fungos. A capacidade de hidrólise da parede celular do *C.perniciosa* pela quitinase parcialmente purificada e protease purificada do isolado 1051 foi observada através de micrografias eletrônica de varredura de micélio do fitopatógeno submetido a ação das duas enzimas. Ambas as enzimas afetaram drasticamente a parede celular do *C.perniciosa* conforme demonstrado também pela liberação de produtos de hidrólise no meio de reação. Anticorpos policlonais anti-quitinase e anti-protease produzidos em camundongos revelaram que estas enzimas são produzidas pelo *Trichoderma* na presença dos respectivos substratos com 6 e 24 horas de crescimento, respectivamente.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Doutoranda, UnB.

<sup>2</sup> Biólogo, PhD, UnB.

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

**082 - SUSCEPTIBILIDADE DE SEIS LINHAGENS CELULARES AO NUCLEOPOLIEDROVIRUS DE *Anticarsia gemmatalis* (AgMNPV) (Susceptibility of six insect cell lines to *Anticarsia gemmatalis* Nucleopolyhedrovirus)**

Pontes, A.R. de M.<sup>1</sup>, Ribeiro, Z.M. de A.<sup>2</sup>, Castro, M.E.B.<sup>3</sup>

Linhagens celulares de *Anticarsia gemmatalis* (UFL-AG-286), *Trichoplusia ni* (Tn5B1-4, Tn368), *Lymantria dispar* (LD) e *Spodoptera frugiperda* (IPLB-SF-21AE, SF9) foram avaliadas quanto a sua permissibilidade ao Nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis* (AgMNPV-2D), com base em seus efeitos citopáticos e produção de partículas virais (poliedros-PIBs e vírus extracelulares-BVs). As células foram semeadas em placas de 60mm<sup>2</sup> (2,5x10<sup>6</sup> células/placa) e inoculadas com vírus em uma multiplicidade de infecção (MOI) igual a 10. Após incubação a 27°C por 0, 12, 24, 48, 72 e 96h as células foram observadas e fotografadas com microscópio de contraste de fase. Enquanto células controle permaneceram inalteradas, células susceptíveis ao vírus apresentaram-se arredondadas com hipertrofia nuclear, protusões celulares que em geral regrediam em torno de 96hp.i., e formação de vários corpos de inclusão (PIBs). A partir de 48hpi, poliedros foram observados nas células Tn5B1-4, UFL-AG-286, SF21, Tn368 e SF9, atingindo as 96hpi os percentuais de 95%, 95%, 70%, 40% e 25%, respectivamente. Medida após o período de adsorção (0hp.i.) revelou que os sobrenadantes das células inoculadas apresentaram títulos virais entre 10<sup>3</sup> a 10<sup>4</sup> IU/ml, enquanto as 48hp.i. células Tn5B1-4, UFL-AG-286, SF21 foram altamente produtivas, com títulos virais em torno de 10<sup>7</sup>, compatíveis com a alta produção de poliedros. Títulos virais de infecções de SF9 e Tn368 foram de 10<sup>6</sup> UI/ml, mostrando-se consistentes também com a menor produção de poliedros.

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Biologia, CEUB.

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

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

Por outro lado células LD inoculadas com o vírus não foram permissivas e apresentaram título viral de  $10^5$  UI/ml. A análise das alterações morfológicas induzidas em células com diferentes níveis de permissibilidade ao vírus e a medida da produção de partículas virais permitem a seleção de linhagens celulares que poderão posteriormente serem utilizadas em estudos moleculares de interação vírus-célula.

**083 - SUSCETIBILIDADE EM ACESSOS DE TIRIRICA A *Cercospora caricis*, SOB CONDIÇÕES DE CASA DE VEGETAÇÃO (Susceptibility of purple nutsedge accessions to *Cercospora caricis* under greenhouse conditions)**

Teixeira, E.A.<sup>1</sup>, Mello, S.C.M.<sup>2</sup>, Pereira, W.<sup>3</sup>, Cordeiro, C.<sup>4</sup>

O fungo *Cercospora caricis* Oudem., selecionado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, apresentou-se como agente potencial no controle biológico da tiririca (*Cyperus rotundus* L.). Teve-se como objetivo avaliar a suscetibilidade de 53 acessos de tiririca aos isolados CEN66 e CEN142 de *C. caricis*, em 1998, sob condições de casa de vegetação. Cada combinação acesso de tiririca x fungo e testemunha foi repetida em três parcelas. Utilizou-se uma suspensão de 75 g de micélio fresco/L dos isolados para inocular as plantas, com 7 a 12 folhas, e após 24h em câmara úmida, as mesmas foram mantidas sob condições de casa de vegetação. Os dois isolados de *C. caricis* diferiram significativamente em seus padrões de infectividade nos acessos avaliados. O CEN66 apresentou maior potencial para controle de tiririca, onde 32,07% foram altamente suscetíveis, 62,26% suscetíveis, 5,67% moderadamente suscetíveis, não havendo, portanto, populações resistentes a este isolado. Estes resultados demonstraram a existência de suscetibilidade diferenciada nos acessos de tiririca avaliados, evidenciando a importância da determinação desta diferenças, para o estabelecimento de estratégias para o controle biológico.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Mestranda, UnB.

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Dra., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

<sup>3</sup> Eng. Agr. PhD, Embrapa Hortaliças.

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

**084 - TAXA DE PREDACÃO DE *Nephaspis geminii* (Coleoptera, Coccinelidae) SOBRE OVOS E NINFAS DE *Bemisia tabaci* RAÇA B (Hemiptera, Aleyrodidae) NAS PLANTAS DE COUVE E MELÃO (Predation tax of *Nephaspis geminii* (Coleoptera, Coccinelidade) on eggs an ninfal of *Bemisia tabaci* raça B (Hemiptera, Aleyrodidae) in the culturies of cabbage and cantaloup)**

Gonçalves, P.R.V.<sup>1</sup>, Laumann, R. A.<sup>2</sup>, Oliveira, M.R.V.<sup>3</sup>

As moscas-brancas no complexo de raças de *Bemisia tabaci* (Gennadius), constituem uma das principais pragas de ecossistemas agrícolas e urbanos, em nível mundial. Foi introduzida no Brasil, através do estado de São Paulo por volta de 1991 e sua distribuição no país vem se alastrando de forma progressiva. O controle biológico e o uso de produtos biorracionais são essenciais dentro do contexto integrado de controle da praga. Eles podem diminuir o uso de inseticidas químicos e a resistência que o inseto adquire a estes produtos. A prospecção e avaliação de inimigos naturais dentro do contexto do controle biológico é de vital importância para que o desenvolvimento e implantação das estratégias de manejo integrado visando diminuir o impacto de *Bemisia* no país. O besouro predador *Nephaspis geminii* (Coleoptera, Coccinelidade) foi avaliado quanto ao número de indivíduos (ovos e/ou ninfas) predados durante a sua fase larval e adulta. Foram separados discos de folhas de couve (*Brassica oleracea* var.) e de melão (*Cucumis melo* L.) infestados com ovos e ninfas de mosca branca, em placas de Petri., Em seguida os adulto e as larvas foram colocados separadamente dentro das placas de Petri. Observou-se que tanto o adulto como a larva do predador preferem se alimentar de ovos da mosca, bem como a taxa de predação em plantas de couve foi muito maior do que em plantas de melão.

---

<sup>1</sup> Estagiária de Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB.

<sup>2</sup> Biólogo, Doutor, Bolsista CNPq.

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

**085 - TÉCNICAS DE COLHEITA DE CONÍDIOS DE *Metharizium anisopliae* VAR. *acridum* (Harvesting techniques of *Metharizium anisopliae* var. *acridum* conidia)**

Rangel, L.C.<sup>1</sup>, Magalhães, B.P.<sup>2</sup>

O *M. anisopliae* é um importante patógeno para o controle biológico do gafanhoto *Rhammatocerus schistocercoides*, séria praga na região centro-oeste do Brasil. Em continuidade ao estudo feito sobre otimização da produção e colheita do fungo *M. anisopliae*, foram comparados os métodos de colheita mecânica (peneirador de solos e conjunto de caixas) e lavagem com querosene. A produção obtida por grama de substrato com o conjunto de caixas foi em média  $3,13 \times 10^9$  conídios/g de substrato e a viabilidade de 96%; na colheita feita com peneirador de solos o resultado foi:  $2,26 \times 10^9$  conídios/g de substrato e viabilidade de 97,3%; com querosene obteve-se  $1,07 \times 10^9$  conídios/g de substrato e viabilidade 91,3%.

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB.

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

**086 - VARIABILIDADE MORFOLÓGICA E GENÉTICA DE ISOLADOS DE *Cercospora caricis*, AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO PARA TIRIRICA (*Cyperus rotundus*) (Morphological and Genetic variability of Brazilian isolates of *Cercospora caricis*, a biological control agent of purple nutsedge (*Cyperus rotundus*))**

Teixeira, E.A.<sup>1</sup>, Inglis, P.W.<sup>2</sup>, Valadares-Inglis, M.C.<sup>3</sup>, Mello, S.C.M.<sup>4</sup>

Doze isolados de *Cercospora caricis*, fungo selecionado como agente de controle biológico para tiririca (*Cyperus rotundus*), foram caracterizados morfolologicamente e geneticamente. Para caracterização morfológica, as colônias fúngicas foram cultivadas em meio BDA, em placas de Petri, e incubadas a 28 °C, com fotoperíodo de 12 horas, durante 13 dias. Para caracterização molecular, ao nível de DNA, utilizou-se marcadores moleculares RFLP's, identificados por sonda telomérica. O DNA genômico dos isolados foi extraído e digerido com as enzimas de restrição *Bam*HI, *Eco*RI, *Hind*III e *Pst*I e os fragmentos clivados foram separados através de eletroforese em gel de agarose. Southern Blots foram então preparados por transferência alcalina, do gel para uma membrana de nylon, por capilaridade. O DNA foi hibridizado com uma sonda, correspondente a uma seqüência telomérica de *Fusarium oxysporum* [TTAGGG]<sub>18</sub>, obtida do plasmídeo pMSC1, a partir de uma digestão com *Sac*I e *Xba*I. A sonda foi desnaturada e marcada com dCTP[ $\alpha$ -P<sup>32</sup>]. Bandas foram visualizadas através de exposição das membranas de nylon a filmes de raios X. Observou-se polimorfismo entre os isolados, confirmando a variabilidade genética na espécie estudada. Com base nestes dados, foi identificado um grupo com alta similaridade constituído principalmente por isolados do Distrito Federal, que mostrou-se geneticamente distante do isolado da Flórida, E. U. A. e também de outros do Brasil. Quanto ao aspecto morfológico das colônias, foi possível diferenciar os isolados em meio BDA, evidenciando correlação com os dados gerados por RFLP. Isto pode indicar a necessidade de uma revisão na identificação ou na taxonomia de alguns destes isolados estudados.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Mestranda, UnB.

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

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

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



**087 - VIABILIDADE E INFECTIVIDADE DE LOTES DE INÓCULOS DE *Alternaria cassiae* EM DIFERENTES PERÍODOS DE ARMAZENAMENTO (Viability and infectivity of *Alternaria cassiae* inoculum after different periods of storage)**

Carvalho, I.M.<sup>1</sup>, Caixeta, C.B.<sup>2</sup>, Mello, S.C.M.<sup>3</sup>

A manutenção a baixas temperaturas durante o armazenamento tem sido recomendada para preservação de inóculo de diversos fungos fitopatogênicos. Neste trabalho, avaliou-se a capacidade de armazenamento de *Alternaria cassiae*, selecionado como agente de biocontrole para *Senna obtusifolia* (fedegoso), após diversos períodos de estocagem sob refrigeração. Os testes de viabilidade foram realizados por meio de plaqueamento de suspensão contendo  $1,0 \times 10^5$  esporos/ml, em ágar-água. Após incubação a 25° C durante 24 horas no escuro, determinou-se a porcentagem de esporos germinados. Para os testes de infectividade, as plantas de fedegoso foram cultivadas em vasos de 500 ml de capacidade, contendo solo previamente autoclavado e fertilizado. As inoculações foram realizadas em plântulas apresentando apenas as folhas cotiledonares. As avaliações foram feitas em termos de severidade dos sintomas da doença e mortalidade de plântulas, aos sete dias após a inoculação. Verificaram-se valor elevados tanto de viabilidade quanto de infectividade dos esporos provenientes dos lotes armazenados por períodos de até 34 meses, a 25° C. Embora tenham sido detectadas pequenas reduções no poder germinativo destes esporos, em alguns dos lotes, a infectividade foi sempre elevada, obtendo-se 100% de plantas mortas, nos ensaios conduzidos em casa de vegetação. Os resultados obtidos indicam que esporos de *A. cassiae* podem ser armazenados por períodos prolongados, a baixa temperatura, sem perdas na qualidade.

---

<sup>1</sup> Bolsista CNPq, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

<sup>2</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, CEUB.

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

## INTERCÂMBIO E QUARENTENA

### 088 - ÁCAROS ERIOFÍDEOS ASSOCIADOS À CULTURA DA MANGA , NOVOS PARA A FAUNA BRASILEIRA (Eriophyidae mites associated to mango , new records to the Brazilian fauna)

Dantas, A.B.<sup>1</sup>, Navia, D.<sup>2</sup>, Flechtmann, C.H.W.<sup>3</sup>

A manga (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae), fruteira de clima tropical, é originária da Índia Oriental. Material de propagação vegetativa desta cultura têm sido transportado desde o século VII. Nas Américas, foi primeiramente cultivada no Rio de Janeiro RJ, Brasil e as primeiras plantas foram procedentes da África, no século XVI. Atualmente, esta cultura apresenta grande importância no país, tanto para o mercado interno quanto para o externo. Recentemente, material de propagação foi introduzido no Brasil do Havaí e EUA. Desta maneira, pragas têm sido amplamente disseminadas. Ácaros fitófagos representam importantes pragas de culturas frutíferas. São diversas as espécies que vêm causando problemas à culturas da manga por todo o mundo. Portanto, é extremamente importante a adoção de medidas quarentenárias para evitar a introdução de novas espécies no país. Para isto, o primeiro passo é conhecer as espécies que aqui ocorrem. Com este objetivo, foram realizadas coletas e inspeções detalhadas ao estereoscópio de ramos e inflorescências de mangueiras no DF, Mossoró-RN e Teresina-PI. Os ácaros detectados foram preservados em meio de Berlese modificado e identificados em microscópio de contraste de fase, consultando a bibliografia e a chave de identificação Lindquist & Amrine, 1996. Além das espécies cuja ocorrência já era conhecida no país – *Aceria mangiferae* Sayed, *Cisaberoptus kenyae* Keifer e *Tegolophus* sp. (Prostigmata: Eriophyidae), foi pela primeira vez constatada a presença de *Spinacus pagonis* Keifer, *Neocalacarus mangiferae* Channabasavanna e *Tegonotus mangiferae* (Keifer).

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB.

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

<sup>3</sup> Eng. Agr., PhD, ESALQ/USP.

## 089 - DETECÇÃO DE POTYVÍRUS EM *Passiflora* spp. POR TÉCNICAS MOLECULARES (Determination of potyvirus in *Passiflora* spp. by molecular techniques)

Moreira Jr., D.J.F.<sup>1</sup>, Vidal, A.S.<sup>2</sup>, Marinho, V.L.A.<sup>3</sup>

Em visita a pequenas plantações no Distrito federal, foi detectada a presença de sintomas similares ao de viroses nas folhas, flores e frutos do maracujazeiro. Os sintomas observados foram mosaico, embolhamento e redução do limbo foliar; descoloração das pétalas e enrugamento das pétalas e enrugamento das sépalas florais e endurecimento e embolhamento na superfície dos frutos. Com o objetivo de caracterizar o patógeno associado aos sintomas observados, foram realizadas extrações de RNA dupla fita (dsRNA) utilizando fenol e cromatografia em coluna de CF11 a partir de 1g de folhas. O perfil eletroforético desse dsRNA mostrou 4 bandas de tamanhos 10.000, 8.010, 7.990, 3.800pb. Utilizando este dsRNA como molde, foi realizado um PCR, precedido de uma transcrição do RNA em cDNA (RT), com "primers" degenerados que se anelam numa região interna a capa protéica de potyvírus. Foi observado amplificação de um fragmento de 290pb, tamanho esperado para a região amplificada, em gel de agarose colorido com brometo de etídeo,. Os resultados obtidos não apenas estabelecem associação dos sintomas observados a um vírus como também caracteriza o mesmo como membro do grupo potyvírus.

---

<sup>1</sup> Biólogo, Mestrando, UnB.

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

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

**090 - DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM POTYVÍRUS EM *Passiflora sp.* ATRAVÉS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA (Potyvirus detection and characterization in *Passiflora sp.* by electron microscopy)**

Moreira Jr, D.J.F.<sup>1</sup>, Vidal, A.S.<sup>2</sup>, Falcão, R.<sup>2</sup>, Santana, E.F.<sup>3</sup>, Marinho, V.L.A.<sup>4</sup>

Plantas de maracujá (*Passiflora sp.*) exibindo sintomas de mosaico nas folhas, deformação e mudança de coloração nas flores e rugosidade nos frutos, foram encontradas em Planaltina, DF. Exames ao Microscópio Eletrônico de preparações rápidas do tipo "leaf dip" de tecido de folhas com sintomas revelaram a presença de partículas alongadas do tipo potyvirus, também observadas em preparações à partir de vírus purificado. Para confirmar se as partículas encontradas eram de vírus pertencente ao grupo potyvirus, exame de secções histológicas ultrafinas foram efetuadas. Para tal, pedaços de aproximadamente 1mm x 3mm de folhas infectadas foram fixadas em 4% de paraformaldeído + 2% de glutaraldeído em tampão cacodilato de sódio 0,05M, pH 7.2 e pós-fixado em tetróxido de ósmio à 1% em tampão cacodilato de sódio 0,05M + ferricianeto de potássio 1,6M + 5mM CaCl por 1h. Lavagens foram efetuadas em tampão cacodilato e os tecidos deixados por uma noite à 8°C em acetato de uranila. A desidratação do material foi feita em baterias crescentes de acetona seguida de infiltração em SPURR por 72 horas à 70°C. Os cortes ultrafinos de 60µm foram obtidos em ultramicrotomo utilizando-se navalha de diamante da marca DRUKKER. A observação desses cortes ao M.E. revelou a presença de inclusões citoplasmáticas com numerosos agregados laminares e estruturas do tipo catavento,

---

<sup>1</sup> Biólogo, Mestrando, UnB.

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

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

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

característica do grupo potyvirus, confirmando o diagnóstico anterior. Esse trabalho demonstra a possibilidade de utilizar técnicas de Microscopia Eletrônica na detecção e caracterização de alguns fitovírus, sendo uma ferramenta amplamente utilizada em Quarentena, embora a identificação dos mesmos só possa ser realizada utilizando-se técnicas específicas como as imunológicas e moleculares.

## 091 - DOENÇAS FÚNGICAS EM CULTURAS FLORESTAIS DE IMPORTÂNCIA QUARENTENÁRIA PARA O BRASIL (Fungi diseases in forest cultures of quarantine importance to Brazil)

Santos, C.E.N. dos<sup>1</sup>, Mendes, M.A.S.<sup>2</sup>, Santos, M. de F.<sup>3</sup>, Urban, A.F.<sup>4</sup>, Simões, R.S.<sup>5</sup>, Barros, P.C.<sup>6</sup>

A demanda por germoplasma exótico aumentou nos últimos anos, conseqüentemente os riscos de introdução de patógenos exóticos. Aumentaram consideravelmente. O presente trabalho, teve por objetivo reunir informações sobre os fungos de importância quarentenária em espécies florestais, visando tornar as análises fitossanitárias mais objetivas e eficientes. Foram compiladas informações sobre os fungos de importância quarentenária, incluindo as plantas hospedeiras, sintomas, importância econômica, método de detecção, ocorrência em sementes, tratamento e distribuição geográfica mundial. Como resultado das primeiras revisões foram catalogadas 306 espécies de fungos, ocorrendo em 34 gêneros de plantas englobando 138 espécies. Podemos citar como exemplos: *Armillaria tabescens* (Scop.) Singer e *Cytospora australiae* sp. nov. em *Eucalyptus* spp. L'Hér.; *Cronartium coleosporioides* Arth. e *Phomopsis juniperivora* Hahn em *Pinus* spp. L.; *Ascochyta heveae* Petch em *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.DC.) Juss. Müll. Arg., *Oncobasidium theobromae* P. H. B. Talbot & Keane e *Moniliophthora roreri* H. C. Evans, Stalpers, Samson & Benny em *Theobroma cacao* L., *Phytophthora botryosa* Chee e *P. Meadii* atacando *Hevea* spp. Aubl. e *Theobroma* spp. L. e *Olivea tectonae* (T. S. & K. Kamakrishnan) Mulder ocorrendo em *Tectona grandis* L. Fir.

---

<sup>1</sup> Bolsista-Fundação Giacometti, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Bolsista-Fundação Giacometti

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

<sup>5</sup> Bolsista-Fundação Giacometti, estudante de graduação, Biologia, UCB

<sup>6</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB

## 092 - ESTRUTURAÇÃO DA COLEÇÃO ACAROLÓGICA DE REFERÊNCIA PARA A QUARENTENA VEGETAL NO BRASIL (Structuring the reference mite collection to the plant quarantine in Brazil)

Dantas, A.B.<sup>1</sup>, Navia, D.<sup>2</sup>

Os ácaros são pragas de grande expressão econômica, pois infestam culturas agro-silvo-pastoris e podem diminuir significativamente a produtividade. Além da expressão econômica, os mesmos apresentam expressão quarentenária devido à dificuldade de detecção, por suas reduzidas dimensões, resistência a condições ambientes extremas, por se encontrarem em locais protegidos nos hospedeiros e rápido desenvolvimento de resistência à pesticidas. A Entomologia do Laboratório de Quarentena Vegetal têm como objetivos: detecção de formas imaturas, adultos ou sintomas de infestação por ácaros ou insetos em germoplasma de importação, exportação e trânsito interno e também em amostras de material comercial encaminhado pelo Ministério da Agricultura e rápida e acurada identificação dos mesmos. Para alcançar este objetivo, é extremamente importante a estruturação de uma coleção de referência, onde estejam disponíveis representantes de espécies exóticas, especialmente aquelas de expressão quarentenária, e, também, aquelas que ocorrem no país e podem ser encontradas associadas ao material vegetal. Para a estruturação da coleção acarológica de referência, ácaros detectados no material inspecionado no laboratório, coletados em quarentenários e casa-de-vegetação, bem como em diversas culturas frutíferas que têm sido visitadas e adquiridas através de intercâmbio com instituições internacionais, têm sido preservados em preparações microscópicas: adequadamente etiquetadas e mantidos em caixa para lâminas. Os dados de coleta dos espécimes, estão sendo armazenados em um banco de dados, possibilitando o acesso informatizado à coleção. Os espécimes não identificados no laboratório têm sido enviados a especialistas. Até o momento estão disponíveis na coleção cerca de 678 lâminas, com pelo menos 199 identificados.

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB

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

## 093 - FUNGOS EXÓTICOS EM FRUTIFERAS TROPICAIS (Exotic fungi in tropical fruit trees to Brazil)

Simões, R.S.<sup>1</sup>, Mendes, M.A.S.<sup>2</sup>, Santos, C.E.N. dos<sup>3</sup>, Santos, M. de F.<sup>4</sup>, Urban, A.F.<sup>5</sup>

A quarentena tem assumido grande importância como resultado da utilização da variabilidade genética em programas de melhoramento. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realiza a quarentena vegetal desde 1976. Visando estabelecer métodos eficientes para a detecção, identificação, controle e/ou erradicação de fungos de importância quarentenária em fruteiras tropicais, foi realizada exaustiva revisão de literatura. Acima de 50 espécies de fungos fitopatogênicos exóticos em fruteiras tropicais ainda não foram relatados na Brasil, podendo ser citados alguns de maior importância: *Phoma tracheiphila* em *Citrus* sp.(Citros); *Guignardia musae*, *Haplobasidium musae*, *Mycosphaerella minima* e *Phyllachora musicola* em *Musa* sp (banana).; *Thyronectria pseudotrichia* e *Dothiorella aromatica* em *Persea americana* (abacate) e *Maramiellus deallatus* em *Cocos nucifera* (coco); *Glomerella magna* em *Citrullus lanatus* (melancia) e *Cucumis melo* (melão); *Phaeoseptoria musae* em *Musa* spp. (banana); *Acrosporium tingitanimum* e *Corticium areolatum* em *Citrus* spp. (Citros).

---

<sup>1</sup> Bolsista-Fundação Giacometti, estudante de graduação, Biologia, UCB

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Bolsista-Fundação Giacometti, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB

<sup>4</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., MSc, Bolsista-Fundação Giacometti

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



## 094 - FUNGOS PATOGÊNICOS NÃO RELATADOS NO BRASIL EM PLANTAS ORNAMENTAIS (Pathogenic fungi still not related in Brazil in ornamental plants)

Barros, P.C.<sup>1</sup>, Mendes, M.A.S.<sup>2</sup>, Santos, C.E.N. dos<sup>3</sup>, Simões, R.S.<sup>4</sup>, Santos, M. de F.<sup>5</sup>, Urban, A. F.<sup>6</sup>

Introdução de materiais vegetais destinados ao comércio e pesquisa são regulamentados por leis nacionais e internacionais. A quarentena se faz necessária para proteger a agricultura e o ambiente do ingresso de pragas quarentenárias. O conhecimento das espécies de fungos não existentes no país, a forma de detecção, identificação e controle, se são transmitidas ou não por sementes e sua distribuição geográfica torna a quarentena mais rápida e eficiente. Acima de 100 espécies de fungos foram registradas em plantas ornamentais, não ocorrendo no Brasil. Podemos citar alguns fungos mais importantes e as respectivas hospedeiras: *Phragmidion tuberculatum* (*Rosa* spp.), *Botryotinia narcissicola* (*Narcissus* sp.), *Ciborinia camelliae* (*Camellia* spp.), *Peronospora antirrhini* (*Antirrhinum mays*), *Peronospora dianthicola* (*Dianthus* spp.).

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr.<sup>a</sup>, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Bolsista – Fundação Giacometti, estudante de graduação, Eng. Florestal, UnB

<sup>4</sup> Bolsista – Fundação Giacometti, estudante de graduação, Biologia, UCB

<sup>5</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr.<sup>a</sup>, MSc, Bolsista – Fundação Giacometti

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

## 095 - MÉTODOS TRADICIONAIS DE EXTRAÇÃO DE NEMATÓIDES SÃO EFICAZES PARA SEMENTES DE *Panicum*? (Are traditional nematode technique efficient to *Panicum maximum* seeds?)

Bueno, E.<sup>1</sup>, Tenente, R.V.<sup>2</sup>, Prates, M.<sup>3</sup>

A principal forma de disseminação do nematóide *Aphelenchoides besseyi* se dá através de sementes contaminadas. Portanto, é preciso buscar a utilização de métodos de detecção mais aferidos para aumentar a eficiência de detecção deste nematóide. Neste trabalho objetivou-se determinar o melhor método tradicional de extração e detecção deste nematóide aplicados às sementes de *Panicum maximum*. Foram realizados os seguintes procedimentos: T1- técnica da bandeja sem trituração das sementes, T2- pré-imersão seguido de trituração e funil de Baermann, T3- pré-imersão sem trituração seguido de funil de Baermann e T4- papel germinador seguido de teste da bandeja. Este experimento apresentou dez repetições para cada método, e cada repetição constou de 0,5 gramas de sementes (aproximadamente 250 sementes). Para a técnica da bandeja, o material de extração foi coletado e passado em peneiras de 100 e 500 mesh, respectivamente, sendo a seguir observado em microscópio. Para a técnica do funil o material foi coletado e observado diretamente ao microscópio. Foi feita então a contagem dos nematóides para todas as técnicas. Verificou-se que a média do número de nematóides extraídos em T1, após 24 horas foi 14,9; sendo em T2 28,2; T3 19,6 e T4 15,5. Após 48 horas, em T1 haviam 3,2 nematóides, em T2 0,6, em T3 0,7 e em T4 9,3. E finalmente após 72 horas de extração, em T1 haviam 1,9 nematóides, em T2 e T3 não foi encontrado nenhum nematóide e em T4 haviam 5,5 nematóides. O tratamento T2 (combinação dos tratamentos de pré-imersão seguido de trituração e funil de Baermann), sendo as amostras retiradas após 24 horas, proporcionou a extração do maior número de *Aphelenchoides besseyi* de sementes de *Panicum maximum*.

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, CEUB

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

## 096 - PRESENÇA DA FAMÍLIA Aleyrodidae NO BRASIL (Aleyrodidae family in Brazil)

Gonçalves, P.R.V.<sup>1</sup> , Oliveira, M.R.V.<sup>2</sup>

As espécies de moscas brancas que fazem parte da família Aleyrodidae no Brasil foram descritas inicialmente por Ihering (1897), seguido por Hempel (1899), Bondar (1922) e Costa Lima (1928). NO país, até recentemente foram relatadas 57 espécies, 12 gêneros da subfamília Aleyrodicinae e 71 espécies , 14 gêneros da subfamília Aleyrodinae. As plantas hospedeiras da família botânica Curcubitaceae foram as que apresentaram o maior números de moscas brancas de Aleyrodicinae e de Aleyrodinae. *Bemisia tabaci* é a espécie presente no país que apresenta o maior número de plantas hospedeiras. No laboratório de Quarentena Vegetal da Embrapa- Recursos Genéticos e Biotecnologia foram identificadas até o momento as seguintes espécies de aleirodídeos: *Aleyrodicus cocois* (Aleyrodicinae) em plantas de Caju, goiaba dos estados do Mato Grosso do Sul, Bahia, Tocantins e Alagoas; Para a *Bemisia* sp. *Dialeurodes* sp. (Aleyrodinae) em plantas invasoras no Estado do Ceará; *Trialeurodes variabilis* em plantas de mandioca, oriundas de Goiás e Distrito Federal, *Aleyrothrixus floccosus* (Aleyrodinae), em citros , no estado do Ceará e no Distrito Federal; *Tetraleurodes* sp. (Aleyrodinae), em plantas invasoras e café, respectivamente no Rio Grande do Norte e Distrito Federal . A presença do complexo *Bemisia tabaci* biótipos BR e B, em 21 estados e o Distrito Federal, tem causados perdas em culturas como algodão, cucurbitaceas, solanaceas, cruciferas. Biótipos dessa espécie também tem sido observados em plantas ornamentais e invasoras.

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB

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

**097 - TERMO E QUIMIOTERAPIA, APLICADOS ÀS SEMENTES, AFETAM O DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO INFECTADAS POR *Ditylenchus dipsaci*? (Thermal and chemical treatments, applied on seeds, can affect the development of maize plants, infected by *Ditylenchus dipsaci*?)**

Rodrigues, V.<sup>1</sup>, Tenente, R.<sup>2</sup>, Gonzaga, V.<sup>3</sup>, Tarchetti, P.<sup>4</sup>

Pretendeu-se avaliar a eficácia dos tratamentos térmico e químico na erradicação de *D. dipsaci* em germoplasma de milho importado do Chile e seus efeitos no desenvolvimento das plantas. Utilizou-se os tratamentos: Úmido à 60°C/10 min.(TU 1), à 60°C/15 min.(TU 2), e à 55°C/15 min.(TU 3), em todos esses tratamentos foi realizado um pré-tratamento à 40°C por 30 min.; químico com Hipoclorito de Sódio(1%) mais Formaldeído(0,5%)/30 min. (TQ 1) e 40 min. (TQ 2); seco à 95°C/5h (TS 1) e a 95°C/6h(TS 2). Ao término dos tratamentos, foram avaliadas as taxas de germinação e o poder germinativo das sementes. A extração dos nematóides foi realizada através da Técnica da Bandeja. Foram utilizadas 50 sementes em três repetições. Em um outro ensaio, utilizou-se os mesmos tratamentos nas sementes infestadas com o fitonematóide que foram plantadas em casa de vegetação e mantidas por 156 dias. Ao término deste período, coletou-se a parte aérea das plantas e verificou-se o peso, altura e o número de espigas e de nematóides. Utilizou-se 8 repetições com 2 plantas cada. Apenas os tratamentos TS1 e TS2 afetaram a germinação e o vigor das sementes. Todos os tratamentos erradicaram *D. dipsaci* das sementes. Entretanto, no segundo ensaio, verificou-se que o TQ1 permitiu o desenvolvimento do nematóide nas plantas.

---

<sup>1</sup> Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

<sup>4</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UCB

## 098 - TERMOTERAPIA OU QUIMIOTERAPIA PODE OU NÃO ERRADICAR FITOPATÓGENOS DE SEMENTES? (Thermal or Chemical treatments can eradicate plant pathogens from seeds ?)

Garcia, J.<sup>1</sup>, Tenente, R.<sup>2</sup>, Mendes, M.<sup>3</sup>

Tratamentos químicos e térmicos foram aplicados às sementes de *Panicum maximum* visando a erradicação de *Aphelenchoides besseyi* e fungos fitopatogênicos. O tratamento térmico seco foi realizado em estufas a 60°C por 6h, seguido de 90 e 95°C por 6 e 12 horas (h) respectivamente; e térmico úmido foi a 40°C seguido 57°C por 30 min. ou 60°C por 10, 15 e 20 minutos (min.). Para a testemunha, as sementes foram imersas, em água destilada, por 50 min. a temperatura ambiente. As substâncias químicas usadas foram hipoclorito de sódio (1%), Etanol (70%) e Formaldeído (0,5%). Foram avaliados o poder germinativo, vigor, comprimento das radículas o número de nematóides e a percentagem de sementes infectadas por fungos. Cada tratamento constou de cinco repetições de 50 sementes para nematóides e quatro com 50 sementes para fungos. A análise estatística dos resultados mostrou que os produtos químicos testados somente reduziram a infecção por *A. besseyi*. Todos os tratamentos térmicos úmidos e secos, erradicaram *A. besseyi* das sementes. Enquanto que a germinação, vigor e comprimento da radícula, dos tratamentos que erradicaram o nematóide, apenas o tratamento a 60°C por 10min. não diferiu estatisticamente da testemunha. Todos os tratamentos térmicos foram eficientes na erradicação de *Nigrospora sphaerica* e *Alternaria saparva*. Para *Curvularia leonensis*, as variações do tratamento úmido, reduziram a infestação das sementes em 20%. Resultados similares foram obtidos para *Phoma* sp. com o tratamento úmido que reduziu de 47% para 19 e 22% a infestação das sementes, dependendo do período de exposição.

---

<sup>1</sup> Biólogo, Mestrando, UnB

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

**099 - UM NOVO *Meloidogyne* (Nemata: Meloidogynidae) PARASITANDO O KIWI NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL (A new *Meloidogyne* parasitising kiwi in Rio Grande do Sul State)**

Vivas, J.P.<sup>1</sup>, Carneiro, R.M.D.G.<sup>2</sup>

Plantas de quiwi provenientes do Chile foram plantadas no Rio Grande do Sul, na região da serra gaúcha. Anos após, devido ao mau desenvolvimento das plantas, constatou-se a presença de alta população do nematóide das galhas. Essa população apresentou o perfil enzimático atípico que nunca havia sido encontrado em populações brasileiras e nunca caracterizado na literatura internacional. Para evidenciar essa introdução, amostras contendo raízes de videira e quiwi, infestadas por *Meloidogyne* sp., trazidas de Casa Blanca no Chile, foram analisadas quanto ao fenótipo das esterases, e o mesmo padrão atípico foi obtido, provando tratar-se realmente da mesma espécie introduzida no Brasil. Essa espécie vem sendo erroneamente identificada no Chile como *M. hapla*, por ser adaptada a regiões frias, e vem causando severos danos à videira nesse país. O objetivo deste trabalho foi identificar ou descrever essa espécie atípica. A configuração da região perineal é bastante variável, completamente diferente de *M. hapla*. O estilete da fêmea é pequeno (13,5µm) e a vista de face (MEV) é semelhante a a *Meloidogyne christiei*. A distância do orifício da glândula dorsal até a base do estilete (DGO) é de 3.0-4.0 µm. A vista de face do macho (MEV) apresenta um disco labial elevado, de formato arredondado a hexagonal. Estilete robusto, medindo de 18,0-25,0µm, DGO medindo 4-5 µm e quatro linhas no campo lateral. Os juvenis apresentam o comprimento do estilete de 10.0-15.0µm, DGO de 4,0µm, tamanho médio da cauda, 54,4µm e tamanho médio da parte hialina da cauda 11,20 µm. Outras características morfológicas estão sendo estudadas com o intuito de caracterizar essa espécie.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Mestranda, UnB

<sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>., Dra., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## REPRODUÇÃO ANIMAL

### 100 - ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS EM OVÓCITOS BOVINOS MATURADOS *IN VITRO* (Chromosome alterations in *in vitro* matured bovine oocytes)

Luna, H.S.<sup>1</sup>, Rumpf, R.<sup>2</sup>, Luna, H.<sup>3</sup>, Câmara, J.U.<sup>4</sup>, Carmo, T.F.M.V.<sup>5</sup>, Ferrari, I.<sup>6</sup>

Muitos estudos em relação as alterações cromossômicas em ovócitos tem sido realizados com diversas finalidades, entre elas o monitoramento dos sistemas de reprodução assistida *in vitro*. Nestes sistemas os gametas são manipulados e expostos a condições artificiais adversas que podem levar a algum tipo de lesão às estruturas celulares, como o fuso meiótico. No presente trabalho estudaram-se dois grupos de ovócitos classificados segundo qualidades morfológicas objetivando verificar freqüência de alterações cromossômicas. Ovários obtidos de abatedouro foram puncionados e os ovócitos recuperados selecionados e classificados de I a IV de acordo com o número de camadas de células do cumulus e homogeneidade do citoplasma. Os ovócitos foram divididos em dois grupos: grupo A, composto de ovócitos de qualidade I-II e grupo B de ovócitos de qualidade III-IV. Após completadas 24 h de maturação os ovócitos foram desnudados utilizando-se hialuronidase 0,3% por 5 minutos e agitados em *vortex* por 2 minutos. Em seguida foram hipotonizados com KCL 0,045 M por 5 minutos e transferidos para lâmina onde foram fixados (Tarkoski, Cytogenetics, v.5, p.394-400, 1966 modificado por Costa, Tese de Doutorado, 1994) com metanol e ácido

---

<sup>1</sup> Med. Veterinário, Doutorando, UnB

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

<sup>3</sup> Bióloga, Doutora, UnB

<sup>4</sup> Téc. Agropecuário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, CEUB

<sup>6</sup> Médica, Doutora, UnB

acético na proporção de 2:1 e 3:1 respectivamente. Após este procedimento as preparações foram fixadas por 1 hora em solução de 3:1 de metanol e ácido acético. As lâminas foram coradas com orceína acética e as metáfases II analisadas ao microscópio óptico com aumento de 1000X. Foram descartadas metáfases com cromossomos muito superpostos ou apresentando excessivo espalhamento, sendo somente computadas metáfases com adequado padrão para análise citogenética. A porcentagem de ovócitos em metáfase II no grupo A foi de 76,1 % e no grupo B foi de 71,4 %. Em relação às alterações cromossômicas foram analisados 21 ovócitos no grupo A, 3 (14,2%) dos quais com alterações numéricas. No grupo B foram analisados 22 ovócitos sendo que 7 (31,8%) destes apresentavam aneuploidia. Os resultados sugerem que a qualidade do ovócito não interfere na maturação nuclear, entretanto pode afetar a incidência de alterações cromossômicas numéricas. Os dados preliminares demonstram que é de fundamental importância o monitoramento citogenético rotineiro de ovócitos manipulados *in vitro*.



## 101 - ANÁLISE DO PERFIL PROTÉICO DE OVÓCITOS BOVINOS DURANTE A MATURAÇÃO *IN VITRO* (Analysys of proteic profile from bovine oocytes during in vitro maturation Resultados preliminares)

Cordeiro, D.M.<sup>1</sup>, Bloch Jr., C.<sup>2</sup>, Rumpf, R.<sup>3</sup>

A produção *in vitro* de embriões bovinos tem alcançado grande êxito e vários estudos vêm sendo conduzidos com o intuito de maximizar as taxas de produção de blastocistos. A maturação *in vitro* representa um fator limitante na obtenção de ovócitos competentes para o desenvolvimento. Foi então proposto correlacionar o perfil protéico de ovócitos bovinos com a sua classificação morfológica e comparar o padrão protéico de ovócitos de fêmeas férteis com os de fêmeas subférteis e pré-púberes. Ovócitos de vacas de abatedouros foram selecionados morfológicamente em qualidades: I- ovócitos com 4 ou mais camadas de células do *cumulus*, compactas e citoplasma uniforme; II- ovócitos com células do *cumulus* expandidas; III- ovócitos desnudos, citoplasma não homogêneo; IV- ovócitos degenerados. Os ovócitos imaturos (n=10) qualidade I e II foram processados em tampão de amostra e aquecidos a 100°C por 10 minutos para eletroforese em gel de poliacrilamida 12% (Laemmli, 1970; Nature 227, 680-685). Outras amostras de ovócitos de qualidade I e II foram maturados ou não por 24 horas em meio TCM 199 contendo L-glutamina, soro fetal bovino 10% (v/v), 24 UI/ml de LH, 10 mg/ml de FSH, 0,005mg/ml de gentamicina, em estufa de CO<sub>2</sub> a 39°C. Essas amostras foram preparadas em água mili Q, sonicadas e analisadas por MALDI-TOF. As amostras de ovócitos resolvidas por SDS-PAGE e coradas com prata, mostraram um perfil protéico variando de 14 a 200kDa. A análise de um *pool* de ovócitos imaturos (n=58) e maduros (n=20) por MALDI-TOF detectou um espectro de massa variando de 2 a 60 kDa. Repetições a mais serão necessárias para se obter um perfil protéico característico segundo a qualidade do ovócito e o tempo de maturação. Os espectros de massas obtidos por MALDI-TOF confirmaram e acrescentam os dados obtidos pela eletroforese.

---

<sup>1</sup> Bióloga, Mestranda, UnB

<sup>2</sup> Biólogo, PhD, UnB

<sup>3</sup> Med. Veterinário, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 102 - EFEITO DA SUPEROVULAÇÃO NA INSTABILIDADE CROMOSSÔMICA DE NOVILHAS (Superovulation effect on the heifers chromosomal instability)

Carmo, T.F.M.<sup>1</sup>, Luna, H.S.<sup>2</sup>, Luna, H.<sup>3</sup>, Peixer, M.A.S.<sup>4</sup>, Nascimento, N.V.<sup>5</sup>, Rumpf, R.<sup>6</sup>

Pesquisas relacionadas à instabilidade cromossômica vêm sendo desenvolvidas em várias áreas da ciência, principalmente aquelas pesquisas ligadas a neoplasias. Procurando-se avaliar os efeitos clastogênicos da superovulação (SOV) de bovinos foram estudadas 3 novilhas da raça Simental antes e após a SOV. No presente trabalho foram coletadas amostras de sangue e semeadas em meio RPMI 1640 onde ficaram em cultivo por 72 horas. Cinco horas antes do término do cultivo 7,5µg de sulfato de bleomicina, antibiótico com propriedades radiomiméticas utilizado para avaliação da instabilidade cromossômica, foram colocados em uma das culturas. Para a obtenção de metáfases, foi adicionado colchicina na concentração de 0,016 µg/mL, 1,5 horas antes do término do cultivo. Em seguida se realizou a hipotonização com KCL 0,075M e fixação em metanol e ácido acético na proporção de 3:1 respectivamente. Logo após, foram preparadas as lâminas e coradas com Giemsa por 5 minutos. A análise foi realizada em microscópio óptico em 1000 X. Analisou-se 50 metáfases de cada cultura, com e sem bleomicina, totalizando 550 células metafásicas no estudo. Para as culturas com bleomicina foram estudadas 3 novilhas (A, B, C), antes e após o programa

---

<sup>1</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, CEUB

<sup>2</sup> Méd. Veterinário, Doutorando, UnB

<sup>3</sup> Bióloga, Dra, UnB

<sup>4</sup> Méd. Veterinário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Mestrando, UnB

<sup>5</sup> Téc. Agropecuário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

de superovulação. Em relação as alterações cromossômicas estruturais por célula, nas culturas com bleomicina, obteve-se os seguintes resultados antes da SOV: A: 0,42; B: 0,18 e C: 0,22 e após: 0,78; 0,52 e 0,36 respectivamente. Nas culturas sem bleomicina foram estudadas 2 novilhas (A e C), e os resultados antes da primeira superovulação foram: A: 0,02 e C: 0,04 e após 0,12 e 0,16 respectivamente. Os resultados mostram um aumento da incidência de alterações cromossômicas estruturais nas novilhas após o programa de SOV tanto nas culturas com bleomicina como nas sem bleomicina, indicando que o uso de hormônios pode levar ao aumento da instabilidade cromossômica em bovinos.

### 103 - EFEITO DO FLUSHING NUTRICIONAL ASSOCIADO OU NÃO AO bST NA PRODUÇÃO QUALI-QUANTITATIVA DE EMBRIÕES EM VACAS DAS RAÇAS SIMENTAL E BLOND D'AQUITAINE (Nutritional flushing effect associated or not to bST on the embryos production in Simental and Blond D'aquitaine cows)

Cavaliere, F.L.B.<sup>1</sup>, Peixer, M.A.S.<sup>2</sup>, Pereira, D.C.<sup>3</sup>, Pivato, I.<sup>4</sup>, Paiva-Neto, M.A.<sup>5</sup>, Santos, G.T.V.<sup>6</sup>, Rumpf, R.<sup>7</sup>

Vários fatores estão relacionado com a variação na resposta superovulatória dos animais doadores de embriões, sendo a nutrição considerado um dos mais importantes. Desta forma, o objetivo deste experimento foi verificar o efeito da suplementação energética e proteica (flushing) associado ou não ao bST na produção quali-quantitativa de embriões. Foram utilizados 18 vacas das raças Simental (13) e Blond D'Aquitaine (5) distribuídas em três tratamentos: T1-Controle, T2-Flushing e T3-Flushing + bST e submetidos ao seguinte manejo nutricional básico: Pastagem de baixa qualidade pós coleta (Cerrado, ± 10 dias), pastagem a nível de manutenção (Brachiária brizanta, ± 10 dias), pastagem de boa qualidade (Coast cross) por 10 dias antes da SOV até a coleta. Todos os animais foram sincronizados com um implante intravaginal de Progesterona (Eazi Breed CIDR, Inter Ag New Zealand)<sup>R</sup> e 48 horas após aplicado 2,0 mg de Benzoato de Estradiol (Estrogin)<sup>R</sup>. Os animais do T1 foram alimentados somente com a pastagem de Coast cross, enquanto T2 e T3 receberam uma suplementação concentrada ( 63,00% Milho, 18,00% Soja grão, 10,00% Farelo de trigo, 7,00% Feno de Coast Cross e 2,00% Sal Mineral perfazendo 15,55% PB e 2,05 Mcal/Kg Elm, base matéria seca) representado 75% dos requerimentos de manutenção (NRC 1996). Os animais do T3 receberam 500 mg de rbST (Lactotropin Divisão Elanco Saúde Animal) por ocasião da inserção do (CIDR)<sup>R</sup>

<sup>1</sup> Zootecnista, Mestrando, UEM

<sup>2</sup> Méd. Veterinário, Mestrando, UnB

<sup>3</sup> Méd. Veterinária, Bolsista, ALGEN

<sup>4</sup> Méd. Veterinário, Doutorando, UFPel – CIDASC

<sup>5</sup> Técnico Agropecuário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>6</sup> Méd. Veterinário, PhD, UEM

<sup>7</sup> Méd. Veterinário, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

e sete dias após todos os animais foram submetidos ao tratamento superovulatório com FSH (Pluset Serono Produtos farmacêuticos Ltda). Um dia antes da superovulação bem como no segundo dia da mesma, o número de folículos pequenos (2-3mm), médios (4-9 mm) e grandes (>9mm) foram contados através do auxílio de um ultrassom (7,5 MHZ). Este ciclo experimental foi repetido em três períodos com diferentes disponibilidade de matéria seca (MS) no piquete com Coast cross ( 1: 2,518,00; 2: 1,806,00 e 3: 879,60 kg de MS/ha). Não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) em relação ao número de corpos lúteos, número de estruturas totais e número de estruturas transferíveis respectivamente para T1, T2 e T3. Entretanto, os animais dos tratamentos T2 e T3 apresentaram um aumento ( $p < 0,01$ ) no número de estruturas consideradas excelentes e boas ( $4,43 \pm 3,53$ ;  $4,64 \pm 2,73$ ) quando comparado aos animais do tratamento T1 ( $3,38 \pm 4,28$ ). Houve um efeito negativo ( $p < 0,05$ ) do flushing no primeiro período ( $1,50 \pm 0,83$ ) em relação ao número de estruturas transferíveis quando comparado aos períodos ( $6,00 \pm 1,87$  e  $10,00 \pm 7,17$ ) seguintes, evidenciando um possível efeito do excesso de energia na dieta neste período. Houve efeito ( $p < 0,05$ ) de tratamento no número de folículos pequenos e médios para os tratamentos T3 e T2 respectivamente, antes da superovulação, entretanto, durante a superovulação tal efeito não foi verificado. Desta forma, podemos concluir que o flushing nutricional associado ou não ao bST não alterou a produção quantitativa de embriões bovinos, entretanto melhorou a qualidade das estruturas transferíveis. O flushing é uma alternativa para melhorar os índices da T.E., porém mais estudos devem ser realizados com o enfoque na categoria animal, disponibilidade e qualidade do volumoso básico e nos períodos do ciclo superovulatório.

**104 - ÍNDICE DE RECUPERAÇÃO, QUALIDADE E POTENCIAL DE DESENVOLVIMENTO DE OVÓCIOS DE BEZERRAS ZEBUINAS DE 2 a 4 MESES DE IDADE - *Resultados Preliminares* (Level of harvesting, quality and growth potential of oocytes of zebu heifers between 2 to 4 months of age - *preliminary data*)**

Malard, P.F.<sup>1</sup>, Cordeiro, D.M.<sup>2</sup>, Peixer, M.A.S.<sup>3</sup>, Pereira, D.C.<sup>4</sup>, Marques Júnior, A.P.V.<sup>5</sup>, Rumpf, R.<sup>6</sup>

A possibilidade e a habilidade de se produzir embriões viáveis de ovócitos obtidos de bezerras, diminui o intervalo entre gerações levando a um aumento significativo no ganho genético. A maturação e a fecundação *in vitro* oferecem uma possibilidade para solucionar alguns dos problemas encontrados na produção de embriões a partir de ovócitos de bezerras. O objetivo deste trabalho foi avaliar o índice de recuperação, a qualidade e o desenvolvimento *in vitro* de ovócitos de bezerras zebuínas de 2 a 4 meses de idade. Quatorze bezerras foram submetidas a cirurgia para aspiração dos folículos ovarianos. No laboratório os ovócitos eram classificados da seguinte forma: QI - ovócitos com muitas camadas de células do *Cumulus* e citoplasma homogêneo; QII - ovócitos com  $\pm 3$  camadas de células do *Cumulus* e citoplasma apresentando alguma granulação; QIII - ovócitos com as células do *Cumulus* expandidas; QIV - ovócitos com poucas células do *Cumulus* ou desnudos e QV - ovócitos degenerados. Depois de classificados, os ovócitos eram colocados em maturação por 24 horas.

---

<sup>1</sup> Méd. Veterinária, Mestranda, UFMG

<sup>2</sup> Bióloga, Mestranda, UnB

<sup>3</sup> Méd. Veterinário, Mestrando, UnB

<sup>4</sup> Méd. Veterinária, ALGEN

<sup>5</sup> Professor titular, Escola de Veterinária, UFMG

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

A fecundação era feita em criotubos com meio TALP por 18 horas. O cultivo dos embriões foi feito em meio TCM-199 por sete dias. Foram realizadas 18 cirurgias obtendo-se um total de 501 punções e 444 ovócitos (42 QI, 141 QII, 22 QIII, 157 QIV e 79 QV), com uma média de 24,5 ovócitos por bezerra. Destes, cento e quarenta e sete foram maturados, fecundados e cultivados *in vitro*, o que resultou em 40,82% de taxa de clivagem e 8,16% de desenvolvimento até o estágio de mórula e 2% até o de blastocisto. Os resultados mostram que bezerras a partir de 2 meses de idade possuem potencial para serem doadoras de ovócitos.

## 105 - INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZÓIDE COMO TÉCNICA DE PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS *IN VITRO* - RESULTADOS PRELIMINARES (Intracytoplasmic sperm injection to produce bovine embryos in vitro - preliminary results)

Salles, H.O.<sup>1</sup>, Oliveira, R.R. de<sup>2</sup>, Rumpf, R.<sup>3</sup>

A produção de embriões após a injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) em ovócitos bovinos oferece a oportunidade de estudo da fisiologia de interação entre gametas e a utilização de sêmen incompatível com inseminação artificial e congelamento. Objetivando estabelecer um protocolo de produção de embriões após ICSI, ovócitos puncionados foram maturados por 24 h, avaliados quanto a presença do primeiro corpúsculo polar e subdivididos em quatro grupos. Para microinjeção os espermatozóides foram selecionados após Percoll e "swim-up", sendo os móveis recuperados e imobilizados em PVP a 10%. Um único espermatozóide vivo foi microinjetado após leve sucção do material citoplasmático do ovócito. No grupo 1 os ovócitos maduros foram microinjetados e ativados por 10 min em cálcio ionóforo (50µg/100µl). A ativação foi bloqueada em albumina/PBS (6mg/ml). Os ovócitos do grupo 2 foram ativados e após 03 horas microinjetados. O grupo 3 (controle da microinjeção) sofreu leve sucção do citoplasma e ativação. O grupo 4 (controle da ativação) foi microinjetado com espermatozóide e posto em meio sem cálcio ionóforo. Após o cultivo in vitro avaliou-se a taxa de clivagem e produção de blastocistos.

Grupo	n	clivagem (%)	blastocitos(%)
1	174	38 (21,84) <sup>a</sup>	1(0,57) <sup>a</sup>
2	37	0 (0,00) <sup>c</sup>	0 (0,00) <sup>a</sup>
3	88	33 (37,50) <sup>b</sup>	3 (3,41) <sup>a</sup>
4	55	19 (34,55) <sup>ab</sup>	0 (0,00) <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Méd. Veterinária, Mestranda, UnB

<sup>2</sup> Méd. Veterinário, Bolsista RHA/E/CNPq-DTI

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



Letras diferentes, na mesma coluna, indicam diferença estatística significativa ( $P < 0,05$ )

Com os resultados preliminares conclui-se que ovócitos bovinos maduros, ativados ou não, estão sujeitos à clivagem partenogenética e que parece ser possível a obtenção de embrião após ICSI. No entanto, novos experimentos se fazem necessários para que melhores taxas de êxito possam ser obtidas.

## 106 - ISOLAMENTO, CULTIVO E CRIOPRESERVAÇÃO DE FIBROBLASTOS FETAIS BOVINOS (Isolation, culture and criopreservation of bovine foetal fibroblasts)

Oliveira , R.R. de, Rumpf, R., Luna, H.S. & Carmo, T.F.M.

A busca por fontes ideais de células doadoras de núcleos visando dar suporte às técnicas de clonagem e transgênese em mamíferos domésticos é uma prioridade no mundo científico, seja para uso em programas de melhoramento, seja para programas de conservação de recursos genéticos animais. O objetivo deste trabalho foi adaptar uma técnica de isolamento, cultivo e criopreservação de fibroblastos fetais bovino e avaliá-los quanto a viabilidade e alterações cromossômicas após congelamento e durante as diferentes passagens. Conjuntos feto, anexos fetais e útero foram coletados em abatedouro frigorífico, resfriados à  $\pm 5^{\circ}\text{C}$  até o início da manipulação. Os fetos estavam com idade de 37-42d. Após a exposição, os fetos foram lavados em PBS + antibióticos e eviscerados. A carcaça foi macerada numa placa de Petri 80mm com 5 ml de tripsina 0.05% e EDTA 0.02%. O macerado foi transferido para tubos de 15 ml e incubado a  $37^{\circ}\text{C}/30$  min, o sobrenadante foi removido e o sedimento foi ressuscitado com mais 5 ml de tripsina e EDTA 0.05% e 0.02%, respectivamente e incubado a  $37^{\circ}\text{C}/30$  min. O novo sobrenadante foi separado e centrifugado em 200g /5 min, sendo o sedimento ressuscitado e cultivado em 5 ml de D-MEM + 10% SFB e antibióticos. No congelamento utilizou-se 92% SFB + 8% DMSO. As palhetas de 0.5 ml foram envazadas e colocadas no freezer  $-80^{\circ}\text{C}/24$ h e depois estocadas em  $\text{N}_2$ . A viabilidade foi feita utilizando-se o azul de tripan 0.4% em NaCl 0.9% numa proporção de 1:1 com a amostra a ser testada. Com 24h após o repique das garrafas, realizou-se a análise citogenética.

<sup>1</sup>Méd. Veterinário, Bolsista RHAE/CNPq-DTI

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

<sup>3</sup>Méd. Veterinário, Doutorando, UnB

<sup>4</sup> Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, CEUB

Os resultados mostraram que a viabilidade média, aneuploidia e poliploidia, antes e após congelamento foram de 98% e 34%, 14% e 24%, 0% e 6%, respectivamente. Diante dos resultados, podemos afirmar que fibroblastos fetais bovino possuem um grande potencial como fonte de células doadoras de núcleos, porém os protocolos de congelamento devem ser melhorados, a fim de otimizar a viabilidade, e evitar as alterações cromossomais encontradas neste estudo.

## 107 - ISOLAMENTO DE FOLÍCULOS OVARIANOS PRÉ-ANTRAIS (FOPA) DE VACAS ZEBUÍNAS: DESENVOLVIMENTO E EFICIÊNCIA DE UM MÉTODO MECÂNICO ESPECÍFICO (Isolation of ovarian preantral follicles from zebu cows: development and efficiency of a specific mechanical method)

Lucci, C.M.<sup>1</sup>, Rumpf, R.<sup>2</sup>, Figueiredo, J.R.<sup>3</sup>, Bão, S.N.<sup>4</sup>

Bovinos europeus e zebuínos apresentam diferenças em vários aspectos reprodutivos. Recentemente, foram iniciados trabalhos concernentes ao isolamento de FOPA nestes últimos (Bem et al., *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, 25:178 e 182, 1997). Este estudo vem dar prosseguimento aos testes preliminares realizados e tem como objetivos avaliar o efeito do intervalo de corte do tecido ovariano no *tissue chopper* sobre o número de FOPA isolados de ovários de vacas zebuínas, e investigar a eficiência do método mecânico específico. Primeiramente, 6 ovários de vacas Nelore coletados em abatedouro foram divididos em 8 partes iguais cada um. Cada parte foi individualmente cortada em um *tissue chopper* regulado para cortar à espessura de 25 (T1), 50 (T2), 75 (T3), 100 (T4), 125 (T5), 150 (T6), 175 (T7) e 200 $\mu$ m (T8). Os fragmentos obtidos de cada tratamento foram dissociados mecanicamente e filtrados em malhas de náilon de 500 e 100 $\mu$ m. Outros 4 ovários foram divididos em 2 metades: uma delas foi processada para histologia e usada para determinar a população de FOPA *in situ*; a outra foi destinada ao isolamento de FOPA utilizando o melhor dos 8 tratamentos testados. O número de FOPA isolados por 1/8 de ovário (média  $\pm$  EP) nos tratamentos T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 e T8 foi 3316  $\pm$  497, 3636  $\pm$  556, 4140  $\pm$  614, 5629  $\pm$  1118, 6408  $\pm$  1137, 5112  $\pm$  818, 3757  $\pm$  699 e 3631  $\pm$  375, respectivamente. T5 (125 $\mu$ m) isolou significativamente ( $P < 0,05$ ) mais FOPA que T1, T2, T7 e T8. O número

---

<sup>1</sup> Méd. Veterinária, Doutoranda, UnB

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

<sup>3</sup> Méd. Veterinário, Ph.D, UECE

<sup>4</sup> Bióloga, Doutora., UnB

y(média  $\pm$  EP) de FOPA presentes *in situ* e isolados (T5) por  $\frac{1}{2}$  ovário foi, respectivamente,  $35288 \pm 2342$  e  $26050 \pm 1611$ . Consequentemente, a taxa de recuperação folicular média ( $\pm$  EP) [ $= (\text{n}^\circ \text{ de FOPA isolados} / \text{n}^\circ \text{ de FOPA } \textit{in situ}) \times 100$ ] foi de  $74,3 \pm 4,3\%$ . Em conclusão, o melhor intervalo de corte para isolar FOPA de ovários de vacas zebu é o de  $125\mu\text{m}$ .

## 108 - METODOLOGIA DE RECUPERAÇÃO DE OVÓCITOS DE BEZERRAS ZEBU (A surgical method to harvest oocytes from zebu heifers)

Malard, P.F.<sup>1</sup>, Peixer, M.A.S.<sup>2</sup>, Cordeiro, D. M.<sup>3</sup>, Pivato, I.<sup>4</sup>, Marques Júnior, A.P.<sup>5</sup>, Rumpf, R.<sup>6</sup>

A possibilidade de produção de bezerros de fêmeas entre 2 a 4 meses de idade é de grande interesse, já que o intervalo entre gerações seria significativamente diminuído. Este trabalho teve o objetivo de avaliar a eficiência de um procedimento cirúrgico simples para recuperação de ovócitos de bezerras. Foram realizadas 36 cirurgias em bezerras zebuínas de 2 a 4 meses de idade, pelo seguinte procedimento: medicação pré-anestésica com cloridrato de xilazina (Rompum, Bayer), sendo 0,5ml pela via intravenosa e 0,5ml pela intramuscular. Após o animal deitar, ele era colocado em decúbito dorsal numa mesa cirúrgica móvel e recebia a aplicação de 10 ml de Novalgina®, Hoechstst, pela via intravenosa. Era realizada tricotomia na região da linha branca; anestesia local com 50ml de lidocaína a 2,5%; assepsia do local com álcool iodado e incisão de 15cm na linha branca até a abertura do peritônio. Após todos estes procedimentos a mesa era elevada verticalmente, até um ângulo de aproximadamente 70° em relação ao chão, para facilitar o acesso aos ovários. Em seguida tracionava-se o ovário, pela introdução da mão pela cavidade abdominal, para serem realizadas as punções, com o auxílio de uma agulha diâmetro de 20 G, acoplada a uma bomba de vácuo. Após as punções dos dois ovários, eram colocados na cavidade abdominal

---

<sup>1</sup> Méd. Veterinária, Mestranda, UFMG

<sup>2</sup> Méd. Veterinário, Mestrando, UnB

<sup>3</sup> Bióloga, Mestranda, UnB

<sup>4</sup> Méd. Veterinário, CIDASC, Doutorando, UFPel

<sup>5</sup> Méd. Veterinário, UFMG

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

aproximadamente 4 litros de solução fisiológica aquecida. Em seguida era realizada uma sutura em X do peritônio, da muscular e do tecido subcutâneo com fio vicril e, finalmente, a sutura da pele com fio de algodão. Foram puncionados 1179 folículos e recuperados 895 ovócitos de diferentes qualidades, sendo a taxa de recuperação de 75,91%. Os resultados mostram que este método cirúrgico pode ser utilizado em bezerras zebu, com índices elevados de recuperação de ovócitos.

## 109 - PUNÇÃO FOLICULAR EM ANIMAIS SUPEROVULADOS EM D2 e D4 (Ovum pick-up (opu)in heifers superovulated in d2 and d4)

Pivato, I.<sup>1</sup>, Peixer, M.A.S.<sup>2</sup>, Pereira, D.C.<sup>3</sup>, Nascimento, N. V<sup>4</sup>, Rumpf, R<sup>5</sup>

O início da superovulação (SOV) em D<sub>2</sub> após a ovulação ou punção folicular (PF) melhoraria a performance de desenvolvimento folicular, pois neste período não estaria selecionado o folículo dominante, e portanto não existiriam seus efeitos negativos sobre os demais folículos (Fricke et al., *Theriogenology*, 42:43-53, 1994; Bungartz & Niemann, *J Reprod Fert*, 101:583-591, 1994). Para testar esta hipótese, foi montado um experimento com SOV e PF. Foram utilizadas 9 fêmeas bovinas mestiças *Bos indicus*- *Bos taurus* com peso entre 300-350 Kg mantidas em pastagem com suplementação mineral. Os animais foram divididos em 2 grupos: G1 com 5 animais e G2 com 4. A sincronização foi feita com uso do dispositivo intravaginal impregnado com progesterona (Eazi Breed CIDR, Inter Ag New Zealand) por 8 dias. No dia da retirada, do mesmo, foi aplicado 150 µg de clorprostenol (Veteglan Serono Produtos Farmacêuticos Ltda). O cio foi observado 48 a 72 h e decorridos 4 dias foram puncionados todos os folículos presentes nos ovários, sendo então considerado D0. No G1 em D0 foi aplicado 250 mg de rBST (Lactotropin Divisão Elanco Saúde Animal) 96 h antes da SOV, e esta feita em D4 com dose única de 180 UI FSH subcutânea (Pluset Serono Produtos Farmacêuticos Ltda). Vinte horas antes da PF foi aplicado 50 µg de GnRH (Relisorm Serono Produtos Farmacêuticos Ltda) via intra-muscular, e a PF realizada 72 h após SOV. Terminada a PF foi aplicado 150 µg de clorprostenol e 250 mg de rBST, iniciando novo ciclo. Para este grupo

<sup>1</sup> Méd. Veterinário, CIDASC, Doutorando, UFPel

<sup>2</sup> Méd. Veterinário, Mestrando, UnB

<sup>3</sup> Méd. Veterinária, ALGEN

<sup>4</sup> Téc. Agropecuário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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



foram feitas 2 sessões de PF. O G2, em D -1 foi aplicado 250 mg de rBST e em D0 aspiração de todos os folículos. Em D2 foi feita a SOV com o mesmo protocolo utilizado no grupo G1. A aplicação rBST foi sempre em D -1, ou seja 72 h antes da SOV, sendo que a PF foi igualmente realizada 72 h após a SOV. Para este grupo foram realizadas 3 sessões de PF. No G1 a média de ovócito por fêmea foi de 11 e no G2 11,75. Quanto a qualidade dos ovócitos aspirados nos grupos G1 e G2 se encontraram os seguintes resultados: I= 10% (11/110); II= 32,73% (36/110); III= 38,18% (42/110); IV= 19,09% (21/110) e I= 12,76% (18/141); II= 21,28% (30/141); III= 46,1% (65/141), IV= 19,86% (28/141) respectivamente. As taxas de recuperação foram semelhantes: 85,94% para G1 e 80,11% em G2. Pelo presente experimento não houve diferença na produção de ovócitos pela PF com SOV em D2 ou em D4.

## 110 - VIABILIDADE DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO* SUBMETIDOS A CONGELAÇÃO COM ETILENOGLICOL (Viability of *in vitro* produced bovine embryos submitted to cryopreservation with ethylene glycol)

Pereira, D.C.<sup>1</sup>, Pivato, I.<sup>2</sup>, Cordeiro, D.M.<sup>3</sup>, Peixer, M.A.S.<sup>4</sup>, Câmara, J.U.<sup>5</sup>, Rumpf, R.<sup>6</sup>

A viabilidade biológica dos embriões *in vitro* é menor que a dos embriões produzidos *in vivo*, exigindo adaptações nos protocolos de congelamento já existentes. O objetivo foi avaliar a viabilidade dos embriões produzidos *in vitro* após a congelação, utilizando o: método clássico, M1 e o método clássico com modificações, M2. Os embriões produzidos a partir de ovócitos de ovários de abatedouro foram maturados, fecundados e cultivados *in vitro*, por 7 a 8 dias. Foram congelados em etilenoglicol (EG) 1,5 M no estágio de blastocisto (qualidade I e II) e posteriormente descongelados e cultivados em meio TCM 199, SFB e antibióticos (CIV), por 72 h. M1: 37 embriões foram desidratados com 1,5 M EG em PBS entre 10 à 20 minutos, envazados e as palhetas colocadas na posição vertical. Após desidratação dos embriões, as palhetas eram colocadas no cilindro de congelamento a -7°C, após 30 seg foi realizado o

<sup>1</sup> Méd. Veterinária, ALGEN

<sup>2</sup> Méd. Veterinário, CIDASC, Doutorando, UFPel

<sup>3</sup> Bióloga, Mestranda, UnB

<sup>4</sup> Méd. Veterinário, Mestrando, UnB

<sup>5</sup> Téc. Agropecuário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

*seeding* na parte superior da gota do embrião, estabilizando por 10 min. a  $-7^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, iniciava-se a curva de congelamento com queda de  $0,4$  a  $0,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$  até  $-35^{\circ}\text{C}$  e estocado em  $\text{N}_2$  líquido. M2: 139 embriões foram desidratados com  $1,5 \text{ M EG}$  em PBS num período de até 10 min., envasados e os embriões colocados no centro da gota, a palheta colocada na horizontal. O *seeding* foi feito na parte superior e inferior da gota do embrião, as palhetas foram colocadas no cilindro de congelamento à  $-7^{\circ}\text{C}$  e feito a primeira estabilização de 10 min. A curva de resfriamento foi a mesma da metodologia anterior. Após atingir  $-35^{\circ}\text{C}$  foi realizada uma segunda estabilização de 10 min. e as palhetas armazenadas em  $\text{N}_2$ . Na descongelação as palhetas eram mantidas 10 seg. em ar e 20 seg. em água à  $30^{\circ}\text{C}$ , os embriões eram colocados por 5 min em EG  $0,75 \text{ M}$ , cultivados e avaliados com 24, 48 e 72 h após a descongelação quanto ao seu desenvolvimento. Os resultados de reexpansão, mudança de estágio e eclosão dos embriões congelados foram:  $21,62\%$  ( $n=8$ ) e  $56,11\%$  ( $n=78$ );  $8,10\%$  ( $n=3$ ) e  $22,02\%$  ( $n=32$ );  $2,70\%$  ( $n=1$ ) e  $9,35\%$  ( $n=13$ ) respectivamente para M1 e M2. Os resultados mostram a baixa viabilidade dos embriões FIV congelados pelo método clássico, embora que pequenas adaptações neste melhoram a sobrevivência de tais embriões.

## ÍNDICE DE AUTORES

(A numeração corresponde ao número do resumo)

Aguiar, M.S.	78	Bonfim, K.	69, 78
Albino, M. M. C.	16, 23	Borges, M.	72
Almeida, F. D. de	46	Brasileiro, A.C.M.	17, 18
Almeida, J.R.M. de	72	Brondani, R. P. V.	29, 35
Alves, E. R.	1, 6	Bueno, E.	95
Alves, R.B.N.	32, 61	Bueno, P. C.	50, 53, 54, 56
Amaral, Z.	39	Burle, M.L.	32
Amaral, Z.P.S.	31, 37	Buso, G.S.C.	44
Amorim, A.R.F.	63	Bustamante, P.G.	63
Andrade, J.F.	23	Cabral, G. B.	3
Aragão, F. J. L.	15, 16, 23, 24, 27	Cabral, J.R.S.	33, 34
Araújo, A. C. G.	1, 2, 6	Caixeta, C.B.	71, 76, 87
Araujo, F.L.	36	Caldas, L.S.	60
Araújo, G. B.	18	Câmara, J.U.	100, 110
Araújo, L.F.C.	18	Cardoso, L.D.	47, 60
Assis, C. M.	14	Carmo, T. F. M.	100, 102, 106
Báó, S.N.	107	Carneiro, M.	14, 28
Barreto, C.C.	28	Carneiro, R. M. D. G.	99
Barros, E.V.S.A.	18	Carneiro, V. T. C.	1, 2, 3, 6
Barros, L.M.G.	28	Carvalho, S. B. R.	24
Barros, P.C.	91, 94	Carvalho, I.M.	71, 74, 87
Barrueto Cid, L. P	5, 8	Carvalho, V.A.M.	80
Batista, A.C.	55	Casali, V.W.D	49
Batista, J. A. N.	12, 22	Castro, M.E.B.	66, 82
Beló, A.	37	Cavalheiro, S.T.	37
Bertioli, D.	19	Cavalieri, F.L.B.	103
Bezerra, I.C.	13	Cordeiro, C.	83
Bianchetti, L.B.	44	Cordeiro, D.M.	101, 104,
Bloch Jr., C.	21, 101		108, 110

Cordeiro, M.C.R.	22	Gomes, A.C.	6
Cruz, A. R. R.	9	Gonçalves, K.G.C.	58, 59
Dantas, A.B.	88, 92	Gonçalves, L.F.	49
De Ávila, A.C.	13	Gonçalves, P.R.V.	67, 84, 96
De Marco, J.L.	81	Gonzaga, V.	97
De Sá, R.R.	3	Grattapaglia, D.	29, 30, 35, 38, 42, 43, 45
Deus, S.O.	17	Grazziotti, P. H.	71
Dias, B. B. A.	16, 23	Gribel, R.	29
Dias, S. C.	12, 68, 69, 79	Grossi de Sá, M. F.	12, 20, 21, 22, 25, 79
Duval, M.F.	33, 34	Guarino, E. S. G.	62
Esmeraldo, M.V.	17, 42	Guimarães, E.	37
Faiad, M.G.R.	51, 61	Guimarães, P.M.	10, 19
Falcão, R.	6, 90	Haraguchi, C.A.T.	57
Faria, J. C.	16	Inglis, P.W.	20, 26, 86
Felix, C.R.	81	Inoue-Nagata, A. K.	13
Ferrari, I.	100	Jungmann, L.C.	16, 23
Ferreira, F.R	9, 33, 34	Kirst, M.	29, 42, 43, 45
Ferreira, M.A.	37	Kutchenski Jr, F.E.	65
Ferreira, M.E.	31, 37, 39, 44	Labuto, L.B.D.	55
Figueiredo, A.L.P.	73	Lauman, R.A.	68, 77, 84
Figueiredo, J.R.	107	Leite, E.J.	46
Flechtmann, C.H.W.	88	Leite, J. de A	3
Fonseca, J.R.	32	Lemos, N.J.M.	44
Fragoso, R. R.	12, 22	Lima, F. A.	7
Franco, O. L.	21, 25	Lins, T.C.L.	31, 39, 44
Freire, M. S.	32	Lopes, A. de O.	52, 58, 59
Gaiotto, F.A.	29, 43	Lopes, G. de O.	52, 58, 59
Gangana, F. S. F.	75	Lourenço, R.T.	44
Garcia, J.	98	Lucci, C.M.	107
Genú, A.M.	25		
Giordano, L. B.	11		

Luna, H.	100, 102	Moreira Jr., D.J.F.	10, 11, 89, 90,
Luna, H. S.	100, 102, 106	Moura, V.P.G.	51
Machado, A.C. de C.	36	Nagata, T.	13
Magalhães, B. P.	85	Nascimento, N. V.	102, 109
Malard, P.F.	104, 108	Navia, D.	88, 92
Marbach, P. A. S.	4	Nishijima, M. L.	10
Marinho, V.L.A.	89, 90	Nobre, S.D.N.	68
Marques Júnior, A.P.	104, 108	Oliveira, H.C.B. de	64
Marques, A.R.	20	Oliveira, M.R.V.	67, 77, 84, 96
Matsumoto, K.	7, 27	Oliveira, M.S.	14
Mello, C.M.C. de	60	Oliveira, R.R. de	105, 106
Mello, M.O.	25	Oliveira-Neto, O. B.	12, 22, 70, 79
Mello, S. C. M.	71, 74, 75, 76, 83, 86, 87	Orlandini, D. R. S.	13
Melo, A.A.M.	66	Paganella, M.B.	41
Melo, F.R.	21, 25	Paiva-Neto, M.A.	103
Melo, L.A.M.P. de	32, 46	Pascoal, A.V.	19
Mendes, M.A.S.	91, 93, 94, 98	Peixer, M.A.S	102, 103, 104, 108, 109, 110
Mendes, R.A.	47, 55, 60	Peñaloza, A. de P. de S.	40
Menegaz, N.E.V.	20	Penteadó, M. I. O.	1
Miranda, G.H.B. de	65	Pereira, D.C.	103, 104, 109, 110
Miranda, J. D. R.	13	Pereira, G.A.	61
Missiaggia, A. A.	29	Pereira, R. F. A	2
Monnerat, R. G.	12, 48, 68, 69, 70, 78, 79	Pereira, W.	83
Monte, D.C.	19	Pessanha, R.	78
Monteiro, J. S.	5	Pinheiro, A. A.	2
Moraes, F.A.B.	77		
Morais, L. S.	7, 27		

Pinto, A.C.M.	22	Sampaio, P. E. A.	50
Pinto, D.C. de C.	51	Santana, F. M.	10, 11
Pires, C. S. S.	72, 73	Santana, E. F.	90
Pivato, I.	103, 108, 109, 110	Santos, C.E.N. dos	91, 93, 94
Pontes, A.R. de M.	66, 82	Santos, C.W.F.	34
Pozzobon, M. T.	2, 36, 44	Santos, G.T.	103
Prates, M.	95	Santos, J.K.P.	64
Queiroz, P.R.	26	Santos, M. de F.	91, 93, 94
Ramos, K.M.O.	53, 56	Santos, S. dos	36
Rangel, L.C.	85	Sartoretto, L.M.	17
Rangel, P.H.N.	31, 37, 39	Scariot, A.	52, 58, 59
Rech, E. L.	15, 16, 23, 24, 27	Schmidt, F.G.V.	68, 72
Reis, A.M.M.	38	Sena, L. C. P. S.	8
Ribeiro, B. M.	66	Sihler, W.	14
Ribeiro, S. G.	11, 13	Silva, A.G. da	47
Ribeiro, Z.M. de A.	82	Silva, D.J.H.	49
Ridgen, D. J.	21	Silva, J.A. da	46
Rocha, T. L.	14	Silva, J. C. M.M.	32
Rodrigues, J.C.M.	3	Silva, M.C.M.	25
Rodrigues, V.	97	Silva, N.J.M.L.	31, 39
Rumpf, R.	100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110	Silva, S.F.	48, 69, 70
		Silva Filho, M.C.	25
		Silva-Werneck, J.O.	20, 69
		Silveira, E. D.	3
		Silveira, F. Q.	29
		Simões, R.S.	91, 93, 94
Sacramento, M.F.	65	Siqueira, C.B.	66
Salles, H.O.	105	Soares, C.N.	30
Salomão, A. N.	52, 53, 56	Soares, C.M.S.	80
		Soares, J. de S.	66
		Souza, J. L. B.	33

Souza, J. V.	57	Valls, J.F.M.	36, 40, 41
Souza, M. P.	4	Vencovsky, R.	43
Sujii, E.R.	68, 72, 73, 80	Viana, A. A. B.	28
Tarchetti, P.	97	Vianna, G. R.	15, 16, 23, 24
Teixeira, J. B.	4, 9	Vidal, A.S.	89, 90
Teixeira, E. A.	74, 75, 76, 83, 86	Vieira, W.B.	72
Tenente, R.	95, 97, 98	Vivas, J. P.	99
Tigano, M. S.	80	Walter, B.M.T.	62
Tomas, W. M.	65	Wetzel, M.M.V. da S.	49, 50, 51, 54
Urban, A. F.	64, 91, 93, 94	Zarbin, P. H. G.	72
Valadares-Inglis, M. C.	26, 81, 86		

**OBS:**

- 1) OS RESUMOS DOS TRABALHOS APRESENTADOS NA SESSÃO ORAL ESTÃO IDENTIFICADOS NO SUMÁRIO
- 2) A RELAÇÃO DO RESUMOS É DE INTEIRA RESPONSABILIDADE DOS AUTORES