

DOCUMENTOS

ISSN 0102-0110

Número, 34

Dezembro, 1998

*TALENTO ESTUDANTIL DA
EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E
BIOTECNOLOGIA
1998*

Resumo dos Trabalhos



Recursos Genéticos e Biotecnologia

República Federativa do Brasil
Presidente
Fernando Henrique Cardoso

Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Ministro
Francisco Sérgio Turra

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

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

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Chefe Geral
Afonso Celso Candeira Valois

Chefia Adjunta de Pesquisa e Desenvolvimento
Maria Cléria Valadares-Ingliš

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

Chefia Adjunta de Administração
Kazuyoshi Ofugi

DOCUMENTOS

ISSN 0102-0110

Número, 34

Dezembro, 1998

*TALENTO ESTUDANTIL DA
EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E
BIOTECNOLOGIA
1998*

Resumo dos Trabalhos

Embrapa

Recursos Genéticos e Biotecnologia

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 34

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: (061) 348-4700

Fax:(061)340-3624

Comitê de Publicações

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias

Secretária Executiva: Miraci de Arruda Camara Pontual

Membros: Antônio Costa Allem

Edna Stella Brito Garcia Costa Manso

Maria Regina Jorge Soares

Marcos Rodrigues de Faria

Marisa de Goes

Suplentes: Antônio Emídio Dias F. da Silva

Rui Américo Mendes

Editora Chefe : Marisa de Goes

Tratamento Editorial e

Normalização Bibliográfica: Maria Regina Jorge Soares

Miraci de Arruda Camara Pontual

Editoração Eletrônica: Mônica Costa Nolasco

Roger Anderson Mayeda

Viviane Maria Dias Velásquez Coelho

Tiragem: 500 exemplares

EMBRAPA. Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília, DF).
**Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia - 1998: Resumo dos Trabalhos.** Brasília, 1998.
p.108 (Embrapa - Cenargen. Documentos, 34).

ISSN 0102-0110

1. Controle Biológico; 2. Recurso Genético; 3. Biotecnologia
I. Título. II. Série.

CDD 575.1

© Embrapa – 1998

EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA

Chefe Geral: Afonso Celso Candeira Valois

COMISSÃO ORGANIZADORA DO III TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA

Cristina Ana Modtkowski
Edvalson Bezerra Silva
João Batista Tavares da Silva
Patricia Goulart Bustamante

CORPO EDITORIAL

João Batista Tavares da Silva
Maria Regina Jorge Soares
Márcio Maeda Fukase
Miraci de Arruda Camara Pontual
Roger Anderson Mayeda

COMISSÃO JULGADORA DA APRESENTAÇÃO DOS TRABALHOS

Concepta Pimentel McManus - Coordenadora da Pós-Graduação em
Agronomia da UnB
Eduardo Asaad - Chefe de P&D da Embrapa Cerrados
Humberto Vendelino Richter - Diretor Técnico-Científico - FAP/DF
João Lúcio de Azevedo - Coordenador do Núcleo Integrado de Biotecnologia
(NIB), Universidade de Mogi das Cruzes/SP e
Professor aposentado da ESALQ/USP
José Amaury Buso - Chefe de P&D da Embrapa-Hortaliças
Kumiko Mizuta - Assessora da Diretoria de Programas Especiais - CNPq
Ricardo Pinto Ribeiro - Coordenador de Programação e Avaliação

APRESENTAÇÃO

A brilhante trajetória do Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia, um Centro Temático pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), vinculada ao Ministério da Agricultura e do Abastecimento, ao longo dos 24 anos da Unidade, tem apontado para um eficiente efeito multiplicador dos profundos conhecimentos gerados.

Isto prende-se à oportunidade de elevado cunho social que a Embrapa oferece à sociedade que é a de absorver estagiários, bolsistas e alunos de pós-graduação, que para suas unidades se deslocam com o objetivo de completarem as suas obrigações curriculares.

Para a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia trata-se de atividade vantajosa, a fim de ver os seus projetos de P&D enriquecidos pela participação de integrantes especiais e interessados.

O "Talentos Estudantis" criado para gerar vibrantes oportunidades aos estudantes que diariamente labutam na Unidade, tem atingido plenamente os seus objetivos quanto ao desenvolvimento cultural dos participantes, com a visão da elevação profissional. Nota-se que, anualmente, esse Seminário tem se modernizado e atraído um número crescente de apresentações.

Nesta terceira publicação do "Talentos Estudantis" é com imensa satisfação que a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia coloca esse trabalho à disposição dos usuários em reconhecimento ao grande valor técnico-científico dos resumos apresentados.

AFONSO CELSO CANDEIRA VALOIS
Chefe Geral
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

S U M Á R I O

PALESTRAS

METODOLOGIA DA PESQUISA Humberto Vendelino Richter	19
O GENOMA DA BACTÉRIA <i>Xylella fastidiosa</i> João Lúcio de Azevedo	20
COMPARAÇÃO ENTRE TRÊS GRUPOS GENÉTICOS DE BOVINOS EM TERMOS DE TOLERÂNCIA AO CALOR NO SISTEMA DE DUPLA APTIDÃO DA EMBRAPA CERRADOS Concepta Pimentel McManus, Hertz Brenner e Moacir Suaeressig	23
BIOLOGIA CELULAR	
ESTABELECIMENTO DE CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA COM AGENTES SELETIVOS EM <i>Brachiaria</i> Juliana de Almeida Leite, Edmilson Miranda e Vera Tavares de Campos Carneiro	24
ESTUDOS MORFOLÓGICOS DO DESENVOLVIMENTO DA CÉLULA- OVO NÃO REDUZIDA DE <i>Brachiaria brizantha</i> Elizangela Ribeiro Alves, Ana Claudia Guerra de Araújo e Vera Tavares de Campos Carneiro	25
IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES PARA A DIFERENCIAÇÃO DE VARIEDADES DE <i>Brachiaria brizantha</i> Rodrigo Fonseca Azevedo Pereira, Julio Carlyle Macedo Rodrigues e Vera Tavares de Campos Carneiro	26
METODOLOGIA PARA ANÁLISE MITÓTICA EM PONTAS DE RAIZ DE FEIJÃO E SOJA Juliana Figueiredo de Andrade, Marisa Toniolo Pozzobon, Margareth das Mercês Cerqueira Albino, Giovanni R. Vianna, Francisco José Lima Aragão e Elbio Leopoldo Rech Filho	27

<p>PLANTAS TRANSGÊNICAS DE FEIJÃO (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) CONTENDO O GENE <i>AHAS</i> Margareth das Mercês Cerqueira Albino, Juliana Figueiredo de Andrade, Giovanni Rodrigues Vianna e Elíbio Leopoldo Rech Filho e Francisco José Lima Aragão</p>	28
<p>TRANSFORMAÇÃO DE <i>Eucalyptus grandis</i> X <i>E. urophylla</i> MEDIADA POR <i>Agrobacterium tumefaciens</i> Laudete Maria Sartoretto, Mariana Villela Esmeraldo e Ana Cristina Miranda Brasileiro (ORAL)</p>	29
<p>UTILIZAÇÃO DE HIGROMICINA, CANAMICINA E FOSFINOTRICINA COMO AGENTES DE SELEÇÃO PARA TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE <i>EUCALYPTUS GRANDIS</i> X <i>E. UROPHYLLA</i> Mariana Villela Esmeraldo, Laudete Maria Sartoretto, Luiz Eugênio de Matos Lemos, Sinara de Oliveira Deus e Ana Cristina Miranda Brasileiro</p>	30
<p>BIOLOGIA MOLECULAR</p>	
<p>CONSTRUÇÃO DE VETORES BINÁRIOS COM OS GENES <i>TAR1</i> E <i>CPT1</i> E TRANSFORMAÇÃO DE <i>Nicotiniana tabacum</i> VISANDO RESISTÊNCIA A NEMATÓIDES FITOPARASITAS Aletéia Velozo Pascoal, David Bertolite e Damares de Castro Monte</p>	31
<p>PRODUÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-rolA VISANDO A LOCALIZAÇÃO DA PROTEÍNA EM PLANTAS TRANSGÊNICAS Myrella Mendonça Brasil, Mercy Santos Oliveira e Mauro Carneiro</p>	32
<p>TRANSFORMAÇÃO DE <i>Glycine max</i> COM O GENE DA ALBUMINA 2S DA CASTANHA-DO-BRASIL SOB O CONTROLE DO PROMOTOR DA FASEOLINA Iris Roitiman, Lucélia Helena Marcellino, Eugen Silvano Gander e Francisco José Lima Aragão (ORAL)</p>	33
<p>TRANSFORMAÇÃO DE SOJA POR BIOBALÍSTICA, VISANDO RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE DAS GALHAS (<i>Meloidogyne</i> spp.) Flávio Martins Santana, Alison Morais Giani, Francisco José Lima Aragão e Patricia Messemberg Guimarães</p>	34

<p>VERIFICAÇÃO DO PADRÃO DE EXPRESSÃO ESPACIAL E TEMPORAL DOS PROMOTORES 2.5 E 1.38(4) EM PLANTAS TRANSGÊNICAS.</p> <p>Antonio Americo Barbosa Viana, Leila Maria Gomes Barros, Cristine Chaves Barreto e Mauro Carneiro</p>	35
<p>CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA</p>	
<p>CAPACIDADE DE ENRAIZAMENTO DE SEGMENTOS DE ESTOLHOS DE HÍBRIDOS INTERSECCIONAIS ENTRE ESPÉCIES DE <i>Arachis</i> (LEGUMINOSAE) COM PROGENITORES MASCULINOS ESTOLONÍFEROS</p> <p>Alessandra Lima Araújo, Cristiane de Camargo Teixeira e José Francisco Montenegro Valls</p>	36
<p>CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE GERMOPLASMA DE <i>Arachis kuhlmannii</i> Krap. & Greg.(LEGUMINOSAE)</p> <p>Alessandra Pereira Fávaro e José Francisco Montenegro Valls (ORAL)</p>	37
<p>COLETAR E CONSERVAR NÃO BASTA: CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE UM BANCO DE GERMOPLASMA DE AROEIRA (<i>Myracrodruon urundeuva</i>) COM MARCADORES MOLECULARES</p> <p>Alessandra Maria Moreira Reis, Antonieta Nassif Salomão e Dario Grattapaglia (ORAL)</p>	38
<p>DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE GENOTIPAGEM SEMI-AUTOMATIZADA BASEADA EM MICROSSATÉLITES PARA ESPÉCIES DE <i>Eucalyptus</i></p> <p>Matias Kirst, Ana Yamaguishi Ciampi, Rosana Pereira Vianello Brondani e Dario Grattapaglia (ORAL)</p>	39
<p>DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE LOCOS SSR PARA ESTUDOS DE ESPÉCIES NATIVAS EM RISCO DE EXTINÇÃO NO BRASIL</p> <p>Fabiane Quirino de Paula Silveira, Rosana Pereira Vianello Brondani, Alexandre Alves Missiaglia, Fernanda Amato Gaiotto, Rogério Gribel, Sergio da Cruz Coutinho e Dario Grattapaglia</p>	40

DESENVOLVIMENTO E TRANSFERIBILIDADE DE MARCADORES MICROSSATÉLITES NO GÊNERO <i>Cedrela</i> (MELIACEAE) Camila Neves Soares, Rosana Pereira Vianello Brondani , Ana Yamaguishi Ciampi e Dario Grattapaglia	41
DETERMINAÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE EUCALIPTOS COM BASE EM MARCADORES MICROSSATÉLITES Veridiana Junqueira Ribeiro, Rosana Pereira Vianello Brondani , Ana Yamaguishi Ciampi ,Dario Grattapaglia	42
ESTRUTURA GENÉTICA E FLUXO GÊNICO EM POPULAÇÕES DE PEQUIZEIRO (<i>Caryocar brasiliense</i> Camb., Caryocaraceae) UTILIZANDO MICROSSATÉLITES: IMPLICAÇÕES PARA CONSERVAÇÃO Rosane Garcia Collevatti Pereira, Dario Grattapaglia e John D. Hay (ORAL)	43
HERANÇA DE LOCOS MICROSSATÉLITES E ESTIMATIVA DE FECUNDAÇÃO CRUZADA EM POPULAÇÕES FRAGMENTADAS DE SUMAÚMA Alexandre Alves Missiaglia , Fabiane Quirino de Paula Silveira, Rosana Pereira Vianello Brondani ,Rogério Gribel e Dario Grattapaglia	44
IDENTIFICAÇÃO DE REGIÕES CROMOSSÔMICAS ÍNDICA E JAPONICA ESPECÍFICAS DO GENOMA DE <i>ORYZA SATIVA</i> L.* Andrea B. Schmidt, Paulo H. N. Rangel e Márcio Elias Ferreira	45
MAPEAMENTO GENÉTICO COMPARATIVO EM <i>E. urophylla</i> E <i>E.</i> <i>grandis</i> COM MARCADORES RAPD E SSR Sue Ane de Athaude Leite, Rosana pereira Vianello Brondani e Dario Grattapaglia	46
PRAGA DE LAVOURA, HÍBRIDO INTERESPECÍFICO OU VARIEDADE TRADICIONAL? ANÁLISE GENÉTICA DE ACESSOS DE ARROZ VERMELHO (<i>Oryza ssp</i>) COLETADOS NO TERRITÓRIO BRASILEIRO Tulio Cesar de Lima Lins, Zilneide Pedroza de Souza Amaral e Márcio Elias Ferreira	47

TRANSFERIBILIDADE DE MARCADORES MICROSSATÉLITES ENTRE ESPÉCIES DA FAMÍLIA LEGUMINOSAE Kleyne Cristina Dorneles de Souza, Ana Yamaguishi Ciampi e Dario Grattapaglia	48
CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS	
DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA A GERMINAÇÃO E A CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE Quiwi (<i>Actinidia deliciosa</i>) Camila Codego Velloso, Patricia Costa Bueno, Kennya Mara Oliveira Ramos e Antonieta Nassif Salomão	49
DETERMINAÇÃO DA UMIDADE CRÍTICA DE SEMENTES DE <i>Euterpe edulis</i> (PALMAE) PARA CONSERVAÇÃO A CURTO PRAZO Apoena de Oliveira Lopes, Gustavo de Oliveira Lopes, Antonieta Nassif Salomão e Aldicir Scariot	50
DOCUMENTAÇÃO E INFORMATIZAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS Luiz Rodolpho de Moura Costa e Ivo Roberto Dias Costa	51
EFEITO DA DESIDRATAÇÃO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Inga cf. ingoides</i> (RICH.) WILLD Patricia Costa Bueno e Antonieta Nassif Salomão	52
EFEITOS DO HÁBITAT NA REMOÇÃO DE SEMENTES E ESTABELECIMENTO DE <i>Euterpe edulis</i> (PALMAE) EM UMA MATA DE GALERIA NO DISTRITO FEDERAL Gustavo de Oliveira Lopes, Apoena de Oliveira Lopes e Aldicir Scariot	53
ÉPOCA DE DISPERSÃO E TOLERÂNCIA AO DESSECAMENTO EM SEMENTES DO CERRADO Maria Magaly M. V. S. Wetzal, Linda S. Caldas e Kennya Mara Oliveira Ramos	54
ESTUDO DOS EFEITOS DO NÚMERO DE EXPLANTES POR RECIPIENTE NA CONSERVAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE SEIS ESPÉCIES VEGETAIS Frederico Ulisses Ramos Costa e Marisa de Góes	55

GERMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE AMENDOIM-BRAVO (<i>Pterogyne nitens</i> Tull.) Kennya Mara Oliveira Ramos, Germana M. C. Lemos Reis e Maria Magaly V. S. Wetzel	56
MORFOLOGIA E FISILOGIA DAS SEMENTES DE LEGUMINOSAS ARBÓREAS DO CERRADO Maria Magaly V. S. Wetzel, Linda Styer Caldas e Kennya Mara O. Ramos	57
OCORRÊNCIA DE DOENÇAS FOLIARES EM GERMOPLASMA DE AROEIRA (<i>Myracrodruon urundeuva</i> FR. ALL.) Patrícia Pereira da Silva, Marta Gomes Rodrigues Faiad e José Alves da Silva	58
RESPOSTA DE SEMENTES DE <i>Psidium cattleyanum</i> AO DESSECAMENTO E AO ARMAZENAMENTO EM DIFERENTES TEMPERATURAS Carla Faria dos Santos, Assis Brasil Guimarães Neto e Antonieta Nassif Salomão	59
TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE FRUTOS IMATUROS DE <i>Bletia catenulata</i> Claudia Maria Correia de Mello, Rui Américo Mendes e Luciene Dionísio Cardoso	60
UTILIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO NA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE DEZ ESPÉCIES ARBÓREAS Kennya Mara O. Ramos, Patrícia Costa Bueno, Camila C. Velloso e Maria Magaly V.S. Wetzel	61
CONTROLE BIOLÓGICO	
ANÁLISE DE SENSIBILIDADE DO MODELO DA DINÂMICA POPULACIONAL DA CIGARRINHA-DAS-PASTAGENS, <i>Deois flavopicta</i> (HOMOPTERA: CERCOPIDAE) Osmundo Brilhante de Oliveira Neto, Edison Ryoiti Sujii e Carmem Silva Soares Pires	62

AVALIAÇÃO DE PATOGENICIDADE DE 41 ESTIRPES DE <i>Bacillus thuringiensis</i> CONTRA <i>Anticarsia gemmatalis</i> , <i>Spodoptera frugiperda</i> E <i>Tenebrio molitor</i> Marcio Mello Nobrega Soares, Raquel C. S. Caetano, José Manuel Cabral de Sousa Dias e Rose Gomes Monnerat de S. Pontes	63
AVALIAÇÃO DE PATOGENICIDADE DE NOVAS ESTIRPES DE <i>Bacillus thuringiensis</i> CONTRA <i>Plutella xylostella</i> Ana Maria Souza Jacobina e Rose Gomes Monnerat de S. Pontes	64
BANCO DE GERMOPLASMA DE BACILOS ENTOMOPATOGÊNICOS Silvânia Ferreira da Silva, Rose Gomes Monnerat de S. Pontes e José Manuel Cabral de Sousa Dias	65
BIOLOGIA DA FASE NINFAL DE <i>Rhammatocerus schistocercoides</i> (REHN, 1906) EM DUAS DIFERENTES DIETAS Camila Aguiar Freitas, Renata Maranhão Bressan, Adriana Araújo da Silva e Francisco Guilherme Virgulino Schimidt	66
COMPATIBILIDADE ENTRE O FUNGO <i>Metarhizium flavoviride</i> E DOSES SUBLETAIS DE INSETICIDAS QUÍMICOS PARA O CONTROLE DO GAFANHOTO <i>Rhammatocerus schistocercoides</i> Solange Xavier Santos, Bonifácio Peixoto Magalhães e Marcos Rodrigues de Faria (ORAL)	67
DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DESCONTÍNUO DE PRODUÇÃO DE <i>Bacillus thuringiensis</i> S93 EFETIVO CONTRA A LAGARTA-DO-CARTUCHO José Manuel Cabral de Sousa Dias, Jeanine Giusti da Costa, Adriana Nascimento Tostes, Soraia Bonadio Albino, Denise Cordeiro Costa e Giovanna Modesto Mello	68
ESPORULAÇÃO DE <i>Cercospora caricis</i> EM FRAGMENTOS DE FOLHA DE TIRIRICA (<i>Cyperus rotundus</i>), SOB DIFERENTES REGIMES DE LUZ Fernanda Saldanha S. Gangana, Sueli Correa Marques de Mello, Zilá Ribeiro de Ávila, Zilda Maria de Araújo Ribeiro e João Sávio de Oliveira Paes	69

ESPORULAÇÃO DE <i>Nomuraea rileyi</i> EM LAGARTAS DE <i>Anticarsia gemmatalis</i> Sarah Cristina Caldas Oliveira, Myrian Silvana Tigano, Edison Ryoiti Sujii e Irene Martins	70
ESTUDO DE DIFERENTES MEIOS DE CULTURA PARA O CRESCIMENTO E ESPORULAÇÃO DE <i>DICYMA PULVINATA</i> Maria de Fátima Santos, Fernanda Saldanha S. Gangana e Sueli Correa Marques de Mello	71
INFECÇÃO DE <i>Rhammatocerus schistocercoides</i> (ORTHOPTERA: ACRIDIDAE) PELOS PROTOZOÁRIOS <i>Nosema locustae</i> E <i>Johenrea locustae</i> Silva, A.A.da e João Batista Tavares da Silva	72
INFLUÊNCIA DA PLANTA HOSPEDEIRA NA CAPACIDADE REPRODUTIVA DA CIGARRINHA-DAS-PASTAGENS, <i>Deois Flavopicta</i> STAL (HOMOPTERA: CERCOPIDAE) Elaine Alves Silva, Carmem Silva Soares Pires e Edison Ryoiti Sujii.	73
INTERAÇÃO ENTRE REGIME DE LUZ E COMPOSIÇÃO DE MEIO DE CULTURA NO CRESCIMENTO MICELIAL E ESPORULAÇÃO DE ISOLADOS DE <i>Cercospora caricis</i> Leonardo T. Hatano, Zilá Ribeiro de Ávila, Sueli Correa Marques de Mello e Zilda Maria de Araújo Ribeiro	74
ISOLADO TEMPORAL DE NUCLEOPOLIEDROVÍRUS DE <i>Anticarsia gemmatalis</i> INDUZ APOPTOSE EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA LINHAGENS CELULARES PERMISSIVAS Angélica Rogério de M. Pontes, Alice Araújo Martins Melo e Maria Elita Batista de Castro	75
LEVANTAMENTO POPULACIONAL DE INSETOS DA CULTURA DE REPOLHO NA REGIÃO DO DISTRITO FEDERAL Thomas Guilloux, Rose Gomes Monnerat S. de Pontes, Edison Ryoiti Sujii e Marina Castelo Branco	76

LIGAÇÃO ENTRE A PREFERÊNCIA DE OVIPOSIÇÃO E O DESEMPENHO DA PROLE NA CIGARRINHA-DAS-PASTAGENS <i>Deois flavopicta</i> (HOMOPTERA: CERCOPIDAE) Osmundo Brilhante de Oliveira Neto, Carmem Silva S. Pires, Eliana Maria Gouveia Fontes e Edison Ryoiti Sujii	77
OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO E COLHEITA DO FUNGO <i>Metarhizium flavoviride</i> Leonardo R. da Costa, Bonifácio Peixoto Magalhães, Marcos Rodrigues de Faria e Darcilene Andrade Pires	78
OTIMIZAÇÃO DE UM MEIO DE CULTURA PARA O CRESCIMENTO E A AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ISOLADO S93 DE <i>Bacillus thuringiensis</i> EFETIVO CONTRA A LAGARTA-DO-CARTUCHO Jeanine Giusti da Costa, Adriana Nascimento Tostes, Soraia Bonadio Albino, Joseilde Oliveira S. Werneck e José Manuel Cabral de Sousa Dias	79
PREFERÊNCIA DE PARASITÓIDES POR OVOS DE DIFERENTES PERCEVEJOS João Ricardo M. de Almeida, Miguel Borges, Carmem Silva Soares Pires e Edison Ryoiti Sujii.	80
PREFERÊNCIA DO PARASITÓIDE <i>Trissolcus urichi</i> POR OVOS DE <i>Euschistus heros</i> DE DIFERENTES IDADES Gustavo Rodrigues Canale, Miguel Borges e Edison Ryoiti Sujii	81
PUBLICAÇÕES GERADAS DOS RESUMOS APRESENTADOS NOS SIMPÓSIOS DE CONTROLE BIOLÓGICO: UMA AVALIAÇÃO PRELIMINAR Renata Maranhão Bressan, Germana Fernandes Martins dos Anjos, José Manuel Cabral de Sousa Dias e João Batista Tavares da Silva	82
RECONHECIMENTO DE MARCAÇÃO INTRAESPECÍFICA DO PARASITÓIDE <i>Telenomus podisi</i> EM OVOS DO PERCEVEJO DA SOJA, <i>Euschistus heros</i> Werner Bessa Vieira, Miguel Borges, Carmem Silva Soares Pontes e Edison Ryoiti Sujii	83

- SELEÇÃO DE FUNGOS PATOGÊNICOS A AGUAPÉ (*Eichhornia crassipes*)
Taissa Carolina M. Machado, Zilda Maria de Araújo Ribeiro, Sueli Correa Marques de Mello e Myrian Silvana Tigano 84
- TRANSFORMAÇÃO DO FUNGO *Trichoderma*, AGENTE DE CONTROLE DE *Crinipellis pernicioso*, COM GREEN FLUORESCENT PROTEIN (EGFP) E RESISTÊNCIA A BENOMIL
Paulo Roberto Q. da Silva, Maria Cléria Valadares Inglis e Peter Ward Inglis 85
- ULTRAESTRUTURA DE CÉLULAS DO INTESTINO MÉDIO DE *Anticarsia gemmatilis* INFECTADAS COM AgNPV FORMULADO COM ÁCIDO BÓRICO
Alice Araújo Martins Melo, Angélica Rogério de Miranda Pontes e Maria Elita Batista de Castro 86
- USO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DA MOSCA-BRANCA (HOMOPTERA: ALEYRODIDAE), *Bemisia tabaci*, RAÇA B
Darcilene Andrade Pires, Marcos Rodrigues de Faria e Myrian Silvana Tigano 87
- USO DE *Metarhizium flavoviride* (HYPHOMYCETES) COMO AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO DE *Stiphra robusta* (ORTHOPTERA: ACRIDOIDEA, PROSCOPIIDAE)
Sergio Vicentini e Bonifácio Peixoto Magalhães (ORAL) 88
- EXPLORAÇÃO BOTÂNICA E COLETA DE GERMOPLASMA
- DIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS EM DUAS MATAS DE GALERIA NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIACHO FUNDO, DF
Alexandre B. Sampaio, Bruno M. Teles Walter e Jeanine M^a Felfili (ORAL) 89

USO DE MAPAS AMBIENTAIS EM SIG PARA O DIRECIONAMENTO DA COLETA DE ESPÉCIES SILVESTRES DE <i>Capsicum</i> (SOLANACEAE) Janette das Flores Costa, Marília Lobo Burle, Luciano De Bem Bianchetti e Sergio Eustáquio Noronha (ORAL)	90
INTRODUÇÃO, INTERCÂMBIO E QUARENTENA DE GERMOPLASMA	
A BUSCA DE INIMIGOS NATURAIS PARA CONTROLAR POPULAÇÕES DE <i>Bemisia argentifolii</i> Bellows e Perring e <i>Trialeurodes vaporariorum</i> Westwood (HEMIPTERA, ALEYRODIDAE) Patricia Regina Gonçalves Vieira e Maria Regina Vilarinho	91
ADAPTAÇÃO DE <i>Bemisia tabaci</i> RAÇA B (HEMIPTERA, ALEYRODIDAE) ÀS PLANTAS HOSPEDEIRAS Bárbara Leocádia Peron Mendes e Maria Regina Vilarinho de Oliveira	92
AVALIAÇÃO DA ADAPTAÇÃO DO PARASITÓIDE <i>Encarsia formosa</i> Gahan (HYMENOPTERA, APHELINIDAE) ÀS PLANTAS HOSPEDEIRAS DA MOSCA-BRANCA (<i>Bemisia tabaci</i> raça B.) (Gonnadius) (HEMIPTERA, ALEYRODIDAE), VISANDO CONTROLE BIOLÓGICO Ana Paula Miranda e Maria Regina Vilarinho	93
COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE CISTOS DE <i>Heterodera glycines</i> , ASSOCIADOS A SEMENTES DE SOJA Leniza Cezar Villas-Boas, Vilmar Gonzaga, Renata Cesar Vilardi Tenente e Marli Prates	94
ERRADICAÇÃO DE <i>Fusarium oxysporum</i> DE SEMENTES DE ALFAFA ATRAVÉS DA TERMOTERAPIA Paula Mochel Matos Pereira Lima, Marta Aguiar Sabo Mendes, José Nelson Lemos Fonseca, Alexandre Peron Mendes, Alaíde Soares de Oliveira e Renata Silva Simões	95
ERRADICAÇÃO DE NEMATÓIDES, <i>Ditylenchus dipsaci</i> , EM SEMENTES DE MILHO (<i>Zea mays</i>) Patricia Tarchetti Rodrigues, Renata Cesar Vilardi Tenente, Vilmar Gonzaga, Alexandre Peron Mendes e Valdemir Rodrigues	96

ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE <i>Ralstonia Solanacearum</i> BIOVAR 2 (RAÇA 3) NO BRASIL José Magno Martins Bringel, Patricia M. Guimarães e Carlos A. Lopes	97
POSSIBILIDADE DE OBTER CLONES DE BANANEIRA COM RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE <i>Radopholus similis</i> Harly Bernardes Sales, Renata Cesar Vilardi Tenente, Vilmar Gonzaga e Leniza Villas-Boas (ORAL)	98
PROGRAMA CRIADO PARA O CATÁLOGO DOS "FUNGOS FITOPATOGÊNICOS NÃO RELATADOS NO BRASIL" Carlos Eduardo Nascimento dos Santos, Lucymeire Souza Moraes e Marta Aguiar Sabo Mendes	99
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA PARA COMPOR O CATÁLOGO DOS "FUNGOS FITOPATOGÊNICOS NÃO RELATADOS NO BRASIL" Renata Silva Simões, Marta Aguiar Sabo Mendes, Carlos Eduardo Nascimento dos Santos, Paula Mochel Matos Pereira Lima, Alaíde Soares de Oliveira, Tatiana Maria Rocha de Araújo e Araújo de Fontes Urban	100
SOFTWARE DE APOIO PARA IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE <i>Fusarium</i> . Maria de Fátima Santos, Luiz Alberto Martins Palhares de Melo, Marta Aguiar Sabo Mendes e Araújo de Fontes Urban	101
UMA MEDIDA PROMISSORA NA ERRADICAÇÃO DE FITONEMATÓIDES EM GERMOPLASMA IMPORTADO Valdemir Rodrigues, Renata Cesar Vilardi Tenente, Vilmar Gonzaga e Patricia Tarchetti Rodrigues	102
REPRODUÇÃO ANIMAL E IMUNOLOGIA	
USO DE OVÓCITOS ATIVADOS E PRÉ-ATIVADOS COMO CITOPLASMAS RECEPTORES NA CLONAGEM EM BOVINOS Luiz Mauro V. Queiroz, Mauricio A. S. Peixer, Regivaldo V. Souza e Rodolfo Rumpf (ORAL)	103
ÍNDICE DE AUTORES	104

PALESTRAS

METODOLOGIA DA PESQUISA

Humberto Vendelino Richter *

O método científico, sendo a maneira de abordagem de um problema, vai caracterizar o aspecto científico de uma pesquisa. A ciência começa com os problemas associados à explicação do comportamento de alguns aspectos do mundo ou universo. Com base nesses problemas os cientistas propõem hipóteses quanto às relações causadas e efeito e que são “soluções” para problema. Para isso é necessário usar instrumento composto de métodos e técnicas, o que chamamos de metodologia científica. A metodologia é uma preocupação instrumental tratando das formas de fazer ciência, embora que, por si só, não produza conhecimento.

Na elaboração de um projeto de pesquisa, o cientista indica o problema a ser estudado, os seus objetivos nesse estudo, as possíveis hipóteses e a metodologia a ser usada, indicando o método, ou seja, o que será feito para testar suas hipóteses, e as técnicas utilizadas, explicando como isso será feito. É importante que o pesquisador não faça confusão entre o método e as técnicas e que tenha em mente que a metodologia é apenas instrumental, não gerando ciência por si só.

* Diretor Técnico Científico – FAP/DF.

O GENOMA DA BACTÉRIA *Xylella fastidiosa*

João Lúcio de Azevedo *

O Brasil ocupa uma posição modesta na ciência mundial com relação ao número de trabalhos gerados aqui no país e publicados em revistas indexadas, de nível internacional. Ele está classificado em 23º lugar com 0,646% dos artigos científicos publicados no mundo. Embora esteja bem atrás dos Estados Unidos, o primeiro lugar mundial com 30,8%, do Japão (7,9%) e da Grã-Bretanha (Gribbs, 1995), ainda assim o Brasil é o primeiro país da América Latina neste particular. Recente relatório, encomendado pelo Ministério de Ciência e Tecnologia do Governo Federal (Czapski, 1997), revela, entretanto que, no período de 1981 – 1995 o Brasil vem apresentando um crescimento maior que o mundial em praticamente todas as áreas do conhecimento. Apenas para citar alguns exemplos: na área de ciências agrárias, considerando-se a taxa de publicações em 1981 com um índice 1,0, em 1995, este valor sobe para 1,20 enquanto no resto do mundo ele se mantém com o índice 1,0, ou seja, o aumento de publicações nesta área no Brasil foi de 20% em relação ao aumento mundial. Na área de Biologia e Bioquímica o aumento foi de 88%, na de Física 68%. Considerando-se todas as áreas em conjunto, o Brasil aumentou sua produção científica de 57% de 1981 a 1995. Houve um decréscimo em relação à produção mundial no caso da Biologia Molecular (-11%), o que se deve muito mais ao desenvolvimento explosivo da área, não acompanhado pelo Brasil.

Há necessidade de um salto tecnológico em certos campos do conhecimento estratégicos para o Brasil. Este é o caso das Ciências Agrárias, pois cerca de 40% de nosso PIB vem da agricultura e do agronegócio. É também o caso da Biotecnologia, pois, embora o Brasil produza 1,5% do total de publicações no mundo nesta área, o número de patentes geradas é de 0,00%, enquanto a Coreia, com a mesma produção, gerou 1,5% de patentes. Finalmente, é também o caso da Biologia Molecular, de alta importância, mas com taxa decrescente de crescimento no Brasil, em relação ao mundial.

Estava criado o clima para a conjugação de esforços tendo em vista um projeto que abrangesse a área de Ciências Agrárias, a de Biotecnologia e a de Biologia Molecular. No ano passado, graças a conversas preliminares entre o professor José Fernando Perez, Diretor Científico da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), e outros pesquisadores brasileiros, especialmente o professor Fernando Reinach, da Universidade de São Paulo, surgiu a idéia de investir em um projeto visando sequenciar o genoma de uma bactéria.

* Coordenador do Núcleo Integrado de Biotecnologia (NIB), Universidade de Mogi das Cruzes (UMC), São Paulo, e Professor aposentado da ESALQ/USP.

Seria um projeto muito mais modesto que o Projeto Genoma Humano, mas traria uma série de vantagens, como o treinamento de pessoal em uma moderna tecnologia, o desenvolvimento de laboratórios em diversas instituições paulistas e, se a bactéria fosse bem escolhida, deveriam surgir resultados de natureza aplicada. Foram feitas diversas reuniões até chegar a uma decisão sobre a bactéria escolhida. *Xylella fastidiosa*, agente causal da clorose variegada dos citros (CVC), foi finalmente eleita. Causando cerca de 30% danos à citricultura paulista, ela apresentava ainda as vantagens de ser uma bactéria fitopatogênica, pois nenhuma bactéria que causa doenças em plantas havia tido seu genoma totalmente seqüenciado, de possuir um genoma relativamente pequeno, de cerca de 2 milhões de pares de nucleotídeos, ideal para um treinamento. E mais ainda, a FUNDECITRUS, fundação de pesquisa privada com sede em Araraquara, resolveu também entrar no projeto financiando parte das despesas. Uma série de coincidências favoráveis, como a vinda de especialistas do exterior que haviam participado de projetos semelhantes, fizeram com que o projeto da FAPESP ganhasse robustez e estivesse pronto para ser iniciado, o que ocorreu ao final de 1997, após lançamento de edital que recebeu inscrições de mais de 100 laboratórios paulistas. Cerca de 30 deles foram selecionados, sendo designados dois laboratórios centrais, um grupo de informática e um coordenador de seqüenciamento do DNA da bactéria. Dados mais completos sobre o desenvolvimento do projeto e os consultores externos envolvidos podem ser encontrados em Perez e Simpson (1998). O investimento foi de cerca de 15 milhões de reais, grande parte proveniente da FAPESP e quantia menor, da FUNDECITRUS. Cada laboratório selecionado teve a tarefa de seqüenciar uma parte do genoma da bactéria, correspondente, no mínimo a 50Kb. Os resultados obtidos até o momento são excelentes. Além da formação de recursos humanos, o projeto permitiu algo que praticamente nunca havia sido feito no Brasil, ou seja, integrou grupos de pesquisa das mais diversas áreas do saber, como as Ciências Agrárias, Ciências da Saúde e Biologia Molecular entre outras. Estes grupos reúnem-se praticamente uma vez por mês e se auxiliam de maneira cooperativa, com constante intercâmbio, por meio de visitas e trocas de informações e idéias entre pesquisadores dos diferentes laboratórios. Também como ponto positivo, está a inclusão de laboratórios de instituições privadas, como a UNAERP de Ribeirão Preto e a Universidade de Mogi das Cruzes. Estas estão apresentando um desenvolvimento igual ou até superior, em comparação com algumas instituições públicas envolvidas no projeto. Isto demonstra que pode haver bons investimentos quando aplicados corretamente no setor de ensino e pesquisa particulares, responsáveis por 70% do ensino no Brasil e que, atualmente, tendem a se fortalecer, também no campo das pesquisas. Uma grande e importante característica do projeto foi o contrato estabelecido e a cobrança feita. Foram estipulados prazos para as diversas etapas do projeto e o não cumprimento poderia resultar em desativação do laboratório e devolução dos equipamentos à FAPESP, que os destinaria a laboratórios mais eficientes. Felizmente, não houve necessidade disso, uma vez que todos os laboratórios estão com seus cronogramas em dia. Muito mais, o projeto que estava com seu término estimado para o ano 2000, está andando tão

rapidamente que é esperado que os trabalhos sejam encerrados em meados de 1999, culminando com a publicação, pela primeira vez no mundo, do genoma de uma bactéria fitopatogênica.

Os dados que vêm sendo obtidos pelo seqüenciamento e detecção de genes envolvidos na virulência e outras características de importância, estão gerando o projeto do "Genoma Funcional de *X. fastidiosa*" quando, então, o uso dos dados sobre o genoma da bactéria poderá levar a processos que auxiliarão o controle da doença no campo.

Enfim, este é um projeto que demonstra que o país pode dar um salto tecnológico desde que haja um planejamento inicial bem conduzido, que os recursos sejam bem canalizados, que os grupos envolvidos sejam escolhidos pela sua competência e potencialidade de realizar pesquisas e principalmente pela integração destes grupos em um verdadeiro "Instituto Virtual". Este, constituído por laboratórios espalhados por todo estado de São Paulo, foi designado ONSA (Organization for Nucleotide Sequencing and Analysis), ao que se saiba, o primeiro gênero, distinto do norte americano TIGR (The Institute for Genomic Research) constituído por um único grande laboratório.

A tecnologia empregada pelos grupos não apresentou novidades marcantes. Os procedimentos óbvios foram seguidos e os resultados foram surpreendentemente favoráveis colocando o Brasil como líder no seqüenciamento de bactérias fitopatogênicas. Melhor ainda, outros projetos estão sendo implementados utilizando a força de trabalho que foi montada e as instalações e equipamentos existentes. O projeto "Genoma Funcional de *Xylella*", a ser deslanchado pela FAPESP ainda em 1998, deverá, além de manter a saudável integração do pessoal já envolvido e adição de novos grupos, permitir o desenvolvimento de pesquisas criativas que poderão produzir resultados aplicados ao controle de doenças e à geração de patentes pelo desenvolvimento de novos processos e produtos.

Referências Bibliográficas

- CZAPSKI, G. A scientometric analysis of scientific activity in different fields, in Brazil, during 1981-1995. Brasília: Mct, 1997. 24p.
- GIBBS, W. Lost science in the Third World. **Scientific American**, v.9, p.76-83, 1995.
- PEREZ, J.F; SIMPSON, A. ONSA. O Instituto Virtual Genoma de São Paulo. **Notícias FAPESP**, v.35, p.10-11, 1998.

COMPARAÇÃO ENTRE TRÊS GRUPOS GENÉTICOS DE BOVINOS EM TERMOS DE TOLERÂNCIA AO CALOR NO SISTEMA DE DUPLA APTIDÃO DA EMBRAPA CERRADOS

Concepta Pimentel McManus¹, Hertz Brenner² e Moacir Suaeressig³

Os cerrados brasileiros têm mostrado um grande potencial para o desenvolvimento da agropecuária nacional. Nos cerrados brasileiros a maioria das propriedades ditas leiteiras exploram matrizes com baixo potencial leiteiro. A maior parte do rebanho dessa região é representada por uma miscelânea de raças formando um gado misto sem uma expressão racial definida, sendo as mais destacadas as azebuadas, representadas principalmente pelos cruzamentos das raças Gir e Nelore (*Bos indicus*). Faltam informações sobre cruzamento em gado para maximizar a produção leiteira das vacas. Visando as condições econômicas dessa região, a Embrapa-Cerrados implantou um sistema de criação de gado misto. O objetivo desse trabalho é identificar quais fatores influem nas características de tolerância ao calor nestes animais na região de Brasília. Os dados de frequência respiratória (FR), frequência cardíaca (FC) e temperatura retal (TR) foram coletados em trinta matrizes escolhidas segundo a fase de lactação, divididas em dois lotes: um controle, que permaneceu na sombra e um experimental que foi submetido ao estresse calórico, permanecendo no sol nas horas mais quentes (10:00-14:00). Dez vacas de cada um dos grupos Holandês/Zebu (H/Z), Simental/Zebu (S/Z) e Zebu (Z) foram utilizadas para as medições. Os dados foram analisados no SAS (Statistical Analysis System), usando os procedimentos GLM (General Linear Model), CORR (Correlação) e PRINCOMP (Componentes Principais) para verificar o efeito de grupo, lote e produção leiteira nas características de interesse. O grupo genético influenciou na FC e FR. Os grupos Europeu x Zebu exibiram maiores níveis para frequência cardíaca. O TR não foi influenciado pelo grupo genético. O lote (sombra ou sol) influenciou na FR, os grupos SZ e HZ sendo mais influenciados pelo calor, mas o Zebu não foi influenciado significativamente pelo sol ou sombra em termos de FR, FC e TR. A produção de leite afetou a FR das vacas cruzadas expostas ao sol, mas a FR, em geral, controlou a temperatura das vacas. As correlações entre as características de tolerância ao calor estudadas, além das correlações com a produção leiteira, foram baixas e não significativas. Em termos de componentes principais, os dois primeiros são responsáveis por 60% da variação no sistema. As vacas cruzadas produziram uma quantidade significativamente maior que as vacas zebuínas. Enquanto a frequência respiratória foi maior nas vacas cruzadas, a temperatura retal não variou entre os grupos, mostrando que o cruzamento com raças europeias produz vacas com maior produtividade leiteira que se adaptaram bem às condições encontradas no Brasil Central.

¹ Coordenadora de Pós-graduação em Agronomia na UnB.

² Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de Agronomia, UnB.

³ Méd Veterinário, MsC, Embrapa Cerrados

BIOLOGIA CELULAR

ESTABELECIMENTO DE CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA COM AGENTES SELETIVOS EM *Brachiaria*

Juliana de Almeida Leite¹, Edmilson Miranda² e Vera Tavares de Campos Carneiro³

Agentes seletivos são muito utilizados para selecionar explantes transformados com genes marcadores de seleção, ou seja, genes que conferem resistência a essas substâncias. Para uma seleção eficiente, primeiramente, se faz uma curva de sobrevivência dos explantes em diferentes concentrações do agente seletivo, para saber o seu efeito e a concentração ideal, mínima e suficiente para a seleção de possíveis transformantes. No caso da *Brachiaria*, foram feitas curvas de sobrevivência em dois agentes seletivos, higromicina e imazapir. Os explantes utilizados foram folhas e calos, respectivamente. A concentração ideal de higromicina no meio foi de 50 mg/L. Nesta concentração, após 5 dias, as folhas apresentaram clorose numa grande área foliar. Nas concentrações mais baixas, o efeito do agente seletivo foi pequeno não sendo confiável para a seleção; e na concentração mais alta, os sintomas foram os mesmos, porém mais rápidos. A concentração ideal de imazapir foi de 250 nM. Nesta concentração, em 4 dias, os calos ficaram amarelo-escuros e o crescimento retardado. Os calos nos meios com concentrações maiores e menores apresentaram os mesmos sintomas, aqueles mais rapidamente e estes mais lentamente. A higromicina e o imazapir demonstraram ser agentes de seleção eficientes em *Brachiaria*. Deste modo, podemos planejar experimentos de transformação utilizando o genes *hph*, que permitirá a seleção de possíveis transformantes na presença de higromicina, e *ahas* na presença de imazapir.

¹ Eng. Agr., Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante secundarista, Centro Educacional Ave Branca.

³ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

ESTUDOS MORFOLÓGICOS DO DESENVOLVIMENTO DA CÉLULA-OVO NÃO REDUZIDA DE *Brachiaria brizantha*

Elizangela Ribeiro Alves¹, Ana Claudia Guerra de Araújo² e Vera Tavares de Campos Carneiro²

Brachiaria é uma gramínea forrageira de grande importância econômica e amplamente distribuída na América tropical. Dentro deste gênero foram identificadas espécies que apresentam variedades de reprodução sexual e variedades de reprodução apomítica. A apomixia é uma forma assexuada de reprodução, através de sementes, que gera uma progênie idêntica à planta-mãe através da partenogênese, isto é, o desenvolvimento da célula-ovo é independente da fecundação. Este modo de reprodução é encontrado em *B. brizantha* BRA 000591 ($2n = 4x = 36$), o que a torna um modelo interessante para estudos que venham ajudar no entendimento da reprodução apomítica. Sendo a partenogênese um processo determinante da apomixia e considerando o pouco conhecimento sobre o fenômeno em plantas, procuramos explicar em nível morfológico o desenvolvimento do embrião a partir de célula-ovo não reduzida. Buscando estabelecer a seqüência dos eventos relacionados com o processo e caracterizar as estruturas envolvidas, utilizamos ovários coletados de flores de *B. brizantha* em períodos anteriores e posteriores à antese. Análises foram realizadas em microscopia de fluorescência e através de secções histológicas em microscopia de luz.

¹ Bióloga, Pós-graduanda, M. Sc., UNB.

² Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES PARA A DIFERENCIAÇÃO DE VARIEDADES DE *Brachiaria brizantha*

Rodrigo Fonseca Azevedo Pereira¹, Julio Carlyle Macedo Rodrigues² e Vera Tavares de Campos Carneiro³

Brachiaria é um gênero de forrageiras tropicais de origem africana, largamente utilizada no Brasil, devido a sua grande resistência à seca. *B. brizantha* possui algumas variedades tetraplóides ($2n=36$), de reprodução apomítica, e algumas diplóides ($2n=18$), entre elas BRA002747 (B105) e BRA003417 (B142), sexuais. As variedades diplóides possuem sacos embrionários (S.E.) com 8 núcleos, enquanto as tetraplóides apresentam 4 núcleos. Na tentativa de conseguir entender o funcionamento da apomixia, plantas de *B. brizantha* sexuais foram tratadas com colchicina, para duplicarem sua ploidia. Os cromossomos de ponta-de-raiz foram contados em microscópio ótico. Ovários foram coletados, antes da antese, e os sacos embrionários analisados por técnica de clareamento. No intuito de demonstrar a origem genética das plantas duplicadas, estamos buscando identificar marcadores moleculares RAPD para as variedades B30, B105, B142 e plantas duplicadas. O DNA dessas plantas foi extraído pela técnica de Dellaporta et al. (1983), quantificado em fluorímetro, para a otimização da reação de PCR. Testamos primers do Kit OPE. Até o presente momento testamos 10 primers diferentes. Utilizamos também apenas as variedades de origem, diplóides, pois, primeiramente, temos de diferenciar as variedades de origem para posteriormente verificarmos as diferenças com relação as variedades duplicadas. Dos primers testados até o presente momento, apenas o OPE-01 e o OPE-06 apresentaram uma certa diferenciação entre as 3 variedades diplóides que estão sendo utilizadas. Novos testes serão realizados com essas amostras e com esses primers para confirmação de nossos resultados. Após a confirmação destes como fatores de diferenciação daremos início aos testes envolvendo as variedades duplicadas.

¹ Bolsista CNPq, estudante de graduação, Engenharia Agrônoma, UNB.

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

³ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

METODOLOGIA PARA ANÁLISE MITÓTICA EM PONTAS DE RAIZ DE FEIJÃO E SOJA

Juliana Figueiredo de Andrade¹, Marisa Toniolo Pozzobon², Margareth das Mercês Cerqueira Albino³, Giovanni R. Vianna⁴, Francisco José Lima Aragão⁵ e Elíbio Leopoldo Rech Filho⁵.

A utilização de cariótipos é uma grande vantagem para o estudo da organização do genoma vegetal mediante técnicas cada vez mais eficientes para tal estudo como, por exemplo, a hibridização *in situ*. O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de uma metodologia eficiente para a obtenção de cromossomos metafásicos em pontas de raiz de feijão e soja com bons padrões qualitativos para que não haja interferências na visualização e estudo morfológico dos cromossomos, como, por exemplo, a presença da parede celular, obtendo dessa forma requisitos necessários à aplicação de técnicas para a análise de seqüências conhecidas (genes exógenos), introduzidos no genoma das plantas de feijão e soja. Foram coletados meristemas radiculares de sementes de feijão e soja cultivadas em uma mistura de solo e vermiculita à temperatura de 30°C sendo estes pré-tratados com alfa bromonaftaleno, 8-hidroxiquinoleína e colchicina por cerca de 2 horas e 30 minutos, os diferentes tipos de pré-tratamentos foram testados afim de conseguir a melhor solução para esse tipo de material. Após fixação com etanol / ácido acético (3:1) por cerca de 20 horas, o tecido meristemático foi submetido a uma digestão enzimática para degradar a parede celular. As diferentes enzimas utilizadas para fins de testes foram : pectinase 2%, celulase 2% e combinações de celulase e pectinase com diferenças de percentagem entre elas, sendo 5% de celulase e 2,5% de pectinase sob temperatura de 37°C por 1h e 15 min a mistura otimizada para esse tratamento. A coloração foi feita pela metodologia convencional de Feulgen, com posterior esmagamento em carmim acético. Tal metodologia foi de muita eficiência na obtenção de grande número de células metafásicas em meristema radicular de soja e feijão, revelando conforme a literatura o número de cromossomos $2n=40$ (soja) e $2n=22$ (feijão). Esta metodologia proporciona um importante requisito ao desenvolvimento de técnicas tal como a hibridização *in situ* que identifica e localiza seqüências de DNA nos cromossomos.

¹ Bióloga, Bolsista Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

³ Bióloga, Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Bolsista RHAE, doutorando, UNB.

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

PLANTAS TRANSGÊNICAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) CONTENDO O GENE *AHAS*

Margareth das Mercês Cerqueira Albino¹, Juliana Figueiredo de Andrade², Giovanni Rodrigues Vianna³, Elíbio Leopoldo Rech Filho⁴ e Francisco José Lima Aragão⁴

O presente estudo tem como objetivo aumentar a frequência de transformação de feijão, utilizando-se o gene *ahas* e o herbicida imazapyr como agente seletivo. A primeira etapa foi a realização de um ensaio para verificar o efeito do imazapyr sobre o desenvolvimento de multibrotações em embriões de feijão em diferentes cultivares (PF.9029984; Olathe; Aporé e Jalo Precoc). As seguintes concentrações foram utilizadas: 0 nM; 100 nM; 200 nM; 300 nM; 400 nM; 500 nM. A concentração de 100 nM de imazapyr mostrou-se a mais adequada para a seleção de brotos formados a partir do meristema apical de eixos embrionários de feijão. Foram iniciados os experimentos de transformação de meristemas apicais de feijoeiro através do processo de biobalística. Os eixos embrionários foram retirados das sementes, as folhas primárias removidas para exposição da região meristemática apical, posicionados em meio MS contendo 10 mg/L BAP e bombardeados. O vetor utilizado, pAG1 contém o gene *ahas* de *Arabidopsis thaliana*, controlado pelo promotor do próprio gene e o gene *gus* (*uidA*), controlado pelo promotor da actina 2 de *A. thaliana*. Após o bombardeamento, os embriões foram cultivados em meio contendo imazapyr. Após 2-3 semanas verificou-se o desenvolvimento e alongamento de várias brotações que foram analisados para a expressão do gene *gus*. Espera-se que a frequência de transformação seja significativamente aumentada (acima de 1%), o que deverá facilitar os projetos para introdução de genes de interesse agrônomo, como resistência a herbicidas, pragas e doenças.

¹ Bolsista, Estudante de graduação de Biologia da UCB.

² Bióloga, Bolsista, UCB, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bolsista RHA, doutorando, UNB.

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

TRANSFORMAÇÃO DE *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla* MEDIADA POR *Agrobacterium tumefaciens*¹

Laudete Maria Sartoretto², Mariana Villela Esmeraldo³ e Ana Cristina Miranda Brasileiro⁴

Dentre as espécies florestais de relevada importância econômica para o Brasil, destaca-se o híbrido *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, em particular na indústria de papel e celulose. A transformação genética deste híbrido, aliada a programas de melhoramento, permitirá a incorporação de características desejáveis em um espaço de tempo mais curto. Assim, o objetivo do presente trabalho é o desenvolvimento de um protocolo de transformação genética para este híbrido. Para tanto, linhagens desarmadas de *Agrobacterium* (LBA4404, GV3101 e EHA105) foram transformadas com os vetores binários pCAMBIA 1301, 2301 e 3301. Esses vetores, que foram gentilmente cedidos por Dr. R. Jefferson (CAMBIA/Austrália), possuem genes marcadores de seleção que conferem resistência à higromicina, canamicina e fosfotricina, respectivamente. A introdução destes vetores nas linhagens desarmadas foi confirmada através de *Southern blot*, a partir da extração do DNA total. Essas linhagens foram então utilizadas no co-cultivo com explantes juvenis (hipocótilos e cotilédones) de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, e a expressão do gene *gus* analisada ao quarto dia. Quarenta dias após o co-cultivo, calos transgênicos foram obtidos na presença dos agentes de seleção apropriados. Estes resultados mostram a habilidade dessas linhagens de *Agrobacterium* de transformar células de eucalipto, as quais podem ser selecionadas usando diferentes agentes de seleção.

¹ resumo apresentado na sessão oral

²Eng^a Agr^a, doutoranda, Bolsista de CAPES, UNB.

³Bióloga, Bolsista RHAE/CNPq – ITI.

⁴Eng^a Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

UTILIZAÇÃO DE HIGROMICINA, CANAMICINA E FOSFINOTRICINA COMO AGENTES DE SELEÇÃO PARA TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla*

Mariana Villela Esmeraldo¹, Laudete Maria Sartoretto², Luiz Eugênio de Matos Lemos³, Sinara de Oliveira Deus⁴ e Ana Cristina Miranda Brasileiro⁵

A engenharia genética é uma importante ferramenta no melhoramento genético de *Eucalyptus*, permitindo a incorporação de novas características genéticas em clones "elite". No presente trabalho, três vetores binários da série pCAMBIA foram introduzidos em quatro linhagens desarmadas de *Agrobacterium*. Os vetores binários utilizados foram cedidos por Dr. R. Jefferson (CAMBIA, Austrália). Os vetores pCAMBIA 1301, 2301 e 3301 contêm genes de seleção que conferem resistência a higromicina, canamicina e fosfinotricina, respectivamente. As linhagens desarmadas de *Agrobacterium* (LBA4404, GV3101, EHA105 e EHA101) foram transformadas através de choque térmico. Um *Southern blot* foi realizado com o DNA total das linhagens transformadas para confirmar o perfil de restrição. Cotilédones e hipocótilos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* foram co-cultivados usando o protocolo previamente estabelecido. Após 40 dias na presença do agente de seleção, a eficiência de transformação foi avaliada através da expressão do gene *gus* em calos de eucalipto. Calos com expressão estável foram obtidos em ambos os explantes co-cultivados com LBA4404, GV3101 (contendo pCAMBIA 2301 e 3301) ou EHA105 (contendo pCAMBIA 1301). Estes resultados mostram a habilidade das linhagens de *Agrobacterium* contendo os vetores binários pCAMBIA, em transformar células de *Eucalyptus* que podem ser selecionadas tendo higromicina, canamicina e fosfinotricina como agentes de seleção.

¹ Bióloga, Bolsista RHA/CNPq - ITL.

² Eng^a Agr^a, doutoranda, Bolsista da CAPES, UNB.

³ Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de nível médio em Tec. Secretariado, CE - EIT.

⁴ Bióloga, UCB, Bolsista - ITL.

⁵ Eng^a Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

BIOLOGIA MOLECULAR

CONSTRUÇÃO DE VETORES BINÁRIOS COM OS GENES *TAR1* E *CPTI* E TRANSFORMAÇÃO DE *Nicotiniana tabacum* VISANDO RESISTÊNCIA A NEMATÓIDES FITOPARASITAS

Aletéia Velozo Pascoal¹, David Bertoli² e Damarcos de Castro Monte³

Os nematóides fitopatogênicos contribuem com perdas agrícolas mundiais da ordem de mais de 75 bilhões de dólares por ano, sendo que as formas endoparasíticas sedentárias, como *Meloidogyne* spp., *Globodera* spp. e *Heterodera* spp, são responsáveis pela maior parte deste prejuízo. Dentre as culturas mais afetadas estão: tomate, banana, tabaco, batata e soja. Uma estratégia para o desenvolvimento de novas defesas contra nematóides fitopatogênicos via engenharia genética baseia-se na ingestão pelo nematóide em fase de alimentação de um produto gênico com efeito no desenvolvimento ou na redução de sua fertilidade, como, por exemplo, inibidores de protease e lectinas. A lectina codificada pelo gene *tar1* proveniente de corno de inhame (*Colocasia esculenta* L.) e o inibidor de tripsina de cowpea (CpTI) podem ser efetivos no controle destes fitopatógenos, caso sejam expressos em plantas transgênicas sob o controle de um promotor que seja ativo no sítio de alimentação do nematóide. Para avaliar o potencial destas proteínas quanto à capacidade de interferir no processo de migração ou de inibir o desenvolvimento de sítios de alimentação de *Meloidogyne incognita*, os genes *tar1* e *cpti* foram subclonados em vetores binários sob o controle de uma versão do promotor 35S e introduzidos em tabaco (*Nicotiniana tabacum*) via *Agrobacterium tumefaciens*. As plantas regeneradas em meio seletivo contendo canamicina estão sendo analisadas e multiplicadas, a fim de serem testadas contra *M. incognita*.

¹ Bióloga, Pós-graduanda, M.Sc., UnB.

² Botânico, PhD, Oxford University – Inglaterra.

³ Eng^o Agr^o, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

PRODUÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-rolA VISANDO A LOCALIZAÇÃO DA PROTEÍNA EM PLANTAS TRANSGÊNICAS

Myrella Mendonça Brasil¹, Mercy Santos Oliveira² e Mauro Carneiro³

Agrobacterium rhizogenes, ao infectar uma planta, transfere alguns oncogenes, tais como os genes rol (A, B, C e D), contidos no plasmídeo Ri, para o genoma hospedeiro. Plantas transformadas pelo gene *rolA* possuem uma série de alterações de desenvolvimento, como alteração da morfologia foliar, entrenós pequenos e baixo crescimento de raízes. A proteína *rolA* possui a capacidade de se ligar a DNA, sugerindo que as alterações de desenvolvimento causadas pelo gene *rolA* sejam consequência da modificação da expressão de genes associados a estes aspectos. O objetivo deste trabalho é produzir a proteína *rolA* em um sistema de expressão, gerar anticorpos anti-*rolA* e detectá-la em plantas transformadas e assim determinar os sítios de expressão do gene *rolA* em plantas transgênicas. Estas portando o gene *rolA* foram geradas, após a introdução do gene em discos foliares de *Nicotiana tabacum*. Paralelamente, o gene *rolA* foi clonado no plasmídeo pGEX2, em fase com a proteína GST (pGRAS13) e introduzido na bactéria BL21. A partir de uma cultura de bactérias foram estabelecidas as condições ótimas para expressão da proteína de fusão. Esta foi purificada em gel de poliacrilamida 13%, via eletroeluição. Após digestão com trombina e seguidas etapas de purificação de *rolA*, esta foi então introduzida em 3 ratos, por 3 vezes, de 15 em 15 dias. Sete dias após a última injeção retirou-se o sangue e separou-se o soro. Fez-se extração de proteína total da planta transgênica de tabaco *rolA*. Assim os anticorpos anti-*rolA* foram utilizados para localizar a proteína no extrato proteico via "western blot".

¹ Bolsista CAPIS, Bióloga, mestranda, UNB.

² Estudante de Biologia, UCB, estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

TRANSFORMAÇÃO DE *Glycine max* COM O GENE DA ALBUMINA 2S DA CASTANHA-DO-BRASIL SOB O CONTROLE DO PROMOTOR DA FASEOLINA¹

Iris Roitiman², Lucélia Helena Marcellino³, Eugen Silvano Gander⁴ e Francisco José Lima Aragão⁵

Visando melhorar o valor nutricional de importantes culturas brasileiras recentemente, foram expressas seqüências codificantes de uma albumina 2S, rica em metionina, da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) em plantas transgênicas de feijão. Estas seqüências eram controladas pelo promotor constitutivo 35S do CaMV. Apesar de as seqüências terem sido expressas e seu produto estocado corretamente em plantas transgênicas, a percentagem de albumina 2S em sementes foi bastante baixa. Uma razão poderia ser que o promotor utilizado não seja capaz de dirigir a expressão transgene em níveis ótimos porque, afinal, as seqüências promotoras não são *a priori* sementes-específicas, como se tem observado na literatura com outros promotores constitutivos. Atendendo a uma demanda para o aumento do teor de metionina em soja, temos como objetivo a expressão do gene da albumina 2S sob o controle de um promotor semente-específico (o promotor da faseolina). Além disso, visando aumentar a eficiência do processo de seleção das plantas transgênicas, foi utilizado um gene marcador seletivo que confere resistência a um herbicida. O gene *ahas* de *Arabidopsis thaliana*, que confere resistência a herbicidas da família imidazolinona, foi inserido no plasmídeo pIR1 (previamente construído pela bolsista), contendo o gene da albumina 2S da castanha-do-brasil sob o controle do promotor da faseolina e o gene marcador *gus*. Essa construção, denominada pIR 2, foi utilizada na transformação de soja por biolística onde; em condições estéreis, o meristema apical de embriões maduros foi bombardeado com micropartículas de tungstênio cobertas com o plasmídeo desejado, em um sistema de aceleração de gás hélio a alta pressão. Os embriões foram cultivados em meio MS com N6-Benzilaminopurina para estimular a multibrotação por 16 horas e transferidos para meio MS com Imazapir como agente seletivo. Os brotos alongados foram analisados quanto à transgenicidade, através de ensaio histoquímico do gene *gus* e os explantes contendo brotos transgênicos foram transferidos para meio MS sem agente seletivo. Ensaio histoquímico revelaram a obtenção de brotos transgênicos contendo o plasmídeo desejado. A transformação por biolística com o plasmídeo pIR2 foi bastante eficiente, com a obtenção de brotos transgênicos, permitindo que sejam realizadas as próximas etapas de análise da expressão do gene da albumina 2S e do teor de metionina nas sementes de soja transgênica.

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Estudante de Eng. Florestal, UNB, Bolsista ABIC/CNPq.

³ Bióloga, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Engº Agrº, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

TRANSFORMAÇÃO DE SOJA POR BIOBALÍSTICA, VISANDO RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE DAS GALHAS (*Meloidogyne* spp.)

Flávio Martins Santana¹, Alison Morais Giani², Francisco José Lima Aragão³ e Patricia Messemberg Guimarães⁴

A produção de soja (*Glycine max* M.) no Brasil é afetada drasticamente por fitonematóides, sendo *Heterodera glycines*, nematóide do cisto da soja (NCS), *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*, nematóides das galhas, as espécies que causam maiores prejuízos à cultura. Embora existam variedades resistentes a algumas raças de NCS, não há relato de resistência a *Meloidogyne* spp. O uso de plantas transgênicas expressando proteínas que interfiram no processo de parasitismo do nematóide (como inibidores de proteases ou amilases), ou mesmo induzam uma reação de hipersensibilidade (HR), característica de planta resistente, na região dos sítios de alimentação do parasita (sincício ou célula gigante), constituem importantes estratégias para o desenvolvimento de variedades de soja resistentes a estes parasitas. Neste trabalho apresentamos algumas plantas de soja, transformadas pelo processo de biobalística, que possuem em seu genoma promotores (pj100, pb 54 e pBRA), os quais apresentam alta expressão na região radicular de tabaco, ou mesmo nos sítios de alimentação destes nematóides. O objetivo é estudar a expressão destes diferentes promotores na planta de soja visando identificar aqueles de maior expressão nos sítios de alimentação induzidos por estes nematóides.

¹ Biólogo, UFViosa, MSc, Bolsista RHAE/DTI.

² Biólogo, UNB, Bolsista ITI-RHAE

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

⁴ Eng^a Agr^a, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

VERIFICAÇÃO DO PADRÃO DE EXPRESSÃO ESPACIAL E TEMPORAL DOS PROMOTORES 2.5 E 1.38(4) EM PLANTAS TRANSGÊNICAS

Antonio Americo Barbosa Viana¹, Leila Maria Gomes Barros², Cristine Chaves Barreto³ e Mauro Carneiro⁴

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 e empobrecimento das raízes. Dentre essas características, destaca-se a diminuição dos entrenós pela sua característica agrônômica de alto interesse, devido à possibilidade de redução do porte de plantas, à qual está ligada a expressão de gene *rolA*. Entretanto, a função do gene *rolA* ainda não é conhecida, tendo sido postulado que ele atue como regulador de expressão gênica. Consiste o 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 sequência codante do gene GUS (β -glucuronidase). A análise da expressão transiente em protoplastos de *Nicotiana tabacum* transformados com essas construções demonstraram que os fragmentos denominados 2.5 e 1.38(4), dentre alguns outros, promoveram a expressão do gene *uid* (GUS), quando comparados aos controles. Resta, então, 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 de gene repórter GUS. Cada fragmento, previamente ligado ao promotor mínimo e gene GUS, foi clonado no MCS do vetor binário pBIN19. Após a construção desses plasmídios (pBSG 25 e pBSG 1384), eles foram inseridos individualmente em bactérias *A. tumefaciens* GV 3101, e estas foram colocadas separadamente em contato com discos foliares de tabaco para o inóculo bacteriano. Após a infecção, os discos foliares transformados foram colocados em meio de indução e regeneração de calos, e os brotos, então, transferidos para meio de enraizamento, onde estão atualmente, apresentando um enraizamento satisfatório.

¹ Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Agronomia, UnB.

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

³ Bióloga, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Bolsista CNPq /RHA/E DTI.

⁴ Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA

CAPACIDADE DE ENRAIZAMENTO DE SEGMENTOS DE ESTOLHOS DE HÍBRIDOS INTERSECCIONAIS ENTRE ESPÉCIES DE *Arachis* (LEGUMINOSAE) COM PROGENITORES MASCULINOS ESTOLONÍFEROS

Alessandra Lima Araújo¹, Cristiane de Camargo Teixeira² e José Francisco Montenegro Valls³

Diversas espécies de *Arachis* têm potencial para utilização em pastagens cultivadas. Pesquisas neste sentido têm coberto espécies perenes das seções *Caulorrhizae* (estoloníferas), *Rhizomatosae* (rizomatosas) e *Procumbentes*. Considera-se que a hibridação interseccional possa produzir novos tipos de plantas. Ainda que estéreis, híbridos interseccionais, com rizomas ou estolhos herdados geneticamente, podem se mostrar adequados para a formação de pastagens por propagação clonal. Este trabalho teve como objetivo verificar a capacidade de enraizamento de estacas preparadas dos estolhos de híbridos produzidos no Banco Ativo de Germoplasma de *Arachis*. Foram plantadas para teste estacas (com cinco nós) de 33 híbridos, repetidos em 5 blocos. Três avaliações foram realizadas, com substituição de solo, com intervalos de 13 dias. Examinou-se cada segmento de estolho, observando-se a presença de gemas de ramos nos dois nós aéreos e de raízes nos nós e entre-nós enterrados. Das estacas examinadas, destacaram-se, pelo fácil enraizamento, as dos híbridos *Arachis vallsii* x *A. pintoi* (V7635 x W647, V7635 x W34 e V7635 x V6791-wf), que produziram até 30 raízes por estaca. Tratando-se de híbridos em que as plantas-mães são anuais e não estoloníferas, foi comprovada a herança de produção de estolhos, capazes de pronto enraizamento, característica dos progenitores masculinos. Por outro lado, as estacas de *A. kretschmeri* x *A. pintoi* (KrRy s/n x GK12787) e *A. paraguariensis* x *A. repens* (V7677 x Nc1579) não enraizaram. Sem enraizamento, não seria correto caracterizar os ramos plurinodes e bastante ramificados, que tais híbridos produzem, como típicos estolhos.

¹ Eng^a Agr^a, UN-Maranhão, Bolsista – FAPENA

² Bióloga, UNESP, MSc, Bolsista CNPq

³ Eng. Agr., PhD, Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E MOLECULAR DE ACESSOS DE GERMOPLASMA DE *Arachis kuhlmannii* Krap. & Greg. (LEGUMINOSAE)¹

Alessandra Pereira Fávaro² e José Francisco Montenegro Valls³

As espécies silvestres de *Arachis* têm potencial para uso no melhoramento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e em cultivos forrageiros. *Arachis kuhlmannii* Krap. & Greg. ocorre no Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Sua área se sobrepõe parcialmente às de outras espécies da secção *Arachis*, com as quais pode ser confundida. O presente trabalho tem por objetivos a discriminação dos acessos disponíveis, como pertencentes ou não a *A. kuhlmannii*, alojando-os nos taxa mais adequados e o estudo da similaridade entre eles e com *A. hypogaea*, através de marcadores morfológicos, citogenéticos e moleculares. Utilizaram-se 38 acessos, plantados em telado, em 3 blocos casualizados. A caracterização morfológica foi baseada em descritores adequados para espécies silvestres de *Arachis*, com posterior seleção dos mais discriminatórios. No estudo citogenético, analisa-se a metáfase mitótica em pontas de raiz. Para caracterização molecular, utilizou-se RAPDs. Quatorze primers polimórficos foram selecionados, e 90 bandas informativas foram analisadas. A análise dos dados morfológicos foi realizada, usando-se a Distância Euclidiana Média e o Coeficiente de Simple Matching. Para dados moleculares, utilizou-se o Coeficiente de Jaccard. Nos dendrogramas, observou-se, por todos os marcadores utilizados, que acessos com características do genoma A ficaram separados daqueles não associados a esse genoma. Pela citogenética, foi confirmada a existência de características diagnósticas para distinção de genomas nos acessos envolvidos, comprovando-se haver mais de uma espécie entre aquelas identificadas em monografia recente, como *A. kuhlmannii* ou *A. aff. kuhlmannii*.

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Eng. Agr. Bolsista de mestrado CNPq/UNESP/Botucatu.

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

COLETAR E CONSERVAR NÃO BASTA: CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE UM BANCO DE GERMOPLASMA DE AROEIRA (*Myracrodruon urundeuva*) COM MARCADORES MOLECULARES¹

Alessandra Maria Moreira Reis², Antonieta Nassif Salomão³ e Dario Grattapaglia⁴

A conservação *ex situ* de aroeira na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia é feita através de armazenamento de acessos de sementes colhidas por árvore mãe em coletas de germoplasma. Informações sobre os padrões de distribuição da variabilidade genética amostrada e a análise de sua correlação com a distribuição geográfica dos pontos de coleta tornam-se fundamentais para direcionar estratégias de reintrodução da espécie, pré-melhoramento, conservação *in situ* e futuras coletas para enriquecimento da base genética conservada. Marcadores RAPD foram utilizados para entender e quantificar a variabilidade genética de aroeira conservada no Banco da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Foram avaliados 159 indivíduos do banco. Indivíduos de populações localizadas em Selvíria, MS, e Paulo de Farias, SP, também fizeram parte da análise, totalizando 192 amostras. Dos 165 primers testados selecionaram-se 27. A partir de 80 marcadores RAPD, foi construído um dendrograma com base nas estimativas de similaridade genética entre os 192 indivíduos. Fez-se uma análise da variância molecular (AMOVA) decompondo a variância em diferentes níveis hierárquicos. Não foi encontrada correlação significativa entre a matriz de similaridade genética e distância geográfica. Os indivíduos de MS e SP serviram como controle por se tratarem de indivíduos de populações definidas. Uma AMOVA destes indivíduos mostrou estar dentro de populações a maior percentagem da variabilidade corroborando a análise por zonas de coleta. Estes resultados indicam que não existe diferenciação genética significativa entre acessos de aroeira mesmo quando coletados em pontos distantes no Brasil Central sugerindo, ainda, que o Banco da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, provavelmente, contém a maior parte da variabilidade de aroeira encontrada no país.

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Eng^o Florestal, MSc, Bolsista FAPESP.

³ Eng^o Florestal, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng^o Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE GENOTIPAGEM SEMI-AUTOMATIZADA BASEADA EM MICROSSATÉLITES PARA ESPÉCIES DE *Eucalyptus*¹

Matias Kirst², Ana Yamaguishi Ciampi³, Rosana Pereira Vianello Brondani⁴ e Dario Grattapaglia⁵

Neste trabalho descreve-se o desenvolvimento de sistemas de genotipagem multiloco semi-automatizada para espécies do gênero *Eucalyptus* (subgênero *Symphyomyrtus*), baseado em detecção fluorescente de microssatélites. Estes sistemas têm por objetivo a geração de *fingerprinting* de DNA para genotipagem em larga escala de bancos de germoplasma e populações de melhoramento, permitindo a discriminação de indivíduos e estudos detalhados de parentesco. Para a criação destes sistemas avaliaram-se 21 microssatélites, desenvolvidos de genótipos de *E. grandis* e *E. urophylla*, com base no seu conteúdo informativo (número e frequência alélica), assim como conservação nas principais espécies comerciais de *Eucalyptus*. Três sistemas foram desenvolvidos, cada um envolvendo a análise simultânea via PCR de três locos usando *primers* marcados com diferentes fluorescências. Estes sistemas foram utilizados na genotipagem de 240 indivíduos de 5 procedências de *E. grandis*. Com as frequências alélicas foram estimados parâmetros de informatividade genética para cada loco e para os sistemas. Os locos apresentaram probabilidade de exclusão e conteúdo de informação de polimorfismo de 0,7 e 0,8, respectivamente. A probabilidade de identidade combinada foi inferior a 10^{-10} . Isso indica que a probabilidade de encontrar dois indivíduos com o mesmo genótipo para os nove locos avaliados é inferior a um em 10 bilhões. Isso mostra o extraordinário poder de discriminação destes sistemas para análise genética em *Eucalyptus*.

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Eng. Florestal, MSc em curso, Bolsista CNPq.

³ Bióloga, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Bióloga, Bolsista da CAPIS, doutoranda, UNB.

⁵ Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE LOCOS SSR PARA ESTUDOS DE ESPÉCIES NATIVAS EM RISCO DE EXTINÇÃO NO BRASIL

Fabiane Quirino de Paula Silveira¹, Rosana Pereira Vianello Brondani², Alexandre Alves Missiaglia³, Fernanda Amato Gaiotto⁴, Rogério Gribel⁵, Sergio da Cruz Coutinho⁶ e Dario Grattapaglia⁷

Pau-brasil (*Caesalpinia echinata*), árvore símbolo do país, e sumaúma (*Ceiba pentandra*), espécie de várzeas da Amazônia de elevado valor comercial, são espécies arbóreas nativas de Mata Atlântica e da Mata Amazônica, respectivamente, de relevância internacional e em risco de extinção. Estimativas dos padrões de distribuição e dinâmica da variabilidade genética visando guiar a tomada de decisões em conservação e manejo destas espécies podem ser obtidas com o uso de marcadores moleculares baseados em seqüências simples repetitivas (SSR) ou microssatélites tipicamente co-dominantes e altamente informativos. O objetivo deste trabalho foi desenvolver marcadores microssatélites com poder informativo que possibilite para pau-brasil, a caracterização da variabilidade genética e do sistema de cruzamento em uma de suas últimas populações naturais e, para sumaúma, o estudo de padrões de fluxo gênico e paternidade em populações fragmentadas visando subsidiar práticas de manejo e exploração que mantenham o potencial evolutivo da espécie. A partir de bibliotecas genômicas enriquecidas para microssatélites foram desenvolvidos e otimizados 22 locos para sumaúma. A otimização dos locos SSR consiste em ajustar as condições da reação de PCR de modo a obter produtos amplificados de fácil interpretação e elevado multialelismo. Os valores de heterozigosidade esperada (H_e) obtidos para 3 locos em uma amostra de árvores adultas coletadas na região de Manaus foram de 0,7 ; 0,8 ; e 0,9. O poder de exclusão de paternidade para estes 3 locos combinados é da ordem de 95%. Para pau-brasil, no momento estão sendo seqüenciados clones contendo SSR para posterior desenho de primers.

¹ Bióloga UNB, MSc, Bolsista DTI.

² Bióloga, Bolsista CAPES, doutoranda UNB.

³ Eng. Florestal, estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Bióloga, Bolsista CNPq, doutoranda ESAUC-SP.

⁵ Eng. Florestal, PhD-INPA, Coordenação de pesquisa em botânica, caixa postal 478.

⁶ Eng. Agr., MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁷ Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

DESENVOLVIMENTO E TRANSFERIBILIDADE DE MARCADORES MICROSSATÉLITES NO GÊNERO *Cedrela* (MELIACEAE)

Camila Neves Soares¹, Rosana Pereira Vianello Brondani², Ana Yamagishi Ciampi³, Dario Grattapaglia⁴

As três espécies do gênero *Cedrela* (cedro) presentes no Brasil apresentam madeira de elevado valor comercial e utilização bastante diversificada. Este gênero apresenta uma ampla diversidade genética. No entanto, devido à extensa exploração, é considerado um dos mais ameaçados da família Meliaceae, tornando-se necessária sua conservação. Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e otimização de marcadores microssatélites desenvolvidos para *C. fissilis* e a análise de transferibilidade destes marcadores entre *C. fissilis* e *C. odorata*. Estes marcadores multialélicos e co-dominantes permitem uma análise rápida e precisa do estado atual da variabilidade genética existente em fragmentos de populações de *C. fissilis* na Mata Atlântica e de *C. odorata* em áreas de cerrado. Para a obtenção do DNA, foram coletadas folhas de 9 indivíduos de *C. fissilis* na Mata Atlântica e uma população de 141 indivíduos (adultos e regenerantes) de *C. odorata* no Parque Nacional de Brasília. A partir da construção de uma biblioteca genômica enriquecida para elementos AG, triagem de colônias, PCR ancorada e sequenciamento, foram sintetizados 83 pares de primers flanqueando seqüências microssatélites. Estes foram testados buscando a identificação de locos de amplificação robusta e ampla variabilidade alélica. Os produtos da amplificação foram analisados em eletroforese em agarose de alta resolução. Dezesete locos foram otimizados, porém somente 6 apresentaram polimorfismo. Dezesete (17) locos testados, 9 apresentaram completa transferibilidade interespecífica, o que possibilitará a comparação imediata de estimativas de estrutura populacional e sistema de cruzamento entre as duas espécies.

¹ Eng. Florestal, Bolsista RHAÉ – ITI, UNB.

² Bióloga, Bolsista da CAPES, doutoranda UNB.

³ Bióloga, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

DETERMINAÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE EUCALIPTOS COM BASE EM MARCADORES MICROSSATÉLITES

Veridiana Junqueira Ribeiro¹, Rosana Pereira Vianello Brondani², Ana Yamaguishi Ciampi³, Dario Grattapaglia⁴

O controle exclusivo do progenitor maternal e teste de progênes de meios-irmãos de polinização livre são práticas comuns nos programas de melhoramento de eucalipto. É uma opção de baixo custo que permite uma boa estimativa do valor de melhoramento de parentais selecionados, mas não permite estimar a capacidade específica de combinação entre parentais superiores. Neste trabalho demonstramos a utilidade do teste de paternidade *a posteriori* de indivíduos meios-irmãos superiores, utilizando marcadores microssatélites. Setenta e dois indivíduos foram selecionados de um plantio de seis anos de idade com CAP (circunferência altura do peito) maior que 1,5 desvio-padrão acima da média. Outros 72 indivíduos foram tomados ao acaso como controle. Em um estudo paralelo, 40 indivíduos, que apresentavam sintomas, como deficiência e atrofiamento, foram analisados. Até o momento foram utilizados oito *loci* microssatélites, seis aplicados aos indivíduos selecionados, nos quais foi possível determinar a paternidade exata de 24 indivíduos da progênie. Para os indivíduos restantes, ficou-se em dúvida entre dois ou três supostos pais. Os 72 indivíduos da progênie não selecionada foram analisados com os oito *loci*, sendo que 32 indivíduos, tiveram sua paternidade exata determinada, 16 indivíduos foram identificados como autofecundação, contaminação de pólen ou contaminação de semente. Foram identificados dois progenitores com alta proporção de paternidade na progênie selecionada e baixa proporção de paternidade na progênie não selecionada, sugerindo que esses supostos pais apresentem alta capacidade específica de combinação com o progenitor maternal e são, portanto, excelentes candidatos para montagem de um pomar triclonal visando a produção de sementes para plantios comerciais.

¹ Eng. Agr., MSc em curso, Estagiária do CPAC.

² Bióloga, Bolsista da CAPES, doutoranda UNB.

³ Bióloga, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

ESTRUTURA GENÉTICA E FLUXO GÊNICO EM POPULAÇÕES DE PEQUIZEIRO (*Caryocar brasiliense* Camb., Caryocaraceae) UTILIZANDO MICROSSATÉLITES: IMPLICAÇÕES PARA CONSERVAÇÃO¹

Rosane Garcia Collevatti Pereira², Dario Grattapaglia³ e John D. Hay⁴

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb., Caryocaraceae) é uma das espécies de árvores do Cerrado mais abundantes e amplamente distribuídas, sendo de grande importância ecológica e econômica. O objetivo é entender a estrutura genética de populações, o fluxo gênico e o sistema de cruzamento do pequizeiro, a fim de gerar informações para estratégias de conservação. No trabalho, apresentam-se os resultados sobre a caracterização de nove *loci* microssatélites, estrutura genética e fluxo gênico de quatro populações de *C. brasiliense* (Parque Nacional de Brasília, DF; Parque Nacional de Grandes Sertões Veredas, MG; Campos UFMS, MS; Estação Ecológica de Itirapina, SP). O DNA genômico foi extraído de folhas de 30 indivíduos de cada população. A estrutura genética das populações e o fluxo gênico foram analisados pelo índice de fixação de Wright. O número de alelos por *locus* variou entre 6 e 13. A heterozigosidade média observada e a esperada variaram de 0,44 a 1,00 e de 0,55 a 1,00, respectivamente. F_{ST} e F_{IT} diferiram de zero, indicando uma subdivisão das populações. F_{IS} não diferiu de zero, indicando que não há um efeito significativo de endogamia. O fluxo gênico médio foi baixo, 2,7 migrantes por geração (variação 1,3-9,0), embora *C. brasiliense* seja uma espécie polinizada por morcegos e dispersa por animais que podem promover fluxo gênico a longas distâncias. Entretanto, a fragmentação do Cerrado pode restringir o fluxo gênico e promover uma perda de variabilidade genética. No momento está se analisando a estrutura genética de outras seis populações e estimando o sistema preferencial de cruzamento na espécie.

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Bióloga, doutoranda, Bolsista UNB.

³ Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Biólogo, PhD, Departamento de Biologia, UNB.

HERANÇA DE LOCOS MICROSSATÉLITES E ESTIMATIVA DE FECUNDAÇÃO CRUZADA EM POPULAÇÕES FRAGMENTADAS DE SUMAÚMA

Alexandre Alves Missiaglia¹, Fabiane Quirino de Paula Silveira², Rosana Pereira Vianello Brondani³, Rogério Gribel⁴ e Dario Grattapaglia⁵

A sumaúma (*Ceiba pentandra*), Bombacaceae, é uma das espécies de maior valor comercial das várzeas amazônicas. Devido à sua grande exploração para a indústria de compensado, esta espécie está em grave risco de extinção. O objetivo deste trabalho é investigar o fluxo gênico entre árvores e a paternidade de sementes em uma população de sumaúma na região de Manaus. Estes dados serão utilizados para delinear estratégias de conservação e manejo de fragmentos remanescentes desta espécie. Marcadores codominantes e multialélicos baseados em microssatélites foram desenvolvidos para esta espécie. A herança de locos microssatélites e a estimativa da taxa de fecundação cruzada estão sendo avaliadas a partir de folhas de 13 famílias de polinização aberta (matrizes e suas respectivas progênes). Até o momento, foram analisadas 2 famílias de polinização aberta, com 20 indivíduos cada. Herança mendeliana foi confirmada para dois locos, uma vez que em todos os filhos foi observado pelo menos um dos alelos da mãe. Na primeira família, a combinação dos dois locos permitiu identificar 4 eventos de fecundação cruzada. Na segunda família, foram detectados 9 produtos de fecundação cruzada. A análise dos 2 locos nas 13 matrizes indicou uma ampla variabilidade alélica, com valores de heterozigosidade variando entre 70% e 90%, entretanto, uma variação alélica limitada foi observada nas progênes. Estes resultados sugerem, preliminarmente, a ocorrência de autofecundação em taxa significativa. A análise está sendo ampliada incluindo um maior número de famílias e locos a fim de estimar a taxa de fecundação cruzada com precisão e, posteriormente, a discriminação de paternidade.

¹ Eng. Florestal, Estagiário Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, UNB, MSc, Bolsista DTI.

³ Bióloga, Bolsista da CAPES, doutoranda, UNB.

⁴ Eng. Florestal, PhD-INPA, Coordenação de pesquisa em botânica, caixa postal 478.

⁵ Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

IDENTIFICAÇÃO DE REGIÕES CROMOSSÔMICAS ÍNDICA E JAPONICA ESPECÍFICAS DO GENOMA DE *ORYZA SATIVA* L.*

Andrea B. Schmidt, Paulo H. N. Rangel e Márcio Elias Ferreira

As variedades de arroz (*Oryza sativa*) têm sido classificadas dentro de dois grandes grupos (Índica e japônica), representando distintos “pools” gênicos. Esses dois grupos podem ser separados com base em características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares. A classificação dessas variedades dentro de um ou outro grupo é frequentemente importante nos programas de melhoramento genético de arroz por diversas razões, incluindo: (a) o uso da variedade como arroz de sequeiro ou irrigado; (b) a possibilidade de obtenção de novas combinações através da ampliação da base genética pelo cruzamento de variedades de diferentes “pools” gênicos; (c) a manutenção de bases genéticas independentes pode ser almejada quando características específicas de arroz de sequeiro ou irrigado são desejadas; (d) a informação é básica para a organização e caracterização de acessos visando o melhoramento genético de arroz. Apesar de vários métodos para classificação de arroz terem sido propostos, um procedimento simples, objetivo e de baixo custo que pudesse facilitar as análises é ainda desejado. Esse trabalho visou desenvolver um método rápido e eficiente para classificação de linhagens do programa de melhoramento e variedades tradicionais de *Oryza sativa* nos grupos Índica e Japônica através do emprego de primers RAPD que amplifiquem regiões específicas do genoma com o uso combinado de “Bulk Segregant Analysis”. Um total de 960 bandas RAPD foram analisadas, geradas por 167 oligonucleotídeos, permitindo a identificação de 26 marcadores japônica-específicos e 21 marcadores índica-específicos. Entre os primers mais informativos quatro oligonucleotídeos possibilitaram caracterizar, sem erro, 24 linhagens controle. Outras 76 variedades tradicionais de arroz foram classificadas nos grupos Índica (15) ou japônica(60). Uma das variedades tradicionais apresentou bandas típicas de Índica e Japônica, podendo ser resultante do cruzamento entre linhagens dos dois grupos. O emprego em conjunto de dois ou mais desses primers permite a rápida e eficiente classificação de variedades de arroz nos grupos Índica e Japônica.

* Trabalho apresentado e premiado no Talento Estudantil 1997

¹ Eng. Agr., MSc., Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Eng. Agr., MSc., Embrapa Arroz e Feijão Caixa Postal 179, CEP 74001-970 Goiânia-GO

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

MAPEAMENTO GENÉTICO COMPARATIVO EM *E. urophylla* E *E. grandis* COM MARCADORES RAPD E SSR

Sue Ane de Athaide Leite¹, Rosana pereira Vianello Brondani² e Dario Grattapaglia³

O presente trabalho objetivou o desenvolvimento de mapas genéticos para genótipos elite de *Eucalyptus* utilizando a estratégia pseudocruzamento teste e marcadores RAPD, (“Random Amplified Polymorphic DNA”) e ainda o estabelecimento de sintenia (homologia e conservação de ordem linear de genes ao longo de cromossomos) com mapas existentes para outros *pedigrees* utilizando marcadores RAPD e microssatélites. Foi utilizada uma progênie F₁ de 44 indivíduos resultante do cruzamento entre *E. urophylla* e *E. grandis*. Foram testados 135 primers RAPD e selecionados 58, os quais amplificaram um total de 206 marcadores. Foram testados 72 locos SSR e selecionados 26. Os marcadores RAPD e SSR foram agrupados com LOD 3.0 e $\theta=0,4$ gerando um mapa com 82 marcadores RAPD e 14 SSR para o genótipo 769 de *E. grandis* e outro mapa com 86 marcadores RAPD e 14 SSR para o genótipo 11 de *E. urophylla*. Três mapas existentes para outros *pedigrees* foram utilizados como mapas de referência para as análises comparativas. Foi possível estabelecer sintenia entre os genótipos de *E. urophylla* 11 e *E. grandis* 769 por meio de marcadores co-dominantes SSR, os quais foram mapeados em ambos os parentais. Este estudo demonstra a ampla transferibilidade de marcadores SSR entre mapas e abre o caminho para a construção de um mapa referência, integração de mapas existentes para diferentes espécies de *Eucalyptus* e a possibilidade de realizar busca direcionada em espécies não exploradas de nova variabilidade alélica a locos de interesse econômico previamente mapeados em espécies referência.

¹ Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de Eng. Florestal, UNB.

² Bióloga, Bolsista CAPES, doutoranda, UNB.

³ Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

PRAGA DE LAVOURA, HÍBRIDO INTERESPECÍFICO OU VARIEDADE TRADICIONAL? ANÁLISE GENÉTICA DE ACESSOS DE ARROZ VERMELHO (*Oryza ssp*) COLETADOS NO TERRITÓRIO BRASILEIRO

Tulio Cesar de Lima Lins¹, Zilneide Pedroza de Souza Amaral² e Márcio Elias Ferreira³

Acessos de arroz de coloração vermelha ou vermelho-escuro dos grãos, popularmente conhecido como arroz vermelho, são considerados praga ou espécie silvestre nos estados do sul do Brasil, entretanto são altamente valorizados em outras regiões como variedade tradicional. O Banco de Germoplasma de arroz mantido pela EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia e EMBRAPA/CNPAF possui um grande número de acessos comumente denominados arroz vermelho. A organização deste germoplasma vem sendo realizada pela análise de polimorfismo de fragmentos de DNA com o intuito de compreender sua variabilidade genética e grau de relacionamento genético com espécie silvestre brasileira (*Oryza glumaepatula*), africana (*Oryza glaberrima*) e asiática (*Oryza rufipogon*) de genoma diplóide AA ($2n = 24$) e com acessos do tipo índica e japônica de arroz cultivado (*Oryza sativa*). Cerca de 100 marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) foram utilizados para analisar 76 amostras de arroz vermelho coletadas em todo o território nacional. A análise preliminar destes dados indica que grande parte dos acessos são geneticamente próximos dos tipos índica e japônica de *Oryza sativa*. Alguns acessos de arroz vermelho são aparentemente formas intermediárias entre arroz silvestre e cultivado.

¹ Químico UNB, Bolsista ITI, MSc em curso.

² Assistente de Operações I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

TRANSFERIBILIDADE DE MARCADORES MICROSSATÉLITES ENTRE ESPÉCIES DA FAMÍLIA LEGUMINOSAE

Kleyne Cristina Dorneles de Souza¹, Ana Yamaguishi Ciampi² e Dario Grattapaglia³

A família Leguminosae engloba diversas espécies arbóreas de grande interesse econômico como jatobá, pau-brasil, copaíba e sucupira. Atualmente, com a pressão existente sobre as florestas nativas torna-se necessário um melhor entendimento da distribuição da variabilidade genética existente para estas espécies. Estes estudos fornecerão subsídios para a coleta e conservação de recursos genéticos *in situ* e *ex situ*. Marcadores moleculares multialélicos e co-dominantes baseados em SSR (seqüências simples repetitivas) permitem uma análise detalhada da dinâmica e estrutura genética das populações remanescentes. O objetivo deste trabalho foi estudar a transferibilidade de marcadores microssatélites desenvolvidos de bibliotecas genômicas de copaíba para outras espécies de leguminosas. Esta possibilidade técnica aceleraria significativamente a análise genética com esta classe de marcadores em espécies desta família. A hipótese de trabalho é que espécies filogeneticamente próximas apresentam homologia de seqüências flanqueadoras aos locos SSR permitindo a transferibilidade. A transferibilidade de 28 pares de primers previamente desenvolvidos para copaíba (*Copaifera langsdorffii*) foi avaliada em 24 espécies. Observou-se a amplificação de 11 dos 28 locos testados em 11 espécies. As espécies filogeneticamente mais próximas da copaíba como jatobá (*Hymenaea courbaril* e *H. stignocarpa*) apresentaram um maior número de locos conservados confirmando a hipótese testada. Nas espécies mais distantes não foi possível a transferência de nenhum loco SSR indicando uma baixa homologia de seqüência e reforçando a necessidade de desenvolver bibliotecas genômicas específicas para o desenvolvimento de microssatélites para estas espécies.

¹ Estatística UNB, Bolsista RHAÉ – ITI.

² Bióloga, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA A GERMINAÇÃO E A CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE quiwi (*Actinidia deliciosa*)

Camila Codego Velloso¹, Patricia Costa Bueno², Kennya Mara Oliveira Ramos³ e Antonieta Nassif Salomão⁴

Objetivando determinar a metodologia para a germinação e a conservação de sementes de quiwi, o seguinte experimento foi realizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Sementes de sete frutos de quiwi, adquiridos em mercado local, foram beneficiadas, lavadas com detergente, seguindo-se com sucessivos enxágües. As sementes permaneceram secando por 24 horas, à temperatura ambiente de laboratório. Foram conduzidos testes de germinação, com parte dessas sementes, que apresentaram 17,1% de umidade, nas temperaturas de 20°C, 25°C, 20-30°C e 30°C, com 4 repetições de 25 sementes, em substrato rolo de papel. A melhor temperatura de incubação foi de 20-30°C com 98% de germinação. As demais sementes foram desidratadas em sílica gel por 48 horas, tendo a umidade reduzida para 10%. As sementes foram colocadas em tubos criogênicos e congeladas a -20°C e -196°C por 24 horas. Testes de germinação foram conduzidos, conforme descrito, à temperatura de 20-30°C, após desidratação e desidratação seguida de congelamento. Sementes de quiwi não foram sensíveis ao congelamento a -196°C (92% de germinação) e apresentaram redução do poder germinativo após congelamento a -20°C (32%). Tais resultados sugerem que a umidade ideal para a conservação a -20°C não foi atingida e que as sementes apresentam comportamento ortodoxo, pois toleraram a desidratação e o congelamento.

¹ Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de Ciências Biológicas, UnB.

² Bolsista, GEF/CNPq, estudante de graduação, Engenharia Florestal, UnB.

³ Bolsista, GEF/CNPq, estudante de graduação, Ciências Biológicas, UnB.

⁴ Eng^a Florestal, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

DETERMINAÇÃO DA UMIDADE CRÍTICA DE SEMENTES DE *Euterpe edulis* (PALMAE) PARA CONSERVAÇÃO A CURTO PRAZO

Apocna de Oliveira Lopes¹, Gustavo de Oliveira Lopes¹, Antonicta Nassif Salomão² e Aldicir Scariot³

As sementes recalcitrantes de *Euterpe edulis* (palmito) não podem ser conservadas em condições convencionais de banco de germoplasma. Este trabalho estimou o conteúdo de umidade crítica de sementes de *E. edulis* visando armazenamento a curto prazo. As sementes, com e sem polpa, foram desidratadas por 1-9 dias, em câmara a 22 ° C e 15% UR, e germinadas em laboratório e casa de vegetação, sendo utilizadas 20 sementes em cada nível de tratamento. Após cada período de desidratação foi determinado o conteúdo de umidade com três repetições de cinco sementes pelo método estufa a 105 ° C por 24 horas. A decomposição da interação ambiente x polpa, das sementes que não foram desidratadas, através de ANOVA hierárquica, indicou que em ambos os ambientes há diferenças significativas nas percentagens de germinação entre sementes com e sem polpa. Em casa de vegetação a percentagem de germinação das sementes foi de 10% e 85% e em laboratório de 90% e 100% (com e sem polpa, respectivamente). Para as sementes desidratadas a ANOVA indicou que o efeito do ambiente na percentagem de germinação é maior que o efeito da ausência ou presença de polpa. O efeito da polpa não é significativo em laboratório (diferença de 7,6%), porém, em casa de vegetação, sementes sem polpa têm significativamente taxa maior (26%) de germinação que as com polpa. A germinação de sementes, sem polpa em laboratório apresenta um ajuste aceitável de uma regressão linear de probitos ($y = 6,26 - 1,34$ em horas de desidratação). Pode-se estimar que sementes sem polpa, com perdas de umidade de no máximo 8,7% (91 a 125 h), ainda alcançam 50% de germinação em laboratório.

¹ Eng^o Florestal, Bolsista PIBIC/UNB.

¹ Eng^o Florestal, Bolsista PIBIC/UNB.

² Eng^a. Florestal, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

DOCUMENTAÇÃO E INFORMATIZAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS

Luiz Rodolpho de Moura Costa¹ e Ivo Roberto Sias Costa²

As tarefas da documentação são indispensáveis a qualquer uma das atividades relacionadas aos recursos genéticos, enriquecimento da variabilidade genética disponível, conservação, caracterização e avaliação. Na documentação e informatização de recursos genéticos estão as informações que permitem a elaboração de inventários, catálogos, mapas de distribuição e ocorrência de espécies e de coletas. Para tanto, os dados de passaporte são indispensáveis e incluem denominações, siglas e códigos do acesso além das variáveis geográficas, descrição de particularidades do local de coleta e informações quanto a caracterização e avaliação. Estas informações, embora simples, podem contribuir para estabelecimento de coleções nucleares, como foi o caso da Coleção Nuclear de Mandioca estruturada e a partir de informações ecogeográficas. É através do trabalho de documentação que cada curador de BaG e/ou coleção, aos poucos, agrega informação e valor ao germoplasma disponível.

¹Engº Florestal, MSc., Estagiário Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

²Engº Agr., MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

EFEITO DA DESIDRATAÇÃO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Inga cf. ingoides* (RICH.) WILLD

Patricia Costa Bueno¹ e Antonieta Nassif Salomão²

A tolerância à redução do conteúdo de umidade é um dos fatores determinantes para a conservação a curto prazo de sementes recalcitrantes. Algumas sementes recalcitrantes podem tolerar parcial desidratação, pois, apesar de armazenarem no embrião complexas reservas insolúveis, possuem células menos vacuoladas, o que lhes confere maior tolerância ao dessecamento. O objetivo deste trabalho foi testar a tolerância das sementes de *Inga* à desidratação, afim de viabilizar sua conservação a curto prazo. Sementes de *Inga cf. ingoides*, coletadas na área de influência da hidrelétrica de Serra da Mesa (Minaçu, GO), foram desidratadas em sílica gel por 0, 24 e 48 horas. A umidade das sementes foi determinada através do método de estufa 105º/24 h e foram conduzidos testes de germinação, com 4 repetições de 10 sementes, à temperatura de 25°C. As sementes recém-colhidas, com 69,5% de umidade, apresentaram 98% de germinação. Após 24 horas de desidratação, quando as sementes atingiram 35,2% de umidade, o poder germinativo foi de 1%. Com 19,9% de umidade, 48 horas de desidratação, não houve germinação. Esses resultados sugerem que a conservação a curto prazo de sementes de *Inga cf. ingoides* não se apresenta como uma alternativa viável, uma vez que as sementes são extremamente sensíveis à redução do conteúdo de umidade, mesmo em níveis elevados.

¹ Eng. Florestal, MSc., Estagiário Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Eng. Florestal, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

EFEITOS DO HÁBITAT NA REMOÇÃO DE SEMENTES E ESTABELECIMENTO DE *Euterpe edulis* (PALMAE) EM UMA MATA DE GALERIA NO DISTRITO FEDERAL

Gustavo de Oliveira Lopes¹, Apoena de Oliveira Lopes¹ e Aldicir Scariot²

Euterpe edulis (palmito) ocorre na Mata Atlântica, desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, e em matas de galeria no Brasil Central. A intensa pressão antrópica, que está extinguindo as populações, demanda ações de manejo sustentado e conservação. O objetivo desse trabalho foi determinar as taxas de remoção de sementes e estabelecimento desta espécie em diferentes ambientes em mata de galeria. O experimento de taxas de remoção de sementes foi feito no Parque Nacional de Brasília, com 11 repetições, para estudar dois fatores: ambiente (mata, borda e campo) e proteção (com e sem gaiola). Cada unidade de cada nível de tratamento teve 10 sementes, cuja remoção foi monitorada semanalmente, por 10 semanas. A densidade de plântulas e sementes no solo foi estimada em cada ambiente com 10 parcelas de 1m². Houve diferença significativa na taxa de remoção de sementes para ambientes, proteção e interação (ANOVA). Há diferença significativa de remoção entre a mata (30%) e a borda (10%) e campo (11%) (Teste de Tukey, p<0.05). Porém, somente na mata, existe significativamente maior remoção de sementes sem proteção (56,6%) que com proteção (3,6%). O número médio de sementes no solo é de 3/m² (0 – 13) na mata; 0,1/m² (0 – 1) na borda; e zero no campo, e de plântulas, é de 2,4/m² (0 – 8) na mata; 1/m² (0 – 6) na borda; e zero no campo. A maior taxa de remoção de sementes na mata sugere maior concentração de consumidores de sementes (principalmente vertebrados) neste ambiente, talvez atraídos pela maior oferta de semente que, no entanto, são poucas ou não são dispersas para a borda e campo, o que pode contribuir para o estabelecimento baixo (borda) ou ausente (campo) de plântulas.

¹ Eng. Florestal, Bolsista PIBIC/CNPq.

¹ Eng^a. Florestal, Bolsista PIBIC/CNPq.

² Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

ÉPOCA DE DISPERSÃO E TOLERÂNCIA AO DESSECAMENTO EM SEMENTES DO CERRADO

Maria Magaly M. V. S. Wetzel¹, Linda S. Caldas² e Kennya Mara O. Ramos³

No cerrado durante a estação seca, é comum a floração e frutificação de plantas lenhosas do cerrado durante a seca, as sementes do cerrado. As sementes podem ser classificadas como recalcitrantes (não toleram dessecação) e ortodoxas (toleram a dessecação). O estudo testa a seguinte hipótese: sementes recalcitrantes devem ser dispersadas no início e no meio da estação chuvosa. Sementes do cerrado foram coletadas nos estados de GO, MG, BA, SP e DF, entre os anos de 1994 e 1997. Após a coleta de cada amostra, quatro lotes de sementes beneficiadas foram separadas, dois para o teste de germinação inicial e outros dois para a dessecação (câmara a 15% de UR/ 20°C por um mínimo de 20 dias) seguida de novo teste de germinação. Em ambos os testes as sementes foram submetidas a germinação em rolo de papel envolto em saco plástico preto em germinador a 25°C cte, e outra parte sofreu escarificação manual e foi submetida a germinação em gerbox a 20-30°C (16horas/escuro a 20°C e 8horas/luz a 30°C) visando, assim, a quebra de uma eventual dormência das sementes. A cada 15 dias foi feita a avaliação da germinação, até o limite de 9 meses, quando se aplicou o teste de tetrazólio para confirmar a viabilidade de sementes ainda dormentes. Foram estudadas 104 espécies, pertencentes a 39 famílias. O número de espécies coletadas foi mínimo no mês de abril (apenas uma), crescendo até 45 espécies em setembro e depois diminuindo novamente. Nenhuma espécie recalcitrante foi encontrada entre as 34 coletadas nos meses de março a junho, nem entre as 21 espécies coletadas em outubro. Poucas espécies coletadas nos meses de junho a setembro são recalcitrantes. Nos meses de novembro, dezembro e janeiro, a percentagem de espécies que são recalcitrantes foi de 33%, 41% e 35%, respectivamente. Assim o comportamento das sementes, recalcitrantes ou não, assegura a sobrevivência das espécies até a época favorável à germinação e estabelecimento das plântulas.

¹ Eng^a Agr^a, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Doutora em Fisiologia Vegetal, Dept^o de Fisiologia Vegetal, UnB.

³ Bolsista, GEF/CNPq, estudante de graduação, Biologia, UnB.

ESTUDO DOS EFEITOS DO NÚMERO DE EXPLANTES POR RECIPIENTE NA CONSERVAÇÃO *IN VITRO* DE SEIS ESPÉCIES VEGETAIS

Frederico Ulisses Ramos Costa¹ e Marisa de Góes²

Vem sendo desenvolvida, na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, a conservação de germoplasma de propagação vegetativa *in vitro*, desde 1982. Os explantes são mantidos sob crescimento mínimo, sendo necessários subcultivos periódicos que podem variar de um genótipo para outro. O número de explantes por recipientes varia de 1 a 3, no entanto, não se sabe ao certo sua influência sobre os intervalos entre subcultivos. Este estudo foi desenvolvido visando saber o efeito do número de explantes por recipientes na conservação *in vitro* de germoplasma. As espécies utilizadas no experimento foram aspargo (*Asparagus officinalis*), batata (*Solanum tuberosum*), batata-doce (*Ipomoea batatas*), estévia (*Stevia rebaudiana*), menta (*Mentha piperita*), orégano (*Lippia geminata*), originadas de cultivo *in vitro*. Foram utilizadas de 1 a 4 gemas nodais, cultivadas em tubos de 15cm de meio nutritivo MS, com 7mg/l de sacarose e gelificado com 3mg/l de agar. As condições de cultivo: temperatura de 28⁰±2C, fotoperíodo de 12 horas. As observações foram feitas a cada 14 dias. Os resultados indicaram que a melhor forma de subcultivo foi a de dois explantes, exceto o orégano que apresentou uma formação excessiva de calos, devido ao genótipo desta espécie, a batata e o aspargo que sofreram influência da temperatura de conservação.

¹ Biólogo, UCB, Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng^a Agr^a, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

GERMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE AMENDOIM-BRAVO (*Pterogyne nitens* Tull.)

Kennya Mara Oliveira Ramos¹, Germana M. C. Lemos Reis² e Maria Magaly V. S. Wetzel³,

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Controle de Qualidade da Coordenação de Conservação de Germoplasma – CCG, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, objetivando determinar metodologia de germinação e as condições de armazenamento para sementes de amendoim-bravo. Nos estudos de germinação, as sementes foram colocadas em germinadores sob os seguintes regimes de temperatura: 25°C constante; 20°C/30°C e 20°C/35°C alternadas, em papel toalha umedecido. As sementes apresentaram uma alta percentagem de sementes duras. Para superar a impermeabilidade do tegumento, foram aplicados os seguintes tratamentos: a) escarificação mecânica; b) escarificação ácida (H₂SO₄ concentrado por 15 minutos); c) KNO₃ a 0,2%; d) testemunha. A temperatura de 25°C constante demonstrou ser a mais adequada, quando a contagem de plântulas foi feita no 7º dia, e o método de escarificação manual o mais eficiente. Nos estudos de armazenamento as sementes foram acondicionadas em sacos de papel tipo kraft e armazenadas por 14 meses, nas seguintes condições: 1) em laboratório, temperatura variando de 18°-26°C e umidade relativa de 20-90%; 2) em câmara fria/seca a 10°C e UR de 30%; 3) câmara fria/úmida a 17°C e UR 60%; 4) em temperatura ambiente com UR 50%. Após 14 meses, foram determinados o teor de umidade e o poder germinativo. Nenhuma diferença foi verificada quanto às condições de armazenamento, durante o período observado. Isto sugere que as sementes são bastante resistentes a diferentes condições de armazenamento.

¹ Bolsista do GEF/CNPq, estudante de graduação em Biologia, UnB

² Bióloga, Jardim Botânico de Brasília.

³ Eng^a Agr^a, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

MORFOLOGIA E FISIOLOGIA DAS SEMENTES DE LEGUMINOSAS ARBÓREAS DO CERRADO

Maria Magaly V. S. Wetzel¹, Linda Styer Caldas² e Kenya Mara O. Ramos³

A família Leguminosae possui um grande número de espécies arbóreas no ecossistema Cerrado. O objetivo deste trabalho foi estudar as sementes destas árvores, em função da época de sua dispersão. As espécies estudadas foram da subfamília Caesalpinoideae (*Dimorphandra mollis*, *Copaifera langsdorffii*, *Sclerolobium paniculatum*, *S.aureum*, *Hymenaea stigonocarpa*, *H. courbaril*); subfamília Mimosoidae (*Enterolobium contortisiliquum*, *E. ellipticum*, *Plathymentia reticulata*, *Stryphnodendron adstringens*); e subfamília Papilionoidae (*Andira humilis*, *Bowdichia virgilioides*, *Dalbergia miscolobium*, *Dipteryx alata*, *Pterodon pubescens*). Foram avaliados aspectos morfológicos dos frutos e das sementes e o comportamento fisiológico, quanto a germinação, dormência e resistência a dessecação. As sementes recém coletadas foram colocadas para germinar em câmaras a 25°C, em substrato papel toalha umedecido; outro teste foi feito com escarificação manual, com luz e temperatura alternada de 20-30°C, sobre vermiculita. Uma outra parte das sementes foi dessecada em câmaras a 15% de UR e 20°C por 30 dias, seguido de novos teste de germinação. Predominou o tipo de fruto legume, seco, indeiscente, e de dispersão zoocórica. As sementes, em geral, eram oblongas, marrons, com tegumento duro e liso, embrião foliáceo e reto. Apresentaram pleurograma as espécies de *Enterolobium* e *Stryphnodendron*, e arilo, a espécie *Copaifera*. O peso fresco da semente variou de 0,026g (*Bowdichia*) a 6,7g (*Andira*). A umidade mínima das sementes recém coletadas foi 8% e a máxima 60,6%, e após secas variou de 3,0% a 12,9%. A viabilidade por teste padrão (não-otimizado) de tetrazólio foi entre 10% e 100%. As sementes não são fotoblásticas. Em metade das espécies a escarificação mecânica permitiu uma germinação mais rápida. Todas mantiveram a viabilidade após o período de dessecação. A espécie que se diferenciou das demais foi *Andira*, que se dispersou no meio da estação chuvosa enquanto as outras se dispersam no fim da seca; é a única drupa, cuja semente possui embrião pequeno, basal e cotilédones fundidos. Além disso, a sua germinação é tardia e lenta (início aos 200 dias). As sementes destas espécies são tolerantes a dessecação e podem se manter viáveis durante o período de seca. Aliado à indeiscência do fruto e a impermeabilidade do tegumento, esta característica aumenta a sua sobrevivência e adaptação às condições naturais do cerrado.

¹ Eng^a Agr^a, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Botânica, PhD, Departamento de Fisiologia Vegetal, UNB.

³ Bolsista do GEF/CNPq, estudante de graduação em Biologia, UnB

OCORRÊNCIA DE DOENÇAS FOLIARES EM GERMOPLASMA DE AROEIRA (*Myracrodruon urundeuva* FR. ALL.)

Patricia Pereira da Silva¹, Marta Gomes Rodrigues Faiad² e José Alves da Silva³

No Banco Ativo de Germoplasma de Espécies Nativas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, localizado na Fazenda Sucupira, foi observado em plantas jovens de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr.All.), sintomas de doenças foliares. O objetivo foi identificar, testar a patogenicidade e controlar os fungos responsáveis pelas manchas foliares em plantas de aroeira, além da implantação do Banco Ativo de Espécies Nativas. No campo, observou-se a presença de *Oidium sp.*, expressando a princípio manchas esbraquiçadas que se tornaram pardacentas, escuras e causaram a morte dos tecidos. As folhas ficaram recobertas por um crescimento branco pulverulento, constituído de esporos do fungo. No laboratório o isolamento de fragmentos de tecidos lesionados permitiu identificar os seguintes gêneros: *Drechslera*, *Cercospora*, *Curvularia*, *Alternaria*, *Pestalotia*, *Pithomyces*, *Nigrospora*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium*. A inoculação de discos de cultura dos fungos isolados sobre ferimento em folhas destacadas mostrou que *Drechslera sp.*, *Alternaria sp.* e *Curvularia sp.* foram responsáveis por manchas necróticas distribuídas ao longo do limbo. As plantas infectadas foram tratadas, inicialmente, com thiovit na dosagem de 1,5 g/litro d'água, oxicloreto de cobre 3 g/litro e benlate a 1 g/litro d'água, respectivamente. Após quinze dias repetiu-se o tratamento com as mesmas dosagens. Os fungicidas foram eficientes no controle dos patógenos.

¹ Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação em Engenharia Florestal, UnB

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

³ Eng. Florestal, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

RESPOSTA DE SEMENTES DE *Psidium cattleianum* AO DESSECAMENTO E AO ARMAZENAMENTO EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Carla Faria dos Santos¹, Assis Brasil Guimarães Neto² e Antonieta Nassif Salomão³

Sementes de *Psidium cattleianum* -Myrtaceae- (araçá) foram enviadas da EMBRAPA - Clima Temperado para a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia para a classificação de seu comportamento fisiológico para fins de conservação. As sementes foram dessecadas em sílica gel por 24 e 72 horas. O conteúdo de umidade inicial de 11,5% foi reduzido para 8% (24 h) e 7% (72 h). Após o dessecamento as sementes foram armazenadas por 40 dias a 10, -20 e -196°C. Testes de germinação foram conduzidos com quatro repetições de 25 sementes, em temperaturas alternadas de 20-30°C, após a desidratação e a desidratação seguida de armazenamento. As sementes toleraram o dessecamento, uma vez que as percentagens de germinação foram de 82% (controle), 84% e 83%, 24 e 72 horas de dessecamento respectivamente. A viabilidade das sementes foi mantida durante o armazenamento nas temperaturas testadas. Sementes com 7% de umidade apresentaram maiores percentagens de germinação quando armazenadas a 10°C (92%) e a -20°C (85%) e sementes com 8% de umidade apresentaram 91% de germinação após exposição a -196°C. *Psidium cattleianum* possui sementes ortodoxas que podem ser armazenadas tanto em baixa temperatura quanto em temperaturas subzero sem que haja comprometimento de sua viabilidade.

¹ Eng^a Florestal, Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Bolsista CNPq, estudante de graduação, Engenharia Florestal, UnB.

³ Eng^a Florestal, M. Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

TESTE DE TETRAZÓLIO EM SEMENTES DE FRUTOS IMATUROS DE *Bletia catenulata*

Claudia Maria Correia de Mello¹, Rui Américo Mendes² e Luciene Dionísio Cardoso³

Em populações de orquídeas do Cerrado está havendo uma redução drástica no número de seus indivíduos e em alguns casos estão sendo dizimadas pelas alterações que vêm sendo impostas ao seu meio ambiente. *B. catenulata* é uma espécie de orquídea terrestre que possui inflorescência de 100 cm de comprimento e em torno de 14 flores de cor lilás, que se abrem à medida que a inflorescência cresce. Como todas espécies de orquídea, seus frutos quando maduros são deiscentes e em expedição de coleta quase nunca são encontrados em estágio de pré-deiscência, estando ainda verdes ou então já secos com as sementes já liberadas. Assim, são coletados poucos indivíduos que não representam a população amostrada. O convênio firmado entre o Jardim Botânico de Brasília e a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia tem possibilitado o estudo de germinação de espécies de orquídeas do Cerrado, visando a sua multiplicação e conservação. Frutos imaturos obtidos por fecundação controlada das coletas SSC 583 X GPS 07/93, com 50 dias de desenvolvimento, foram colhidos e realizado o teste de tetrazólio para a constatação da viabilidade das sementes. Quatro horas após a instalação do teste, os embriões já se mostravam coloridos, indicando que já estavam viáveis, podendo ser semeados *in vitro* em meio de cultura.

¹ Eng. Agr., JBB/SEMATEC, pós-graduada, M.Sc., UnB.

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

³ Ass. de Operações I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

UTILIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO NA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE DEZ ESPÉCIES ARBÓREAS

Kennya Mara O. Ramos¹, Patricia Costa Bueno², Camila C. Velloso³ e Maria Magaly V.S. Wetzel⁴

O teste de tetrazólio é comumente adotado para espécies agrícolas. A adequação desse teste para as espécies arbóreas torna-se importante, pois permite avaliar e inferir sobre a germinabilidade dessas sementes, de maneira mais rápida. Objetivando padronizar o teste de tetrazólio para sementes de espécies arbóreas, foram selecionadas dez espécies e comparados os resultados obtidos entre os testes de tetrazólio (Tz) e de germinação (PG). O teste de tetrazólio foi realizado utilizando-se uma repetição de 10 sementes de cada espécie. As sementes foram reidratadas por 24 horas, em seguida, foram seccionadas longitudinalmente e imersas em solução de tetrazólio a 0,1% por 24 horas. O teste de germinação foi conduzido com uma repetição de 10 sementes, substrato entre papel, à temperatura de 25°C. As espécies apresentaram as seguintes percentagens de viabilidade e germinabilidade: *Schinopsis brasiliensis*, Tz 60%, PG 70%; *Guazuma ulmifolia*, Tz 100%, PG 80%; *Copaifera langsdorffii*, Tz 100%, PG 80%; *Cedrela odorata*, Tz 80%, PG 80%; *Magonia pubescens*, Tz 100%, PG 100%; *Solanum lycocarpum*, Tz 70%, PG 90%; *Astronium fraxinifolium*, Tz 80%, PG 90% e *Enterolobium contortisiliquum*, Tz 100% e PG 90%. No entanto, para *Chorisia speciosa*, Tz 30% e PG 90%, e *Kielmeyera coriacea*, Tz 40% e PG 80%, a viabilidade não correspondeu à germinabilidade destas espécies. O método adotado para o teste de tetrazólio foi eficiente para verificar a viabilidade da maioria das sementes estudadas, uma vez que as percentagens de sementes viáveis foram semelhantes às obtidas no teste de germinação.

¹ Bolsista, GEF/CNPq, estudante de graduação, Biologia, UnB.

² Eng^o Florestal, Bolsista CNPq/GEF.

³ Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, UnB.

⁴ Eng^o Agr^o, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CONTROLE BIOLÓGICO

ANÁLISE DE SENSIBILIDADE DO MODELO DA DINÂMICA POPULACIONAL DA CIGARRINHA-DAS-PASTAGENS, *Deois flavopicta* (HOMOPTERA: CERCOPIDAE)

Osmundo Brilhante de Oliveira Neto¹, Edson Ryoiti Sujii² e Carmen Silvia Soares Pires³

A sensibilidade das variáveis: ovos diapáusicos, choque térmico, data de início das chuvas, período inicial de solo úmido, estresse hídrico, mortalidade na fase ninfal e fertilidade, foi analisada visando entender seu papel na dinâmica populacional da cigarrinha-das-pastagens. Através de simulações, verificou-se que o choque térmico sobre ovos diapáusicos e o período inicial de solo úmido no início das chuvas não afetam o tamanho das populações. A ocorrência de densidades elevadas de ovos diapáusicos (> 1000 ovos/m²) produzem populações de adultos acima do limiar econômico de dano. A mortalidade causada por estresse hídrico prolongado (> 14 dias), associada a alta taxa de predação ($> 47\%$) durante a fase ninfal, é capaz de manter a população abaixo do nível econômico de dano (30 adultos/m²). Baixas densidades (200 ovos/m²) produzem populações baixas de adultos a não ser em condições favoráveis de sobrevivência como fatores climáticos e predação acompanhados de taxas de fertilidade elevadas (2,255 ovos/fêmea/dia). Avaliação do efeito das variáveis testadas sobre a reposição da população de ovos diapáusicos mostrou que a capacidade reprodutiva das fêmeas foi o principal fator relacionado. Os resultados indicam que a mortalidade causada pelo estresse hídrico e as taxas de mortalidade devido a predação são determinantes da abundância do inseto no campo e que estimativas da população inicial de ovos diapáusicos servem para orientar o manejo da praga.

¹ Eng. Agr, MSc, Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

³ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

AVALIAÇÃO DE PATOGENICIDADE DE 41 ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* CONTRA *Anticarsia gemmatilis*, *Spodoptera frugiperda* E *Tenebrio molitor*

Marcio Mello Nobrega Soares¹, Raquel C. S. Caetano², José Manuel Cabral de Sousa Dias³ e Rose Gomes Monnerat de S. Pontes⁴

Bacillus thuringiensis é uma bactéria entomopatogênica largamente utilizada em controle biológico. Atualmente são conhecidos mais de 100 genes que produzem diferentes toxinas de *B. thuringiensis* e laboratórios de todo o mundo procuram estirpes com novos princípios ativos. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia conta com um banco de *Bacillus* sp. entomopatogênicos onde rotineiramente são efetuados testes contra *Anticarsia gemmatilis* (Lep.: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) e *Tenebrio molitor* (Col.: Tenebrionidae), entre outros. Quarenta e uma novas estirpes, isoladas de amostras de solo, foram avaliadas contra estes insetos. Os bioensaios foram conduzidos espalhando-se uma suspensão de esporos/cristais de cada estirpe na superfície das dietas artificiais dos respectivos insetos. As larvas testadas estavam no segundo ou terceiro estágio e os bioensaios foram avaliados a cada dois dias até o oitavo dia (para lepidópteros) ou décimo dia (para coleóptero). Dos quarenta e um isolados testados, 1 apresentou toxicidade contra os três insetos, 4 contra *A. gemmatilis* e *T. molitor*, 1 contra *S. frugiperda* e *T. molitor*, 8 contra *A. gemmatilis*, 1 contra *S. frugiperda*, 8 contra *T. molitor* e 18 não causaram mortalidade alguma contra nenhum dos insetos citados.

¹ Biólogo, Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Bolsista CNPq, estudante de graduação, Biologia, CEUB

³ Eng. Químico, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

AVALIAÇÃO DE PATOGENICIDADE DE NOVAS ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* CONTRA *Plutella xylostella*

Ana Maria Souza Jacobina¹ e Rose Gomes Monnerat de S. Pontes²

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lep.: Yponomeutidae), é considerada a mais importante praga das brássicas. O ataque deste inseto deprecia o produto, impedindo o crescimento da planta, além de muitas vezes causar sua morte. Em algumas regiões do mundo, este lepidóptero desenvolveu resistência a algumas toxinas de *Bacillus thuringiensis*, bactéria entomopatogênica largamente utilizada no controle biológico. Assim, faz-se necessária a identificação de novas estirpes de *B. thuringiensis* contra este inseto. O Programa de Recursos Genéticos da EMBRAPA possui um projeto no qual está sendo desenvolvido um Banco de *Bacillus* para controle biológico, onde estão armazenadas diversas estirpes brasileiras de *Bacillus thuringiensis*. Algumas destas estirpes foram testadas contra a traça. O bioensaio foi conduzido mergulhando retângulos de couve em uma solução de cada estirpe. Cada retângulo foi colocado em placas-de-petri com 10 lagartas de 2º estágio do inseto. Cada estirpe foi testada em duplicata e a mortalidade foi avaliada após 5 dias. Foram testadas 34 novas estirpes de *B. thuringiensis*, dentre as quais 9 apresentaram 100% de mortalidade.

¹ Bióloga, CEUB, Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

BANCO DE GERMOPLASMA DE BACILOS ENTOMOPATOGÊNICOS

Silvânia Ferreira da Silva¹, Rose Gomes Monnerat de S. Pontes² e José Manuel Cabral de Sousa Dias³

Desde 1989 o Laboratório de Bacteriologia da Área de Controle Biológico da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia está isolando, identificando, caracterizando e armazenando bacilos de interesse no controle biológico de insetos, com o objetivo de formar um Banco de Germoplasma. Os isolados obtidos no laboratório e os enviados por outras instituições estão armazenados em tiras de papel de filtro em ampolas de vidro seladas. Assim os isolados podem conservar suas características genéticas por longo prazo sem sofrer contaminações. O número de acessos por espécie no Banco contém 1.448 estirpes que está dividido em 663 *Bacillus cereus*, 21 *Bacillus laterosporus*, 01 *Bacillus pumilus*, 302 *Bacillus sphaericus*, 02 *Bacillus subtilis*, 358 *Bacillus thuringiensis* e 101 *Bacillus sp.* Dos 302 *Bacillus sphaericus* 85 foram sorotipados sendo que 78 pertencem ao sorotipo H5a5b e 125 mostraram-se eficazes contra *Culex quinquefasciatus*. Dos 358 *Bacillus thuringiensis* 116 foram sorotipados, 53 foram patogênicos contra *Aedes fluviatilis*, 26 contra *Culex quinquefasciatus*, 160 contra *Anticarsia gemmatalis*, 78 contra *Spodoptera frugiperda*, 74 contra *Plutella xylostella* e 07 contra *Tenebrio molitor*.

¹ Bióloga, Bolsista, CNPq.

² Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Químico, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

BIOLOGIA DA FASE NINFAL DE *Rhammatocerus schistocercoides* (REHN, 1906) EM DUAS DIFERENTES DIETAS

Camila Aguiar Freitas¹, Renata Maranhão Bressan², Adriana Araújo da Silva² e Francisco Guilherme Virgulino Schmidt³

Nas pesquisas realizadas na área de controle biológico são exigidos suprimentos contínuos de insetos tornando imprescindível a manutenção de colônias do inseto em laboratório. O estudo da biologia de pragas é extremamente importante para o estabelecimento de colônias destas em laboratório e para a seleção de agentes e estratégias que visem o controle de pragas. Foi realizado um teste para comparar o desenvolvimento de *R. schistocercoides* criados com dieta composta de folhas de cana-de-açúcar e flocos de milho com leite em pó, caldo de cana-de-açúcar e solução vitamínica, em relação a indivíduos da mesma espécie criados somente com folhas de cana-de-açúcar. A viabilidade de ovo a adulto de *R. schistocercoides* no laboratório, quando alimentado com dieta foi de 24% e alimentado somente com a folha da cana-de-açúcar, foi de 4,2%. O ciclo de vida de *R. schistocercoides* no laboratório quando alimentado com dieta de flocos de milho foi de 122 dias apresentando uma redução de 31 dias em relação aos insetos alimentados somente com folhas de cana-de-açúcar. A proporção sexual obtida foi de 1 macho para 1 fêmea, igual à obtida no campo. Foram realizadas medidas de consumo para ambos os tratamentos, mas os dados encontram-se em fase de análise.

¹ Estagiária, Estudante de graduação de Biologia, UNB.

² Bolsista, Estudante de graduação de Biologia, CEUB.

² Bolsista, Estudante de graduação de Biologia, CEUB.

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

COMPATIBILIDADE ENTRE O FUNGO *Metarhizium flavoviride* E DOSES SUBLETAIS DE INSETICIDAS QUÍMICOS PARA O CONTROLE DO GAFANHOTO *Rhammatocerus schistocercoides*

Solange Xavier-Santos¹, Bonifácio Peixoto Magalhães² e Marcos Rodrigues de Faria³

Rhammatocerus schistocercoides é um dos principais gafanhotos-praga do Brasil, afetando seriamente culturas no estado de Mato Grosso, onde intensas aplicações de praguicidas químicos têm sido realizadas. Visando reduzir o uso desses compostos, fungos entomopatogênicos, especialmente *Metarhizium flavoviride*, vêm sendo estudados para o controle de gafanhotos em vários países, incluindo o Brasil. Com o objetivo de aumentar a velocidade de ação desses patógenos, a adição de doses subletais de inseticidas químicos às formulações fúngicas foi investigada nesse trabalho. Inicialmente, foram verificados os efeitos de diferentes concentrações (5-5000ppm) de inseticidas sobre o desenvolvimento de *M. flavoviride*. Posteriormente, foram avaliados os efeitos, isolados e em combinação, de *M. flavoviride* e de inseticidas químicos sobre *R. schistocercoides*. Os resultados mostraram que os inseticidas teflubenzuron, chlorpyrifos, fenitrothion, malathion e deltamethrin quando em concentrações mínimas não afetam a germinação nem o crescimento colonial de *M. flavoviride*, apresentando respectivamente as concentrações inibitórias (CI₅₀) de 3596, 2414, 986, 378 e 275 ppm para a germinação ou 4729, 33, 28, 344 e 28 ppm para o crescimento colonial. Bioensaios mostraram que o tratamento tópico de *R. schistocercoides* com suspensão oleosa de conídios (4.500 conídios/inseto), associada a doses subletais de fenitrothion (3 µl de suspensão 25 a 250 ppm/inseto), foi capaz de adiantar o início da mortalidade de 96 h (no tratamento só com conídios) para 48 h (no tratamento com conídios + 25ppm de fenitrothion) ou para 24 h (no tratamento com conídios + 50 ou 250 ppm de fenitrothion). Além disso, os índices de mortalidade observados indicaram a ocorrência de efeito sinérgico entre o fungo e o inseticida químico.

¹ Bolsista CNPq, Estudante de doutorado da UNESP-SP.

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

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

DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DESCONTÍNUO DE PRODUÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* S93 EFETIVO CONTRA A LAGARTA-DO-CARTUCHO¹.

José Manuel Cabral de Sousa Dias², Jeanine Giusti da Costa³, Adriana Nascimento Tostes⁴, Soraia Bonadio Albino⁴, Denise Cordeiro Costa⁴, Giovanna Modesto Mello⁴ e Marlene Teixeira Souza⁵

Em um “screening” envolvendo 218 isolados bacilares, foi obtido um, denominado S93, caracterizado sorologicamente como *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, que apresentou elevada atividade larvicida contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae), principal praga da cultura do milho no Brasil. Após diversas avaliações de sua toxicidade em comparação com estirpes comerciais, decidiu-se desenvolver um bioinseticida tendo esse novo isolado como princípio ativo. Os estudos relatados a seguir foram conduzidos em incubador rotativo. Foi realizado um estudo sobre a temperatura de cultivo, tendo-se definido que a ótima para o crescimento e produção de toxinas encontra-se na faixa de 29 a 31°C. Uma comparação entre três meios de cultura: caldo nutritivo (caldo nutriente e extrato de levedura), Arcas (glicose e extrato de levedura) e HCT (triptona, hidrolisado de caseína e glicose) definiu que o meio Arcas proporcionava maiores crescimento microbiano, esporulação e eficiência larvicida contra *S. frugiperda*. Posteriormente, foi efetuado um estudo da influência da concentração das fontes de carbono e nitrogênio. Tendo-se partido da formulação original do meio Arcas com 8 g de glicose por litro, concluiu-se que as formulações mais adequadas para o processo são as de 5 ou 7 vezes a original. Finalmente, foi conduzido experimento para definir a substituição dos componentes do meio de cultura por componentes industriais mais baratos, tendo-se chegado à conclusão de que é viável substituir o extrato de levedura por autolisado de levedura e a glicose por açúcar cristal hidrolisado.

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Eng. Químico, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bióloga, Bolsista CNPq/RHAE – DTI

⁴ Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pós-graduada, Biologia, CEUB

⁵ Farmacêutica Bioquímica – Professora da UNB

ESPORULAÇÃO DE *Cercospora caricis* EM FRAGMENTOS DE FOLHA DE TIRIRICA (*Cyperus rotundus*), SOB DIFERENTES REGIMES DE LUZ

Fernanda Saldanha F.Gangana¹, Sueli Correa Marques de Mello², Zilá Ribeiro de Ávila³, Zilda Maria de Araújo Ribeiro⁴, João Sávio de Oliveira Pais⁵

A disponibilidade de técnicas de produção, formulação e a facilidade de padronização tornam preferíveis os micoherbicidas à base de esporos. Este estudo visou o desenvolvimento de metodologia para esporulação de *Cercospora caricis*, fungo que vem sendo estudado como agente de biocontrole para tiririca (*Cyperus rotundus*). Fragmentos de folhas de tiririca foram esterilizados e distribuídos em placas-de-petri contendo ágar-água. Sobre cada fragmento foi colocado um disco de micélio obtido de colônias cultivadas em meio BDA. A incubação ocorreu em BOD a 28°C sob os seguintes regimes de luz: claro contínuo, escuro contínuo, 4 h e 12 h de luz, durante 14 dias. Após este período, os fragmentos contendo os discos foram removidos, transferidos para tubos de ensaio contendo uma solução de Tween-20 (0,02%) e submetidos a agitação em vórtex, por 1 min, determinando-se a concentração de esporos, com o auxílio de um hemacitômetro. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com três repetições. A análise de variância revelou interação significativa entre regime de luz e isolados. Maior abundância de esporos foi verificada com o isolado CEN119 em regime de claro contínuo. Não foi detectada presença de esporos dos isolados CEN73 e CEN66, em nenhum dos regimes de luz adotados.

¹ Bióloga – Bolsista de iniciação científica – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

³ Eng. Agr., MSc – Bolsista CNPq

⁴ Bióloga MSc – Embrapa Recurso Genético e Biotecnologia

⁵ Assistente Operacional II - Embrapa Recurso Genético e Biotecnologia

ESPORULAÇÃO DE *Nomuraea rileyi* EM LAGARTAS DE *Anticarsia gemmatalis*

Sarah Cristina Caldas Oliveira¹, Myrian Silvana Tigano², Edson Ryoiti Sujii³ e Irene Martins⁴

O fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi* ocorre de forma epizootica em populações da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis*, na região do Distrito Federal. Visando melhorar o atendimento da interação patógeno-praga foi avaliada a esporulação de *Nomuraea rileyi* na superfície de cadáveres de *Anticarsia gemmatalis*. As lagartas infectadas foram coletadas no entorno de Brasília, DF, mantidas individualizadas. As que apresentaram apenas micélio do fungo na superfície, foram mantidas em umidade próxima à saturação até o final da conidiogênese. Após a conidiogênese, os cadáveres foram colocados em uma solução de Tween 0,1%, agitados por 3 a 5 minutos e seus conídios foram contados com auxílio de um hemacitômetro. A taxa de esporulação do fungo em cada lagarta foi relacionado ao seu tamanho, produzindo, assim, um modelo logarítmico com o coeficiente de determinação $r = 0.79$. A equação do modelo é a seguinte: $Y = \text{Log}_{10}^{0.45 + 0.09x}$; $F = 66.89$; onde Y = número de esporos e X = comprimento da lagarta em mm. Através desse modelo pode-se estimar a quantidade de esporos no campo a partir do levantamento de lagartas infectadas e seu respectivo tamanho. O efeito de diferentes níveis de umidade relativa do ar (53, 75, 93, 97, 100%) no processo de esporulação de *Nomuraea rileyi* em lagartas de *Anticarsia gemmatalis* será discutido. Esses dados serão utilizados no desenvolvimento de um modelo de previsão de epizootia de *Nomuraea rileyi* em população de *Anticarsia gemmatalis*.

¹ Bióloga, UNB, Bolsista CNPq.

² Eng^a Agr^a, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Administradora, Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

ESTUDO DE DIFERENTES MEIOS DE CULTURA PARA O CRESCIMENTO E ESPORULAÇÃO DE *Dicyma pulvinata*

Maria de Fátima Santos¹, Fernanda Saldanha S. Gangana² e Sueli Correa Marques de Mello³

O mal-das-folhas causado por *Microcyclus ulei* é considerado o principal fator limitante da produção do látex e expansão da cultura da seringueira. Dentre as medidas de controle mais promissoras para esta doença, destaca-se o controle biológico através do fungo *Dicyma pulvinata*. Os seringueiros da região de São José do Rio Claro, MT, vêm utilizando este fungo. Entretanto, o processo de produção é artesanal e incipiente para adoção em larga escala, tornando necessária a realização de estudos básicos para otimizá-lo. Neste sentido, foram avaliados os seguintes meios para cultivo: suco V8, extrato de folha de seringueira, meio Richard, batata-dextrose-ágar, leite de coco, água de coco, aveia-sacarose, levedura-malte e levedura-manitol. Na avaliação dos resultados verificou-se que tanto o crescimento micelial quanto a esporulação foram influenciados pela composição do meio. O meio à base de água de coco proporcionou valores mais elevados de concentração de esporos. Meios como o V8 e Richard que, inicialmente favoreceram o crescimento do fungo, não mantiveram a velocidade de desenvolvimento das colônias a partir da terceira avaliação.

¹ Eng^a Agr^a, MSc, Bolsista CNPq.

² Bióloga, Bolsista iniciação científica Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng^a Agr^a, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

INFECÇÃO DE *Rhammatocerus schistocercoides* (ORTHOPTERA: ACRIDIDAE) PELOS PROTOZOÁRIOS *Nosema locustae* E *Johenrea locustae*

Silva, A.A. da ¹ & João Batista Tavares da Silva²

Os protozoários são conhecidos como importantes agentes na regulação natural da população de insetos, sendo os microsporídeos um dos principais grupos entomopatogênicos. Algumas espécies de microsporídeos têm sido isoladas de acridídeos, sendo as mais patogênicas as pertencentes ao gênero *Nosema*. Neste sentido, ninfas de 5º e 6º estágio de *R. schistocercoides* (Orthoptera: Acrididae) foram coletadas em Silvânia, GO, e mantidas em gaiolas em temperatura ambiente. Estas ninfas foram infectadas com esporos de *Nosema locustae* (Microspora: Nosematidae) isolados dos gafanhotos argentinos, *Dichroplus pratensis*, *Neopedies brunneri*, *Rhammatocerus pictus* e com esporos de *Johenrea locustae* (Microspora: Glugeidae), de Madagascar. Após jejum de 24h, os insetos foram alimentados, individualmente, com folha de cana-de-açúcar de área de 1,5 cm², e estavam pulverizados com uma suspensão de 10⁸ esporos/ml. As observações foram realizadas, diariamente, até 40º dia. Os gafanhotos, à medida que morriam, foram dissecados e analisados em microscópio ótico para constatar a infecção provocada pelos microsporídeos. As taxas de mortalidade obtidas compreenderam 55%, 50% e 27%, quando foram utilizados *N. locustae* isolados, respectivamente, de *D. pratensis*, *N. brunneri* e *R. pictus*, e taxa de 44% utilizando-se *J. locustae*. Os resultados obtidos são promissores, pois tanto *N. locustae* quanto *J. locustae* não são nativos de *R. schistocercoides*. Paralelamente foram realizadas dissecações em vários acridídeos coletados no campo, mas não foi possível a detecção de microsporídeos nativos.

¹ Bolsista do RHAÉ, Estudante de Biologia, CEUB.

² Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

INFLUÊNCIA DA PLANTA HOSPEDEIRA NA CAPACIDADE REPRODUTIVA DA CIGARRINHA-DAS-PASTAGENS, *Deois flavopicta* STAL (HOMOPTERA: CERCOPIDAE)

Elaine Alves Silva¹, Carmem Silva Soares Pires² e Edison Ryoiti Sujii³

A expressão da capacidade reprodutiva de uma espécie é limitada pela resistência que o ambiente exerce sobre o seu potencial biótico. Estudos estão sendo conduzidos para avaliar se a planta hospedeira é um fator ambiental capaz de alterar a capacidade reprodutiva da espécie como alimentação de ninfas e adultos. Resultados preliminares mostraram que fêmeas de cigarrinhas-das-pastagens criadas em plantas de *Brachiaria decumbens* Stapf, uma espécie introduzida, apresentaram uma taxa de fertilidade de 38 ovos/fêmea. Esta taxa foi maior que a taxa de 12 ovos/fêmea, obtida em cigarrinhas criadas em *Axonopus marginatus* Chase, uma de suas hospedeiras nativas. A densidade de adultos, devido aos danos que estes causam na planta hospedeira durante a alimentação, parecem ser outro fator que altera a capacidade reprodutiva das populações podendo resultar em níveis de regulação populacional próprios para cada interação inseto/planta. O entendimento de como fatores ambientais afetam a dinâmica populacional do inseto através de sua capacidade reprodutiva e influenciam o manejo da espécie como praga, será discutido.

¹ Bolsista CNPq, estudante de Biologia, CEUB.

² Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

INTERAÇÃO ENTRE REGIME DE LUZ E COMPOSIÇÃO DE MEIO DE CULTURA NO CRESCIMENTO MICELIAL E ESPORULAÇÃO DE ISOLADOS DE *Cercospora caricis*

Leonardo T. Hatano¹, Zilá Ribeiro de Ávila², Sueli Correa Marques de Mello³ e Zilda Maria de Araújo Ribeiro⁴

O crescimento lento e a escassez de esporulação constituem características comuns do gênero *Cercospora*, que dificultam a produção de inóculo, através de técnicas usualmente empregadas para desenvolvimento de micoherbicidas. Neste trabalho, buscou-se avaliar os efeitos da composição do meio de cultura e do fotoperíodo no crescimento micelial e na esporulação dos isolados CEN66 e CEN115 de *C. caricis*, agente de biocontrole para tiririca (*Cyperus rotundus*). Foram testados os seguintes meios: V8ágar, suco de tomate caseiro-ágar (STA), batata-dextrose-ágar e extrato de folha de tiririca-ágar (EFTA). Discos de colônias com 10 dias de idade foram transferidos para as placas-de-petri, contendo estes meios e incubados a 28°C nos fotoperíodos de claro contínuo, escuro contínuo, 4 h e 12 h de luz, durante 25 dias. Para a avaliação do crescimento das colônias, foram tomadas duas medidas perpendiculares do diâmetro das colônias. Após o período de incubação, eliminou-se o micélio aéreo por meio de raspagem, mantendo-se as placas inclinadas em bandejas à temperatura ambiente por 96 h. Os esporos foram, então, removidos por meio de lavagens da superfície da cultura com uma solução de Tween-20, procedendo-se a contagem de esporos, com o auxílio de um hemacitômetro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições. A análise de variância revelou diferença significativa quanto ao crescimento das colônias dos dois isolados, bem como interação significativa entre isolados, regimes de luz e meios de cultura. De um modo geral, o isolado CEN66 apresentou maior crescimento de micélio que o CEN115, mostrando-se, porém, mais vulnerável quanto à capacidade de esporulação. Esta foi mais abundante em meio EFTA e regime de 4 h de luz. Não foi detectada a presença de esporos nos meios BDA e STA.

¹ Biólogo, Bolsista CNPq/RHAE.

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

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

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

ISOLADO TEMPORAL DE NUCLEOPOLIEDROVÍRUS DE *Anticarsia gemmatalis* INDUZ APOPTOSE EM LINHAGENS CELULARES PERMISSIVAS

Angélica Rogério de M. Pontes¹, Alice Araújo Martins Melo² e Maria Elita Batista de Castro³

Em estudos de caracterização de isolados temporais de nucleopoliedrovírus de *Anticarsia gemmatalis* (AgNPV), coletados em culturas de soja, foi identificado um isolado AgNPV 89/90 (proveniente da safra 1989/90) causando lise prematura em células de *A. gemmatalis* (UFLAG 286). Análises comparativas foram feitas entre esse isolado e o isolado padrão AgNPV 79 (safra 1979) referentes à suscetibilidade celular, degradação do DNA celular, partículas virais PIBs e ARVs e análise de restrição do DNA viral. Para verificar a susceptibilidade de diferentes linhagens celulares a esses isolados, sete linhagens foram infectadas com AgNPV 89/90 e AgNPV 79 e observadas por microscopia de contraste de fase em diferentes horas após infecção (6, 12, 24, 48 e 72h p.i.). Duas linhagens, que foram produtivas ao AgNPV 79 (*Trichoplusia ni* – TN5B1-4 e *A. gemmatalis* – UFLAG 286), exibiram lise a partir de 12h p.i., quando infectadas com AgNPV 89/90. Observou-se também que o processo de lise progrediu no decorrer da infecção, alcançando, em 48h p.i., a maioria das células. Eventos de apoptose, tais como lise celular prematura com formação de corpos apoptóticos e degradação de DNA celular em fragmentos do tamanho de oligonucleossomos foram observados por microscopia óptica e por análise eletroforética em gel de agarose 2%. Os resultados mostraram que células UFLAG 286 e TN5B1-4 foram permissivas ao AgNPV 79 apresentando efeitos citopáticos típicos de uma infecção produtiva, mas não foram para o isolado AgNPV 89/90, que induziu apoptose dessas células impedindo a formação de partículas virais durante a infecção. Isto sugere que alterações no genoma do AgNPV 89/90 podem estar não somente induzindo a morte programada das células como também codificando inibidores apoptóticos. Estudos adicionais estão sendo conduzidos para uma melhor caracterização do isolado AgNPV 89/90. Esses resultados representam importante contribuição para estudos de estabilidade genética e de patogenicidade do AgNPV e de seu uso como bioinseticida.

¹ Bióloga, CEUB, Bolsista CNPq.

² Bióloga, UNB, Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

LEVANTAMENTO POPULACIONAL DE INSETOS DA CULTURA DE REPOLHO NA REGIÃO DO DISTRITO FEDERAL

Thomas Guilloux¹, Rose Gomes Monnerat S. de Pontes², Edson Ryoiti Sujii³ e Marina Castelo Branco⁴

A traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* (Lep.: Yponomeutidae) é uma das principais pragas das crucíferas. A aparição de populações resistentes a diversos inseticidas tem conduzido a utilização de métodos alternativos de controle, como o manejo integrado de pragas. Neste contexto, foi realizado um levantamento quantitativo da população da traça e seus parasitóides no Distrito Federal. Duas parcelas de 1.000 repolhos foram plantadas na área experimental da EMBRAPA - Hortaliças. A parcela 1 situava-se próxima a um rio, com umidade mais elevada, e a 2 num local mais exposto ao vento e mais seco. Entre as parcelas haviam 2 quilômetros de distância e durante a duração do experimento não houve nenhuma pulverização de inseticidas. Todas as semanas, em cada parcela, 20 plantas foram colhidas para a coleta dos insetos. Estes, foram separados por estágio larval, contados e colocados em criação nos laboratórios da EMBRAPA - Recursos Genéticos e Biotecnologia, até a emergência dos adultos. O único inseto praga detectado foi *Plutella xylostella*. A taxa e a evolução da infestação nas duas parcelas foram praticamente idênticas. Os parasitóides presentes foram: *Diadegma* spp., *Apanteles* spp. e *Oomyzus sokolowskii*. A percentagem de parasitismo total não diferiu entre as parcelas, entretanto a proporção entre cada um dos parasitóides foram diferentes, indicando haver preferência por alguma condição ambiental.

¹ Biólogo, Doutorando, Bolsista do governo Francês.

² Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

⁴ Eng. Agr., PhD, Embrapa Hortaliças.

LIGAÇÃO ENTRE A PREFERÊNCIA DE OVIPOSIÇÃO E O DESEMPENHO DA PROLE NA CIGARRINHA-DAS-PASTAGENS *Deois flavopicta* (HOMOPTERA: CERCOPIDAE)

Osmundo Brilhante de Oliveira Neto¹, Carmen Silvia S. Pires², Eliana Maria Gouveia Fontes² e Edson Ryoiti Sujii³

Usando a praga de pastagens, *Deois flavopicta* Stal, que oviposita no solo e não nos tecidos da planta hospedeira, nós testamos, pela primeira vez num sistema tropical, a hipótese da constrição filogenética. Baseando-se no comportamento de oviposição das fêmeas, essa hipótese tenta explicar por que algumas espécies de inseto têm a capacidade de apresentar explosões populacionais e outras não. Nós testamos os efeitos da planta hospedeira e da qualidade da planta sobre a preferência de oviposição das fêmeas e desempenho de suas proles sobre as plantas escolhidas. As fêmeas não apresentaram preferência entre as hospedeiras *Brachiaria decumbens*, uma gramínea introduzida, e *Axonopus marginatus*, uma gramínea nativa. Elas também não apresentaram uma preferência muito forte em relação a diferenças na qualidade da planta hospedeira (nitrogênio, fibra, e quantidade de água). Contudo, de um modo geral, o desempenho das ninfas, medido através da sobrevivência total e duração do período ninfal, foi melhor nas plantas com baixo conteúdo de fibras, alto teor de nitrogênio e conteúdo de água. Assim, nós podemos concluir que na espécie *D. flavopicta* não existe uma ligação forte entre a preferência de oviposição das fêmeas e subsequente desempenho das ninfas. Esses resultados estão de acordo com as predições da hipótese da constrição filogenética, de que, nas espécies onde não há tal ligação, existe o potencial para explosões populacionais.

¹ Eng. Agr., MSc. Bioquímica, UFCE.

² Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO E COLHEITA DO FUNGO *Metarhizium flavoviride*

Leonardo R. da Costa¹, Bonifácio Peixoto Magalhães², Marcos Rodrigues de Faria³ e Darcilene Andrade Pires⁴

A procura por métodos de controle de pragas menos agressivos ao ambiente e à saúde humana tem despertado o interesse pela produção de biopesticidas, ou seja, um produto no qual a parte ativa é composta por patógenos como vírus, fungos, protozoários ou bactérias. Dentre estes patógenos, o fungo *Metarhizium flavoviride* é de grande importância para o Brasil, uma vez que pode causar altos níveis de mortalidade em gafanhotos, principalmente *Rhammatocerus schistocercoides*, séria praga na Região Centro-Oeste. Para o emprego de *M. flavoviride* como biopesticida contra infestações de gafanhotos é necessário uma grande quantidade de conídios (propágulos infectivos). Um estudo que desenvolva a produção deste patógeno é importante para que a relação conídios/ha seja otimizada. Dentre os passos no processo de produção de *M. flavoviride*, a colheita é um dos mais importantes. Na colheita, após secagem, os conídios são separados do substrato à base de arroz parbolizado. No presente estudo, serão testados diversos equipamentos com aparato de agitação mecânica em comparação aos processos artesanais utilizados no Laboratório de Micologia (peneira manual e lavagem com querosene) para colheita de *M. flavoviride*. A eficiência de cada método de colheita será avaliada através do rendimento (gramas de conídios/substrato), viabilidade de conídios e tempo gasto na operação de colheita.

¹ Eng. Florestal, UnB, Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

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

⁴ Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Química, UnB.

OTIMIZAÇÃO DE UM MEIO DE CULTURA PARA O CRESCIMENTO E A AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ISOLADO S93 DE *Bacillus thuringiensis* EFETIVO CONTRA A LAGARTA-DO-CARTUCHO

Jeanine Giusti da Costa¹, Adriana Nascimento Tostes², Soraia Bonadio Albino², Joseilde Oliveira S. Werneck³ e José Manuel Cabral de Sousa Dias⁴

Visando o desenvolvimento de um bioinseticida à base do isolado S93 de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, foram feitos 10 ensaios (de A a J) variando-se os componentes do meio de cultura no sentido de otimizar o crescimento, esporulação e toxicidade do isolado. Dentre os componentes utilizados nos meios de cultura encontram-se a glicose, extrato de levedura, autolisado de levedura, sacarose (açúcar cristal), ácido glutâmico e os sais $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 , KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , MnPO_4 e CaCl_2 . Todos os ensaios foram realizados em incubador rotativo a 200 rpm/ 30° C por 72h. As amostras retiradas em tempos pre-estabelecidos foram submetidas a análises de pH, massa seca, concentração de proteína e açúcares, concentração de células e esporos (U.F.C/ml). Bioensaios por diluições seriadas, com os cultivos de 48 e 72h foram também realizados contra *Spodoptera frugiperda*. Os resultados obtidos indicam o meio com 24g de glicose e 6g de autolisado de levedura como sendo o mais adequado para o cultivo do isolado S93. Neste meio obteve-se a maior biomassa (8,1g/l em 48h de cultivo), esporulação ($1,46 \times 10^8$ esp/ml em 48h de cultivo) e alta toxicidade para as larvas de *S. frugiperda* (95% nas diluições 10^{-6} e 10^{-7} com o cultivo de 48h do microrganismo). Nas mesmas condições, o açúcar cristal hidrolisado também se mostrou um substrato com bom potencial.

¹ Bióloga, Bolsista, CNPq/RHAE D.T.I

² Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Biologia, CEUB.

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

⁴ Eng. Químico, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

PREFERÊNCIA DE PARASITÓIDES POR OVOS DE DIFERENTES PERCEVEJOS

João Ricardo M. de Almeida¹, Miguel Borges², Carmen Silvia Soares Pires³ e Edson Ryoiti Sujii⁴

Os parasitóides de ovos são importantes agentes de controle biológico de percevejos pragas da soja. O presente estudo teve por objetivo analisar a preferência dos parasitóides *Trissolcus basalis*, *Trissolcus urichi*, *Trissolcus teretis* e *Telenomus podisi*, em relação a ovos de diferentes hospedeiros. Placas-de-petri (3,5 cm de diâmetro), contendo 10 ovos de cada hospedeiro (*Nezara viridula*, *Acrosternum aseadum*, *Euschistus heros* e *Piezodorus guildinii*), dispostos equidistantemente, foram usadas como arena de múltipla escolha. Uma fêmea de 48 horas de idade foi liberada por 6 horas na arena. Após a retirada da fêmea, os ovos foram incubados aguardando-se a emergência de insetos. A avaliação da taxa de parasitismo revelou que dos ovos parasitados por *T. podisi*, 76% são de *E. heros* e 14% de *P. guildinii*. Dos ovos parasitados por *T. basalis* 79% são de *N. viridula*, 20% de *E. heros* e 1% de *A. aseadum*. Enquanto 49% dos ovos parasitados por *T. urichi* foram de *A. aseadum*, 28% de *E. heros* e 13% *P. guildinii*. *T. teretis* também teve o maior percentual de parasitismo em *A. aseadum*, 91%, e 9% em ovos de *E. heros*. As diferenças na escolha dos hospedeiros pelos parasitóides influenciam diretamente na dinâmica populacional das espécies envolvidas e na escolha de como manejar o agente de controle biológico. Isto porque, para cada espécie de percevejo, há um parasitóide que causa maior mortalidade na sua população.

¹ Biólogo, UNB, Bolsista RHA/E/ICT

² Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

PREFERÊNCIA DO PARASITÓIDE *Trissolcus urichi* POR OVOS DE *Euschistus heros* DE DIFERENTES IDADES

Gustavo Rodrigues Canale¹, Miguel Borges² e Edison Ryoiti Sujii³

Os parasitóides de ovos são importantes agentes de controle biológico de percevejos pragas da soja, que parasitam ovos de diferentes idades e hospedeiros. O presente estudo teve por objetivo analisar a preferência do parasitóide *T. urichi* em relação a ovos de *Euschistus heros* de diferentes estágios de desenvolvimento embrionário. Placas-de-petri (3,5 cm de diâmetro), contendo 4 grupos de 30 ovos com as respectivas idades 24h, 48h, 72h, 96h, dispostas equidistantemente, foram usadas como arena de múltipla escolha. Uma fêmea de 48h de idade, com experiência em parasitismo, foi liberada por 6h na placa. Após a retirada da fêmea, os ovos foram incubados aguardando-se a emergência de insetos. A avaliação da taxa de parasitismo revelou que existe preferência de oviposição de *T. urichi* em relação à idade dos ovos do hospedeiro *E. heros* ($\chi^2=16,13024$; g.l.= 3; $p= 0,001066$). Do total de ovos parasitados, 18% tinham 24 horas de desenvolvimento embrionário; 27%, 48 horas; 32%, 72 horas; e 23% dos ovos parasitados tinham 96 horas. Houve um maior percentual de parasitismo em ovos com 72 horas de desenvolvimento. Com este resultado podem ser sugeridas mudanças no manejo de colônias de parasitóide *T. urichi*. Assim, oferecendo ovos com 72 horas de desenvolvimento aumentaria a taxa de parasitismo e, conseqüentemente, o número de parasitóides. Em estudos posteriores pode-se analisar possíveis semioquímicos presentes nestes ovos e ausentes em outros, utilizando-os como caïromônios para o controle biológico de percevejos.

¹ Biólogo, Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

PUBLICAÇÕES GERADAS DOS RESUMOS APRESENTADOS NOS SIMPÓSIOS DE CONTROLE BIOLÓGICO: UMA AVALIAÇÃO PRELIMINAR

Renata Maranhão Bressan¹, Germana Fernandes Martins dos Anjos², José Manuel Cabral de Sousa Dias³ e João Batista Tavares da Silva⁴

As reuniões científicas têm propiciado o intercâmbio de informações e de debates entre pesquisadores, técnicos e estudantes. Um dos produtos mais importantes destas reuniões é a publicação dos resumos dos trabalhos em Anais. Os resumos propiciam a divulgação de resultados de pesquisa que estão em andamento e as discussões provenientes desses resultados podem contribuir na melhoria ou agregação de novas idéias para o desenvolvimento dos trabalhos de pesquisa. Neste sentido, procurou-se verificar se os resultados de pesquisa, divulgados sob a forma de resumos, geraram publicações. Para o trabalho, utilizaram-se os Anais dos Simpósios de Controle Biológico realizados em 1988 (Rio de Janeiro, RJ), 1990 (Brasília, DF), 1992 (Águas de Lindóia, SP), 1994 (Gramado, RS) e 1996 (Foz de Iguaçu, PR). Foi enviado um questionário ao primeiro autor de cada resumo perguntando, basicamente, se o resumo publicado nesses Anais tinha gerado ou não publicação. Considerou-se como trabalho gerado aquele que foi publicado em qualquer veículo de divulgação, ou quando se encontrava no prelo (aceito para publicação). Dos 1.065 questionários enviados 487 (45,7%) foram devolvidos. Deste total, 313 (63,4%) resumos não geraram publicações, enquanto o restante, 174 (36,6%) foram publicados, principalmente em periódicos. Outras informações como as razões de o resumo não ter gerado publicação (a pesquisa está em andamento; a publicação foi aceita, mas não publicada), linhas de pesquisa, instituição onde foi desenvolvido o trabalho, entre outras, estão sendo tabuladas. Os questionários que não foram respondidos estão sendo enviados para outros autores membros da equipe do resumo publicado.

¹ Bolsista, Estudante de graduação de Biologia, CEUB.

² Geógrafa, UPIS, Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Químico, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

RECONHECIMENTO DE MARCAÇÃO INTRAESPECÍFICA DO PARASITÓIDE *Telenomus podisi* EM OVOS DO PERCEVEJO DA SOJA, *Euschistus heros*

Werner Bessa Vieira¹, Miguel Borges², Carmen Silvia Soares Pires³ e Edson Ryoiti Sujii⁴

O comportamento de oviposição do parasitóide *Telenomus podisi*, foi previamente estudado em nossos laboratórios e consiste das seguintes fases: encontro, tamborilamento, parasitismo e marcação. Este estudo teve por objetivo verificar se fêmeas do parasitóide *Telenomus podisi* reconhecem ovos do seu hospedeiro previamente parasitados e marcados. Para isso um grupamento contendo 5 ovos de *Euschistus heros* foram colocados fixados em uma cartela de 1cm x 0.8cm. As cartelas foram colocadas em uma placa-de-petri (3,5cm de diâmetro), onde foi liberada uma fêmea de *T. podisi*. Observou-se o comportamento de oviposição durante 10min. Após os 10min, a fêmea foi afastada dos ovos em intervalos crescentes de tempo de 1h, 2h, 3h, e 20h. Após cada intervalo de tempo as fêmeas foram recolocadas junto aos mesmos ovos e o comportamento de oviposição foi novamente observado. Os resultados deste estudo revelaram que 100% dos parasitóides reconheceram a sua marcação, independente do intervalo de tempo dado. Esse resultado sugere um estudo posterior para averiguar se a marcação é química ou física.

¹ Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pós-graduando, Biologia, UnB.

² Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

SELEÇÃO DE FUNGOS PATOGÊNICOS A AGUAPÉ (*Eichhornia crassipes*)

Taíssa Carolina M. Machado¹, Zilda Maria de Araújo Ribeiro², Sueli Correa M. Mello³ e Myrian S. Tigano³

O aguapé, *Eichhornia crassipes*, é uma planta daninha aquática muito problemática em mananciais hídricos, em diversas partes do mundo, amplamente distribuída no Brasil. Na Flórida, vários métodos de controle vêm sendo tentados contra esta planta daninha, incluindo o controle biológico através de fitopatógenos, principalmente fungos. Entre os agentes com potencial para controle do aguapé, *Cercospora rodmanii* vem recebendo muita atenção e sua eficácia sendo confirmada em casa de vegetação e campo. Neste trabalho buscou-se avaliar isolados fúngicos provenientes das regiões Nordeste e Sul, quanto à patogenicidade ao aguapé. Foram testados 60 isolados, em casa de vegetação, sendo o inóculo preparado de culturas puras crescidas em BDA. Plantas coletadas no Lago Paranoá, após aclimatação, foram aspergidas com a suspensão fúngica, submetidas em câmara úmida por 48 horas e observadas por 45 dias. Vinte e quatro isolados, foram também avaliados em folhas destacadas, incubadas com discos de micélio, em placas-de-petri, a 26° C e fotoperíodo de 12h, por 48 horas. Doze destes isolados, induziram sintomas de manchas foliares necróticas, sendo os mesmos reisolados das lesões. Sete, dentre eles, foram identificados como *Cercospora*, provavelmente *C. rodmanii*. O teste em folhas destacadas não se mostrou adequado para avaliação da patogenicidade de fungos ao aguapé, uma vez que não se observaram sintomas.

¹ Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pós-graduada, Biologia, CEUB.

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

³ Eng^a Agr^a, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng^a Agr^a, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

TRANSFORMAÇÃO DO FUNGO *Trichoderma*, AGENTE DE CONTROLE DE *Crinipellis pernicioso*, COM GREEN FLUORESCENT PROTEIN (EGFP) E RESISTÊNCIA A BENOMIL

Paulo Roberto Q. da Silva¹, Maria Cléria Valadares Inglis² e Peter Ward Inglis³

A vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Crinipellis pernicioso*, é considerada uma das mais sérias enfermidades do cacaueteiro, chegando, em alguns casos, a comprometer até 90 % da produção. O fungo *Trichoderma harzianum* apresenta capacidade de micoparasitar uma série de fitopatógenos, dentre os quais encontra-se o fungo *C. pernicioso*. Técnicas de RAPD e RFLP vêm sendo utilizadas para estudar a variabilidade genética de linhagens de *Trichoderma*. Devido a sua ampla variabilidade, tornou-se importante buscar e introduzir marcas alternativas, as quais podem permitir a diferenciação de linhagens utilizadas em campo e laboratório, como ferramentas auxiliares nos estudos de interação do fungo com o patógeno. Linhagens de *Trichoderma* foram transformadas com os plasmídios pEGFP/gpd/tel e pBT6-tel contendo, respectivamente, o gene da *green fluorescent protein* modificado e o gene de β -tubulina modificado, o qual confere resistência ao fungicida benomil. Utilizou-se o sistema de PEG para transformação, sendo os prováveis transformantes selecionados em meio contendo benomil. Utilizou-se microscopia de fluorescência para a identificação dos transformantes expressando o gene de fluorescência. Colônias selecionadas foram testadas quanto à estabilidade genética. Foram feitas análises de Southern Blot, utilizando-se os genes de EGFP e benomil para avaliação da integração dos genes introduzidos, bem como estudos de RFLP e RAPD das linhagens transformadas. A técnica de PCR vem sendo usada para estudos de persistência dos transformantes inoculados em solo.

¹ Biólogo. Bolsista Capes, mestrando, UnB.

² Bióloga. PhD. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Biólogo. PhD. Consultor da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

ULTRAESTRUTURA DE CÉLULAS DO INTESTINO MÉDIO DE *Anticarsia gemmatalis* INFECTADAS COM AgNPV FORMULADO COM ÁCIDO BÓRICO

Alice Araújo Martins Melo¹, Angélica Rogério de Miranda Pontes² e Maria Elita Batista de Castro³

Pesquisas têm demonstrado que o ácido bórico pode ser usado em formulações virais para aumentar a virulência e a velocidade de morte por vírus entomopatogênicos. Baseado nisso, estudos de ultraestrutura celular foram conduzidos visando identificar por microscopia eletrônica em que tempo após infecção partículas virais são formadas e se a quantidade de partículas produzidas é aumentada em presença de ácido bórico. Larvas de *Anticarsia gemmatalis* foram tratadas em dieta artificial formulada com nucleopoliedrovírus de *A. gemmatalis* (AgNPV-2D) (4×10^5 poliedros (PIBs)/100 ml de dieta) e com a mistura de AgNPV-2D e ácido bórico (0,045 g/100ml). Após 24 horas, todas as larvas foram transferidas para uma dieta sem vírus e sem ácido bórico, permanecendo sob este tratamento até 120 horas. Para cada ensaio foram utilizadas 3 larvas/tratamento, com duas repetições. Intestinos de larvas foram retirados após 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas de infecção, fixados, emblocados e cortados em ultramicrótomo. Cortes ultrafinos foram, então, observados no microscópio eletrônico. Até 72h. p. i. não foram visualizados PIBs em qualquer dos tratamentos utilizados, em 96h p.i. foi detectada presença de PIBs apenas em larvas tratadas com AgNPV-2D e ácido bórico, e em 120h p.i. em ambos os tratamentos. Essas observações mostraram que em insetos infectados por AgNPV-2D formulado com ácido bórico houve uma maior produção de progênie viral em um menor tempo de infecção do que aqueles infectados por vírus sem ácido bórico. Essas informações contribuirão para o desenvolvimento de estudos de melhoramento de baculovírus como inseticida biológico

¹ Bióloga, Estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Bióloga, Bolsista CNPq.

³ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

USO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DA MOSCA-BRANCA (HOMOPTERA: ALEYRODIDAE), *Bemisia tabaci*, RAÇA B

Darcilene Andrade Pires¹, Marcos Rodrigues de Faria² e Myrian Silvana Tigano³

A mosca-branca *Bemisia tabaci*, raça B, tem causado sérios prejuízos à agricultura brasileira desde a sua introdução em 1991. Mais de 700 espécies de plantas são hospedeiras desse inseto, dentre elas, culturas de grande valor econômico como: melão, tomate, melancia, feijão, algodão e plantas ornamentais. O uso de inseticidas químicos tem sido o único método de controle empregado até o momento. No entanto, a aplicação indiscriminada desses produtos tem ocasionado danos ao ambiente e à saúde humana, além de contribuir para o surgimento de populações resistentes. O emprego de fungos entomopatogênicos pode reduzir, ou mesmo substituir o uso de agrotóxicos. O presente trabalho tem como objetivo geral desenvolver ou adaptar um bioinseticida à base de fungo contra a raça B de *B. tabaci*. A primeira etapa do projeto de pesquisa consistirá na seleção em laboratório de isolados fúngicos virulentos a ninfas deste inseto. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia dispõe de um Banco de Fungos Agentes de Controle Biológico, composto por mais de 700 acessos, de onde serão obtidos os isolados. Produtos comerciais à base de fungos, em comercialização em outros países, serão igualmente avaliados. Testes em casa de vegetação e em campo (lavouras de melão e melancia) serão realizados com o(s) isolado(s) fúngico(s) selecionado(s). No presente momento, testes preliminares estão sendo conduzidos no sentido de ajustar a metodologia dos bioensaios.

¹ Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estudante de graduação, Química, UnB.

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

³ Eng. Agr., PhD, Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia.

USO DE *Metarhizium flavoviride* (HYPHOMYCETES) COMO AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO DE *Stiphra robusta* (ORTHOPTERA: ACRIDOIDEA, PROSCOPIIDAE)¹

Sérgio Vicentini² e Bonifácio Peixoto Magalhães³

O fungo *Metarhizium flavoviride* está sendo utilizado com sucesso em pesquisas de controle biológico de gafanhotos. Uma extensão desses estudos está sendo desenvolvida no Rio Grande do Norte, onde *Stiphra robusta* tem causado danos consideráveis à fruticultura da região. Ensaios iniciais de temperatura mostraram que o desenvolvimento do processo infectivo é afetado por temperaturas amenas (17°C e 22°C), havendo retardamento do início da mortalidade. Já a 27°C e 32°C, obtiveram-se até 100% de infecção dos indivíduos tratados. Em ensaios de campo utilizando mudas de cajueiro foram analisados parâmetros, como hora de aplicação da suspensão fúngica, preferência alimentar, redução do consumo de área foliar por insetos infectados e duração da patogenicidade do agente exposto ao meio ambiente. O melhor tratamento foi obtido com aplicação diurna, não apresentando alimentação satisfatória à noite. Não houve diferença significativa quanto à preferência entre folhas tratadas e não tratadas (56% e 66% de área foliar consumida, respectivamente). Porém, o consumo de área foliar reduziu drasticamente com o passar dos dias após a aplicação do fungo. Após 7 dias, 100% dos insetos tratados morreram, havendo queda da alimentação do 1º ao 3º dia (63,72% para 48,27% da área foliar), com interrupção da alimentação a partir do 4º dia. Aos 4 dias de exposição do fungo no campo, a virulência foi de apenas 10% contra 80% no primeiro dia.

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Bolsista CNPq, doutorando UNB – Departamento de Ecologia.

³ Engº Agrº, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

EXPLORAÇÃO BOTÂNICA E COLETA DE GERMOPLASMA

DIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS EM DUAS MATAS DE GALERIA NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIACHO FUNDO, DF¹

Alexandre Bonvesso Sampaio², Bruno Machado Teles Walter³ e Jeanine Maria Felfili⁴

Matas de Galeria são extremamente variáveis em escala local, havendo mudanças florísticas em função da drenagem do solo e disponibilidade de luz. Tais mudanças são perpendiculares e paralelas aos cursos d'água. Ambientes semelhantes, de Matas distintas, revelariam maior similaridade do que a encontrada em ambientes diferentes, de uma mesma Mata? A diversidade das Matas que acompanham córregos principais seria maior do que a encontrada em seus tributários? Para responder essas questões foram comparados os levantamentos fitossociológicos realizados nas Matas do córrego Riacho Fundo e Açudinho, seu tributário. Ambas situam-se na Fazenda Sucupira (15°52'-15°56'S; 48°00'-48°02'W), Distrito Federal. Foram alocadas sistematicamente 118 parcelas de 10m x 20m, amostrando-se todos os indivíduos arbóreos com DAP \geq 5cm. Os dados obtidos foram classificados pelo método TWINSpan. A amostragem no Riacho Fundo incluiu 1.956 indivíduos (1,58ha, 153 spp., H'=4,14) e no Açudinho 1.331 (0,78ha, 130 spp., H'=4,30). A primeira divisão do TWINSpan separou as parcelas em clareira, caracterizadas pela presença de *Tibouchina candolleana*, das demais. A segunda divisão, nas parcelas de dossel fechado, separou solos bem drenados de solos mal drenados, sendo estes caracterizados por *Cyathea* sp., *Pseudolmedia laevigata* e *Tapirira guianensis*. Trechos semelhantes nas duas Matas apresentaram composição florística similar, independente da distância, sendo que a diversidade da Mata do tributário foi maior que a encontrada no córrego principal.

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Engº Florestal, Bolsista PIBIC.

³ Engº Agr. e Engº Florestal, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Engª Florestal, PhD, Professora da UNB.

USO DE MAPAS AMBIENTAIS EM SIG PARA O DIRECIONAMENTO DA COLETA DE ESPÉCIES SILVESTRES DE *Capsicum* (SOLANACEAE)¹

Janette das Flores Costa², Marília Lobo Burle³, Luciano De Bem Bianchetti⁴ e Sergio Eustáquio Noronha⁵

Os Sistemas de Informação Geográfica (SIG) vêm se tornando uma ferramenta útil para estudos com recursos genéticos, desde a confecção de mapas diversos ilustrando a ocorrência natural de espécies vegetais ou animais, até em análises geográficas mais detalhadas. Através do SIG é possível elaborar, armazenar e compor informações de mapas que descrevam condições ambientais abrangentes e identificar condições ecogeográficas específicas para um determinado local. O objetivo deste trabalho é, a partir de informações de coletas já realizadas, efetuar estudos ecogeográficos para espécies silvestres de *Capsicum* (Solanaceae), através do cruzamento de mapas ambientais e SIG, visando identificar áreas similares e propícias à ocorrência de cada espécie, direcionando futuras atividades de coleta. Utilizaram-se os seguintes mapas ambientais em SIG, em escala 1:5.000.000: Mapas de Classes de Vegetação do Brasil (IBGE, 1993), Mapas de Unidades de Relevo do Brasil (EMBRAPA/SNLCS, 1981/82) e mapa de Bioma do IBGE. Foi realizado o cruzamento destes mapas ambientais, em SIG, com os dados de passaporte das diversas espécies silvestres de *Capsicum*. Através destes cruzamentos foram obtidas informações das condições ambientais, como unidade de relevo, geomorfologia, formas de vegetação e outros. O uso de mapas ambientais em SIG sem dúvida desponta como importante ferramenta de auxílio as atividades de coleta de recursos genéticos.

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Geógrafa, UNB, Estagiária NR

³ Eng^a Agr^a, MSc, Visitante, func. CPAC.

⁴ Biólogo, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Assistente de Pesquisa I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

INTRODUÇÃO, INTERCÂMBIO E QUARENTENA DE GERMOPLASMA

A BUSCA DE INIMIGOS NATURAIS PARA CONTROLAR POPULAÇÕES DE *Bemisia argentifolii* Bellows e Perring e *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (HEMIPTERA, ALEYRODIDAE)

Patricia Regina Gonçalves Vieira¹ e Maria Regina Vilarinho de Oliveira²

Bemisia tabaci, também conhecida como do algodão, mandioca, fumo ou ainda raça ou biótipo A, era, até recentemente, a praga mais comum do Brasil. Observada a presença de *B. tabaci* em altas populações não apenas nas culturas mencionadas anteriormente como também em hortaliças e plantas ornamentais e em infestações mais severas levou-se a crer que uma raça mais agressiva desta espécie foi introduzida no país através de materiais vegetais, essa raça ou biótipo foi denominada de B ou *Bemisia argentifolii* Bellows e Perring. O controle químico não tem demonstrado sucesso no controle dessas populações por elas serem resistentes a esses produtos após poucas pulverizações. A mosca-branca, *Trialeurodes vaporariorum*, é conhecida como a mosca-branca de casas de vegetação. É uma praga de expressão econômica, parasitando cultura como tomate, fumo, pepino e muitas plantas ornamentais. Nas casas de vegetação do laboratório de Quarentena vegetal da EMBRAPA-Recursos Genéticos e Biotecnologia, esse inseto parasita aproximadamente 86 espécies de plantas. A fase imatura sésil, por ser um período relativamente longo, torna as moscas-brancas, ideais para o controle biológico. Esse controle foi desenvolvido e desde então aplicado com sucesso utilizando-se o parasitóide *Encarsia formosa*. Uma área de estudo foi estabelecida para coleta e monitoramento de inimigos naturais destas duas espécies. Foi detectado, além da presença do parasitóide *Encarsia formosa*, um hiperparasitóide *Signiphora aleyrodis*. A vespa parasitóide *Encarsia formosa* é o agente efetivo de mosca-branca de casas de vegetação. Esses endoparasitóides atacam predominantemente os 2 últimos estágios da fase imatura da mosca-branca, enquanto que o parasitóide *Signiphora* deposita seus ovos dentro das ninfas já infectadas por outro parasitóide, por isso denominado um hiperparasitóide. Uma área de estudo também foi estabelecida, porém até o momento nenhum agente natural foi encontrado a céu aberto com diversas cultivares de plantas.

¹ Bióloga, UCB, Estagiária, Embrapa recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

ADAPTAÇÃO DE *Bemisia tabaci* RAÇA B (HEMIPTERA, ALEYRODIDAE) ÀS PLANTAS HOSPEDEIRAS

Bárbara Leocádia Peron Mendes¹ e Maria Regina Vilarinho de Oliveira²

A partir da década de 80 a mosca-branca da batata-doce, *B. tabaci*, tem sido considerada uma das mais importantes pragas dos vegetais. O recente aumento na agressividade foi atribuído ao surgimento de uma nova raça dessa espécie em várias regiões do mundo, trazendo enormes danos à agricultura. Esse novo tipo foi referido como biótipo B, que difere em características biológicas do biótipo A, porém não existem evidências morfológicas consistentes que possam distinguir esses dois biótipos. A raça B de *B. tabaci* adquire resistência muito rápida aos métodos convencionais de controle, o manejo de resistência a inseticida bem como o controle integrado da praga são metodologias essenciais para diminuir o impacto causado por suas populações no ecossistema agrícola. Dessa forma para que soluções sejam executadas para o controle de mosca-branca, o controle da dinâmica de suas populações foi estabelecido. O objetivo deste trabalho foi o de conhecer a oviposição em diferentes plantas hospedeiras de *B. tabaci*. As plantas utilizadas foram: *Clarquia sortida*, pepino verde comprido, *Verbena grandiflora*, tomate cv. Santa Adélia, *Arter* e *Centauria cyanus*. As plantas foram colocadas em fileiras, com 5 repetições, distribuídas aleatoriamente dentro destas filas e colocadas em contato com adultos da mosca-branca na colônia de criação do inseto por 48 h. Em seguida, procedeu-se à contagem de ovos. A ordem de oviposição seguiu-se: *Clarquia sortida* (1.387 ovos), pepino verde comprido (1.277 ovos), *Verbena grandiflora* (1.015 ovos), tomate cv. Santa Adélia (94 ovos), *Arter rainha* (299 ovos) e *Centauria cyanus* (zero ovos).

¹ Eng. Agr., Bolsista do SENAR.

² Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

AVALIAÇÃO DA ADAPTAÇÃO DO PARASITÓIDE *Encarsia formosa* Gahan (HYMENOPTERA, APHELINIDAE) ÀS PLANTAS HOSPEDEIRAS DA MOSCA-BRANCA (*Bemisia tabaci* raça B.) (Gennadius) (HEMIPTERA, ALEYRODIDAE), VISANDO CONTROLE BIOLÓGICO

Ana Paula Miranda¹ e Maria Regina Vilarinho de Oliveira²

A mosca-branca (*Bemisia tabaci* raça B), por ser um inseto polífago e de grande adaptabilidade a plantas hospedeiras, ataca aproximadamente 506 espécies pertencentes a 74 famílias botânicas, tanto mono como dicotiledôneas. 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. Até abril deste ano, já superou os estados de MT, MS, GO, DF, TO, MA, PI, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA, MG, PR e RJ, tendendo a se multiplicar para o resto do país. A vespa parasitóide (*Encarsia formosa*), é o agente de controle biológico efetivo da mosca-branca de casa de vegetação. As fêmeas são predominantemente telíticas e os machos são raros. As fêmeas medem menos de 1mm de comprimento e podem ser reconhecidas pelo abdome amarelo e tórax preto. Esses endoparasitóides atacam predominantemente o 3º e o 4º instar da fase imatura da *Bemisia tabaci* raça B. As ninfas parasitadas tornam-se aparentemente de coloração marrom e apenas um parasitóide por hospedeiro se desenvolve. Para que haja um controle biológico eficiente da praga com seu inimigo natural, depende de vários fatores, um deles é a relação praga-inseto benéfico, a distribuição espacial e temporal que deve coincidir neste caso específico com a mosca-branca e o parasitóide. Para isto, foram feitos vários bioensaios em casa de vegetação com mudas de plantas de *Lycopersicon esculentum* cv. Nemadoro e cv. Salada, *Brassica oleracea* G. botrytis cv. Couve-manteiga e *Nicotiana tabacum* cv. Turkesh, que teve por objetivo, avaliar nos dois últimos estágios, a percentagem de ninfas parasitadas. Os resultados obtidos em termos de média foram: tomate cv. Salada – 90,75%, cv. Nemadoro – 84,25%, Couve cv. Manteiga – 19,23% e Fumo cv. Turkesh – 45,65%. O tomate cv. Salada foi a planta de maior preferência pelos parasitóides.

¹ Bióloga. Bolsista PADFIN/SDR/MA.

² Bióloga. PhD. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE CISTOS DE *Heterodera glycines*, ASSOCIADOS A SEMENTES DE SOJA

Leniza Cezar Villas-Boas¹, Vilmar Gonzaga², Renata Cesar Vilardi Tenente³ e Marli Prates⁴

A disseminação de *Heterodera glycines*, através de cistos, aderidos ou não a sementes de soja, é uma das principais formas de esse nematóide se disseminar. Portanto, os métodos utilizados na extração devem ser aferidos, para melhorar a eficiência de detecção de cistos nos laboratórios de análises nematológicas. Com esse objetivo, os métodos de extração de cistos do solo, usados no Laboratório de Nematologia da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foram testados para avaliar a eficiência na recuperação de cistos de *Heterodera glycines* associados às sementes de soja. O ensaio constou de 12 tratamentos, com cinco repetições. Os métodos incluídos foram: peneiramento a seco, funil de Fenwick e flutuação em balão de vidro, com as variações de 2; 4; 8; e 16 cistos, respectivamente, misturados a 50 sementes de soja. Verificou-se que o método do peneiramento a seco foi o mais eficiente, enquanto que os outros dois métodos apresentaram similaridade na recuperação dos cistos. Observou-se que a eficiência dos métodos foi menor, na medida que se aumentou o número de cistos por lote de sementes, sendo que o peneiramento a seco mostrou um decréscimo menos acentuado na eficiência, enquanto que os outros dois apresentaram um decréscimo maior. Os resultados sugerem que qualquer dos métodos utilizados nas análises de pequena quantidade de sementes, apresentem uma alta eficiência, principalmente no caso do número de cisto ser bem reduzido. Entretanto, recomenda-se a utilização do método do peneiramento a seco para detecção de cistos de *H. glycines*, pois este método demonstrou maior eficiência, independente do número de cistos associados às sementes de soja.

¹ Bolsista CNPq, Estudante de Agronomia, UNB.

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

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

⁴ Assistente de Pesquisa I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

ERRADICAÇÃO DE *Fusarium oxysporum* DE SEMENTES DE ALFAFA ATRAVÉS DA TERMOTERAPIA

Paula Mochel Matos Pereira Lima¹, Marta Aguiar Sabo Mendes², José Nelson Lemos Fonseca³, Alexandre Peron Mendes⁴, Alaíde Soares de Oliveira⁵ e Renata Silva Simões⁶

Sementes de alfafa (*Medicago sativa*) foram submetidas a tratamentos térmicos com a finalidade de erradicar o patógeno *Fusarium oxysporum*. Sementes de alfafa infectadas artificialmente conforme metodologia descrita em Fitopatol. bras. 22 (suplemento): 284, 1997, foram submetidas aos seguintes tratamentos térmicos: T1) testemunha (sementes contaminadas); T2) sementes contaminadas, com UR reduzida para 4,6% em câmara a 16°C e 22% UR por 21 dias; T3) sementes secas como em T2, submetidas ao pré-tratamento de 6 horas a 60°C, seguido do tratamento a 90°C por 3 horas; T4) idem T3, exceto o tratamento a 90°C por 6 horas; T5) idem T3, exceto 90°C por 9 horas; T6) idem T3, exceto 90°C por 12 horas; T7) idem T3, exceto 90°C por 15 horas; T8) idem T3, exceto 90°C por 18 horas; T9) idem T3, exceto 90°C por 21 horas; T10) idem T3, exceto 90°C por 24 horas; T11) idem T3, exceto tratamento a 95°C por 3 horas; T12) idem T3, exceto 95°C por 6 horas; T13) idem T3, exceto 95°C por 9 horas; T14) idem T3, exceto 95°C por 12 horas; T15) idem T3, exceto 95°C por 15 horas; T16) idem T3, exceto 95°C por 18 horas; T17) idem T3, exceto 95°C por 21 horas; T18) idem T3, exceto 95°C por 24 horas. As percentagens de infecção das sementes pelos fungos foram avaliadas pelo método de "blotter test" por 7 dias, a 20°C, 12 horas luz NUV/12 horas escuro. Todos os tratamentos térmicos erradicaram *Fusarium oxysporum* das sementes de alfafa.

¹ Bolsista, Estudante de graduação Engenharia Florestal, UNB.

² Eng^a Agr^a, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

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

⁴ Assistente de Operações I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Bióloga, Assistente de Operações I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁶ Bolsista RHAE/ITI, Biologia, UCB.

ERRADICAÇÃO DE NEMATÓIDES, *Ditylenchus dipsaci*, EM SEMENTES DE MILHO (*Zea mays*)

Patricia Tarchetti Rodrigues¹, Renata Cesar Vilardi Tenente², Vilmar Gonzaga³, Alexandre Peron Mendes⁴ e Valdemir Rodrigues⁵

A eficiência de tratamentos físicos e químicos foi avaliada para a erradicação de *Ditylenchus dipsaci* associados a sementes de milho. As sementes infestadas foram tratadas como descrito a seguir: 1) tratamento úmido (TU) de 40°C por 30 minutos, seguido de 60°C por 10 e 15 minutos, (TU1) e (TU2), respectivamente; 2) tratamento a seco (TS) de 60°C por 6 horas seguido de 95°C por 6 ou 5 horas, (TS1) e (TS2); 3) tratamento químico (TQ) hipoclorito de sódio (1%) mais 0.5% de formolaldeído por 30 ou 40 minutos, (TQ1 e TQ2), respectivamente; e a testemunha sem qualquer tratamento. Foram feitas quatro repetições para cada tratamento e as avaliações de nematóides no material tratado foram através do funil de Baermann e técnica da bandeja. Cada repetição constou de 50 sementes e avaliou-se a percentagem do poder germinativo, vigor e o comprimento de radícula das sementes de milho, tratadas ou não. A testemunha mostrou, em média, 97% de germinação, 96% vigor e 6,45 cm de radícula. O tratamento de hipoclorito de sódio-formolaldeído (TQ) reduziram o comprimento da radícula comparado ao controle. O tratamento úmido (TU) a 40°C por 30 minutos, seguido de 60°C por 8 minutos, resultou na melhor técnica para erradicação de *D. dipsaci* de sementes de milho, pois os parâmetros avaliados foram muito similares aos da testemunha.

¹ Estagiária, Estudante de graduação de Biologia, UCB.

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

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

⁴ Assistente de Operações I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Biólogo, Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Ralstonia Solanacearum* BIOVAR 2 (RAÇA 3) NO BRASIL

José Magno Martins Bringel¹, Patricia M. Guimarães² e Carlos A. Lopes³

A utilização de técnicas moleculares como RFLP, PCR e eletroforese de campo pulsante (PFGE) contribuíram para a elucidação das relações existentes entre isolados de *R. solanacearum*, demonstrando que a espécie é altamente complexa e heterogênea. Dentre as várias subdivisões encontradas dentro de *R. solanacearum*, a raça 3 apresentou o menor nível de heterogeneidade, o menor círculo de hospedeira, sendo basicamente limitada a batata. A diversidade intraespecífica entre isolados coletados de diferentes regiões produtoras de batata no país foi analisada através de testes de patogenicidade, testes bioquímicos e da distribuição de seqüências repetitivas no genoma via reação de polimerização em cadeia (PCR), utilizando primers REP (repetitive extragenic palindromic), ERIC (enterobacterial repetitive intergenic consensus) e BOX. A análise do DNA genômico destes isolados possibilitou a identificação de subgrupos contendo diferentes "DNA fingerprints", os quais serão avaliados quanto a sua correlação com características fenotípicas.

¹ Eng. Agr., Bolsista FAPEMA, Doutorando ESALQ.

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

³ Eng. Agr., PhD, Embrapa Hortaliças, Brasília, DF.

POSSIBILIDADE DE OBTER CLONES DE BANANEIRA COM RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE *Radopholus similis*¹

Harly Bernardes Sales², Renata Cesar Vilardi Tenente³, Vilmar Gonzaga⁴ e Lenisa Villas-Boas⁵

Na cultura da banana (*Musa* spp.) já foram relatadas 146 espécies diferentes de nematóides parasitos, o que envolve 43 gêneros. Dentre eles o nematóide *Radopholus similis* é um dos mais importantes, pois está envolvido na destruição de raízes primárias e do sistema de apoio da planta, reduzindo a absorção de água e nutrientes e no acamamento de plantas à medida que os cachos da bananeira se desenvolvem e aproxima a época da colheita. Portanto, faz-se necessário o controle rigoroso deste nematóide com utilização de mudas sadias, controle biológico e resistência genética, sendo este último o mais eficiente, prático e econômico, pois os demais métodos de controle não têm apresentado resultados satisfatórios no combate desta doença na cultura da banana. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é encontrar clones de bananeira com resistência ao nematóide *R. similis*. Foram testados 14 clones produzidos pela CAMPO (Cia. de Promoção Agrícola), pertencentes a grupos de genomas diferentes. Verificou-se que a média do número final de nematóides foi sempre menor que o número inicial inoculado, variando conforme o clone testado. O maior número encontrado de nematóides foi o clone da banana-prata anã 03 que ficou em apenas 18% em relação à população inicial inoculada. Contudo, esses clones prometem uma determinada resistência à *R. similis* mostrada em experimento sob condições de casa de vegetação .

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Eng. Agr., UNB, Bolsista RHAE – IC.

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

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

⁵ Bolsista CNPq, Estudante de graduação Engenharia Agrônoma, UNB.

PROGRAMA CRIADO PARA O CATÁLOGO DOS “FUNGOS FITOPATOGÊNICOS NÃO RELATADOS NO BRASIL”

Carlos Eduardo Nascimento dos Santos¹, Lucymeire Souza Moraes² e Marta Aguiar Sabo Mendes³

O catálogo dos “Fungos fitopatogênicos não relatados no Brasil” visa dar suporte ao sistema de quarentena de pós-entrada, face ao grande número de espécies de fungos exóticos e demanda de introdução de germoplasma no país. O presente programa foi criado com o objetivo de permitir o armazenamento dos dados das espécies exóticas constantes do compêndio, facilitando a organização, correções, pesquisas e editoração dessa publicação. O programa foi organizado em duas fases distintas, a primeira de cadastramento das informações: espécies de fungos com seus sinônimos e/ou fases anamórfica/teleomórfica; plantas hospedeiras seguidas das respectivas famílias botânicas, nomes comuns em português, inglês e espanhol, quando conhecidos; distribuição geográfica por países/locais e agrupados por continente e citações bibliográficas. Na segunda fase, são efetuados os relacionamentos entre as informações cadastradas, nas quais, cada espécie de fungo é relacionada com as respectivas hospedeiras nas quais ocorrem; nome da doença e/ou sintomas resumidos; importância econômica; método de detecção; formas de transmissão; tratamento; ocorrência ou não em sementes; temperatura ideal para ocorrência; distribuição geográfica e citações bibliográficas. Este programa também faz pesquisas a partir de filtragem de dados, selecionando-se patógeno, hospedeira, distribuição geográfica, importância econômica e ocorrência em sementes.

¹ Eng. Florestal, Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng.^a Agr.^a, Bolsista RHAÉ – DTI.

³ Eng.^a Agr.^a, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA PARA COMPOR O CATÁLOGO DOS “FUNGOS FITOPATOGÊNICOS NÃO RELATADOS NO BRASIL”.

Renata Silva Simões¹, Marta Aguiar Sabo Mendes², Carlos Eduardo Nascimento dos Santos³, Paula Mochel Matos Pereira Lima⁴, Alaide Soares de Oliveira⁵, Tatiana Maria Rocha de Araújo⁶ e Arailde Fontes Urban⁷

O catálogo de “Fungos fitopatogênicos não relatados no Brasil” tem por objetivo relacionar os principais fungos que causam doenças em plantas não descritos no país, visando agilizar as análises micológicas de germoplasma em quarentena vegetal. Foram revisadas as seguintes literaturas: Distribution maps of plant diseases, C.A.B.; C.M.I. descriptions of pathogenic fungi and bacteria, C.A.B.; European handbook of plant disease (Smith et al. 1988); Quarantine Pests for Europe (Smith et al. 1992); An Annotated list of seed-borne disease (Richardson, 1989); Fungus disease of Tropical Crops (Holliday, 1980) e Diseases of greenhouse plants (Fletcher, 1984). Nesta etapa, 1.144 espécies de fungos exóticos foram relatados, com seus hospedeiros, sintomas, método de detecção, forma de transmissão, tratamento, temperatura ideal para ocorrência, importância econômica, ocorrência ou não em semente, distribuição geográfica e referência bibliográfica.

¹ Bolsista RHAÉ – ITI, Biologia, UCB.

² Eng^a Agr^a, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Eng. Florestal, Estagiário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Bolsista, Estudante de graduação, Engenharia Florestal, UNB.

⁵ Bióloga, Assistente de Operações I, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁶ Bióloga, Visitante, CEUB.

⁷ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

SOFTWARE DE APOIO PARA IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Fusarium*

Maria de Fátima Santos¹, Luiz Alberto Martins Palhares de Melo², Marta Aguiar Sabo Mendes³ e Araidc Fontes Urban⁴

A identificação de espécies de *Fusarium* exige literatura específica, entre elas a obra "*Fusarium species: An Illustrated Manual for Identification*" Nelson et al. (1983), que se baseia em uma chave sinóptica para seções e de outra também sinóptica para espécie dentro de cada seção. As chaves sinópticas para identificação da seção e espécie baseiam-se em temas caracterizadores que, por sua vez, englobam questões que possibilitam múltiplas respostas. Entretanto, o processo de identificação através do manuseio do livro mostra-se demorado e propenso a erros: assinalando-se uma resposta, diversas outras questões devem ser excluídas por serem contraditórias com a resposta, exigindo então um trabalho de avaliação/reavaliação de questões da chave, demandando mais tempo e possibilitando erros através da marcação de respostas contraditórias. Foi desenvolvido um software de apoio, para controle das chaves sinópticas de *Fusarium*. Ao responder questões via software, ele controla a consistência das questões, evitando conclusões erradas, além de, naturalmente, diminuir o tempo gasto para responder a chave sinóptica. O programa pode também ser utilizado em outras chaves sinópticas que tenham estrutura semelhante a esta chave, ou seja, grupos hierárquicos com múltipla caracterização.

¹ Eng^a Agr^a, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Analista de Sistema, Mestre em Ciências da Computação.

³ Eng^a Agr^a, MSc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

UMA MEDIDA PROMISSORA NA ERRADICAÇÃO DE FITONEMATÓIDES EM GERMOPLASMA IMPORTADO

Valdemir Rodrigues¹, Renata Cesar Vilardi Tenente², Vilmar Gonzaga³ e Patricia Tarchetti Rodrigues¹

Plântulas de amendoim (*Arachis glabrata*), importadas da Colômbia mostraram-se infestadas pelo nematóide *Pratylenchus* sp. Faz-se necessário buscar métodos que erradiquem esse importante parasita de planta. Testaram-se quatro variações de tratamento térmico úmido, sendo as temperaturas de 55 e 60°C, com exposição ao calor de 10 e 15 minutos. Plantas sem tratamento serviram como testemunha. Cada um dos cinco tratamentos apresentou cinco repetições, para cada acesso de germoplasma que foram 14. Para os tratamentos aplicados, estes passaram por tratamento prévio de 40°C/15min. Semanalmente, foi avaliado o brotamento das partes vegetativas tratadas, comparando-as com as não tratadas. Os resultados deste experimento mostraram um brotamento tardio para o material tratado a 55°C quando comparado à testemunha. Os materiais tratados a 60°C não apresentaram brotamento durante três meses de avaliação, mostrando a morte destes acessos de germoplasma de amendoim. Todas essas variações de temperatura testadas estão sendo avaliadas para verificar a erradicação de *Pratylenchus* destes materiais. Até ao final de novembro, esses resultados estarão disponíveis e se encontrada alguma temperatura que erradique este parasita, poderá ser recomendada nos procedimentos quarentenários aplicados.

¹ Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pós-graduando, Biologia, UCB.

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

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

REPRODUÇÃO ANIMAL E IMUNOLOGIA

USO DE OVÓCITOS ATIVADOS E PRÉ-ATIVADOS COMO CITOPLASMAS RECEPTORES NA CLONAGEM EM BOVINOS¹

Luis Mauro V. Queiroz², Mauricio A. S. Peixer³, Regivaldo V. Souza⁴ e Rodolfo Rumpf⁵

O objetivo deste experimento foi comparar a eficiência de ovócitos ativados e pré-ativados como citoplasmas receptores na clonagem em bovinos. No grupo ativado (Grupo I), 707 ovócitos foram ativados, após maturação *in vitro* (MIV) por um período de 28 horas, pela incubação em solução de etanol 7%, por 5 minutos. Após 3-4 horas da ativação, 580 (82,0%) ovócitos apresentavam extrusão do segundo corpúsculo polar. No grupo pré-ativado (Grupo II), 1.455 (90,3%) dos 1.612 ovócitos possuíam, após 22,5 horas de MIV, o primeiro corpúsculo polar. Para obtenção dos citoplasmas receptores, os ovócitos dos grupos I e II foram enucleados pela remoção de 10% do citoplasma adjacente ao segundo e primeiro corpúsculo polar, respectivamente, em meio contendo citocalasina e corante específico para DNA. A eficiência da enucleação, observada pela exposição dos carioplastos a luz ultravioleta, foi de 73,1% (n=424) e 65,2% (n=948) para os grupos I e II. No grupo II, para atingirem a pré-ativação, os ovócitos enucleados foram envelhecidos por 10 horas a 39°C, e, posteriormente, resfriados a 13°C por 10 horas. Embriões produzidos *in vitro* e *in vivo*, em estágio de mórula, foram utilizados como fonte doadora de núcleos. Para tanto, as zonas pelúcidas dos embriões foram removidas e a separação dos blastômeros foi procedida utilizando solução de pronase e meio sem cálcio e magnésio, respectivamente. As eletrofusões dos complexos blastômero-citoplasma foram realizadas em solução de manitol, pela exposição a 03 pulsos elétricos de 1,0 KV/cm e 50 μ s. Após 01 hora do pulso elétrico, 79,3% (n=174) e 68,3% (n=273) dos complexos citoplasma-blastômero apresentavam fusão, nos grupos I e II, respectivamente. Em ambos os grupos, os embriões reconstruídos foram co-cultivados em monocamada de célula Vero por 8 dias. No grupo I, 125 (58,1%) dos embriões reconstruídos desenvolveram ao estágio de 16 células e 32 (14,9%) ao estágio de mórula e blastocisto. No grupo II, 174 (63,7%) dos embriões reconstruídos desenvolveram ao estágio de 16 células e 44 (16,1%) ao estágio de mórula e blastocisto. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos I e II, indicando que o uso de ovócitos ativados e pré-ativados apresentou eficiência semelhante para a clonagem em bovinos. Os dados foram analisados pelo teste de ANDEVA e a significância foi observada pelo teste de Fisher ($p < 0,05$).

¹ Resumo apresentado na sessão oral

² Médico Veterinário, MSc., Bolsista.

³ Médico Veterinário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Técnico em Agropecuária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁵ Médico Veterinário, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

ÍNDICE DE AUTORES

Albino, M. das M.C.	27,28
Albino, S.B.	68,79
Almeida, J.R.M. de	80
Alves, E.R.	25
Amaral, Z.P.S.	47
Andrade, J.F.	27,28
Anjos, G.F.M. dos	82
Aragão, F.J.L.	27,28,33,25
Araújo, A.C.G.	25
Araújo, A.L.	36
Araújo, T.M.R.	100
Ávila, Z.R. de	69,74
Barreto, C.C.	35
Barros, L.M.G.	35
Bertioli, D.	31
Bianchetti, L. de B.	90
Borges, M.	80,81,83
Brasil, M.M.	32
Brasileiro, A.C.M.	29,30
Bressan, R.M.	66,82
Bringel, J.M.M.	97
Brondani, R.V.	39,40,41,42,44,46
Bueno, P.C.	49,52,61
Burle, M.L.	90
Caetano, R.C.P.S.	63
Caldas, L.S.	55,57
Canale, G.	81
Cardoso, L.D.	60
Carneiro, M.	32,35
Carneiro, V.T.C.	24,25,26
Castelo Branco, M.	76
Castro, M.E.B.	75,86
Ciampi, A.Y.	39,41,42,48
Collevatti, R.G	43
Costa, D.C.	68
Costa, F.U.R.	55
Costa, I.R.D.	51

Costa, J.F.	90
Costa, J.G.	68,79
Costa, L.R. de M.	51,78
Deus, S. O.	30
Dias, J.M.C.S.	63,65,68,79,82
Esmeraldo, M.V.	29,30
Faiad, M.G.R.	58
Faria, M.R. de	67,78,87
Fávero, A.P.	37
Felfili, J.M.	89
Ferreira, M.E.	45,47
Fonseca, J.N.L.	95
Fontes, E.M.G.	77
Freitas, C.A.	66
Gaiotto, F.A.	40
Gander, E.S.	33
Gangana, F.S.S.	69,71
Giani, A.M.	35
Giusti-Da Costa, J.	68,79
Goes, M. de	55
Gonzaga, V.	94,96,98,102
Grattapaglia, D.	38,39,40,41,42,43,44,46,48
Gribel, R.	40,44
Guilloux, T.	76
Guimarães Neto, A.B.	59
Guimarães, P.M.	97
Hatano, L. T.	74
Hay, J.D.	43
Inglis, M.C.V.	85
Inglis, P.W.	85
Jacobina, A.M.S.	64
Kirst, M.	39
Leite, J. de A.	24
Leite, S.A. da A.	46
Lemos, L.E. de M.	30
Lima, P.M.M.P.	95,100
Lins, T.C. de L.	47
Lopes, A. de O.	50,53
Lopes, C.A.	97

Lopes, G. de O.	50,53
Machado, T.C.M.	84
Magalhães, B.P.	67,78,88
Marcellino, L.H.	33
Martins, I.	70
Mello, C.M.C. de	60
Mello, G.M.	68
Mello, S.C.M. de	69,71,74,84
Melo, A.A.M.	75,86
Melo, L.A.M.P. de	101
Mendes, A.P.	95,96
Mendes, B.L.P.	92
Mendes, M.A.S.	95,99,100,101
Mendes, R.A.	60
Miranda, A.P.	93
Miranda, E.	24
Missiaglia, A.A.	40,44
Monte, D. de C.	31
Moraes, L.S.	99
Neto, O.B. de	62,77
Noronha, S.E.	90
Oliveira, A.S. de	95,100
Oliveira, M.R.V. de	92
Oliveira, M.S.	32
Oliveira, S.C.C.	70
Paes, J. S. de O.	69
Pascoal, A.V.	31
Peixer, M.A.S.	103
Pereira, R.F.A.	26
Pereira, R.G.C.	43
Pires, C.S.S.	62,73,77,80
Pires, D.A.	78,87
Pontes, A.R. de M.	75,86
Pontes, C.S.S.	83
Pontes, R.G.M. de S.	62,64,65,76
Pontes, R.G.M. de S.	63,64,65,76
Pozzobon, M.T.	27
Prates, M.	94
Queiroz, L.M.V.	103

Ramos, K.M.O.	49,54,56,57,61
Rangel, P.H.N.	45
Rech, E.L.	27,28
Reis, A.M.M.	38
Reis, G.M.C.L.	56
Ribeiro, V.J.	42
Ribeiro, Z.M. de A.	69,74,84
Rodrigues, J.C.M.	26
Rodrigues, P.T.	96,102
Rodrigues, V.	96,102
Roitman, I.	33
Rumpf, R.	103
Sales, H.B.	98
Salomão, A.N.	38,49,50
Sampaio, A.B.	52,58
Santana, F.M.	34
Santos, C.E.N. dos	99,100
Santos, C.F. dos	59
Santos, M.F.	71,101
Santos, S.X.	67
Sartoretto, L.M.	29,30
Scariot, A.	50,53
Schmidt, A.B.	45
Silva, A.A. da	66,72
Silva, E.A.	73
Silva, J.A. da	58
Silva, J.B.T. da	72,82
Silva, P.P. da	58
Silva, P.R.Q. da	85
Silva, S.F. da	65
Silva-Werneck, J.O.	79
Silveira, F.Q. de P.	40,44
Simões, R.S.	95,100
Soares, C.N.	41
Soares, M.M.N.	63
Souza, K.C.D. de	48
Souza, R.V.	103
Sujii, E.R.	62,70,73,76,77,80,81,83
Teixeira, C. de C.	36

Tenente, R.C.V.	94,96,98,102
Tigano, M.S.	70,84,87
Tostes, A.N.	68,79
Urban, A.F.	100,101
Valadares-Inglis, M.C.	85
Valls, J.F.M.	36,37
Velloso, C.C.	49,61
Viana, A.A.B.	35
Vianna, G.R.	27,28
Vicentini, S.	88
Vieira, P.R.G.	91
Vieira, W.B.	83
Vilas-Boas, L.C.	94,98
Walter, B.M.T.	89
Wetzel, M.M.V.S.	53,56,57,61