

XXIII Encontro do Talento Estudantil da  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento***

## **DOCUMENTOS 362**

# **XXIII Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Zilda Maria de Araújo Ribeiro  
João Batista Tavares da Silva  
José Eustáquio Menezes  
Leila Maria Gomes Barros  
Priscila Grynberg

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Parque Estação Biológica  
PqEB, Av. W5 Norte (final)  
70970-717, Brasília, DF  
Fone: +55 (61) 3448-4700  
Fax: +55 (61) 3340-3624  
www.embrapa.br  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações  
da Unidade Responsável

Presidente  
*Marília Lobo Burle*

Secretário-Executivo  
*Ana Flávia do N. Dias Côrtes*

Membros  
*Antonieta Nassif Salomão; Bianca Damiani  
Marques Silva; Diva Maria Alencar Dusi ;  
Francisco Guilherme V. Schmidt; João Batista  
Tavares da Silva ;João Batista Teixeira;  
Maria Cléria Valadares Inglis; Rosamares  
Rocha Galvão; Tânia da Silveira Agostini Costa*

Supervisão editorial  
*Editores Técnicos*

Revisão de texto  
*Editores Técnicos*

Normalização bibliográfica  
*Ana Flávia do N. Dias Côrtes*

Tratamento das ilustrações  
*Adilson Werneck*

Projeto gráfico da coleção  
*Carlos Eduardo Felice Barbeiro*

Editoração eletrônica  
*Adilson Werneck*

Foto da capa  
*Adilson Werneck*

**1ª edição**  
1ª impressão (ano): tiragem

**Todos os direitos reservados.**

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

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

---

E 53 Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
(23 : 2018 : Brasília, DF).

Anais: Resumos dos trabalhos / XXIII Encontro do Talento Estudantil da Embrapa  
Recursos Genéticos e Biotecnologia, 05-06 dezembro 2018, Brasília, DF / Editores  
Zilda Maria de Araújo Ribeiro et al. – Brasília, DF : Embrapa Recursos Genéticos e  
Biotecnologia, 2018.

111 p. (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 362)

1. Recursos genéticos. 2. Biotecnologia. 3. Controle biológico. I. Ribeiro, Zilda Ma-  
ria de Araújo. II. Silva, João Batista Tavares. III. Menezes, José Eustáquio. IV. Barros,  
Leila Maria Gomes. V. Grynberg, Priscila. VI. Título: XXIII Encontro do Talento Estu-  
dantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CDD 577.1

## Editores Técnicos

### **Zilda Maria de Araújo Ribeiro**

Bióloga, mestre em Fitopatologia, analista na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

### **João Batista Tavares da Silva**

Biólogo, doutor em Microbiologia, analista na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

### **José Eustáquio Menezes**

Engenheiro-agrônomo, mestre em Agronomia, pesquisador na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

### **Leila Maria Gomes Barros**

Bióloga, doutora em Ciências Biológicas, pesquisadora na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

### **Priscila Grynberg**

Bióloga, doutora em Bioinformática, pesquisadora na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

## **Comissão organizadora**

Zilda Maria de Araújo Ribeiro – Coordenador  
Irene Martins  
João Batista Tavares da Silva  
José Eustáquio Menezes  
Leila Maria Gomes Barros  
Priscila Grynberg

## **Apoio**

Relações Institucionais  
Ingrid Vicente dos Reis  
Rosângela Zansávio  
Comunicação & Imprensa  
Francisco Régis Ferreira Lopes  
Maria das Dores Vale Medeiros  
Maria Devanir F. Rodrigues Heberlê  
Produção Gráfica/Publicação  
Adilson Amaral Werneck  
Ana Flávia do Nascimento Dias

## **Comitê científico**

João Batista Tavares da Silva – Coordenador  
Antonieta Nassif Salomão  
Diva Maria de Alencar Dusi  
Glaucia Salles Cortopassi Buso  
João Batista Teixeira  
Joseilde Oliveira S. Werneck  
Marcos Rodrigues de Faria  
Maria Elita Batista de Castro  
Maria Elvira de Rezende  
Maurício Machaim Franco  
Natalia Florêncio Martins  
Solange Carvalho B. Roveri José

## **Comissão julgadora**

Afonso Celso Candeira Valois – Embrapa/Aposentado  
Alexandre Augusto de Moraes – Embrapa Hortaliças  
Cesar Heraclides Bhling Miranda – Embrapa Agroenergia  
Eder Marques – UPIS  
Erich Yukio Tempel Nakasu – Embrapa Hortaliças  
Helson Mário Martins do Vale – UnB/Fitopatologia  
Jeffeson de Mesquita dos Santos – UPIS  
Myrian Silvana Tigano – Embrapa Sede  
Rita de Cássia Pereira Carvalho – UnB/Fitopatologia  
Solange Rocha Monteiro de Andrade – Embrapa Cerrados

## Apresentação

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realiza o XXIII Encontro do Talento Estudantil, como parte das comemorações do 44º aniversário da Unidade. Os trabalhos expostos a partir do dia 04 são apresentados pelos seus respectivos autores, nos dias 05 e 06 de dezembro de 2018. Este evento intensifica a interação entre pesquisadores, professores e estudantes das instituições de pesquisa e ensino no Distrito Federal.

O Encontro busca incentivar, aprimorar e valorizar a produção científica dos estudantes de graduação e de pós-graduação, que atuam na pesquisa de caracterização, conservação e biotecnologia de recursos genéticos animais, microbianos e vegetais. Também viabiliza a divulgação dos resultados de pesquisa por eles desenvolvidos sob a orientação das equipes das quais eles participam. Assim, a Embrapa tem contribuído com a formação acadêmica e científica brasileira, oferecendo aos estudantes chance de aprender e praticar o método científico da execução à divulgação de resultados de um projeto de pesquisa e outros conhecimentos complementares, bem como de interação com pesquisadores com vasta experiência.

Deste XXIII Encontro fazem parte 84 trabalhos, divididos em três temas de pesquisa: Animal, Microrganismos e Vegetal. Expostos sob a forma de pôsteres, eles são apresentados oralmente e avaliados por Comissão Julgadora, constituída por pesquisadores de unidades da Embrapa, bem como por professores da Universidade de Brasília e UPIS. Os resumos dos trabalhos apresentados são publicados em anais do evento e disponibilizados no site da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Os trabalhos selecionados como destaques pela comissão julgadora são homenageados, com uma premiação simbólica a título de reconhecimento e incentivo aos estudantes. Os trabalhos classificados em primeiro lugar de cada categoria - graduação e pós-graduação, em cada um dos temas de pesquisa são também apresentados oralmente, na cerimônia de encerramento do Encontro.

Parabenizamos os participantes e agradecemos aos que contribuem para a realização do XXIII Encontro do Talento Estudantil - empregados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pela orientação, apoio e incentivo aos estudantes. Agradecemos ao Sinpaf, UniCEUB e à UPIS pelo apoio financeiro e às demais Universidades, faculdades, instituições governamentais e de pesquisa, por sua valiosa colaboração.

*JOSÉ MANUEL CABRAL DE SOUSA DIAS*

*Chefe-Geral*

*Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*

# Sumário

<b>Animais</b> .....	09
<b>01 - ABELHAS VISITANTES FLORAIS DOS MARACUJÁS BRS MEL- DO-CERRADO E BRS SERTÃO FORTE NO DISTRITO FEDERAL</b> Souza, L.S.; Lima, D.D.; Sousa, A.A.T.C.; Souza, L.M.; Lagôa, A.C.G.; Pires, C.S.S.; Sujii, E.R. ....	10
<b>02 - ACEITABILIDADE DE DIFERENTES ESPÉCIES DE PULGÕES POR JOANINHAS PREDADORAS</b> Lima, D.D.; Silva, A.C.; Fontes, E.M.G.; Sujii, E.R.; Paula, D.P.; Andow, D.A.; Souza, L.M.; Pires, C.S.S. ....	11
<b>03 - ANÁLISE QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA SINTETIZADAS POR ROTA VERDE</b> Barros, R.M.; Bonatto, C.C.; Ramada, M.H.S.; Silva, L.P. ....	12
<b>04 - ATRAÇÃO DE <i>Dichelops melacanthus</i> (DALLAS, 1851) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) AOS VOLÁTEIS DE FOLHAS DE <i>Cajanus cajan</i></b> Silva, A.T.; Blassioli-Moraes, M.C.; Borges, M.; Laumann, R.A. ....	13
<b>05 - AVALIAÇÃO DE ASPECTOS BIOLÓGICOS DE <i>Anthonomus grandis</i>, PARA ESTABELECIMENTO DE PADRÕES DE QUALIDADE NO FORNECIMENTO DE INSETOS PARA BIOENSAIOS</b> Gomes, G.C.; Schmidt, F.G.V.; Monnerat, R.G. ....	14
<b>06 - CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO REGULADORA DO GENE DA MUCINA 2 (MUC2) BOVINO</b> Yamashita, M.S.A.; Melo, E.O. ....	15
<b>07 - COMPARAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO DE MÚSCULO DE CAMARÃO-CINZA (<i>Litopenaeus vannamei</i>)</b> Silva, N.M.L.; Biazio, G.R.; Silva, N.M.A.; Nepomuceno, A.R.; Caetano, A.R.; Ianella, ....	16
<b>08 - IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE <i>Helicoverpa armigera</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE: HELIOTHINAE) UTILIZANDO PCR-RFLP</b> Moreira, R.J.; Queiroz, P.R.M.; Martins, E.S.; Tomazette, M.; Monnerat, R.G. ....	17
<b>09 - INFLUÊNCIA DA SOJA GENÓTIPO BRS-391 SOBRE O COMPORTAMENTO DE BUSCA DO PARASITOIDE DE OVOS <i>Telenomus podisi</i></b> Maito, G.P.; Blassioli-Moraes, M.C.; Laumann, R. A.; Borges, M.....	18
<b>10 - INFLUÊNCIA DE FATORES FÍSICOS DO AMBIENTE NO COMPORTAMENTO DE <i>Melipona quadrifasciata</i> EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO</b> Brandão, R.P.; Baptista, P.H.G.; Souza, L.M.; Sousa, A.A.T.C.; Sujii, E.R.; Laumann, R.A.; Fontes, E.M.G.; Pires, C.S.S. ....	19
<b>11 - INOVAÇÃO NO MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS COM FOCO NA SUSTENTABILIDADE DO SISTEMA PRODUTIVO DA SOJA</b> Corrêa, C.M.C; Blassioli-Moraes, M.C.; Laumann, R.A.; Borges, M. ....	20

<b>12 - METODOLOGIA PARA AVALIAR A ADAPTAÇÃO DE ABELHAS <i>Meliponini</i> (HYMENOPTERA: APIDAE) ÀS CONDIÇÕES DE CULTIVOS PROTEGIDOS</b> Baptista, P.H.G.; Assunção, R.M.; Souza, L.M.; Sousa, A.A.C.; Sujii, E.R.; Laumann, R. A.; Fontes, E.M.G.; Pires, C.S.S. ....	21
<b>13 - OBTENÇÃO DE RNA DE BICHO-MINEIRO (<i>Leucoptera coffeella</i>) PARA TRANSCRITÔMICA E SILENCIAMENTO GÊNICO</b> Vidal, L.A.; Almeida, J.D.; Pinto, E.R.C.; Veiga, A.D.; Fernandez, D.; Guerreiro Filho, O.; Freire, E.V.S.A. ....	22
<b>14 - PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE <i>Aedes aegypti</i> CRIADOS COM SANGUE BOVINO ADITIVADO, VISANDO A SUBSTITUIÇÃO DE COBAIAS EM LABORATÓRIO</b> Mendes, P.N.; Schmidt, F.G.V.; Monnerat, R.G. ....	23
<b>15 - PROCESSAMENTO E MODELAGEM DE IMAGENS TRIDIMENSIONAIS DE ÓRGÃOS PARA APLICAÇÃO EM PROCESSO DE BIOIMPRESSÃO 3D</b> Vaz, G.M.R.; Silva, L.P. ....	24
<b>16 - RESPOSTA FUNCIONAL DE <i>Bracon vulgaris</i> ASHMEAD (BRACONIDAE) A LARVAS DE <i>Anthonomus grandis</i> (BOHEMAN)(CURCULIONIDAE)</b> Silva, I.T.F.A.; Malaquias, J.B.; Magalhães, D.M.; Borges, M.; Laumann, R.A.; Miranda, J.E.; Brito, C.H.; Blassioli-Moraes, M.C. ....	25
<b>Reprodução Animal</b> .....	26
<b>17 - CARACTERÍSTICAS OVARIANAS E DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO EM BEZERRAS NELORE DE 2 A 5 MESES DE IDADE</b> Kawamoto, T.S.; Viana, J.H.M.; Faria, O.A.C.; Figueiredo, R.A. ....	27
<b>18 - CINÉTICA DE MATURAÇÃO NUCLEAR DE OVÓCITOS SUBMETIDOS À INJEÇÃO INTRAFOLICULAR (TIFOI) EM DIFERENTES MOMENTOS</b> Faria, O.A.C.; Dias, L.R.O.; Caixeta, F.M.C.; Sprícigo, J.F.W.; Dode, M.A.N. ....	28
<b>19 - EFEITO DA PROSTAGLANDINA E2 E F2A NA MATURAÇÃO IN VITRO DE OVÓCITOS BOVINOS</b> Rodrigues, S.A.D.; Pontelo, T.P.; Kussano, N.R.; Kawamoto, T.S.; Caixeta, F.M.C.; Dode, M.A.N. ....	29
<b>20 - EFEITO DO SCRIPTAID DURANTE PRÉ-MATURAÇÃO E/OU MATURAÇÃO IN VITRO DE OVÓCITOS BOVINOS NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO</b> Pontelo, T.P.; Kawamoto, T.S.; Caixeta, F.M.C.; Dode, M.A.N. ....	30
<b>21 - EFEITO DO SEXO NA EXPRESSÃO GÊNICA DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO VITRIFICADOS POR <i>CRYOTOP</i></b> Leme, L.O.; Carvalho Neto, J.O.; Dode, M.A.N. ....	31
<b>22 - EXTRATOS ETANÓLICOS DE PLANTAS DO CERRADO NO ESTRESSE OXIDATIVO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO</b> Fidelis, A.A.G.; Dode, M.A.N. ....	32
<b>23 - FECUNDAÇÃO IN VITRO DE OVÓCITOS BOVINOS UTILIZANDO ESPERMATOZOÍDES DO EPIDÍDIMO: REDUÇÃO NO TEMPO DE CO-INCUBAÇÃO</b> Cunha, A.T.M.; Fernandes, G.O.; Caixeta, F.M.C.; Carvalho Neto, J.O.; Dode, M.A.N. ...	33

<b>24 - INIBIDOR DE HISTONA DESACETILASE DURANTE A PRÉ-MATURAÇÃO E/OU MATURAÇÃO IN VITRO DE OVÓCITOS BOVINOS</b>	
Caixeta, F.M.C.; Pontelo, T.P.; Leme L.O.; Dode, M.A.N. ....	34
<b>25 - PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS A PARTIR DE OVÓCITOS MATURADOS IN VIVO PELA TRANSFERÊNCIA INTRAFOLICULAR DE OVÓCITOS IMATUROS (TIFOI)</b>	
Dias, L.R.O.; Silva, V.A.O.; Faria, O.A.C.; Caixeta, F.M.C.; Sprícigo, J.F.W.; Dode, M.A.N. ....	35
<b>Microrganismos</b> .....	36
<b>26 - ANTAGONISMO IN VITRO DE ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp. AO FITOPATÓGENO <i>Stromatinia cepivora</i> BERK</b>	
Valadares, K.H.A.; Silva, L.R.; Silva, J.B.T.; Mello, S.C.M. ....	37
<b>27 - ATIVIDADE INSETICIDA DE ESTIRPES DE <i>Bacillus thuringiensis</i> SOBRE POPULAÇÕES DE LEPIDÓPTEROS-PRAGA DO GÊNERO <i>Helicoverpa</i></b>	
Moreira, R.J.; Queiroz, P.R.M.; Martins, E.S.; Monnerat, R.G.....	38
<b>28 - ATIVIDADES RELACIONADAS À PREPARAÇÃO DO LABORATÓRIO DE QUARENTENA VEGETAL PARA IMPLANTAÇÃO DE UM SISTEMA DE QUALIDADE</b>	
Veras, J.F.; Benito, N.P.; Marques, A.S.A. ....	39
<b>29 - AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE QUATRO TÉCNICAS DE PRESERVAÇÃO DE ISOLADOS DE BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS</b>	
Moura, Y.F.; Favilla, L.D.; Marques, A.S.A. ....	40
<b>30 - AVALIAÇÃO DA LONGEVIDADE DOS FUNGOS ARMAZENADOS PELO MÉTODO CASTELLANI, PERTENCENTES À COLEÇÃO DE MICRORGANISMOS PARA CONTROLE BIOLÓGICO DO CENARGEN</b>	
Lima, R.B.; Menezes, J.E.; Martins, I.; Mello, S.C.M. ....	41
<b>31 - BIOLOGIA COMPARADA DE <i>Meloidogyne graminicola</i> EM <i>Oryza sativa</i> E <i>O. glumaepatula</i>, PLANTAS SUSCETÍVEL E RESISTENTE</b>	
Leite, R.R.; Mattos, V.S.; Gomes, A.C.M.M.; Cares, J.E.; Carneiro, R.M.D.G. ....	42
<b>32 - CARACTERIZAÇÃO DE MicroRNAs-LIKE DO FITOPATÓGENO <i>Pseudocercospora musae</i></b>	
Rego, E.C.S.; Pinheiro, T.D.M.; Fonseca, F.C.A.; Alves, G.S.C.; Amorim, E.P.; Ferreira, C.F.; Togawa, R.C.; Costa, M.M.C.; Grynberg, P.; Miller, R.N.G. ....	43
<b>33 - CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS MODIFICADAS SUPERFICIALMENTE COM CARBOIDRATOS E SUA ATIVIDADE BIOLÓGICA EM MICRORGANISMOS</b>	
Araujo-Neto, L.A.; Pereira, T.M.; Silva, L.P. ....	44
<b>34 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E FILOGENÉTICA DE POPULAÇÕES DE <i>Meloidogyne paranaensis</i> DE DIFERENTES FENÓTIPOS DE ESTERASE</b>	
Santos, M.F.A.; Mattos, V.S.; Gomes, A.C.M.M.; Monteiro, J.M.S.; Castagnone-Sereno, P.; Carneiro, R.M.D.G. ....	45

<b>35 - CONTROLE BACTERIANO DE <i>Escherichia coli</i> E <i>Staphylococcus aureus</i> UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOSINTETIZADAS</b>	
Pereira, T.M.; Araujo-Neto, L.A.; Silva, L.P. ....	46
<b>36 - DESENVOLVIMENTO DE BIOTINTA COM APLICAÇÃO DE NANOMATERIAL COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA</b>	
Fonseca, T.F.; Silva, L.P. ....	47
<b>37 - DETECÇÃO DE FITOPLASMAS GRUPO 16SrIX EM HOSPEDEIRAS ALTERNATIVAS E CIGARRINHAS EM ÁREAS DE CITROS DO DISTRITO FEDERAL</b>	
Guimarães, G.C.; De Souza, S.L.B.; Angarten, M.B.O.; Martins, O.M.; Lopes-da-Silva, M.; Sanches, M.M. ....	48
<b>38 - DETECÇÃO DE ISOLADO VIRAL QUE CAUSA INFECÇÕES SEM ROMPIMENTO DO TEGUMENTO DE INSETOS <i>Chrysodeixis includens</i></b>	
Mota, I.S.; Santos, L.A.V.M.; Eizono, R.F.; Ribeiro, Z.M.A.; Gomes, A.C.M.M.; Castro, M.E.B. ....	49
<b>39 - DETECÇÃO MOLECULAR E CITOLÓGICA DO Bean associated cytorhabdovirus (BaC) EM FEIJOEIRO COMUM E <i>Bemisia tabaci</i></b>	
Lima, B.P.; Kitajima, E.W.; Alves-Freitas, D.M.T.; Melo, F.L.; Lacorte, C.; Ribeiro, S.G. ...	50
<b>40 - DIVERSIDADE E AGRESSIVIDADE DE POPULAÇÕES DE <i>Meloidogyne incognita</i> PROVENIENTES DO ESTADO DA BAHIA A GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO (<i>Gossypium hirsutum</i>)</b>	
Lopes, C.M.L.; Cares, J.E.; Perina, F.J.; Nascimento, G.F.; Mendonça, J.S.F.; Moita, A.W.; Carneiro, R.M.D.G. ....	51
<b>41 - DIVERSIDADE GENÉTICA DE LINHAGENS DE <i>Trichoderma</i> ISOLADAS DE SOLO DE CULTIVO DE ALGODÃO</b>	
Macêdo, K.B.; Mello, S.C.M.; Inglis, P.W.; Martins, I.; Valadares-Inglis, M.C. ....	52
<b>42 - EFEITO DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS DE <i>Trichoderma</i> spp. NO CRESCIMENTO DE <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (LIB.) DE BARY</b>	
Silva, L.R.; Valadares-Inglis, M.C.; Magalhães, D.M.; Blassioli-Moraes, M.C.; Martins, I.; Mello, S.C.M. ....	53
<b>43 - EFEITOS DE MEIOS DE CULTIVO NA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E POTENCIAL APLICAÇÃO ANTIMICROBIANA</b>	
Silva, I.P.; Bonatto, C.C.; Silva, L.P. ....	54
<b>44 - IDENTIFICAÇÃO DE GENES <i>cry</i> DE <i>Bacillus thuringiensis</i> POR SISTEMA MULTIPLEX DE PCR EM TEMPO REAL (qPCR)</b>	
Moreira, R.J.; Queiroz, P.R.M.; Martins, E.S.; Tomazette, M.; Hirbs, J.B.S.X.; Monnerat, R.G. ....	55
<b>45 - INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA BACTERIANA À NANOPARTÍCULAS DE PRATA PRODUZIDAS POR ROTA DE SÍNTESE VERDE</b>	
Ferreira, C.L.; Pupe, J.M.; Bonatto, C.C.; Silva, L.P. ....	56

**46 - INFECÇÃO MISTA DO CUCURBIT APHID-BORNE YELLOWS VIRUS E COWPEA APHID-BORNE MOSAIC VIRUS EM *Passiflora* spp. NO BRASIL**

Vidal, A.H.; Pinheiro-Lima, B.; Abreu, E.F.M.; Sanches, M.M.; Alves-Freitas, D.M.T.; Lacorte, C.; Rosa, R.C.C.; Jesus, O.N.; Campos, M.A.; Varsani, A.; Ribeiro, S.G. ....57

**47 - ISOLADO VIRAL DE *Chrysodeixis includens* (ChinNPV-MG.B) SELECIONADO PARA USO NA PRODUÇÃO DE BIOINSETICIDA**

Fernandes, L.S.P.; Ferreira, A.C.Q.; Mota, I.S.; Santos, L.A.V.M.; Ribeiro, Z.M.A.; Gomes, A.C.M.M.; Castro, M.E.B. ....58

**48 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS ESTIRPES DE *Lysinibacillus sphaericus* COM ATIVIDADE DÍPTERO-ESPECÍFICA**

Ferreira, A.D.C.L.; Silva, E.Y.Y.; Hirbs, J.B.S.X.; Almeida, Z.G.; Stefanello, A.M.; Brito, C.H.; Miranda, J.E.; Monnerat, R.G. ....59

**49 - LINHAGENS CELULARES DE INSETOS SUSCEPTÍVEIS A ISOLADOS PATOGÊNICOS EM INSETOS *Chrysodeixis includens***

Santos, L.A.V.M.; Ribeiro, Z.M.A.; Castro, M.E.B. ....60

**50 - NANOBIOFABRICAÇÃO DE ESTRUTURAS 3D PARA APLICAÇÕES EM CULTIVO CELULAR**

Carvalho, B.S.; Bonatto, C.C.; Silva, L.P. ....61

**51 - NOVOS ISOLADOS DA BACTÉRIA *Bacillus thuringiensis* COM ATIVIDADE ENTOMOCIDA A LEPIDÓPTEROS-PRAGAS**

Ferreira, A.D.C.L.; Silva, E.Y.Y.; Hirbs, J.B.S.X.; Almeida, Z.G.; Stefanello, A.M.; Brito, C.H.; Miranda, J.E.; Monnerat, R.G. ....62

**52 - PRIMEIRO RELATO DE *Meloidogyne izarcoensis* PARASITANDO CAFEIROS NO BRASIL**

Stefanelo, D.R.; Santos, M.F.A.; Mattos, V.S.; Monteiro, J.M.S.; Mendonça, J.S.M.; Braghini, M.T.; Cares, J.E.; Carneiro, R.M.D.G. ....63

**53 - PROSPECÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* COM ATIVIDADE TÓXICA A INSETOS DA FAMÍLIA NOCTUIDAE**

Stefanelo, A.M.; Martins, E.S.; Hirbs, J.B.S.X.; Almeida, Z.G.; Ferreira, A.D.C.L.; Monnerat, R.G. ....64

**54 - PROSPECÇÃO DOS CONSTITUINTES DA MATRIZ GELATINOSA DO NEMATÓIDE DAS GALHAS RADICULARES *Meloidogyne incognita***

Oliveira, P.H.S.; Miranda, V.J.; Ferreira, A.A.; Ferreira, P.D.S.; Soll, C.B.; Rodrigues, C.M.; Polez, V.L.P.; Rocha, T.L. ....65

**55 - PROSPECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE COGUMELOS PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne incognita***

Rodrigues, A.F.O.; Soll, C.B.; Urban, A.F.; Souza, M.L.; Sihler, W.; Rodrigues, C.M.; Rocha, T.L.; Polez, V.L.P. ....66

**56 - PROSPECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE SEMENTES DE POACEAS NO CONTROLE SUSTENTAVEL DE *Meloidogyne incognita***

Ferreira, P.M.; Miranda, V.J.; Ferreira, P.D.S.; Polez, V.L.P.; Rocha, T.L. ....67

**57 - RECOMPOSIÇÃO DA COLEÇÃO DE BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS DE IMPORTÂNCIA QUARENTENÁRIA: SOBREVIVÊNCIA DOS ISOLADOS E REPRESENTAÇÃO**

Moura, Y.F.; Favilla, L.D.; Souza, E.S.C.; Marques, A.S.A. ....68

**58 - SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* EFETIVAS CONTRA O BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*)**

Hirbs, J.B.S.X.; Ferreira, A.D.C.L.; Martins, E.S.; Queiroz, P.R.M.; Stefanello, A.M.; Almeida, Z.G.; Tomazette M.; Monnerat, R.G. ....69

**59 - SELEÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS À *Helicoverpa armigera***

Stefanello, A.M.; Martins, E.S.; Hirbs, J.B.S.X.; Almeida, Z.G.; Ferreira, A.D.C.L.; Monnerat, R.G. ....70

**60 - SEQUENCIAMENTO E MONTAGEM DO GENOMA COMPLETO DE UM ISOLADO DE *Plutella xylostella granulovirus***

Santos, L.A.V.M.; Craveiro, S.R.; Chaves, L.C.S.; Inglis, P.W.; Ribeiro, Z.M.A.; Castro, M.E.B. ....71

**61 - VARIABILIDADE DE *Meloidogyne* spp. DO ARROZ E MARCADORES-SCAR PARA *M. graminicola*, *M. oryzae*, *M. salasi***

Mattos, V.S.; Mulet, K.; Cares, J.E.; Gomes, C.B.; Fernandez, D.; Grossi-de-Sá, M.F.; Carneiro, R.M.D.G.; Castagnone-Sereno, P. ....72

**Vegetais** .....73

**62 - AMENDOIM (*Arachis hypogaea*) EM ALDEIAS INDÍGENAS BRASILEIRAS: EVIDÊNCIAS CITOGÊNICAS DE SUA ORIGEM**

Nascimento, E.F.M.B.; Silva, R.K.P.; Freitas, F.O.; Valls, J.F.M.; Guimarães, P.M.; Brasileiro, A.C.M.; Araújo, A.C.G. ....74

**63 - ANÁLISES DE RESÍDUOS ALIMENTARES COMO POTENCIAIS FONTES PARA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

Fonseca, T.A.; Silva, L.P. ....75

**64 - ANÁLISES DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DE *Arabidopsis thaliana* COM SUPEREXPRESSION DO GENE *AtLOG4***

Farias, C.S.; Ferreira, L.G.; Irsigler, A.S.T.; Carnaúba, L.A.; Carneiro, V.T.C.; Dusi, D.M.A. ....76

**65 - ANÁLISES DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DE PLANTAS DE *Arabidopsis thaliana* SUPEREXPRESSIONANDO *AtLOG5***

Carnaúba, L.A.; Farias, C.S.; Ferreira, L.G.; Dusi, D.M.A.; Irsigler, A.S.T.; Carneiro, V.T.C. ....77

**66 - CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA OBTIDAS COM EXTRATOS AQUOSOS DE REPOLHOS**

Fernandes, J.B.; Araujo-Neto, L.A.; Silva, L.P. ....78

**67 - DIGITALIZAÇÃO 3D COMO FERRAMENTA INOVADORA EM ESTUDOS BOTÂNICOS**

Carvalho, B.S.; Silva, L.P. ....79

<b>68 - EFEITO DO EXTRATO DE <i>Rhizobium tropici</i> NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> EM <i>Brassica oleracea</i></b>	
Costa, Y.C.C.; Rios, T.B.; Ribeiro, D.G.; Reis Jr., F.B.; Megias, M.; Mehta, A. ....	80
<b>69 - ESTRATÉGIA PARA ESCALONAMENTO DE ROTAS DE SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO PLANTAS</b>	
Pupe, J.M.; Bonatto, C.C.; Silva, L.P. ....	81
<b>70 - ESTUDO DA ADSORÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM SUPERFÍCIE DE MATERIAIS</b>	
Seabra, H.M.; Bonatto, C.C.; Silva, L.P. ....	82
<b>71 - EXPLORAÇÃO <i>IN SILICO</i> DE DADOS DE RNA-Seq DE SEMENTES DE <i>Elaeis guineensis</i>, <i>Jathropa curcas</i> E <i>Ricinus communis</i> PARA RECONSTRUÇÃO DE VIAS METABÓLICAS DE ÁCIDOS GRAXOS</b>	
Lemos, V.N.S.; Togawa, R.C.; Grynberg, P.; Rech, E.L. ....	83
<b>72 - EXTRAÇÃO DE BIOPIGMENTOS, POR QUÍMICA VERDE, UTILIZANDO RESÍDUOS ALIMENTARES PARA A PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS</b>	
Lauria, V.B.M.; Silva, L.P. ....	84
<b>73 - EXTRATO AQUOSO DE RAIZ DE SOLANÁCEA COM PROPRIEDADE NEMATICIDA SOBRE <i>Meloidogyne incognita</i></b>	
Ferreira, A.A.; Pimentel, R.R.; Furlanetto, C.; Gomes, J.C.; Rodrigues, C.M.; Reis Junior, F.B.; Ferreira, P.D.S.; Mello, S.C.M.; Martins, I.; Rocha, T.L. ....	85
<b>74 - EXTRATO E FRAÇÕES NEMATOTÓXICAS DE SOLANACEAE ASSOCIADOS A ADJUVANTE PARA O CONTROLE DE <i>Meloidogyne incognita</i></b>	
Costa, T.G.; Dias, S.C.; Engler, J.A.; Sihler, W.; Souza, M.L.; Polez, V.L.P.; Rocha, T.L. ....	86
<b>75 - INFLUÊNCIA DOS VOLÁTEIS DO ALGODOEIRO NO COMPORTAMENTO DE BUSCA DE <i>Bracon vulgaris</i> ASHMEAD (BRACONIDAE)</b>	
Silva, I.T.F.A.; Magalhães, D.M.; Borges, M.; Laumann, R.A.; Miranda, J.E.; Brito, C.H.; Blassioli-Moraes, M.C. ....	87
<b>76 - MODELAGEM TRIDIMENSIONAL DE PLATAFORMA MICROFLUIDICA MIMÉTICA DE FOLHA DICOTILEDÔNEA VIA DESENHO ASSISTIDO POR COMPUTADOR (CAD)</b>	
Takematsu, M.H.; Silva, L.P. ....	88
<b>77 - MODULAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO EXTRATO DE SEMENTES DE FLAMBOYANT AMARELO</b>	
Pupe, J.M.; Silva, L.P. ....	89
<b>78 - NANOPARTÍCULAS DE PRATA FITOSSINTETIZADAS COM <i>Ilex paraguariensis</i>: AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE SOBRE LINHAGEM CELULAR IPLB-SF-21</b>	
Silveira, A.P.; Polez, V.L.P.; Souza, M.L.; Silva, L.P. ....	90
<b>79 - OBTENÇÃO DE TOMATEIROS cv. MICRO-TOM TRANSFORMADOS COM UM GENE <i>PR</i> DE CUPUAÇUZEIRO (<i>Theobroma grandiflorum</i>)</b>	
Neves, M.S.; Mesquita, I.L.; Falcão, L.L.; Marcellino, L.H.; Silva-Werneck, J.O.; Barros, L.M.G. ....	91

**80 - O GENE *ASDUF* DE ESPÉCIE SILVESTRE *Arachis* ESTÁ ENVOLVIDO NA RESISTÊNCIA AOS NEMATÓIDES DE GALHA**

Teixeira, L.A.; Martins, A.C.Q.; Oliveira, T.N.; Pereira, B.M.; Araujo, G.S.; Araujo, A.C.G.; Guimarães, P.M.; Brasileiro, A.C.M. ....92

**81 - PRODUÇÃO DE FIBRAS COMO SUBSTRATOS PARA PROCESSOS DE BIOFABRICAÇÃO 4D**

Balbino, R.C.B.; Silva, L.P. ....93

**82 - TRANSMISSÃO DE COWPEA MILD MOTTLE VIRUS POR SEMENTES DE FEIJOEIRO COMUM**

Felix, G.P.; Alves-Freitas, D.M.T.; Pinheiro-Lima, B.; Lacerda, A.L.M.; Minari, M.; Vidal A.H.; Faria, J.C.; Ribeiro, S.G. ....94

**83 - USO DE SPME NA AVALIAÇÃO QUALITATIVA DE DOIS ACESSOS DE *Mentha* DO BANCO DE GERMOPLASMA IN VITRO DA EMBRAPA CENARGEN**

Diniz, W.B.; Silva, I.G.; Alves, R.B.N.; Silva, D.B.; Flores, P.S.; Blassioli-Moraes, M.C.; Bizzo, H.R.; Vieira, R.F. ....95

**84 - VALIDAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GENES DE CAFEIEIRO HOMÓLOGOS À MIRACULINA EM RESPOSTA AO NEMATÓIDE**

Vidal, L.A.; Grynberg, P.; Petitot, A.; Mota, A.; Togawa, R.C.; Fernandez, D.; Freire, E.V.S.A. ....96

**Índice de Autores** ..... 97

**Índice de Orientadores** ..... 101

**Índice de Instituições** .....102

# ANIMAIS

## 01 - ABELHAS VISITANTES FLORAIS DOS MARACUJÁS BRS MEL-DO-CERRADO E BRS SERTÃO FORTE NO DISTRITO FEDERAL

Souza, L.S.<sup>1</sup>; Lima, D.D.<sup>1</sup>; Sousa, A.A.T.C.<sup>2</sup>; Souza, L.M.<sup>3</sup>; Lagôa, A.C.G.<sup>4</sup>; Pires, C.S.S.<sup>5</sup>; Sujii, E.R.S.<sup>5</sup>

Abelhas são essenciais para a polinização de diversas espécies vegetais, em especial daquelas classificadas como autoincompatíveis, como é o caso das espécies do gênero *Passiflora*. Atualmente, toda a produção comercial do maracujá é obtida por meio da polinização manual, o que além de gerar maiores custos, influencia diretamente na qualidade dos frutos. Visando propor práticas que incrementem a polinização pelas abelhas, este estudo teve como objetivo conhecer a fauna de abelhas visitantes florais e potenciais polinizadoras das cultivares de *Passiflora alata* (BRS Mel do Cerrado) e *P. cincinnata* (BRS Sertão Forte) (Malpighiales: Passifloraceae) na região do Distrito Federal. Para isso, de novembro de 2017 a maio de 2018 foram feitas coletas diretas das abelhas nas flores de cada cultivar, em duas propriedades, em diferentes horários nos turnos matutino e vespertino. As abelhas, após identificação, foram depositadas na Coleção Entomológica da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Foi registrado um total de 37 espécies e 1709 indivíduos nas duas cultivares. As análises através de curvas de rarefação sugerem que o esforço amostral de 39 horas em BRS Mel do Cerrado foi insuficiente para coletar uma grande proporção da riqueza de espécies esperada. Por outro lado, notaram-se sinais de estabilização na curva de BRS Sertão Forte, com o esforço de 49 horas, indicando com maior amplitude quais são os possíveis polinizadores. Dentre as espécies capazes de efetuar a polinização, a tribo Centridini apresentou alta abundância, especialmente as espécies *Centris scopipes* e *Epicharis flava* (Hymenoptera: Apidae). O gênero *Xylocopa* (Hymenoptera: Apidae), citado em diversos trabalhos como o principal polinizador do maracujá azedo apresentou baixa abundância. Tal resultado pode ter sido influenciado pela alta densidade e agressividade das abelhas sociais *Apis mellifera* e *Trigona spinipes* (Hymenoptera: Apidae), consideradas pilhadoras de néctar e pólen. Esses dados são preliminares e as coletas devem ser repetidas em diferentes anos e meses para que um plano de manejo possa ser desenvolvido para as áreas em estudo.

Apoio: FAP-DF.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

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

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

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

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

## 02 - ACEITABILIDADE DE DIFERENTES ESPÉCIES DE PULGÕES POR JOANINHAS PREDADORAS

Lima, D.D.<sup>1</sup>; Silva, A.C.<sup>2</sup>; Fontes, E.M.G.<sup>3</sup>; Sujii, E.R.<sup>4</sup>; Paula, D.P.<sup>5</sup>; Andow, D.A.<sup>6</sup>; Souza, L.M.<sup>7</sup>; Pires, C.S.S.<sup>4</sup>

Pulgão é um recurso essencial para o desenvolvimento e reprodução de joaninhas afidófagas. Diferenças no uso de habitats podem estar relacionadas à presença de diferentes espécies de pulgões devido às exigências alimentares diferenciais de cada espécie de joaninha. Esse trabalho avaliou a aceitação alimentar de pulgões presentes em couve e plantas adjacentes em áreas de produção orgânica no Distrito Federal por joaninhas afidófagas. A aceitação alimentar foi avaliada em termos de taxa de consumo de pulgões (em %). Larvas de quarto instar recém-emergidas ou adultos machos ou fêmeas (3 dias pós-emergência) de *Cycloneda sanguinea*, *Eriopis connexa*, *Hippodamia convergens* e *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) foram individualmente expostos em placas de Petri por 4 h a 20 pulgões ápteros das espécies *Lipaphis pseudobrassicae* ou *Myzus persicae* ou *Uroleucon ambrosiae* (Hemiptera: Aphididae), com biomassa equivalente. O bioensaio consistiu de 36 tratamentos com 15 repetições cada. As joaninhas ficaram 15 h em jejum e foram pesadas individualmente antes de iniciar os bioensaios para avaliar a influência da massa corporal do predador no consumo da presa. Ao final, registrou-se o número de pulgões consumidos como variável dependente para o cálculo da taxa de consumo. *Harmonia axyridis*, *C. sanguinea* e *Hi. convergens* apresentaram maior taxa de consumo de *M. persicae* (63,7, 59,4 e 57,3%). *Eriopis connexa* teve taxa de consumo similar de *L. pseudobrassicae* e *M. persicae*, a qual foi maior que para o pulgão *U. ambrosiae*. Fêmeas de *Hi. convergens* e *Ha. axyridis* consumiram mais pulgões que os machos (52,2 versus 41,9% e 46,3 versus 34,2%, respectivamente). A biomassa *Ha. axyridis* e *Hi. convergens* relacionou-se positivamente com a taxa de consumo de pulgão. Após avaliar a taxa de consumo das quatro espécies de joaninhas testadas, foi possível observar que houve maior aceitação de *Myzus persicae* por elas quando comparado aos demais pulgões.

Apoio: Centro Universitário do Distrito Federal (UDF), Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Universidade Paulista (UNIP) e Universidade de Minnesota.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

<sup>2</sup> Biologia, graduação, Centro Universitário do Distrito Federal-UDF

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

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

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

<sup>6</sup> Ecologia, Ph.D., Universidade de Minnesota-USA

<sup>7</sup> Entomologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 03 - ANÁLISE QUÍMICA DE IMPRESSÕES DIGITAIS LATENTES UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA SINTETIZADAS POR ROTA VERDE

Barros, R.M.<sup>1</sup>; Bonatto, C.C.<sup>2</sup>; Ramada, M.H.S.<sup>3</sup>; Silva, L.P.<sup>4</sup>

Os avanços da nanotecnologia vêm contribuindo para novas abordagens em ciências forenses, incluindo o desenvolvimento de novas técnicas e protocolos para o tratamento de vestígios recolhidos em cenas de crime. Dentre os tipos de nanomateriais empregados neste contexto, as nanopartículas metálicas têm recebido atenção especial da comunidade científica, visando ao seu emprego para o aperfeiçoamento de técnicas voltadas à detecção e à investigação da composição química dos vestígios por métodos analíticos. O presente estudo investigou, pela primeira vez, a aplicação de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas por rota verde para o tratamento de superfícies metálicas visando à detecção de impressões digitais latentes (IDLs) e à investigação de sua composição química. As AgNPs foram sintetizadas a partir de extrato das folhas de uma planta nativa do Cerrado em solução de 1 mM equivalente em nitrato de prata, tendo sido realizada a avaliação do diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersividade (Pdl) por espalhamento de luz dinâmico e potencial Zeta por mobilidade eletroforética. IDLs naturais, sebáceas e écrinas de diferentes doadores foram depositadas sobre folha de papel alumínio e tratadas por imersão em suspensão de AgNPs a 25°C e 50% de umidade relativa do ar por 24 h. Para a análise por espectrometria de massa por ionização e dessorção a laser assistida por AgNPs (LDI MS), IDLs sebáceas foram depositadas sobre uma placa de MALDI (MTP 384) obtidas por três diferentes doadores e tratadas com 1 µL da suspensão de AgNPs ou matriz convencional (controle), tendo sido utilizado um equipamento modelo AutoFlex Speed (Bruker Daltonics, Alemanha), na faixa de  $m/z$  de 100 a 1000. Os métodos de caracterização das AgNPs indicaram um DH de 25,94 nm, Pdl de 0,659 e potencial Zeta de -33,4 mV. As IDLs reveladas apresentaram riquezas em detalhes de cristas, com melhores resultados para IDLs sebáceas e naturais, sobretudo naquelas envelhecidas. A abordagem por LDI MS de IDLs tratadas com AgNPs demonstrou vantagens quando comparada ao método convencional, tendo sido detectados, além dos íons referentes aos cátions de prata, possíveis componentes endógenos nas  $m/z$  389 e 517, e exógenos nas  $m/z$  522 e 550. Assim, AgNPs produzidas por rotas de síntese verde podem oferecer uma alternativa eco-amigável, de custo baixo e de escalabilidade fácil para a detecção e análise de IDLs em rotinas periciais.

Apoio: Embrapa, CNPq, Capes, UnB, UCB, FAP-DF e II/PCDF.

---

<sup>1</sup> Nanociência e Nanobiotecnologia, doutorando, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., TecSinapse

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

<sup>4</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

#### **04 - ATRAÇÃO DE *Dichelops melacanthus* (DALLAS, 1851) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) AOS VOLÁTEIS DE FOLHAS DE *Cajanus cajan***

Silva, A.T.<sup>1</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>2</sup>; Borges, M.<sup>3</sup>; Laumann, R.A.<sup>3</sup>

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB 2018), a produção brasileira de grãos está estimada em 228,3 milhões de toneladas para a safra de 2018/2019, sendo a soja e o milho responsáveis pelos maiores volumes na produção. A leguminosa alcança produção recorde de 119,3 milhões de toneladas, 4,6% superior à safra passada. Já o cereal registra 89,2 milhões de toneladas, com 54,5 milhões de toneladas na segunda safra (-19,1%) e 26,8 milhões de toneladas na primeira safra (-12%). As reduções na produção são decorrentes de precipitações pluviométricas insuficientes e danos causados por pragas e doenças que impactaram no potencial produtivo do milho segunda safra. Entre as pragas com importância econômica, o percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* é considerado praga de início de ciclo. Este inseto permanece sob a palhada da primeira safra, geralmente soja, até o surgimento das plântulas de milho, das quais se alimenta injetando toxinas que prejudicam o vigor das plântulas, além do perfilhamento exagerado e conseqüente redução no estande. Em observações de campo, o Pesquisador Dr. Miguel Borges constatou certa atratividade de *D. melacanthus* por folhas secas de feijão guandu mandarim *Cajanus cajan* sobre o solo. Tal observação impulsionou a realização do trabalho cujo objetivo principal foi a observação do comportamento de *D. melacanthus* em resposta aos compostos voláteis produzidos pelas folhas secas de *C. cajan*. Os bioensaios comportamentais foram conduzidos em olfatômetro de dupla escolha com fêmeas adultas de *D. melacanthus*, avaliando a resposta dos insetos aos odores de folhas secas e frescas. Os parâmetros avaliados foram a primeira escolha e o tempo de residência do inseto. Cada bioensaio teve a duração total de dez minutos e foram conduzidas trinta repetições para cada combinação de tratamentos: folhas de guandu secas (FGS) versus ar, folhas de guandu frescas lavadas (FGL) versus ar, folhas de guandu frescas lavadas e secas (FGLS) versus ar, FGS versus FGL. A coleta dos voláteis liberados pelas folhas nos diferentes tratamentos foi conduzida nos períodos de 0-24h, 24-48h e 48-72h e os extratos contendo os voláteis analisados por CG-DIC e CG-EM. Os bioensaios mostraram significativa preferência às folhas secas por parte dos percevejos em relação aos outros tratamentos. As análises químicas mostraram que as folhas secas tem um perfil de voláteis diferente das folhas frescas. Estudos estão sendo conduzidos para identificar os compostos voláteis envolvidos na atração das fêmeas de *D. melacanthus* as folhas secas de guandu.

Apoio: Embrapa, CNPq, FAP-DF e UnB.

---

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

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

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

## 05 - AVALIAÇÃO DE ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Anthonomus grandis*, PARA ESTABELECIMENTO DE PADRÕES DE QUALIDADE NO FORNECIMENTO DE INSETOS PARA BIOENSAIOS

Gomes, G.C.<sup>1</sup>; Schmidt, F.G.V.<sup>2</sup>; Monnerat, R.G.<sup>3</sup>

O algodoeiro, *Gossypium hirsutum* L., é uma planta muito cultivada no Brasil e uma das maiores fontes de riqueza no setor agropecuário. Seu cultivo está sob constante ataque de diversas pragas agrícolas, dentre elas os artrópodes, sendo o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* a mais importante inseto praga desta cultura por seu grande potencial reprodutivo e destrutivo em todas as regiões produtoras de algodão no país. Os estudos voltados ao bicudo-do-algodoeiro são, quase em sua totalidade, sobre seu controle em plantações de algodão, mas, os trabalhos voltados aos métodos de criação em laboratório são poucos. Visto isso, há uma necessidade de estabelecimento de padrões de qualidade para o fornecimento destes insetos para os bioensaios. O objetivo deste estudo foi acompanhar o desenvolvimento de *Anthonomus grandis* e estabelecer o padrão de qualidade da produção deste inseto, desde a eclosão dos ovos até a fase adulta. Os experimentos foram realizados em placas de Elisa com 24 poços, sob a temperatura de 30 + ou - 1 C° e 14h de fotofase. Os ovos de uma única gaiola, foram colocados individualmente em cada poço sobre a dieta artificial, totalizando 25 placas. Assim, durante 3 semanas foi observada a viabilidade de ovos e larvas, até o descarte da gaiola montada para o experimento. Utilizou-se 5 placas por dia duas vezes por semana. A taxa de eclosão das larvas variou de 88,33% no início do experimento declinando até 45,00%. Já a viabilidade das larvas até a emergência de adultos variou entre 61,87% a 29,16%, no final do experimento. Os valores obtidos para cada tratamento foram de 88,33, 80,83, 83,33, 67,50, 45, e os de sobrevivência foram de 59,33, 56,66, 61,87, 55 e 29,16%, respectivamente para 4,8,11,18 e 22 dias após o preparo da gaiola experimental. Os dados obtidos não diferem estatisticamente entre si até o décimo primeiro dia, indicando que a qualidade de ovos e larvas neste período é superior aos demais dias, sendo observado um declínio após esse período. Para o fornecimento dos insetos com a devida qualidade para os experimentos de avaliação de patógenos e outras agentes de mortalidade, é recomendado que as coletas dos ovos sejam feitas até no máximo o décimo primeiro dia de acordo com os resultados.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Centro Universitário do Distrito Federal-UDF

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

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

## 06 - CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO REGULADORA DO GENE DA MUCINA 2 (MUC2) BOVINO

Yamashita, M.S.A.<sup>1</sup>; Melo, E.O.<sup>2</sup>

A pecuária vem se destacando como um setor emergente e de alto crescimento nos países em desenvolvimento. Na pecuária de bovinos de corte, o Brasil é o maior exportador de carne do mundo e sua produção tem apresentado um aumento significativo nos últimos anos. Ao longo da superfície epitelial intestinal de todos os mamíferos existe uma intrincada rede de polímeros, formada pelas mucinas formadoras de géis, que desempenham um papel protetor devido à formação de uma barreira física, química e imunológica entre o organismo e o ambiente externo. A mucina 2 (MUC2) é a principal mucina nos intestinos delgado e grosso. Portanto, o estudo dessa classe de glicoproteínas e seus mecanismos regulatórios são de suma importância para o entendimento do processo digestivo bovino. Entretanto, a literatura atual carece de dados sobre a caracterização dos elementos regulatórios da MUC2 de bovinos. Com este objetivo, neste estudo, através de uma comparação dos promotores do gene MUC2 humano e murino já caracterizados e pelas sequências de DNA bovinas depositadas no GeneBank foi possível desenhar *primers* e isolar uma região candidata a região reguladora do gene MUC2 bovino. Usando o gene repórter da luciferase foi possível quantificar a expressão do promotor e suas variadas deleções em células intestinais LoVo (linhagem celular de adenocarcinoma coloretal humano). A MUC2 é expressa especificamente no trato gastrointestinal (TGI), o que torna seu promotor um potencial candidato para a expressão de genes heterólogos de interesse biotecnológico no trato intestinal de bovinos, de forma específica e vigorosa.

---

<sup>1</sup> Biotecnologia, mestrando, Universidade Federal do Tocantins-UFT

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

## 07 - COMPARAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO DE MÚSCULO DE CAMARÃO-CINZA (*Litopenaeus vannamei*)

Silva, N.M.L.<sup>1</sup>; Biazio, G.R.<sup>2</sup>; Silva, N.M.A.<sup>3</sup>; Nepomuceno, A.R.<sup>4</sup>; Caetano, A.R.<sup>5</sup>; Ianella, P.<sup>5</sup>

Na literatura, são encontrados diversos métodos de extração de DNA para os mais variados indivíduos, dentre eles, os crustáceos. No entanto, não existem estudos que avaliaram métodos de extração de DNA em camarões. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar três protocolos de extração de DNA em camarão cinza (*Litopenaeus vannamei*). Os protocolos testados foram: CTAB (*Cetyltrimethylammonium bromide*), Qiagen Genra Puregene e DNeasy Blood e Tissue Kit. Na avaliação destas metodologias foram feitas análises da qualidade e quantidade de DNA por meio de eletroforese em gel de agarose, espectrofotometria, digestão enzimática e PCR-RAPD. Além disso, foram feitas estimativas de custo e tempo de cada método. Os resultados das análises iniciais da qualidade do DNA, mostraram que as razões de absorbância 260/280 entre as metodologias diferiram significativamente entre o método CTAB (média de 1,83) e DNeasy (média de 1,69). Em relação a quantidade de DNA, o método CTAB teve melhor resultado, visto que a quantidade de DNA extraído por miligrama de tecido foi pelo menos nove vezes maior do que os outros dois métodos. Foi verificado no gel de agarose que as amostras ficaram integras nos três métodos, contudo, foi observado uma pequena degradação em algumas amostras nos métodos CTAB e Qiagen. Em relação a digestão enzimática e amplificação do DNA extraído por RAPD, o resultado foi satisfatório nos três métodos avaliados, o que indicou a ausência de contaminantes que impedem a atividade enzimática e à amplificação. No entanto, os fragmentos de DNA amplificados foram menos evidentes no método DNeasy. No que se refere a estimativa de custo e tempo, a extração feita pelo método CTAB foi mais rápida em relação aos outros métodos e o custo por amostra diferiu significativamente entre os métodos, sendo que o método CTAB apresentou menor custo. Conclui-se que os três métodos testados produziram DNA genômico de alta qualidade e quantidades suficientes para ser utilizado em várias metodologias na biologia molecular. No entanto, o método CTAB foi o que forneceu maior quantidade de DNA e apresentou menor custo/benefício para obtenção de DNA.

Apoio: Embrapa e Aquatec.

---

<sup>1</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

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

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

<sup>4</sup> Biologia Animal, M.Sc., Universidade de Brasília-UnB

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

## 08 - IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE *Helicoverpa armigera* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE: HELIOTHINAE) UTILIZANDO PCR-RFLP

Moreira, R.J.<sup>1</sup>; Queiroz, P.R.M.<sup>2</sup>; Martins, E.S.<sup>3</sup>; Tomazette, M.

<sup>4</sup> ; Monnerat, R.G

Na safra 2012/2013, o setor agrícola no Brasil sofreu um grande impacto na produção das principais commodities do país, devido a confirmação da entrada do lepidóptero-praga *Helicoverpa armigera* (Ha), por parte do Ministério da Agricultura. Sendo assim retirada da lista de pragas quarentenárias do Brasil. O complexo *Helicoverpa-Heliothis* (Lepidoptera: Noctuidae: Heliathinae) contém espécies de interesse agrônomo devido aos danos causados à produção agrícola, sendo: *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea* (Hz), *Helicoverpa gelatopoeon* (Hg) e *Heliothis virescens* (Hv), as que mais necessitam de atenção e monitoramento. No Brasil, Ha e Hz causam enorme confusão no momento da realização da diagnose, devido a semelhança entre essas duas espécies durante todo o seu ciclo de vida, dificultando assim a identificação mediante morfologia externa. Morfológicamente as espécies podem ser diferenciadas por meio de cortes histológicos da anatomia da genitália dos machos adultos, o que necessita de habilidades e instrumentação específicas para serem realizadas. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um método molecular para diferenciação entre *Heliothis virescens*, *Helicoverpa armigera* e *Helicoverpa zea* por meio de marcadores moleculares mitocondrial e nuclear utilizando a técnica de PCR-RFLP (Polimorfismo de Comprimento dos Fragmentos de Restrição). Tal técnica possibilita, após a amplificação da região genômica de interesse via PCR, a identificação de cada espécie mediante a formação dos perfis visualizados por eletroforese em gel de agarose após o tratamento dos amplicons com enzimas de restrição. Para tanto, foram desenvolvidos iniciadores específicos para detectar a subunidade I do gene citocromo oxidase (COI) e o gene fator de alongamento I (EF1). A digestão dos amplicons do gene COI pela enzima *BFal* geraram fragmentos de 294 pb e 321 pb para *H. armigera*, diferenciando de *H. zea* e *H. virescens* que não apresentaram digestão. Quanto ao gene nuclear, foram gerados amplicons para as três espécies, que após tratados com a enzima de restrição *EcoRV* formaram fragmentos de 142 pb e 964 pb apenas para Hv. A formação desses perfis possibilita a distinção entre Ha, Hz e Ha. Tais resultados auxiliam no monitoramento e tomada de decisão quanto às estratégias de controle populacional dessas espécies de insetos-pragas.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, IMAmt e CNPq/UnB.

---

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

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt/UniCEUB

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

<sup>4</sup> Biologia, graduação, Instituto Federal do Rio de Janeiro-IFRJ

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

## 09 - INFLUÊNCIA DA SOJA GENÓTIPO BRS-391 SOBRE O COMPORTAMENTO DE BUSCA DO PARASITOIDE DE OVOS *Telenomus podisi*

Maito, G.P.<sup>1</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>2</sup>; Laumann, R.A.<sup>3</sup>; Borges, M.<sup>3</sup>

A constante expansão do agronegócio, principalmente na produção de grãos como soja e milho, é a principal razão do crescente desenvolvimento produtivo e econômico do Brasil. Segundo analistas a produção de soja no Brasil na safra 2018/2019 poderá alcançar valores recordes, com aumento de 1,4% sobre a safra anterior. No entanto, ainda há perdas significativas na produção devido ao ataque de pragas como o percevejo marrom (*Euschistus heros*) e o percevejo barriga-verde (*Dichelops melacanthus*). Diferentes estratégias vêm sendo propostas para minimizar o uso de inseticidas. Recentemente, a Embrapa Soja lançou um novo genótipo de soja, a BRS 391, que em estudos de campo apresentou maior tolerância aos percevejos. No entanto, não há informação sobre a ação desse novo genótipo sobre o principal parasitoide de ovos do percevejo, o *Telenomus podisi*. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atratividade da soja BRS 391 para este parasitoide. Para isto, plantas de soja BRS 391 submetidas ou não (controle N=8) à herbivoria de *E. heros* (N=8), *D. melacanthus* (N=8) e dos dois percevejos simultaneamente (N=8) foram colocadas em câmeras de vidro e os voláteis foram liberados e coletados ao longo de sete dias consecutivos a cada 24 horas. Os extratos contendo os voláteis das plantas de soja submetidas aos diferentes tratamentos foram analisados por CG-DIC e CG-EM. Para avaliar a influência dos voláteis sobre o comportamento do parasitoide, a resposta deste aos extratos foi avaliada em bioensaios comportamentais em olfatométrica em Y. Uma alíquota de 5 µL do extrato de aeração de cada tratamento foi contrastado com o solvente hexano (controle). A resposta do parasitoide em relação aos tratamentos foi avaliada durante 10 min. e a primeira escolha, isto é, o braço do olfatômetro onde o inseto entrou primeiro, e o tempo de residência em cada braço, foram medidos. As fêmeas foram utilizadas somente uma vez, com um número de 30 replicatas para cada tratamento. Os bioensaios foram realizados em sala com iluminação e temperatura controladas. A análise química dos extratos mostrou que as plantas de soja BRS-391 submetidas à herbivoria dos percevejos apresentam um perfil de voláteis diferentes da planta sadia. No entanto, esse perfil químico não atraiu as fêmeas do parasitoide *Telenomus podisi*, mostrando que em laboratório a soja BRS-391, não é atrativa ao parasitoide. A não resposta do parasitoide pode estar relacionada com a quantidade e qualidade de voláteis liberados pela planta. Estudos estão sendo conduzidos para comparar o perfil químico de voláteis obtido da soja BRS 391, com o perfil químico de voláteis da soja Dowling, para qual o parasitoide *T. podisi* é atraído.

---

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

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

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

## 10 - INFLUÊNCIA DE FATORES FÍSICOS DO AMBIENTE NO COMPORTAMENTO DE *Melipona quadrifasciata* EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

Brandão, R.P.<sup>1</sup>; Baptista, P.H.G.<sup>1</sup>; Souza, L.M.<sup>2</sup>; Sousa, A.A.T.C.<sup>3</sup>; Sujii, E.R.<sup>4</sup>; Laumann, R.A.<sup>5</sup>; Fontes, E.M.G.<sup>6</sup>; Pires, C.S.S.<sup>4</sup>

A mandaçaia, *Melipona quadrifasciata* (Apidae, Meliponini), é uma abelha social nativa do Brasil podendo ser de fácil domesticação com potencial para uso na polinização de culturas em sistemas protegidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a relação da temperatura (°C), umidade relativa (UR%), e radiação ultravioleta (UV) sobre o comportamento de voo e forrageamento em ambiente confinado. Foi utilizado uma arena de 2,40m x 1,20m x 1,80m com teto e uma das laterais de vidro de 4mm e as demais laterais de madeira. Para controle da temperatura foi instalado um aparelho de ar condicionado. Os dados de temperatura e umidade no interior da arena foram registrados através de um termohigrômetro (Hobo Pro® v2). A radiação UV foi medida com um Radiometer L.N.E (Mv/cm<sup>2</sup>). Três colônias foram avaliadas entre quatro e cinco dias consecutivos em abril, agosto e setembro de 2018 em Brasília-DF. Neste período ocorreram dias totalmente ensolarados, parcialmente nublados e chuvosos. As observações foram feitas entre 9 h a 16 h durante 20 minutos registrando as atividades: saída e entrada do ninho, saída com lixo/ou indivíduos mortos, visita às flores, coleta de néctar/pólen, indivíduos entrando após forrageamento e abelhas desorientadas (se debatendo nas paredes da arena). O registro dos comportamentos foi de presença/ausência para pelo menos um indivíduo. As observações foram finalizadas quando as abelhas retornavam ao ninho após o forrageamento. As médias de mínima e máxima de temperatura e umidade relativa no interior da arena variaram de (24,2 °C ± 4,8 a 34,6 °C ± 5,9) e (26,7% ± 2,3 a 57,3% ± 6,4), respectivamente. A intensidade de raios UV variou de (0,045 a 1,347 Mw/cm<sup>2</sup>). O registro dos seis comportamentos nas faixas de temperatura e umidade mantidas na arena demonstra que esses fatores não foram limitantes para a atividade das abelhas. Observou-se uma correlação positiva entre a intensidade da radiação UV e o comportamento das abelhas sugerindo que este é um dos principais fatores que condiciona as atividades da abelha mandaçaia.

Apoio: FAP-DF.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

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

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

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

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

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

## 11 - INOVAÇÃO NO MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS COM FOCO NA SUSTENTABILIDADE DO SISTEMA PRODUTIVO DA SOJA

Corrêa, C.M.C.<sup>1</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>2</sup>; Laumann, R.A.<sup>3</sup>; Borges, M.<sup>3</sup>

O percevejo-marrom *Euschistus heros* é uma das pragas mais importantes na cultura da soja. O uso de semioquímicos como um método direto de controle de pragas ou para o monitoramento de populações pode contribuir para prevenir o uso indiscriminado de inseticidas. O feromônio sexual do percevejo *E. heros* foi identificado como sendo composto por três compostos 2,6,10 trimetiltridecanoato de metila, 2,6,10-trimetildodecanoato de metila e (2E,4Z) -decadienoato de metila, e vários estudos comprovaram a eficiência do composto 2,6,10 trimetiltridecanoato de metila para o monitoramento de *E. heros* nos campos de soja no Brasil, não sendo necessária a presença dos outros dois componentes para atratividade das fêmeas coespecíficas. O objetivo geral deste estudo foi avaliar ação desses semioquímicos como uma ferramenta para o manejo do principal inimigo natural do *E. heros*, o parasitoide de ovos *Telenomus podisi*. Para isto foram conduzidos bioensaios comportamentais em olfatométrica de dupla escolha em “Y” e de quatro escolhas com o parasitoide *Telenomus podisi* para avaliar sua resposta aos odores dos três componentes sintéticos do feromônio sexual do percevejo *E. heros*, em diferentes concentrações. Foram conduzidos pelo menos 30 bioensaios para cada tratamento e tanto a primeira escolha e o tempo de residência foram medidos. Nos bioensaios comportamentais *T. podisi* foi atraído para os compostos 2,6,10 trimetiltridecanoato de metila e 2,6,10 trimetildodecanoato de metila quando testados nas quantidades 0.05 e 0.01 µg, mas não responderam para o componente (2E,4Z) -decadienoato de metila em nenhuma das quantidades avaliadas. O parasitoide *T. podisi*, inimigo natural do percevejo-marrom *E. heros*, utiliza dois dos três componentes produzidos pelos machos de *E. heros*, esses dois componentes, até hoje, só foram registrados em percevejos neotropicais, o outro componente que o parasitoide não respondeu, é produzido por percevejos neotropicais e neárticos, a não resposta a este componente pode estar relacionado a seletividade dos parasitoides pelo hospedeiro.

---

<sup>1</sup>Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

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

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

## 12 - METODOLOGIA PARA AVALIAR A ADAPTAÇÃO DE ABELHAS *Meliponini* (HYMENOPTERA: APIDAE) ÀS CONDIÇÕES DE CULTIVOS PROTEGIDOS

Baptista, P.H.G.<sup>1</sup>; Assunção, R.M.<sup>2</sup>; Souza, L.M.<sup>3</sup>; Sousa, A.A.C.<sup>4</sup>; Sujii, E.R.<sup>5</sup>; Laumann, R. A.<sup>6</sup>; Fontes, E.M.G.<sup>7</sup>; Pires, C.S.S.<sup>5</sup>

No Brasil, o uso de abelhas indígenas sem ferrão para polinização em cultivos protegidos é praticamente inexistente e uma das razões é a dificuldade dos *Meliponini* se adaptarem às condições de luminosidade das estufas. Nosso objetivo foi desenvolver uma metodologia para avaliar a adaptabilidade de duas espécies de *Meliponini* a diferentes materiais usados em coberturas de casas de vegetação. Desenvolvemos uma arena de 2,40m x 1,20m x 1,80m, em ferro, totalmente desmontável, de modo que o material que forma as paredes e teto pudessem ser trocados. Foram testados 3 materiais: vidro transparente (4 mm), tule branco de poliamida (3 mm de mesh) e filme plástico de polietileno de baixa densidade (PEBD), que filtram 10, 30 e 60% da luz na faixa do UV, respectivamente. A temperatura média foi de  $23,7 \pm 6,24^{\circ}\text{C}$  durante o período das observações. Ninhos de *Scaptotrigona postica* (mandaguari) e *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia) foram instalados no exterior da arena e através de um tubo conectados ao interior. Durante 20 minutos a cada hora entre 9:00 e 17:00h registramos de forma qualitativa (1=sim; 0=não) os seguintes comportamentos: saída e retorno ao ninho, visitação em flores de manjeriço, coleta de pólen e/ou néctar e abelhas nas paredes da arena. Registramos também o número de abelhas mortas diariamente. Inicialmente testamos os três materiais com a mandaguari. Com o filme plástico e o tule como cobertura, não foram observadas abelhas nas flores e a ausência de orientação aos recursos (flores) manteve-se durante todos os dias de observação. Nas arenas com paredes e teto de vidro, as duas espécies realizaram todos os comportamentos em no máximo quatro dias após a instalação dos ninhos na arena. Nossos dados indicam que a metodologia é adequada para testar a adaptabilidade de *Meliponini* a diferentes materiais estruturais de estufas agrícolas.

Apoio: Embrapa e FAP-DF (Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal).

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

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

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

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

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

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

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

### 13 - OBTENÇÃO DE RNA DE BICHO-MINEIRO (*Leucoptera coffeella*) PARA TRANSCRITÔMICA E SILENCIAMENTO GÊNICO

Vidal, L.A.<sup>1</sup>; Almeida, J.D.<sup>2</sup>; Pinto, E.R.C.<sup>2</sup>; Veiga, A.D.<sup>3</sup>; Fernandez, D.<sup>4</sup>; Guerreiro Filho, O.<sup>5</sup>; Freire, E.V.S.A.<sup>6</sup>

O Brasil é o maior produtor de café do mundo, com uma produção de aproximadamente 59 mil toneladas em 2018 gerando uma receita aproximada de 22 bilhões de reais. Para garantir uma alta produtividade, a cultura exige adubação e manejo fitossanitário adequado. Dentre as principais pragas que afetam a cultura está o bicho-mineiro do cafeeiro *Leucoptera coffeella* (*Lepidoptera: Lyonetiidae*), que em alto níveis de infestação pode causar até 100% de desfolha e queda de até 72% de produtividade. Considerando-se a dificuldade em fontes de resistência para melhoramento genético do cafeeiro para a praga em foco e as limitações na eficiência e durabilidade dos tratamentos químicos e de controle biológico, um método alternativo promissor de controle como o silenciamento gênico por RNA interferente (RNAi) pode ser desenvolvido. As sequências de genômica e a transcritômica de *L. coffeella* necessárias para a seleção de genes-alvo do RNAi ainda são desconhecidas. Visando o sequenciamento do transcrito de *L. coffeella*, o presente trabalho objetivou o estabelecimento de protocolos para a obtenção de insetos em diferentes fases do desenvolvimento e a respectiva extração do RNA das amostras, tendo em vista o fato de não haverem referências de extração do transcrito da praga na literatura. Foram realizadas em laboratório a coleta de ovos, larvas recém eclodidas, larvas em alimentação, pupas e adultos, para extração do RNA. O estudo da expressão gênica do inseto permite maior conhecimento de suas características para a criação de estratégias para o controle desta praga nas lavouras cafeeiras do país.

---

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

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

<sup>4</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Cerrados

<sup>5</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Institut de Recherche pour le Développement (IRD)

<sup>6</sup> Melhoramento Genético, Ph.D., Instituto Agrônomo Centro de Café Alcides Carvalho (IAC)

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

## 14 - PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Aedes aegypti* CRIADOS COM SANGUE BOVINO ADITIVADO, VISANDO A SUBSTITUIÇÃO DE COBAIAS EM LABORATÓRIO

Mendes, P.N.<sup>1</sup>; Schmidt, F.G.V.<sup>2</sup>; Monnerat, R.G.<sup>3</sup>

*Aedes aegypti* é um inseto hematófago, com origem provável da Etiópia, muito bem adaptado a hábitos sinantrópicos e antropofílicos. Esta é uma das espécies de mosquitos com maior distribuição geográfica no Brasil, tendo grande importância epidemiológica sendo vetor de diversas doenças virais, tais como a dengue, a febre amarela urbana, e a febre chikungunya. Por esse motivo, é imprescindível a realização de estudos que envolvam inseticidas e larvicidas eficazes que possam contribuir para o controle biológico dessa praga. A Plataforma de Criação de Insetos – PCPI da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, possui uma população de *Aedes aegypti* para fornecimento de insetos de excelência, em ambiente semelhante ao natural buscando sempre uma padronização da qualidade dos mosquitos, colaborando para a realização de bioensaios. Pelo método tradicional, para a obtenção de ovos é necessária a utilização de codornas anestesiadas para a alimentação sanguínea das fêmeas de *Aedes aegypti*. A alimentação de insetos com codornas acarreta, a necessidade concomitante da manutenção de biotério para o fornecimento das cobaias, assim como aprovação por comitês de ética em experimentação animal. Com o objetivo de buscar fontes alternativas para a extinção do uso de cobaias na alimentação dos mosquitos, foi necessária a realização deste experimento substituindo o oferecimento de codornas por sangue bovino. O experimento constou de dois tratamentos, o primeiro utilizando sangue bovino aquecido e enriquecido com *ATP* e *Wey Protein*, oferecido como alimento às fêmeas de *Aedes*, e o segundo, o oferecimento tradicional de codornas anestesiadas. Visando medir a qualidade dos insetos tratados, foram avaliados a eclosão de ovos e a viabilidade larval da progênie dos insetos obtidos nos tratamentos, que se constituíram de 3 grupos: Controle, F0, e F1 sendo utilizados 30 ovos para cada repetição, e 5 repetições para cada grupo. Os resultados de eclosão dos grupos Controle, F0 e F1 foram 50.83%, 51.67% e 51.67% respectivamente, não diferindo entre si estatisticamente. Portanto, os resultados indicam a viabilidade da substituição da alimentação tradicional, cobaias, pelo sangue bovino aditivado, para a criação contínua de *Aedes aegypti* em laboratório.

Apoio: Embrapa e NOAA.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

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

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

## 15 - PROCESSAMENTO E MODELAGEM DE IMAGENS TRIDIMENSIONAIS DE ÓRGÃOS PARA APLICAÇÃO EM PROCESSO DE BIOIMPRESSÃO 3D

Vaz, G.M.R.<sup>1</sup>; Silva, L.P.<sup>2</sup>

A tecnologia de impressão 3D existe desde a década de 80, entretanto apenas mais recentemente houve maiores avanços nessa área. Impressão 3D, também chamada de manufatura aditiva consiste na formação de objetos a partir da deposição sucessiva de múltiplas camadas que podem ser produzidas utilizando como base polímeros, metais, cerâmicas e até mesmo células e biomateriais. O processo de manufatura se inicia com um modelo 3D criado geralmente em programas de computador ou a partir do escaneamento de estruturas reais em procedimentos de engenharia reversa. Assim, programas computacionais especializados separam a estrutura em camadas que podem ser enviadas à impressora 3D para que a estrutura seja realmente impressa como objeto sólido. O trabalho foca nessa etapa, buscando o desenvolvimento de modelos de órgãos e a manipulação dos mesmos em *softwares open-source* a fim de se obter modelos para a bioimpressão. Órgãos humanos e de animais funcionais bioimpressos precisam manter as propriedades funcionais e mecânicas, há então a necessidade de contornar o desafio da reprodução dos componentes da microarquitetura da matriz celular em toda sua complexidade e dos múltiplos tipos celulares em resolução suficiente para manutenção das funções biológicas, além de garantir a vascularização e reduzir tempo da impressão. Dessa forma, a manipulação digital de imagens dos órgãos avaliados nesse trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de módulos encaixáveis que possibilitariam uma redução no tempo de produção e um maior controle sobre a estrutura como um todo. Para atingir o proposto foram buscados dados existentes na internet de imagens tomográficas e de ressonância (imagens 2D sequenciais) que puderam ser convertidos em modelos de desenho assistido por computador (CAD) para bioimpressão nos *softwares*: InVesalius<sup>®</sup> 3.1, e Slicer 4.8.1. Esses modelos foram importados em outro programa, Blender<sup>™</sup>, para manipulação utilizando ferramentas digitais próprias: *Bisect*, *Solidify*, *Knife* e extensões como *Cell fracture* e *Fracture modifier*. Utilizando essa metodologia, foi possível a criação de alguns modelos tridimensionais de órgãos com diferentes resoluções e um protocolo padrão de como se deu essa criação. Também foi possível a manipulação dos modelos com as ferramentas de forma a criar os desejados módulos, iniciando a montagem de um kit de ferramentas computacionais que possa ser extrapolado para criação de módulos para diferentes órgãos. Entretanto, a viabilidade prática dos módulos que podem ser criados pelo método estabelecido ainda precisa ser testada em processos de bioimpressão, da mesma forma que outros programas de conversão de imagens sequenciais 2D para 3D podem ser explorados a fim de buscar uma maior resolução final das estruturas e maior fidedignidade com a arquitetura de órgãos reais.

---

<sup>1</sup> Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 16 - RESPOSTA FUNCIONAL DE *Bracon vulgaris* ASHMEAD (BRACONIDAE) A LARVAS DE *Anthonomus grandis* (BOHEMAN)(CURCULIONIDAE)

Silva, I.T.F.A.<sup>1</sup>; Malaquias, J.B.<sup>2</sup>; Magalhães, D.M.<sup>3</sup>; Borges, M.<sup>4</sup>; Laumann, R.A.<sup>4</sup>; Miranda, J.E.<sup>5</sup>; Brito, C.H.<sup>6</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>7</sup>

*Bracon vulgaris* Ashmead é um ectoparasitoide de grande importância para o manejo do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Boheman). Informações sobre a resposta funcional deste inimigo natural poderão ser empregadas para avaliação do potencial no controle conservativo e/ou aplicado de populações dessa praga. Neste trabalho foi avaliada a resposta funcional de *B. vulgaris* a diferentes densidades de larvas de *A. grandis*. O estudo foi conduzido em sala climatizada com temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotofase de 12 horas. Fêmeas de *B. vulgaris* acasaladas com 5 dias de idade foram individualizadas em recipientes plásticos contendo larvas de 3º instar de *A. grandis*, nas densidades de 2, 4, 6, 8 e 10/parasitoide, num delineamento experimental inteiramente casualizado com 10 repetições de cada tratamento. O parasitismo foi avaliado a cada 24 h de exposição durante 2 dias, verificando-se o número de larvas parasitadas. A resposta funcional de *B. vulgaris* exposto a diferentes densidades de larvas de *A. grandis*, caracteriza-se como de tipo II, revelando uma curva assintótica com uma tendência de estabilização nas densidades mais altas, e com uma taxa de ataque de 0,091 larvas/h. O tipo de resposta funcional e os parâmetros estimados permitirão simular as dinâmicas populacionais entre ambas espécies, subsidiando a implementação de programas de controle biológico de *A. grandis* utilizando *B. vulgaris*.

Apoio: Capes e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

---

<sup>1</sup> Agronomia, doutoranda, Universidade Federal da Paraíba-UFPB

<sup>2</sup> Ecologia Aplicada, doutorando, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"-ESALQ

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

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

<sup>5</sup> Agronomia, Ph.D., Embrapa Algodão

<sup>6</sup> Biologia, Ph.D., Universidade Federal da Paraíba-UFPB

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

# Reprodução Animal

## 17 - CARACTERÍSTICAS OVARIANAS E DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO EM BEZERRAS NELORE DE 2 A 5 MESES DE IDADE

Kawamoto, T.S.<sup>1</sup>; Viana, J.H.M.<sup>2</sup>; Faria, O.A.C.<sup>3</sup>; Figueiredo, R.A.<sup>2</sup>

A possibilidade de incluir fêmeas bovinas pré-púberes em programas de reprodução assistida pode permitir uma aceleração no ganho genético de rebanhos por diminuir o intervalo entre gerações. Contudo, a produção in vitro de embriões de bezerras ainda é um desafio, e os fatores que limitam a qualidade e potencial de desenvolvimento dos ovócitos recuperados não são plenamente compreendidos. A relação entre desenvolvimento somático e idade a puberdade é bem estabelecida, mas o mesmo não ocorre em relação ao desenvolvimento reprodutivo no período pré-puber<sup>2</sup>al. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar características ovarianas e sua possível associação com indicadores de desenvolvimento somático em bezerras Nelore de 2 a 5 meses de idade. Oito bezerras foram avaliadas por ultrassonografia transretal (MyLab 30 VetGold, Esaote, transdutor 5-7.5 MHz, Genova, Italy) uma vez por semana, durante 12 semanas, para diâmetro ovariano, população folicular, diâmetro do maior folículo presente e diâmetro do corno uterino. Paralelamente, foram realizadas avaliações biométricas: altura de cernelha, altura de garupa, comprimento corporal, profundidade, perímetro torácico, largura da garupa no íleo e ísquio, comprimento de garupa, comprimento de cabeça, largura de cabeça e peso corporal. As possíveis associações foram analisadas pelo teste de correlação de Spearman, considerando um valor de  $P < 0,05$  como significativo. Observou-se correlação moderada entre diâmetro ovariano e população folicular ( $r=0,45$ ;  $p<0,0001$ ) e diâmetro do corno uterino ( $r=0,31$ ;  $p=0,002$ ). Houve forte correlação dos parâmetros biométricos entre si ( $0,85 > r < 0,98$ ;  $p<0,05$ ). Observou-se associação entre o diâmetro ovariano e todas as características de biometria corporal, com valores de  $R$  entre 0,31 e 0,48 e  $p<0,05$ . Foi observada, ainda, associação entre diâmetro do maior folículo e perímetro torácico ( $p=0,039$ ;  $r=0,32$ ). Entretanto, não houve correlação significativa entre parâmetros de biometria corporal e população folicular. Estes dados demonstram a associação do desenvolvimento somático e do sistema reprodutivo na fase pré-púbere inicial. Desta forma, é possível especular que características biométricas tenham relação com o potencial de desenvolvimento dos ovócitos, assim como com o potencial destes animais como futuras doadoras na vida adulta.

---

<sup>1</sup> Ciências Veterinárias, doutoranda, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

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

<sup>3</sup> Ciências Animais, mestrando, Universidade de Brasília-UnB

## 18 - CINÉTICA DE MATURAÇÃO NUCLEAR DE OVÓCITOS SUBMETIDOS À INJEÇÃO INTRAFOLICULAR (TIFOI) EM DIFERENTES MOMENTOS

Faria, O.A.C.<sup>1</sup>; Dias, L.R.O.<sup>2</sup>; Caixeta, F.M.C.<sup>2</sup>; Sprícigo, J.F.W.<sup>3</sup>; Dode, M.A.N.<sup>4</sup>

A Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) é uma recente biotecnologia que permite rápida multiplicação de animais geneticamente superiores, porém, as taxas de embriões produzidos ainda são baixas e precisam se melhoradas. O objetivo deste trabalho foi realizar a TIFOI 40 a 44 horas antes da ovulação e avaliar a cinética da maturação nuclear dos ovócitos. Ovuladoras Nelore foram sincronizadas no dia 0 (D0) com a inserção de um implante intravaginal de progesterona (1g) e 2mg de Benzoato de Estradiol. No D8 o implante foi removido e administrado (i.m.) 500 mg de Cloprostenol sódico (PGF). Vinte quatro horas após a remoção do implante (D9), foi realizada a TIFOI, em que grupos de 25 a 45 COCs, graus 1 e 2, oriundos de ovários de abatedouros foram injetados no folículo dominante das ovuladoras. No momento da TIFOI, todos os animais receberam 1 mg de Benzoato de Estradiol (i.m.). COCs foram também colocados na maturação *in vitro* (MIV) e utilizados como grupo controle. Após 16, 24, 30 e 36 horas da TIFOI, os ovócitos foram aspirados por *ovum pick up* (OPU) e os ovócitos do controle retirados da MIV. Os ovócitos recuperados foram fixados e corados com Lacmóide para a avaliação do estágio da meiose e foram classificados em: vesícula germinativa (VG), quebra da vesícula germinativa (VGBD), metáfase I (MI), anáfase I (AI), telófase I (TI), metáfase II (MII) e anormais. Os dados foram analisados pelo teste Qui-quadrado ( $P < 0,05$ ). As 0 horas 100% dos ovócitos se encontravam em VG. Com 16 horas de maturação, a percentagem de ovócitos que retomaram a meiose foi: 4,4% MI, 22,2% AI, 46,7% TI e 26,7% MII no grupo controle, enquanto 14% VGBD, 23,3% MI, 2,3% AI, 23,3% TI e 20,9% MII dos ovócitos do grupo TIFOI ( $P < 0,05$ ). Às 24 e às 30 horas, o grupo controle apresentava uma maior percentagem ( $P < 0,05$ ) de ovócitos em MII (87, 5%; 81,1%) do que o grupo TIFOI (23,7%; 25,4%). Após 36 horas de TIFOI 71,1% dos ovócitos maturaram (15,8% TI e 55,3% MII), o que foi inferior à taxa observada no grupo controle (88,4%). Os resultados sugerem que os ovócitos injetados no folículo 40 a 44 horas antes da ovulação têm um atraso na retomada da meiose e novos estudos precisam ser realizados para avaliar a competência destes ovócitos.

---

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

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

<sup>3</sup> Ciências Animais, pós-doutorado, University of Guelph, UOGELPH, Canadá

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

## 19 - EFEITO DA PROSTAGLANDINA E2 E F2 $\alpha$ NA MATURAÇÃO IN VITRO DE OVÓCITOS BOVINOS

Rodrigues, S.A.D.<sup>1</sup>; Pontelo, T.P.<sup>2</sup>; Kussano, N.R.<sup>3</sup>; Kawamoto, T.S.<sup>4</sup>; Caixeta, F.M.C.<sup>5</sup>; Dode, M.A.N.<sup>6</sup>

Durante a maturação in vivo do complexo-cumulus-ovócito (CCO), um aumento nos níveis de prostaglandinas E2 (PGE2) e F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) no fluido folicular de várias espécies tem sido relatado. Portanto, o objetivo deste estudo foi elucidar o efeito da PGE2 e PGF2 $\alpha$  durante a maturação in vitro (MIV) de CCOs bovinos no desenvolvimento embrionário. Inicialmente os CCOs obtidos por aspiração folicular (3-8 mm de diâmetro) foram maturados na presença ou ausência de PGE2, PGF2 $\alpha$  e PGE2 + PGF2 $\alpha$ , e o desenvolvimento embrionário foi avaliado. Em seguida, a adição de PGE2 ou PGF2 $\alpha$  em diferentes momentos da MIV (24, 12 ou últimas 6 horas) foi avaliada pela taxa de blastocistos e pela coloração diferencial das células do trofoblasto e massa celular interna. Subsequentemente, os CCOs foram maturados na ausência (CTL) ou na presença de um inibidor (NS398) da enzima Prostaglandina Endoperoxidase Sintase 2 (NS398), e suplementação com PGE2, PGF2 $\alpha$  ou PGE2 + PGF2 $\alpha$ . Expansão do cumulus, desenvolvimento embrionário, número total de células e células com DNA fragmentado foram quantificados. Os dados do desenvolvimento embrionário foram analisados pelo teste do Qui-quadrado ( $P < 0,05$ ), número de células e fragmentação do DNA (TUNEL) por ANOVA ou Kruskal-Wallis e expansão CC pelo teste de Tukey. Os resultados mostraram que a suplementação do meio MIV com PGs não melhorou a produção e qualidade dos embriões in vitro ( $P > 0,05$ ), independentemente do tempo de suplementação. No entanto, a adição de PGE2 (25,4%,  $n = 236$ ), PGF2 $\alpha$  (20,4%,  $n = 215$ ) e PGE2 + PGF2 $\alpha$  (26,4%,  $n = 231$ ) ao meio tratado com NS398 reduziu a taxa de blastocistos em D7 ( $P < 0,05$ ) quando comparado ao controle (34,6%;  $n = 254$ ) e apenas ao NS398 (29,9%,  $n = 241$ ). Mesmo assim, nenhum efeito sobre a expansão do cumulus, número total de células e células apoptóticas foi observado ( $P > 0,05$ ). Em conclusão, a suplementação do meio de maturação com PGE2 e PGF2 $\alpha$  não melhorou o desenvolvimento e a qualidade embrionária. Além disso, a inibição da síntese de PGE2 e PGF2 $\alpha$  também não afetou o potencial de desenvolvimento e a qualidade dos embriões in vitro.

Apoio: FAP-DF e Embrapa.

---

<sup>1</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ciências Veterinárias, doutoranda, Universidade Federal de Lavras-UFLA

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

<sup>4</sup> Ciências Veterinárias, doutoranda, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

<sup>5</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

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

## 20 - EFEITO DO SCRIPTAID DURANTE PRÉ-MATURAÇÃO E/OU MATURAÇÃO IN VITRO DE OVÓCITOS BOVINOS NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

Pontelo, T.P.<sup>1</sup>; Kawamoto, T.S.<sup>2</sup>; Caixeta, F.M.C.<sup>3</sup>; Dode, M.A.N.<sup>4</sup>

O estoque de mRNAs no ovócito no momento da sua retirada do folículo está relacionado a sua competência. Considerando que a acetilação de histonas permite uma maior transcrição, levantou-se a hipótese que a presença de um inibidor de desacetilases antes da MIV permitiria um maior acúmulo de RNA aumentando a competência do ovócito. Nesse estudo, avaliou-se o efeito do Scriptaid durante a pré-MIV (PMIV) e/ou MIV, in vitro, de embriões bovinos. Complexo cumulus-ovócitos (COCs) foram obtidos de ovários de abatedouros e submetidos a PMIV por 6 h utilizando 100nM de peptídeo natriurético tipo-C (NPPC), na presença ou ausência de 500nM de Scriptaid. COCs foram distribuídos em 5 grupos: T1- MIV por 22h; T2- PMIV por 6 h e MIV por 22 h; T3 PMIV com Scriptaid por 6 h e MIV por 22 h; T4- PMIV por 6 h e MIV com Scriptaid por 22 h; e T5- PMIV com Scriptaid por 6 h e MIV com Scriptaid por 22 h. Foram avaliadas a maturação nuclear, a expansão das células do cumulus, o desenvolvimento embrionário e a qualidade dos embriões. Dados de maturação nuclear e desenvolvimento embrionário foram avaliados por Chi-Quadrado ( $p < 0,05$ ) e da coloração diferencial e expansão das células do cumulus por ANOVA e, quando não paramétricos por Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ). Tratamentos submetidos a PMIV, avaliados no início da maturação (0 horas) apresentaram a maior parte dos ovócitos em estado de vesícula germinativa (T2= 87%, 47/54; T3= 85%, 41/48) semelhante ( $p > 0,05$ ) ao controle (T1=96%, 66/69). Após 22 horas de MIV todos os grupos apresentaram a maioria dos ovócitos em metáfase II (T1= 94%, 56/57; T2= 96%, 46/48, T3= 92%, 48/52; T4= 96%, 52/54 ( $p > 0,05$ ), exceto o T5 (88%, 47/56) que apresentou uma menor taxa em relação ao T1 ( $p < 0,05$ ). A expansão das células do cumulus foi semelhante entre os grupos, com exceção do T5 em que foi menor ( $P < 0,05$ ) do que no T2. Em relação ao desenvolvimento embrionário no D7, o T3 (32%, 65/203) teve menor taxa que o T2 (37%, 71/190), mas foi semelhante ao controle (35%, 82/236). Os grupos com Scriptaid na MIV (T4= 23%, 47/207 e T5= 18%, 32/177) tiveram as taxas mais baixas de blastocistos em D7 ( $p < 0,05$ ) em relação aos demais tratamentos (T1= 35%, T2= 37% e T3= 32%). Quanto a qualidade dos embriões, o T5 (165, n=30) apresentou menor quantidade de células totais ( $p < 0,05$ ) em relação ao T1 (192,59, n= 39) e T3 (189,53, n= 32). Em relação a proporção de massa celular interna e células totais, o grupo T5 também apresentou menor ( $p < 0,05$ ) quantidade de embriões com proporção 20-40% de células da massa celular interna (T5=67%, 20/30) em relação ao grupo T1 (87%, 34/39). Conclui-se que a presença do Scriptaid durante a MIV prejudica a taxa de embrião e, quando adicionado simultaneamente na PMIV e MIV afeta a maturação nuclear, a expansão das células do cumulus, o desenvolvimento embrionário e a qualidade dos embriões.

Apoio: Embrapa e Capes.

<sup>1</sup> Ciências Veterinárias, doutorando, Universidade Federal Lavras-UFLA

<sup>2</sup> Ciências Animais, doutorando, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

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

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

## 21 - EFEITO DO SEXO NA EXPRESSÃO GÊNICA DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO VITRIFICADOS POR *CRYOTOP*

Leme, L.O.<sup>1</sup>; Carvalho Neto, J.O.<sup>2</sup>; Dode, M.A.N.<sup>3</sup>

Sabe-se que embriões machos e fêmeas são diferentes quanto velocidade de desenvolvimento, metabolismo, padrão de expressão de genes, padrões epigenéticos e resistência a várias condições de estresse. Desta forma, presume-se que a resposta à criopreservação também seja diferente entre embriões macho e fêmea, entretanto não existem relatos na literatura que avaliem o efeito do sexo na resposta dos embriões bovinos à vitrificação. Neste estudo avaliou-se a expressão de oito genes, relacionados a apoptose e danos celulares (FOSL1, HSPB1, CASP3 e CASP8), ao estresse térmico (HSPA5 e HSPA1A) e vias do metabolismo da glicose (G6PD e PGK1) em embriões bovinos PIV, por qPCR, com o objetivo de averiguar diferença entre embriões bovinos macho e fêmea criopreservados. Para tanto, foram utilizados ovócitos obtidos de ovários de abatedouro, submetidos à MIV por 24 horas, inseminados com sêmen de touro previamente testado e os possíveis zigotos foram transferidos para meio de CIV, onde permaneceram por 7 dias. Avaliou-se taxas de clivagem em D2, e de blastocistos em D6 e D7. Em D7, embriões em estágio de blastocisto expandido foram removidos do CIV e divididos em dois tratamentos: controle (C) e vitrificados (V) pelo método *Cryotop* (Cryo-Ingá: Ingamed®, Maringá, Brasil). Após o processo de desvitrificação, os embriões dos grupos C e V retornaram para as condições de CIV por mais 24 horas, e em seguida os embriões eclodidos foram armazenados individualmente em solução de DM-PBS à -80 °C para determinação do sexo. Cada embrião foi submetido ao processo de extração de DNA e RNA simultaneamente, utilizando o AllPrep DNA/RNA Mini Kit (Qiagen®, Hilden, Alemanha). O DNA extraído foi utilizado para determinação do sexo do embrião, que foi realizada por PCR e confirmado em gel de agarose 1,5%. Com os resultados da sexagem, foram formados 3 *pools* de embriões machos C e V e 3 *pools* de embriões fêmeas C e V, contendo 20 embriões cada um. Esses *pools* foram utilizados para quantificação da expressão de genes por qPCR, utilizando *Sybr Green FAST Master Mix*. Os genes ACTB e GAPDH foram utilizados como controles endógenos. Os dados foram analisados pelo teste t, considerando  $P \leq 0,05$ . Dentre os genes analisados, embriões fêmeas e machos diferiram entre si no tratamento V para os genes HSPA1A ( $P = 0,0043$ ), CASP3 ( $P = 0,0037$ ) e G6PD ( $P = 0,0071$ ) e no grupo C, para o gene G6PD ( $P = 0,0526$ ). Os resultados indicam que o sexo não afetou a resposta a criopreservação, pois não houve diferença entre tratamento nos embriões de mesmo gênero. Entretanto, ficou evidente que embriões bovinos machos e fêmeas são diferentes, independente de terem sido submetidos ou não à vitrificação, e que as diferenças encontradas se devem ao sexo pois embriões fêmeas apresentaram maior abundância relativa de RNA mensageiro em relação aos embriões machos.

Apoio Financeiro: Capes, Fapes e Embrapa.

---

<sup>1</sup> Ciências Animais, pós-doutorando, Universidade Federal do Espírito Santo-UFES

<sup>2</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Universidade Federal do Espírito Santo-UFES

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

## 22 - EXTRATOS ETANÓLICOS DE PLANTAS DO CERRADO NO ESTRESSE OXIDATIVO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO

Fidelis, A.A.G.<sup>1</sup>; Dode, M.A.N.<sup>2</sup>

O cultivo *in vitro* de embriões induz uma produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) e afeta a produção de blastocistos. A suplementação dos meios com agentes antioxidantes torna-se uma alternativa interessante para minimizar esse efeito. O presente estudo avaliou o efeito de extratos etanólicos, obtidos de plantas do cerrado, no estresse oxidativo de embriões PIVE. Ovários de fêmeas bovinas oriundos de abatedouro foram usados para obtenção dos ovócitos grau I e II, os quais foram submetidos à maturação, fecundação (D0) e cultivo *in vitro*. Quatro grupos foram delineados no cultivo: um grupo controle cultivado em alta tensão de O<sub>2</sub> (G20%), um grupo cultivado em baixa tensão de O<sub>2</sub> (G5%), além de dois grupos cultivados sob alta tensão, suplementados com 0,01mg/mL do extrato de cagaita (GCag) e outro grupo com 0,01mg/mL do extrato de murici (GMuri). Foram avaliadas as taxas de clivagem (D2) e de blastocisto (D6 e D7). Os blastocistos expandidos (BX) de D7 foram utilizados para avaliação de ROS, de glutationa (GSH) e expressão gênica. Os níveis de ROS foram quantificados em microscopia confocal com o uso do H2DCFDA (diacetato de 6-carboxi-2',7'-diclorodihidrofluoresceína), e os níveis de GSH em microscopia de epifluorescência com o Cell Tracker Blue (4-clorometil-6,8-difluor-7-hidroxicocumarina). O nível dos transcritos de genes envolvidos na apoptose (BAX, BCL21L, CASP3 e CASP8) e nas vias metabólicas de ROS (SOD2, CAT, GPX4 e PRDX3) foi determinado por qPCR, sendo o GAPDH utilizado como constitutivo. Os dados foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de TUKEY, a 5%. Foram utilizados 2135 ovócitos e produzidos 893 embriões (41,8%). A produção embrionária foi semelhante (P>0,05) entre os grupos G20% (clivagem: 87,6±8,1%, D6: 26,5±12,2% e D7: 42,7±6,2%) GCag (89±7,3%; 23,9±10,3%; 43±6,2%) GMuri (89±9,5%; 26,7±16% e 40,1±8,4%), e G5% (88±9,5; 26,7±16; 40,1±8,4). A emissão de fluorescência produzida por ROS e por GSH também foi semelhante (P>0,05) entre os grupos G20% (105,24 ± 26,04 e 156,36 ± 11,39), GCag (125,92 ± 31,82 e 159,98 ± 10,89), GMuri (135,25 ± 29,05 e 155,36 ± 14,07) e G5% (116,05 ± 27,51 e 151,37 ± 17,45). Os resultados mostraram que a expressão dos genes relacionados à apoptose foi semelhante (p>0,05) entre os grupos. Entretanto, os genes envolvidos no metabolismo de ROS foram diferencialmente expressos nos tratamentos. O GPX4 foi mais expresso (p<0,05) nos grupos cultivados com cagaita e murici do que no G5% e o PRDX3 foi mais expresso no grupo GMuri em relação ao G5% (p<0,05). Os demais genes da via metabólica de ROS (SOD2 e CAT) foram semelhantes entre os tratamentos (p>0,05). A suplementação de extratos (0,01mg/mL) de cagaita e murici induziram a um aumento de transcritos de genes relacionados com função antioxidante (GPX4 e PRDX3), apesar de não aumentar a taxa de embriões. Tais extratos podem ser uma alternativa para a diminuição do estresse oxidativo causado pelas condições adversas da PIVE.

Apoio: Embrapa.

<sup>1</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

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

## 23 - FECUNDAÇÃO IN VITRO DE OVÓCITOS BOVINOS UTILIZANDO ESPERMATOZOÍDES DO EPIDÍDIMO: REDUÇÃO NO TEMPO DE CO-INCUBAÇÃO

Cunha, A.T.M.<sup>1</sup>; Fernandes, G.O.<sup>1</sup>; Caixeta, F.M.C.<sup>1</sup>; Carvalho Neto, J.O.<sup>2</sup>; Dode, M.A.N.<sup>3</sup>

Espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo (EP) e seu uso em biotécnicas, como a produção de embriões in vitro (PIVE) têm um importante papel na preservação de recursos genéticos, permitindo a multiplicação de deste material após ser recuperado de animais que morrem ou apresentam falhas na sua capacidade reprodutiva. No entanto, para estabelecer procedimentos apropriados para o uso desse tipo específico de espermatozoides na PIVE, um melhor conhecimento sobre seu comportamento fisiológico frente aos eventos envolvidos na produção de embriões é necessário. O objetivo deste estudo foi avaliar diferentes tempos de co-incubação espermatozoides-ovócito utilizando EP para a PIVE. Espermatozoides criopreservados coletados do ejaculado (EJ) e EP dos mesmos touros (n=7) foram utilizados em pools. Os gametas foram recuperados através de eletroejaculação seguido de orquiectomia bilateral. O grupo composto por EJ foi utilizado como controle, selecionado em gradiente de Percoll 45% 90% (GE Healthcare Bio Science, Uppsala, Sweden), e o grupo de EP foi selecionado em gradiente de PureSperm 40% 80% (Nidacon Laboratories AB, Gothenborg, Sweden). De acordo com o tempo de co-incubação quatro grupos foram formados: EJ co-incubados com ovócitos por 18 h, controle (EJ18h); EP co-incubados com ovócitos por 6 h (EP6h); EP co-incubados com ovócitos por 12 h (EP12h) e por fim, EP co-incubados com ovócitos por 18 h (EP18h). Foram realizadas cinco réplicas, com um total de 627 ovócitos. Após a fecundação, os embriões foram avaliados no dia (D) dois (D2) quanto a clivagem e D6 e D7 para a taxa de blastocistos (BL). No D7, os BL expandidos foram avaliados quanto ao número total e número de células apoptóticas, utilizando o método Transferase desoxynucleotidil Terminal dUTP (TUNEL). Os dados de desenvolvimento embrionário foram analisados através do qui-quadrado (média±SD;  $P \leq 0,05$ ) e a análise do TUNEL foi feita pelo teste de Tukey, utilizando o Prophet 5.0 ( $P \leq 0,05$ ). Não foram observadas diferenças entre os tratamentos nas taxas de clivagem (EJ18=78.0%; EP6=74%; EP12=77% e EP18=82%), de BL em D6 (EJ18=23%; EP6=24%; EP12=21% e EP18=23%) e de BL em D7 (EJ18=42%; EP6=38%; EP12=40% e EP18=46%). Além disso, nenhuma diferença foi observada na cinética de desenvolvimento entre os grupos. A média do número total de células e a porcentagem de células apoptóticas também foram similares entre EJ18h (158; 4,0%), EP6h (174; 4,0%) EP12h (164; 4,2%) e EP18h (173; 4,0%). Os resultados obtidos sugerem que o tempo necessário para EP fecundarem ovócitos maturados, in vitro, é menor do que o tempo necessário para EJ. Sendo assim, o tempo de co-incubação utilizando EP pode ser reduzido para 6 h, sem que a produção ou qualidade embrionária sejam afetados.

Apoio: Embrapa e CNPq.

---

<sup>1</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Reprodução Animal, Ph.D., Universidade Federal do Espírito Santo-UFES

<sup>3</sup> Reprodução Animal, ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 24 - INIBIDOR DE HISTONA DESACETILASE DURANTE A PRÉ-MATURAÇÃO E/OU MATURAÇÃO IN VITRO DE OVÓCITOS BOVINOS

Caixeta, F.M.C.<sup>1</sup>; Pontelo, T.P.<sup>2</sup>; Leme L.O.<sup>3</sup>; Dode, M.A.N.<sup>4</sup>

A pré-maturação (PMIV), que precede a maturação in vitro (MIV), tem sido relatada como uma fonte de tempo adicional para que ovócitos adquiram competência e aumentem seu potencial de desenvolvimento. A proposta da PMIV é permitir o acúmulo de mRNA e proteína dentro do citoplasma antes da retomada da meiose. No entanto, para a transcrição do mRNA ocorrer, a cromatina ovocitária deve estar em estado permissivo ou hiperacetilado. O objetivo do presente estudo foi determinar se a presença de um inibidor de histona desacetilase durante a PMIV e/ou MIV poderia afetar o perfil de expressão dos genes envolvidos na acetilação/desacetilação de histonas em ovócitos bovinos. Os complexos cumulus ovócito (COCs) obtidos de ovários de abatedouro foram submetidos a um PMIV utilizando 100 nM de peptídeo natriurético tipo C (NPPC), na presença ou não de um inibidor da desacetilase (500 nM de scriptaid). Os COCs grau 1 e 2 foram distribuídos em 5 grupos: T1- MIV por 22h; T2- PMIV por 6h MIV por 22h; T3- PMIV com Scriptaid por 6h MIV por 22h; T4- PMIV por 6h e MIV com Scriptaid por 22h; e T5-PMIV com Scriptaid por 6h e MIV com Scriptaid por 22h. Para a análise da expressão gênica, ovócitos de todos os grupos foram coletados em 0h de MIV e PMIV, 6h de PMIV e 22h de MIV. Níveis de transcritos gênicos que codificam enzimas envolvidas na acetilação (HAT1 e KAT2A) e desacetilação (HDAC1 e HDAC3) de histonas foram determinados por qPCR, usando o gene constitutivo PPIA para normalização. O RNA total foi extraído de 3 pools de 20 ovócitos em cada tratamento. Os dados foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). A expressão de todos os genes estudados foi semelhante entre os tratamentos em qualquer um dos diferentes momentos avaliados. No entanto, quando o perfil dos genes durante o PMIV e MIV foi analisado, observou-se que os níveis de transcrição para HAT1 no grupo controle diminuíram durante a maturação, sendo menores às 22h em comparação com 0h ( $p < 0,05$ ). Um perfil diferente foi observado quando Scriptaid estava presente durante o PMIV, MIV ou ambos, uma vez que não houve diminuição nos níveis de transcrição para o gene HAT1 durante a maturação, mas sim os níveis foram semelhantes aos do início da maturação ( $P > 0,05$ ). Para os outros genes, não foram observadas alterações durante o PMIV e/ou MIV ( $P > 0,05$ ). Podemos concluir que a presença de um inibidor da histona desacetilase durante o PMIV e/ou MIV afetou o nível de transcrição do HAT1, impedindo a sua diminuição que ocorre durante a maturação in vitro dos ovócitos bovinos.

Apoio: Embrapa, UnB, FAP-DF, CNPq e Capes.

---

<sup>1</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ciências Veterinárias, doutorado, Universidade Federal de Lavras-UFLA

<sup>3</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade Federal do Espírito Santo-UFES

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

## 25 - PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS A PARTIR DE OVÓCITOS MATURADOS *IN VIVO* PELA TRANSFERÊNCIA INTRAFOLICULAR DE OVÓCITOS IMATUROS (TIFOI)

Dias, L.R.O.<sup>1</sup>; Silva, V.A.O.<sup>2</sup>; Faria, O.A.C.<sup>3</sup>; Caixeta, F.M.C.<sup>4</sup>; Sprícigo, J.F.W.<sup>5</sup>; Dode, M.A.N.<sup>6</sup>

A transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) proporciona uma condição ambiental totalmente *in vivo*, podendo ser uma boa alternativa para a produção de embriões. Entretanto, vários aspectos relativos à técnica ainda precisam ser estabelecidos. Objetivou-se avaliar se o tempo em que os ovócitos permanecem no folículo após a TIFOI é o suficiente para maturarem, serem fecundados e se desenvolverem em embriões. Vacas ovuladoras foram submetidas a um protocolo padrão de sincronização do estro, utilizando implante vaginal de progesterona Benzoato de Estradiol e Prostaglandina F2 $\alpha$ . A retirada do implante foi realizado no D8 e 52 horas após, os animais com folículo dominante maior que 10 mm receberam a injeção dos ovócitos imaturos. Foram utilizados 1297 ovócitos obtidos de ovários de abatedouro, 609 para TIFOI e o restante para o Controle. No grupo Controle os ovócitos foram colocados na MIV sendo a FIV realizada as 12, 16 e 22h. Para TIFOI foram transferidos de 30 a 50 ovócitos por vaca ovuladora, que às 12h pós-injeção foram recuperados por *ovum pick up* (OPU). Os ovócitos recuperados foram distribuídos em três grupos, um foi submetido a FIV logo após a aspiração (12h após a TIFOI), e os demais foram colocados na MIV por mais 4 e 10h antes da FIV (16 e 22h após a TIFOI). Ovócitos e espermatozoides foram co-incubados por 12h e os possíveis zigotos foram transferidos para gotas de CIV, onde permaneceram até o dia 7 (D7). Os tratamentos e o número de ovócitos utilizados foram: Controle 12h (n=223); Controle 16h (229); Controle 22h (n=236); TIFOI 12h (n=239); TIFOI 16h (n=185); TIFOI 22h (n=185). Foram avaliadas as taxas de clivagem (D2), de blastocisto (D7) e número total e razão de células apoptóticas em embriões D7 (TUNEL). Os dados de clivagem e taxa de blastocistos foram analisados pelo teste Chi-quadrado ( $P < 0,05$ ). Já o número total de células, porcentagem de células apoptóticas e razão entre os dois, foram analisadas por ANOVA e teste Tukey's ( $P < 0,05$ ). A taxa de blastocistos em D7 foi semelhante ( $P > 0,05$ ) entre os grupos Controle (Controle 12h= 35,4%; Controle 16h= 36,7% e Controle 22h= 40,7%), assim como entre os grupos TIFOI (TIFOI 12h= 18,8%; TIFOI 16h= 17,3% e TIFOI 22h= 21,6%). Sendo a taxa de blastocistos em D7 maior ( $P < 0,05$ ) nos grupos Controle do que nos grupos TIFOI. Com relação ao número total de células não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre todos os grupos avaliados. A porcentagem de células apoptóticas do grupo TIFOI 22h (4,1%) diferiu ( $P < 0,05$ ) apenas dos grupos Controle 12h (7,2%) e Controle 16h (7,1%). Apesar do desenvolvimento embrionário menor, observado nos grupos TIFOI, conclui-se que o tempo de 12 horas é suficiente para que o ovócito possa ser fecundado e que se desenvolva até blastocisto e parece não ser o principal obstáculo para a produção de embriões pela TIFOI.

Apoio: Embrapa; Capes e UnB.

---

<sup>1</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Medicina Veterinária, graduação, Faculdade ICESP de Brasília

<sup>3</sup> Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Ciências Animais, pós-doutorado, University of Guelph, UOGELPH, Canadá

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

# MICROORGANISMOS

## 26 - ANTAGONISMO IN VITRO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. AO FITOPATÓGENO *Stromatinia cepivora* BERK

Valadares, K.H.A.<sup>1</sup>; Silva, L.R.<sup>2</sup>; Silva, J.B.T.<sup>3</sup>; Mello, S.C.M.<sup>4</sup>

O alho é uma cultura de grande importância para o agronegócio mundial. No entanto, sua produção tem sido altamente afetada pela ocorrência da doença conhecida como podridão-branca. Essa doença é causada pelo fungo de solo *Stromatinia cepivora* Berk, que é capaz de produzir microescleródios e, assim, sobreviver por vários anos no solo, dificultando o manejo da doença. O sintoma inicial da podridão-branca no alho é caracterizado pelo amarelecimento foliar. Já no bulbo, o sintoma é representado pela podridão-mole nos tecidos e crescimento micelial cottonoso de coloração branca, seguido de microescleródios negros. Estudos recentes vêm confirmando o potencial de fungos do gênero *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos habitantes do solo, devido aos seus diversos mecanismos de ação, entre os quais, hiperparasitismo e antibiose. Esse trabalho tem por objetivo avaliar o antagonismo de sete isolados de *Trichoderma* contra *S. cepivora*. Os isolados de *Trichoderma* spp. (CEN1465; CEN1471; CEN1467; CEN1466; CEN1468; CEN1470; CEN1469), provenientes de amostras de alho das regiões de Minas Gerais e Santa Catarina, foram avaliados pelos métodos de pareamento de culturas e produção de compostos orgânicos voláteis (COVs). Utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso, com três repetições por tratamento, em câmara BOD, à temperatura de 20°C. Após ambos os experimentos verificou-se a inibição do crescimento micelial de *S. cepivora*. O tratamento CEN1468 foi o que apresentou maior potencial de inibição, no teste de pareamento (71,8% de inibição). Porém, este não teve o mesmo desempenho no experimento de COVs. Os tratamentos CEN1465 e CEN1467 foram constantes nos dois experimentos com, respectivamente, 58,4% e 66,0% no teste de pareamento e 62,3% e 52,4% na exposição aos COVs. Dessa forma, os isolados CEN1465 e CEN1467 foram os que mostraram os resultados mais promissores para supressão de *S. cepivora* na cultura de alho.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Faculdade ICESP de Brasília

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

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

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

## 27 - ATIVIDADE INSETICIDA DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* SOBRE POPULAÇÕES DE LEPIDÓPTEROS-PRAGA DO GÊNERO *Helicoverpa*

Moreira, R.J.<sup>1</sup>; Queiroz, P.R.<sup>2</sup>; Martins, E.S.<sup>3</sup>; Monnerat, R.G.<sup>4</sup>

A partir da segunda metade do século XX, a produção agrícola desenvolveu-se de forma acelerada, levando a um grande aumento na produtividade. No entanto, o uso indevido de agrotóxicos, para atingir tal patamar causou grandes impactos no meio ambiente e na saúde pública, seguido da seleção de pragas resistentes a tais defensivos, acarretando perdas de produção, como o ocorrido na cultura algodoeira na safra 2011/2012 com o severo ataque de *Helicoverpa armigera* (Ha). Buscando desenvolver tecnologias alternativas ao uso de agrotóxicos, o controle biológico a base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) é uma das opções que se alinham a uma produção sustentável, permitindo também o controle de vetores de doenças e o estudo para o combate a células cancerígenas. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo determinar a susceptibilidade de populações de *H. armigera* a estirpes de Bt pertencentes a coleção de bactérias de invertebrados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Para tal, foi realizada a criação massal de Ha em dieta artificial. As estirpes de Bt foram cultivadas em meio Embrapa a 28 °C por 72 horas sob agitação contínua de 200 rpm até sua completa esporulação. Das 150 estirpes testadas, 35 apresentaram resultados superior a 50% e foram testadas em bioensaio dose-resposta. Os dados obtidos foram analisados por PROBIT, obtendo-se a CL50, sendo em seguida validados por análise de variância pelo programa SigmaStat. Das 35 estirpes, 9 apresentaram melhores resultados de CL50 e foram caracterizadas ultra-estruturalmente por meio de microscopia eletrônica de varredura, caracterização molecular mediante PCR e bioquimicamente através de SDS-PAGE, para determinação do perfil protéico. Das 9 estirpes que tiveram seus perfis proteicos descritos, 5 estirpes apresentaram dois polipeptídios principais de aproximadamente 130 e 65 kDa, similares ao perfil do padrão *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1. As demais estirpes continham apenas um dos polipeptídeos principais, sendo que uma estirpe detinha a proteína de 130 kDa e as outras três a proteína de 65 kDa. Proteínas de massa molecular de 130 kDa são características da família Cry1 e estão relacionadas ao controle de coleópteros e lepidópteros. Já as proteínas 65 kDa são representantes da família Cry2 e apresentam atividade contra dípteros e lepidópteros. Os amplicons gerados ficaram restritos apenas a classes dos genes *cry1* e *cry2*. Estes resultados indicam que estas estirpes são promissoras para o controle deste inseto e, serão analisadas em condições de produção industrial.

Apoio: Embrapa Recursos Genético e Biotecnológicos, IMAmt e CNPq/UnB.

---

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

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt/UnCEUB

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

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

## **28 - ATIVIDADES RELACIONADAS À PREPARAÇÃO DO LABORATÓRIO DE QUARENTENA VEGETAL PARA IMPLANTAÇÃO DE UM SISTEMA DE QUALIDADE**

Veras, J.F.<sup>1</sup>; Benito, N.P.<sup>2</sup>; Marques, A.S.A.<sup>3</sup>

Sistemas de Gestão da Qualidade consolidaram-se como ferramentas importantes nas áreas pública e privada, entendendo-se por gestão, à ação de organizar, dirigir e dar ordem ao funcionamento de instituições, equacionar problemas e concretizar projetos, para que se atinja o objetivo proposto. O objetivo específico da implantação de Sistemas de Qualidade é verificar e propor melhorias aos processos da empresa, como planejamento e controle, levando os colaboradores a um maior comprometimento. Esse modelo de gestão impacta na competitividade das organizações, uma vez internalizado pelos gestores. Atualmente, o Laboratório de Quarentena Vegetal (LQV) do Cenargen, credenciado como Estação Quarentenária (EQ) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), prepara-se para a implantação de um sistema de gestão da qualidade, requerido pela Instrução Normativa Nº 29 de 24/08/2016, que estabelece a norma técnica para o funcionamento de EQs. Tomou-se por base para a priorização das atividades, o “Plano de Implementação da norma ABNT ISO/IEC 17.025 no LQV” elaborado pelo Núcleo de Gestão da Qualidade (NGQ), assim como o disposto na IN mencionada. Três requisitos foram abordados: os Procedimentos Operacionais Padrão (POP) que compõem a Lista Mestra; o levantamento da situação dos equipamentos, visando identificar os que são críticos ao processo quarentenário; a atualização dos documentos de controle (matrizes de competência e relatórios de treinamento). Um total de 57 POPs gerenciais e técnicos foram recuperados, revisados pelos especialistas e impressos, para compor o Manual de Procedimentos requerido pela IN 29 e pela ISO 17.025. Foi feito o levantamento dos equipamentos existentes nas unidades laboratoriais e de apoio do LQV, sua identificação com etiquetas padronizadas, anotação da verificação intermediária e indicação dos que estão fora de uso. Com base nessas informações, estão em elaboração os planos de calibração e manutenção. Para controlar o acesso de pessoas aos laboratórios e demais áreas da EQ, foram atualizadas as seguintes matrizes de competência, as quais relacionam conhecimentos e habilidades de empregados e colaboradores para a execução dos procedimentos: Gerencial; salas de Documentação, Amostragem e Inspeção; laboratórios de Bacteriologia, Entomologia/Acarologia, Micologia, Nematologia, Virologia, Cultura de Tecidos e Diagnóstico Molecular; Câmara Fria e Quarentenários. Os relatórios de treinamento estão em fase final de elaboração. Foram utilizados formulários disponibilizados pelo NGQ. Com a realização dessas atividades, espera-se avançar no preparo do LQV para a implantação do sistema da qualidade, assim como no atendimento às exigências do MAPA para o seu credenciamento

---

<sup>1</sup> Gestão Pública, graduação, Instituto Federal de Brasília-IFB

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

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

## 29 - AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE QUATRO TÉCNICAS DE PRESERVAÇÃO DE ISOLADOS DE BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS

Moura, Y.F.<sup>1</sup>; Favilla, L.D.<sup>1</sup>; Marques, A.S.A.<sup>2</sup>

O estabelecimento e a manutenção de coleções de microrganismos fazem parte da estratégia que visa suprir pesquisa e prestação de serviços, dos recursos indispensáveis à sua execução. O Laboratório de Quarentena Vegetal (LQV) do Cenargen abriga a “Coleção de Bactérias Fitopatogênicas de Importância Quarentenária” que dispõe de material de referência, mantém isolados detectados no curso da análise fitossanitária de germoplasma vegetal importado e agrega grupos de diferentes espécies para estudos de diversidade, auxiliando na pesquisa e identificação das bactérias de importância quarentenária. Essa Coleção tem, atualmente, um acervo de 521 isolados, preservados por métodos que visam manter sua longevidade, pela redução do metabolismo. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia das técnicas utilizadas, por meio da análise da sobrevivência das culturas bacterianas. As técnicas empregadas foram: a dissolução de colônias jovens (com 24-48h) em água destilada estéril; a cobertura de culturas multiplicadas em meio contendo carbonato de Cálcio (YDC) com óleo mineral; armazenamento a -20°C de suspensões de bactérias em meio 523 líquido com glicerol a 20% e; a dessecação em papel de filtro de suspensões densas, preparadas em meio líquido contendo gelatina e dextrose. Para a avaliação da sobrevivência, o material preservado foi recolocado em cultura, analisando-se a totalidade de alíquotas/métodos/isolados em meio de cultura sólido. A presença de crescimento bacteriano foi verificada um a sete dias após o semeio. A preservação em água destilada estéril mostrou-se a mais eficaz nas condições desta Coleção, com 58% de sobrevivência. O cultivo em YDC coberto com óleo mineral, 56% de sobrevivência. As preservações em glicerol e em papel de filtro apresentaram os menores índices de recuperação, 48% e 22%, respectivamente. Observou-se que nem todas as espécies apresentaram o mesmo desempenho, a exemplo de *Erwinia psidii*, com 63 isolados armazenados, que exibiu taxa de sobrevivência de 22% em água, 46% no YDC, 21% no glicerol e 0% em dessecação. É preciso se atentar às particularidades de cada espécie, visto que distintos aspectos fisiológicos e bioquímicos interferem na manutenção sob diferentes tipos de preservação. Assim, o ideal seria a escolha de diferentes técnicas para diferentes espécies, levando em consideração essas características, escolha que viria como resultado de estudos específicos. A partir dessa análise, constatou-se a importância da inclusão de métodos que possibilitem a sobrevivência da cultura a longo prazo, como a liofilização e a preservação sob ultracongelamento. Adicionalmente, acredita-se ser necessário estabelecer sistematicamente avaliações frequentes e regulares, para evitar perdas no acervo da Coleção.

Apoio: Embrapa.

---

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

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

### 30 - AVALIAÇÃO DA LONGEVIDADE DOS FUNGOS ARMAZENADOS PELO MÉTODO CASTELLANI, PERTENCENTES À COLEÇÃO DE MICRORGANISMOS PARA CONTROLE BIOLÓGICO DO CENARGEN

Lima, R.B.<sup>1</sup>; Menezes, J.E.<sup>2</sup>; Martins, I.<sup>3</sup>; Mello, S.C.M.<sup>4</sup>

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia mantém uma coleção de fungos, com 1.500 isolados, com potencial de biocontrole de doenças e plantas daninhas. A coleção foi formada com isolados de diferentes origens e hospedeiros, os quais foram preservados pelos métodos: em óleo mineral, ultrafreezer (-80°C), em nitrogênio líquido e pelo método Castellani. Por este último método, seis discos de cada isolado foram colocados dentro de tubos de penicilina com água e vedados, sendo armazenados em geladeira a 4°C. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência deste método. Para tanto, um disco de cultura foi transferido para placa de Petri, contendo BDA. Estas foram acondicionadas em sala de crescimento, sob luz contínua, a 25°C ± 1°C, por 30 dias. As avaliações foram feitas com base no crescimento de cada fungo, considerando viáveis e não viáveis. Os isolados viáveis receberam a seguinte nota: 1 – pouco crescimento, 2 – crescimento médio, 3 – crescimento completo na placa de BDA. Fez-se a contagem da concentração de inóculo, para esporos em suspensão, utilizando-se da Câmara de Neubauer. De 1.167 isolados avaliados, 342 (29,3%) não estavam viáveis e 825 (70,7%) estavam em boas condições de viabilidade. O método de Castellani é eficiente na preservação, por longo tempo, dos gêneros de fungos *Cercospora* spp., *Gliocladium* sp., *Sclerotinia sclerotiorum* e *Pestalottia* sp., mantendo a viabilidade e a capacidade de esporulação desses isolados. Para os gêneros *Dicyma* spp. e *Trichoderma* spp., que totalizam 67 (5,7%) e 928 (79,5%) respectivamente, dos isolados avaliados, esse método não se mostrou eficiente.

Apoio: Embrapa e Capes.

---

<sup>1</sup> Agronomia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, bolsista Capes

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

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

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

### 31 - BIOLOGIA COMPARADA DE *Meloidogyne graminicola* EM *Oryza sativa* E *O. glumaepatula*, PLANTAS SUSCETÍVEL E RESISTENTE.

Leite, R.R.<sup>1</sup>; Mattos, V.S.<sup>2</sup>; Gomes, A.C.M.M.<sup>3</sup>; Cares, J.E.<sup>4</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>5</sup>

*Meloidogyne graminicola* é o nematóide predominante em cultivos de arroz irrigado no sul do Brasil e em outros países que produzem esse grão. É um nematóide bem adaptado à sobrevivência e multiplicação em áreas inundadas, sendo um fator limitante à produção da cultura nessas regiões. Dentre os métodos de manejo mais sustentáveis para os nematóides das galhas estão as rotações de culturas e variedades resistentes. Fontes de resistência em *O. sativa* são escassas, embora haja registro de resistência a *M. graminicola* em genótipos selvagens. Estudo prévio com cinco espécies de arroz selvagens permitiu selecionar *O. glumaepatula*, que se mostrou resistente a *M. graminicola* (FR=0,6). Com base nesses resultados, o objetivo deste trabalho foi estudar alguns aspectos do ciclo biológico do nematóide nessas duas espécies de arroz, tendo *O. sativa* como suscetível e *O. glumaepatula* como resistente. A análise comparativa abrangeu penetração, estabelecimento e desenvolvimento do nematóide. Juvenis de segundo estágio (J2) foram observados em grande número nas raízes de *O. sativa*, 18h após a inoculação, localizados no córtex, com a região anterior do corpo já posicionada no cilindro central, e em *O. glumaepatula*, os J2 em pequeno número foram observados somente aos 9 dias após a inoculação (dai), ou seja, ocorreu um atraso na penetração de poucos J2 na planta resistente. Foram observados fêmeas, machos e massas de ovos em grande número em *O. sativa* aos 17-19 dai e em *O. glumaepatula* poucas fêmeas e massas de ovos aos 31 dai (redução e atraso da infecção). Todas as fases do ciclo de vida do parasita são internas ao sistema radicular nas duas espécies de arroz, inclusive a oviposição e migração dos J2 reinfecantes. Esses resultados serão complementados pelos estudos histopatológicos para elucidação dos mecanismos de resistência de *O. glumaepatula* a *M. graminicola*.

Apoio: Embrapa, Capes, CNPq, UnB, FAP-DF.

---

<sup>1</sup> Agronomia, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB, bolsista Capes

<sup>2</sup> Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/bolsista CNPq

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

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

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

## 32 - CARACTERIZAÇÃO DE MicroRNAs-LIKE DO FITOPATÓGENO *Pseudocercospora musae*

Rego, E.C.S.<sup>1</sup>; Pinheiro, T.D.M.<sup>1</sup>; Fonseca, F.C.A.<sup>2</sup>; Alves, G.S.C.<sup>3</sup>; Amorim, E.P.<sup>4</sup>; Ferreira, C.F.<sup>5</sup>; Togawa, R.C.<sup>6</sup>; Costa, M.M.C.<sup>7</sup>; Grynberg, P.<sup>8</sup>; Miller, R.N.G.<sup>9</sup>

MicroRNAs (miRNAs) são pequenos RNAs não-codificantes endógenos que regulam a expressão gênica a nível pós-transcricional, pela clivagem ou repressão da tradução do mRNA. MicroRNA-like (miRNAs) em fungos têm sido recentemente relatados por regular processos celulares biológicos e fisiológicos, incluindo crescimento de micélio, formação de conidiósporo e interação com fatores externos. A evidência do silenciamento da expressão do gene alvo do hospedeiro também indica um mecanismo potencial para os miRNAs na patogênese. A banana (*Musa spp.*) é uma cultura monocotiledônea cultivada em regiões tropicais e subtropicais, os cultivares comerciais produzem frutos partenocárpicos (sem sementes), o que contribui para a redução de variabilidade genética, resultando em lavouras com pouca resistência a pragas e doenças. *Pseudocercospora musae* (Zimm.) Deighton é o agente causal da Sigatoka-amarela, e se destaca como a principal doença fúngica da bananeira. *P. musae* é um patógeno hemibiotrófico, e sua infecção ocorre por meio dos estômatos. Tal patologia provoca o surgimento de estrias e lesões na face adaxial das folhas, diminuição do tamanho dos cachos e causa o amadurecimento prematuro dos frutos. Nesse trabalho uma cepa de *P. musae* foi cultivada em meio V8 e após 22 dias de crescimento o micélio foi macerado para a extração do RNA total. Foi realizado o sequenciamento Illumina de isolado de *P. musae in vitro* a fim de identificar os miRNAs do fungo. Um total de 101 pré-miRNAs candidatos foram identificados com o uso do software miRDeep, e os alvos potenciais desses miRNAs foram preditos usando a ferramenta psRNATarget, onde foram identificados um total de 381 genes alvos no genoma de *Musa acuminata*. Foi observado que alguns desses genes alvos estão envolvidos em resistência, tais como, NBS-LRR, fatores de transcrição da superfamília WRKY, genes análogos em resistência (RGAs) tais como, RGA1e RGA3, citocromo P450 e quinases. A caracterização de miRNAs de *P. musae* e o seu papel na modulação da expressão gênica, fornece recursos para o desenvolvimento de métodos eficientes de controle da Sigatoka-amarela.

---

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

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

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

<sup>4</sup> Genética e Melhoramento de Plantas, Ph.D., Embrapa Mandioca e Fruticultura

<sup>5</sup> Produção Vegetal, Ph.D., Embrapa Mandioca e Fruticultura

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

<sup>7</sup> Ciência da Computação, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

<sup>9</sup> Biologia Molecular e Fitopatologia Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

### 33 - CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS MODIFICADAS SUPERFICIALMENTE COM CARBOIDRATOS E SUA ATIVIDADE BIOLÓGICA EM MICRORGANISMOS

Araujo-Neto, L.A.<sup>1</sup>; Pereira, T.M.<sup>2</sup>; Silva, L.P.<sup>3</sup>

As nanopartículas magnéticas (NPMs) apresentam um amplo espectro de aplicações tanto no cenário biomédico quanto no ambiental. Nos últimos anos, o uso deste tipo de nanomaterial tem sido demonstrado em processos envolvendo culturas de células tridimensionais para formação de miméticos tumorais, assim como em outros tecidos humanos, como pâncreas e fígado. No entanto, suas aplicações para outros modelos de células, como microrganismos, ainda são limitadas. A partir disso, o objetivo deste estudo foi realizar a síntese de NPMs com superfícies modificadas com quatro tipos de carboidratos para potenciais aplicações em cultura de microrganismos e visando também à realização de cultivos tridimensionais. Pelo método de coprecipitação, as NPMs foram sintetizadas utilizando um protocolo previamente otimizado. O volume final foi separado em cinco béqueres, nos quais as NPMs de um deles foram decantadas magneticamente sem qualquer modificação (NPM-SC) e aos outros quatro béqueres contendo as NPMs foram acrescentados 0,3 mM de diferentes carboidratos (NPM-Carb1, NPM-Carb2, NPM-Carb3 e NPM-Carb4), com o objetivo de revestir as NPMs, sendo decantadas magneticamente após 20 min de exposição às soluções de carboidratos. A partir da diluição das NPMs na proporção de 1:500 e seguida de análises em equipamento Nano ZetaSizer foram determinados os diâmetros hidrodinâmicos (DH). Já utilizando a espectroscopia Raman, espectros das diferentes NPMs foram adquiridos entre si para elucidação do ambiente químico de cada uma das amostras. Foram realizados ensaios de concentração inibitória mínima (CIM) contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Saccharomyces cerevisiae*, no intuito de identificar a possível toxicidade das NPMs em microrganismos modelo. Os resultados mostraram que as NPMs apresentam como DH os seguintes valores: NPM-SC 107,1 ± 30,1 nm, NPM-Carb1 186,3 ± 47,3 nm, NPM-Carb2 162,4 ± 39,6 nm, NPM-Carb3 193,6 ± 29,9 nm e NPM-Carb4 120,2 ± 39,7 nm. As coberturas realizadas com os carboidratos nas NPMs influenciaram de maneiras distintas os espectros Raman obtidos para cada amostra. Quando submetidas aos ensaios biológicos para averiguar o potencial nível de toxicidade, identificou-se que em nenhuma concentração testada houve diminuição da viabilidade celular quando observado visualmente. Foi possível constatar que os nanomateriais sintetizados possuem DH distintos, porém com distribuições próximas. Além disso, as modificações nas superfícies das NPMs com carboidratos, bem como sem cobertura, não alteraram a viabilidade dos microrganismos testados.

Apoio: Capes, CNPq, FAP-DF, Embrapa, n3D Biosciences e Fundação Araucária.

---

<sup>1</sup> Ciências Farmacêuticas, mestrando, Universidade Federal do Paraná-UFPR

<sup>2</sup> Nanociência e Nanobiotecnologia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>3</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 34 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E FILOGENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne paranaensis* DE DIFERENTES FENÓTIPOS DE ESTERASE

Santos, M.F.A.<sup>1</sup>; Mattos, V.S.<sup>2</sup>; Gomes, A.C.M.M.<sup>3</sup>; Monteiro, J.M.S.<sup>4</sup>; Castagnone-Sereno, P.<sup>5</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>6</sup>

*Meloidogyne paranaensis* é uma das espécies de nematóide das galhas mais destrutivas ao cultivo do cafeeiro. Estudos anteriores mostraram uma maior agressividade das populações de fenótipo de esterase P2 e P2a em relação a cultivares suscetíveis de café. O objetivo deste estudo foi caracterizar populações de *M. paranaensis* de diferentes fenótipos de esterase (Est P1, P2 e P2a), quanto às variações morfológicas, morfométricas e, quanto às relações filogenéticas em regiões distintas do rDNA. Todas as populações foram identificadas pelo fenótipo de esterase e marcadores SCAR, espécie específicos. Os estudos morfológicos e morfométricos foram realizados por meio de observações ao microscópio ótico e eletrônico de varredura. Para as análises filogenéticas das regiões do DNA ribossomal, ITS1-ITS2 entre o gene 5.8S e o fragmento D2D3 do gene 28S, os produtos de PCR foram extraídos, clonados, sequenciados e alinhados com outras sequências de *Meloidogyne* spp. obtidos a partir do NCBI e a árvore filogenética gerada usando o UPGMA e o programa PAUP v 4.0. Quanto à morfologia/morfometria, as três populações foram muito próximas à da descrição da espécie, diferindo apenas quanto à morfologia do estilete dos machos. A população Est P1 apresentou bulbos redondos com projeção lateral em relação à haste, como na descrição da espécie; e as populações P2 e P2a, bulbos no formato de pera, com projeção para baixo. Nas análises filogenéticas obtidas da região D2D3 do gene 28S, todas as populações de *M. paranaensis* se agruparam com 60% de bootstrap independente do perfil Est P1, P2 e P2a. Na região intergênica, ITS1-5.8S-ITS2, as populações Est P1 e P2 se agruparam com 77% de bootstrap, exceto a população Est P2a proveniente da Guatemala, que se separou das populações do Brasil, podendo essa separação estar ligada à origem geográfica. Apesar da existência de três perfis enzimáticos, uma baixa variabilidade genética foi observada nas populações de *M. paranaensis*, independente da região do rDNA, indicando que esses marcadores são altamente conservados para a espécie. Além disso, ambos os marcadores do rDNA apresentaram discriminação das principais espécies de *Meloidogyne* do cafeeiro.

Apoio: INCT/Café, CNPq e Embrapa.

---

<sup>1</sup> Biologia Molecular, pós-doutorando, INCT/Café/CNPq

<sup>2</sup> Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/bolsista CNPq

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

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

<sup>5</sup> Agronomia, Ph.D., INRA, Univ. Nice Sophia Antipolis, CNRS

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

### 35 - CONTROLE BACTERIANO DE *Escherichia coli* E *Staphylococcus aureus* UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA BIOSINTETIZADAS

Pereira, T.M.<sup>1</sup>; Araujo-Neto, L.A.<sup>2</sup>; Silva, L.P.<sup>3</sup>

Recentemente, a resistência bacteriana vem sendo um problema bastante discutido. No intuito de controlar microrganismos resistentes, muitas vezes utiliza-se concentrações maiores de agentes antibióticos. Contudo, aumentar os níveis de antibacterianos pode levar à geração de resíduos e até mesmo atingir e causar toxicidade a organismos não alvos. Assim, há uma crescente busca por novos agentes antimicrobianos, como por exemplo, nanomateriais incluindo nanopartículas de prata (AgNPs). De fato, não há relatos documentados na literatura sobre bactérias, que foram isoladas em ambiente natural, as quais sejam resistentes a AgNPs. Esse fato permite propor que concentrações baixas de AgNPs poderiam ser aplicadas para o controle de bactérias patogênicas. Com isso, no presente estudo AgNPs foram sintetizadas, em banho-maria, a partir de extrato aquoso das folhas de uma planta do Cerrado incubado com solução de nitrato de prata 1 mM. As AgNPs foram caracterizadas quanto ao diâmetro hidrodinâmico e potencial Zeta. Para o teste de concentração inibitória mínima (MIC) utilizou-se as bactérias Gram positiva *Staphylococcus aureus* ATCC<sup>®</sup> 25923 e Gram negativa *Escherichia coli* ATCC<sup>®</sup> 8739, como controle positivo penicilina e estreptomicina, e como controle negativo água. AgNPs e o extrato precursor foram aplicados em microplacas nas concentrações de 256, 128, 64, 32, 16 e 8 µM e incubados a 37°C por 3 dias em estufa bacteriológica. As AgNPs apresentaram diâmetro hidrodinâmico de 80,26 ± 4,74 nm e potencial Zeta de -13,8 ± 3,4 mV. Após 24 h de incubação das bactérias com as AgNPs percebeu-se que as concentrações de 128 e 256 µM eram bacteriostáticas e após 72 h de incubação percebeu-se que a concentração de 256 µM foi bactericida. Este teste preliminar indicou que as AgNPs podem ser utilizadas para o controle bacteriano, demonstrando que mesmo em baixas concentrações são eficazes para o combate de bactérias patogênicas. Assim, as AgNPs biossintetizadas com extrato aquoso de uma planta do Cerrado (sob sigilo) são apresentadas como uma forma inovadora para o combate a microrganismos patogênicos.

Apoio: Embrapa, CNPq, Capes, FAP-DF, UnB e Jardim Botânico de Brasília.

---

<sup>1</sup> Nanociência e Nanobiotecnologia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ciências Farmacêuticas, mestrando, Universidade Federal do Paraná-UFPR

<sup>3</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 36 - DESENVOLVIMENTO DE BIOTINTA COM APLICAÇÃO DE NANOMATERIAL COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Fonseca, T.F.<sup>1</sup>; Silva, L.P.<sup>2</sup>

A bioimpressão tridimensional (3D) é uma técnica que vem tendo cada vez mais visibilidade por permitir a produção de estruturas diversificadas e complexas (*scaffolds*) a partir de modelos computacionais. Para tanto, a escolha da biotinta a ser utilizada é crucial, uma vez que características como biocompatibilidade e propriedades físicas e/ou químicas têm grande influência na funcionalidade do bioimpresso. As nanopartículas de prata (AgNPs) são vastamente estudadas e reconhecidas por sua atividade antimicrobiana. Portanto, este projeto teve como objetivo desenvolver uma biotinta asséptica para bioimpressão 3D por meio da adição de AgNPs produzidas por rota de síntese verde. A biotinta foi desenvolvida utilizando combinações de carboximetilcelulose, ágar e gelatina em diferentes proporções. Os polímeros foram dissolvidos em água ultrapura, misturados em placas de 48 poços e colocados em incubadora B.O.D. a 25°C *overnight*. Após, as misturas foram submetidas a testes de intumescimento, em que estas foram pesadas (P1), colocadas em béqueres e houve adição de tampão fosfato salina (PBS) em cada béquer contendo as misturas de polímeros em diferentes proporções. Estes foram deixados em estufa bacteriológica e depois de 72 h, o PBS foi retirado, as misturas foram gentilmente secas e novamente pesadas (P2). Para determinação da taxa de intumescimento de cada mistura produzida foi utilizada a fórmula: taxa de intumescimento =  $(P2-P1) \times 100/P1$ . AgNPs em concentração que promovem inibição de crescimento bacteriano foram adicionadas às misturas, que foram colocadas em moldes por 24 h e, após, desenformadas. Por meio dos testes de intumescimento, foi possível observar que a maioria das misturas testadas não produziu estruturas sólidas e estáveis o suficiente para serem testadas biologicamente. Assim, foi selecionada uma mistura que ofereceu estabilidade em termos estruturais (forma) e taxa de intumescimento altas para adicionar as AgNPs. Após a adição de AgNPs, a mistura passou da coloração esbranquiçada para amarelada. Serão realizados testes de atividade antimicrobiana com a mistura acrescida de AgNPs para comprovação de sua provável atividade contra microrganismos. Com a utilização de 3 biopolímeros naturais e AgNPs foi possível desenvolver uma biotinta com propriedades físicas e reológicas promissoras para processos de biofabricação e com provável ação antimicrobiana.

Apoio: Embrapa, FAP-DF, UnB, CNPq e Capes.

---

<sup>1</sup> Nanociência e Nanobiotecnologia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 37 - DETECÇÃO DE FITOPLASMAS GRUPO 16SrIX EM HOSPEDEIRAS ALTERNATIVAS E CIGARRINHAS EM ÁREAS DE CITROS DO DISTRITO FEDERAL

Guimarães, G.C.<sup>1</sup>; De Souza, S.L.B.<sup>1</sup>; Angarten, M.B.O.<sup>2</sup>; Martins, O.M.<sup>3</sup>; Lopes-da-Silva, M.<sup>4</sup>; Sanches, M.M.<sup>5</sup>

Huanglongbing (HLB), ou Greening, é a doença mais importante e destrutiva da citricultura mundial. No Brasil, fitoplasmas do grupo 16SrIX foram associados com plantas de citros com sintomas de HLB, livres de 'Ca. L. americanus' ou 'Ca. L. asiaticus'. Em áreas de citros em Brazlândia- DF foram encontrados o fitoplasma do grupo IX e verificou-se a presença de várias espécies de plantas invasoras e também cigarrinhas, que são consideradas possíveis vetores do fitoplasma. Portanto o objetivo do trabalho foi avaliar a presença do fitoplasma grupo IX nestas plantas invasoras e cigarrinhas presentes nos pomares cítricos. Para a coleta de plantas, uma amostragem em zig-zag foi executada nos pomares de citros. As folhas com sintomas típicos causados por fitoplasmas foram coletadas para posteriores análises laboratoriais. Os potenciais vetores (cigarrinhas) foram coletados com armadilhas adesivas amarelas, os quais foram conservados em etanol 70%. Paralelamente, à coleta de cigarrinha com armadilha amarela adesiva nos pomares de Brazlândia, foram realizadas coletas com bandejas de água amarela junto à pomar de citros na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Para a detecção do fitoplasma em plantas e cigarrinhas por diagnose molecular, foi efetuada a extração de DNA total e o real-time PCR com primers específicos. Um total de 53 exemplares de plantas invasoras, incluindo 9 espécies botânicas foram coletadas. Das plantas coletadas e analisadas, apenas sete plantas, uma de leiteiro (*Euphorbia* sp), uma de *Sida* sp. e cinco de picão-preto (*Bidens* sp.) apresentaram resultado positivo para o fitoplasma do grupo 16SrIX. Em relação as cigarrinhas, 32 exemplares de *Planicephalus* sp apresentaram resultado negativo, já *Scaptyopius* sp apresentou resultado positivo para nove exemplares de um total de 38 exemplares coletados. A presença da doença em citros aparentemente depende de fatores como a vegetação espontânea junto ao pomar e também da flutuação populacional das cigarrinhas, que foi observada em diferentes épocas do ano.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

---

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

<sup>2</sup> Agronomia, SEAGRI-Distrito Federal

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

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

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

### 38 - DETECÇÃO DE ISOLADO VIRAL QUE CAUSA INFECÇÕES SEM ROMPIMENTO DO TEGUMENTO DE INSETOS *Chrysodeixis includens*

Mota, I.S.<sup>1</sup>; Santos, L.A.V.M.<sup>2</sup>; Eizono, R.F.<sup>3</sup>; Ribeiro, Z.M.A.<sup>4</sup>; Gomes, A.C.M.M.<sup>5</sup>; Castro, M.E.B.<sup>6</sup>

Os baculovirus são vírus patogênicos a insetos principalmente da ordem Lepidoptera. A maioria dos genomas dos nucleopolyhedrovirus (NPV) de lepidópteros e de vários granulovirus (GV) produzem enzimas, a quitinase (*V-CHIA*) e catepsina (*V-CATH*), que facilitam ou de alguma forma estão envolvidas no rompimento (R) do tegumento do corpo do inseto hospedeiro na fase final da infecção. *Chrysodeixis includens* é um inseto popularmente conhecido como lagarta falsa-medideira, uma praga agrícola com ampla distribuição geográfica e que causa sérios danos econômicos em várias culturas agrícolas no Brasil. O objetivo deste trabalho foi investigar os eventos NR (não rompe) e R (rompe) detectados durante a multiplicação de uma amostra viral obtida de uma mistura de larvas de *C. includens* infectadas e mortas por vírus, em plantações de soja em Centro Leste (Primavera do Leste – MT). Partículas virais purificadas a partir das lagartas *C. includens* infectadas foram analisadas por microscopia de transmissão (MET) e evidenciaram vírions imersos em uma matriz proteica em formato poliédrico, constituindo os corpos de oclusão (OBs: *occlusion bodies*), chamados de poliedros. Essas observações confirmaram que esse vírus é um nucleopolyhedrovirus pertencente ao gênero *Alphabaculovirus* da família *Baculoviridae*. A amostra viral foi então nomeada de *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus, ChinNPV-MT.E. Esse isolado foi inicialmente testado em larvas *C. includens* de 3º instar em uma concentração de  $1 \times 10^4$  OBs/ml de dieta. Mortalidade larval ocorreu a partir do 6dp.i., quando foi observado os dois eventos (NR e R). Para selecionar as larvas que não apresentaram liquefação, ensaios preliminares de infecção foram realizados e o isolado ChinNPV-MT.E (NR) foi separado do isolado ChinNPV-MT.E (R). Passagens seriadas dos isolados (NR e R) serão realizadas em insetos *C. includens* para melhor isolamento desses genótipos. A presença dos genes *v-chiA* e *v-cath* nos genomas dos isolados selecionados está sendo investigada.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, FAP-DF, UnB e CNPq.

---

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

<sup>2</sup> Biologia, graduação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista Pronex/FAP-DF

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

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

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

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

### 39 - DETECÇÃO MOLECULAR E CITOLÓGICA DO Bean associated cytorhabdovirus (BaC) EM FEIJOEIRO COMUM E *Bemisia tabaci*

Lima, B.P.<sup>1</sup>; Kitajima, E.W.<sup>2</sup>; Alves-Freitas, D.M.T.<sup>3</sup>; Melo, F.L.<sup>4</sup>; Lacorte, C.<sup>5</sup>; Ribeiro, S.G.<sup>6</sup>

A partir da descoberta de um novo rhabdovírus transmitido por mosca branca (*Bemisia tabaci* MEAM1), o Bean associated cytorhabdovirus (BaC), infectando o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*), um hospedeiro até então não relatado entre a gama descrita para os vírus da família *Rhabdoviridae*, torna-se imperativo o desenvolvimento da caracterização molecular e biológica dessa espécie que possam contribuir para a geração de ferramentas de diagnose a serem utilizadas para definir inclusive sua incidência no país. Os rhabdovírus apresentam genomas de RNA de fita simples negativa (-ssRNA) de 11 a 14.8 kb, em sua maioria não segmentados e envelopados, com partículas de 100 a 430 nm de comprimento por 45 a 100 nm de diâmetro em formato de bala ou baciliformes. A morfogênese varia de acordo com o gênero e ocorre em membranas celulares, no entorno do retículo endoplasmático (cytorhabdovírus) ou no núcleo (em nucleorhabdovírus). Após a maturação do vírus, seu movimento no hospedeiro pode ocorrer por meio da ação de insetos vetores, ou ainda por meio de proteínas de movimento que permitem o transporte de partículas virais para as células adjacentes. Extrações de RNA total foram realizadas utilizando-se Trizol<sup>®</sup> reagente, tanto para as plantas, como para as moscas brancas. O BaC foi detectado por meio de RT-PCR, com *primers* específicos para a Nucleoproteína, tanto em folhas como nas raízes de feijoeiro. Moscas brancas adultas também foram testadas individualmente, bem como desmembradas em cabeça e tórax com abdomen, com auxílio de lupa estereoscópica em solução fisiológica (NaCl 0,09%), resultando em uma detecção viral eficiente em todo corpo do inseto. Amostras foliares de feijoeiros infectados e não-infectados foram fixadas em glutaraldeído 4% em tampão cacodilato (pH 7.4), coradas em tetróxido de ósmio 1%, dessecadas em solução alcólica seriada, emblocadas em resina, coradas com acetato de uranila 1% e analisadas em microscópio eletrônico de transmissão. Nas micrografias de feijoeiros infectados foi possível identificar a presença de viroplasmas formados por material filamentososo no citoplasma, bem como partículas virais baciliformes com, aproximadamente, 300 nm de comprimento e 100 nm de diâmetro. Esforços futuros serão concentrados na identificação por MET de partículas virais também no vetor, formando um conjunto de técnicas possíveis de serem empregadas para detecção do BaC em seus hospedeiros.

---

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

<sup>2</sup> Fitopatologia, Ph.D., Universidade de São Paulo-USP

<sup>3</sup> Biologia Molecular, pós-doutorado, Universidade de Brasília-UnB

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

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

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

#### **40 - DIVERSIDADE e AGRESSIVIDADE DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne incognita* PROVENIENTES DO ESTADO DA BAHIA A GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum*)**

Lopes, C.M.L.<sup>1</sup>; Cares, J.E.<sup>2</sup>; Perina, F.J.<sup>3</sup>; Nascimento, G.F.<sup>4</sup>; Mendonça, J.S.F.<sup>4</sup>; Moita, A.W.<sup>5</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>6</sup>

Diversas doenças e pragas afetam a produtividade de algodão no mundo, no Brasil, o principal nematóide causador de perdas à cultura do algodoeiro é *Meloidogyne incognita*. Para o uso de estratégias de controle em um manejo integrado é necessária uma correta caracterização das populações de nematóides prevalentes nas áreas de produção de algodão. O presente trabalho teve como objetivo a caracterização da agressividade e virulência de dez populações do patógeno oriundas de áreas de produção de algodão da Bahia. Todas as populações foram previamente caracterizadas molecular e bioquimicamente. Mudas de seis genótipos de algodão de diferentes níveis de resistência foram inoculadas com 5 mil ovos, mantidas em casa de vegetação por três meses e então avaliadas para os índices de galhas e massas de ovos, e fator de reprodução (FR). Os níveis de agressividade das populações em relação à testemunha foram variados, com uma das populações se destacando das demais, como altamente agressiva, atingindo FR médio de 538 na cultivar suscetível (FM 966). Nenhuma das populações apresentou virulência frente às cultivares moderadamente resistentes (Clevewilt-6, LA-887,) e altamente resistentes (CIR1348 e M-315 RNR e Wild Mexican Jack Jones). Comparando esses resultados, com a análise de variabilidade genética, a população mais agressiva foi também a mais divergente geneticamente para os marcadores RAPD e AFLP (41 % de polimorfismo). Esses resultados sugerem que cultivares portadoras de um só gene de resistência e com boas características agrônômicas possam ser usadas no futuro em áreas comerciais no estado da Bahia.

Apoio: Embrapa, Abapa, Capes e CNPq.

---

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

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

<sup>3</sup> Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Algodão

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

<sup>5</sup> Matemática, M.Sc., Embrapa Hortaliças

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

## 41 - DIVERSIDADE GENÉTICA DE LINHAGENS DE *Trichoderma* ISOLADAS DE SOLO DE CULTIVO DE ALGODÃO

Macêdo, K.<sup>1</sup>; Mello, S.C.M.<sup>2</sup>; Inglis, P.W.<sup>3</sup>; Martins, I.<sup>4</sup>; Valadares-Inglis, M.C.<sup>5</sup>

*Trichoderma* é um agente de controle biológico amplamente conhecido devido ao seu potencial de controlar diversos patógenos de importância para a agricultura. Linhagens foram isoladas de uma área de cultivo de algodão entre os anos de 2001 e 2006 e armazenadas na Coleção de Microrganismos para o Controle de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Um total de 145 amostras foram retiradas da coleção e cultivadas em meio BDA (batata dextrose ágar) por cinco dias para produção de micélio. Este foi coletado e foi feita extração do DNA total para amplificação das sequências de ITS, TEF, RPB2 e CAL, utilizando *primers* específicos para cada região. Os produtos de amplificação foram sequenciados e as sequências utilizadas para análise filogenética. Os contigs foram montados utilizando o programa Chromas Pro, as sequências foram alinhadas com o software MAFFT e a árvore filogenética Bayesiana foi construída com o software Mr. Bayes. Os resultados da análise concatenada permitiram a identificação de 16 espécies de *Trichoderma*, sendo que aproximadamente 62% das linhagens pertencem à espécie *T. rifaii*, 12% à espécie *T. neokoningii*, 10% à espécie *T. afroharzianum*, enquanto que as demais pertencem às espécies *T. guizhouense*, *T. orientale*, *T. lentiforme*, *T. brevicompactum*, *T. endophyticum*, *T. spirale*, *T. asperelloides* e *T. rogersonii*. Além dessas espécies identificadas, duas novas espécies descritas encontram-se em fase de publicação e outra está sendo descrita. Análises morfológicas, incluindo medições das estruturas propagativas (fiálides e conídios), vem sendo conduzidas para complementar as descrições de novas espécies e confirmar os resultados moleculares.

Apoio: FAP-DF.

---

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

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

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

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

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

## 42 - EFEITO DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS DE *Trichoderma* spp. NO CRESCIMENTO DE *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) DE BARY

Silva, L.R.<sup>1</sup>; Valadares-Ingliš, M.C.<sup>2</sup>; Magalhães, D.M.<sup>3</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>4</sup>; Martins, I.<sup>5</sup>; Mello, S.C.M.<sup>6</sup>

O gênero *Trichoderma* Persoon compreende um grande número de espécies de fungos mitospóricos. Seus diversos mecanismos de ação, entre os quais a antibiose por meio da produção de compostos orgânicos voláteis (COVs), tornam esses fungos atraentes como antagonistas de fitopatógenos. Os COVs pertencem a diferentes classes químicas, que incluem principalmente compostos de origem terpênica e derivados de ácidos graxos. Devido à capacidade de difundirem através do solo, os COVs produzidos por fungos apresentam alto potencial para o controle de doenças de plantas. Já o fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary é capaz de infectar mais de 400 espécies de plantas, causando a doença denominada mofo-branco, podridão-de-esclerotinia ou murcha-de-esclerotinia. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de COVs por seis linhagens de *Trichoderma* e seus efeitos no crescimento e na morfologia do micélio de *S. sclerotiorum* (CEN1147). Tais linhagens pertencem às espécies: *T. koningiopsis* (CEN1386), *T. asperelloides* (CEN1397), *T. longibrachiatum* (CEN1399), *T. lentiforme* (CEN1416) e *Trichoderma* sp. (CEN1389 e CEN1241). A coleta dos COVs foi feita pela técnica de aeração forçada e, os extratos da aeração contendo os COVs foram quantificados e identificados por cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chamas (CG-DIC) e CG acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), respectivamente. A inibição do crescimento e alteração da morfologia do micélio foram avaliadas pela exposição do patógeno aos COVs, seguida de análises microscópicas. As análises químicas dos extratos de aeração mostraram que há diferenças significativas nos perfis de COVs entre as seis linhagens de *Trichoderma* avaliadas, tanto quali quanto quantitativamente. Os melhores resultados na inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* foram obtidos com a linhagem CEN1241 (35% de inibição). Em todos os casos, os COVs produzidos pelas linhagens de *Trichoderma* causaram redução na espessura das hifas de *S. sclerotiorum*. Portanto, evidenciou-se a ação dos COVs das linhagens estudadas, especialmente da linhagem CEN1241, no biocontrole do mofo-branco.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Capes/UnB e FAP-DF.

---

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

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

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

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

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

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

### 43 - EFEITOS DE MEIOS DE CULTIVO NA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E POTENCIAL APLICAÇÃO ANTIMICROBIANA

Silva, I.P.<sup>1</sup>; Bonatto, C.C.<sup>2</sup>; Silva, L.P.<sup>3</sup>

Procedimentos ambientalmente benignos para a produção de nanomateriais são de suma importância, pois podem ter muitas aplicações ao mesmo tempo em que causando poucos efeitos adversos. Nanopartículas metálicas são produzidas de várias maneiras seja de modo físico ou químico dependendo apenas da acessibilidade e viabilidade de procedimentos para atingir as aplicações desejadas. Recentemente, rotas alternativas têm sido desenvolvidas na busca por novas formas para produção de nanomateriais que causem menor impacto ao meio ambiente. Assim, surge a importância da síntese verde que se preocupa em desenvolver métodos sustentáveis para produção de nanomateriais, dentre eles nanopartículas de prata (AgNPs). Sabe-se que AgNPs são utilizadas na saúde, indústria alimentícia, na indústria têxtil, entre outras, por apresentarem notório efeito antimicrobiano. Neste sentido, este estudo tem como objetivo sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* de AgNPs produzidas por rotas de síntese verde utilizando meios de cultivos, suplementados ou não com extratos ricos em carboidratos e proteínas. A partir de inoculação da bactéria no meio de interesse e nas suas suplementações (10%), foram avaliadas as cinéticas de crescimento utilizando leitora de microplacas onde foi possível observar que dependendo da suplementação houve um crescimento diferencial (aumento ou diminuição) comparado ao meio controle. Os meios que favoreceram o crescimento mais acentuado dos microrganismos foram utilizados como fonte redutora e estabilizante para a síntese de AgNPs e a caracterização das estruturas formadas foi realizada por espalhamento de luz dinâmico (DLS) para determinação do diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade, espectroscopia de UV-visível e microscopia de força atômica (MFA). Os resultados mostraram que o meio Luria Bertani (LB), assim como a maioria das suplementações com extratos testadas, não foram agentes redutores de íons prata adequados para formação de AgNPs estáveis coloidalmente. De todo modo, os resultados forneceram informações úteis para uma maior compreensão do possível envolvimento dos meios de cultivo empregados em processos de biossíntese microbiana de AgNPs a partir de meios suplementados e para posteriores aplicações em estudos da investigação dos efeitos desses nanomateriais em testes de atividade antimicrobiana.

Apoio: Embrapa, CNPq, FAP-DF e Capes.

---

<sup>1</sup> Farmácia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., TecSinapse

<sup>3</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

#### 44 - IDENTIFICAÇÃO DE GENES *cry* DE *Bacillus thuringiensis* POR SISTEMA MULTIPLEX DE PCR EM TEMPO REAL (qPCR)

Moreira, R.J.<sup>1</sup>; Queiroz, P.R.<sup>2</sup>; Martins, E.S.<sup>3</sup>; Tomazette, M.<sup>4</sup>; Hirbs, J.B.S.X.<sup>5</sup>; Monnerat, R.G.<sup>6</sup>

A identificação de novos insetos-praga, a entrada de organismos até então quarentenários no Brasil e a seleção de populações resistentes aos defensivos agrícolas resultam em grandes perdas de produtividade e, por conseguinte, impacto ao agronegócio. Sendo este setor responsável por um notável percentual do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro e em consonância com exigências internacionais para uma produção agrícola mais sustentável, o desenvolvimento de produtos biotecnológicos formulados a partir de *Bacillus thuringiensis* (Bt), microrganismos, que se caracterizam pela produção de diferentes toxinas Cry, responsáveis pelos efeitos tóxicos em insetos-praga e vetores de doenças. Tais bactérias mostram-se como alternativas aos defensivos químicos, mediante sua alta especificidade e inocuidade ao meio ambiente e à saúde humana. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo a utilização de um sistema multiplex qPCR para identificação de genes *cry* pertencentes às famílias *cry1A*, *cry1C* e *cry1F* de *Bacillus thuringiensis* com atividade inseticida sobre lepidópteros-praga. Para tal, foram escolhidas estirpes de Bt que apresentaram atividade tóxica contra: *Plutella xylostella*, *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*. As bactérias foram cultivadas em meio Embrapa líquido, temperatura em torno de 28 °C, sob agitação a 200 rpm, durante 72 h. Em seguida, as amostras foram crescidas em meio Embrapa-ágar para confirmação de pureza. Posteriormente, as estirpes foram cultivadas em meio LB-ágar por 16 h para extração do DNA por meio do sistema automatizado Maxwell® 16 Research e quantificados usando o kit QuantiFluor® ONE dsDNA System e o equipamento Quantus™ Fluorometer. Para identificação simultânea das três classes de toxinas, foram usados iniciadores específicos para cada família de gene e validados junto a uma estirpe padrão que apresenta em seu genoma os três genes responsáveis por codificar as toxinas de interesse. O presente sistema de identificação permite a detecção dos três genes ou ausência dos mesmos em uma única reação, tornando a caracterização dos isolados de Bt mais eficiente, rápida, segura e econômica, tendo assim uma grande contribuição para o desenvolvimento de produtos biotecnológicos à base de Bt.

Apoio: Embrapa Recursos Genético e Biotecnológicos, IMAmt e CNPq.

---

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

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt/UniCEUB

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

<sup>4</sup> Biologia, graduação, Instituto Federal do Rio de Janeiro-IFRJ

<sup>5</sup> Biologia, graduação, Col. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

## 45 - INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA BACTERIANA À NANOPARTÍCULAS DE PRATA PRODUZIDAS POR ROTA DE SÍNTESE VERDE

Ferreira, C.L.<sup>1</sup>; Pupe, J.M.<sup>2</sup>; Bonatto, C.C.<sup>3</sup>; Silva, L.P.<sup>4</sup>

Nanopartículas com potencial antimicrobiano representam novas alternativas aos antibióticos tradicionais, principalmente por atuarem em mecanismos de ação que impedem a resistência bacteriana. No entanto, estudos recentes mostraram que algumas espécies de bactérias conseguem, por mecanismos diferentes dos descritos em relação aos antibióticos tradicionais, desenvolver resistência ou tolerância a nanomateriais, como as nanopartículas de prata (AgNPs). Com o intuito de investigar melhor esse tema, o presente estudo tem como objetivo avaliar a possibilidade de indução de tolerância em uma linhagem de *Escherichia coli* (ATCC 8739) utilizando AgNPs obtidas por rota de síntese verde, podendo assim, gerar base para futuros estudos sobre mecanismos de resistência a essas nanopartículas. Inóculos de *E. coli* foram submetidos a diferentes concentrações de AgNPs, utilizando-se ensaios de concentração inibitória mínima (CIM) em microplacas de 96 poços em meio Luria-Bertani (LB) líquido. As cinéticas de crescimento bacteriano foram monitoradas em leitora de microplacas em diferentes intervalos de tempo durante 24 horas. Dessa forma, a CIM foi determinada. Os microrganismos dos poços com concentração subinibitória (logo abaixo da CIM) foram repicados em placas de Petri contendo meio LB + Agar (meio sólido) para, posteriormente, serem condicionadas às mesmas concentrações de AgNPs e análises do primeiro ensaio. Assim, é esperado que, com sucessivas exposições às concentrações subinibitórias de AgNPs, sejam selecionadas colônias com tolerância a esses nanomateriais.

Apoio: Embrapa, CNPq, FAP-DF e Capes.

---

<sup>1</sup> Farmácia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

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

<sup>3</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., TecSinapse

<sup>4</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 46 - INFECÇÃO MISTA DO CUCURBIT APHID-BORNE YELLOWS VIRUS E COWPEA APHID-BORNE MOSAIC VIRUS EM *Passiflora* spp. NO BRASIL

Vidal, A.H.<sup>1</sup>; Pinheiro-Lima, B.<sup>1</sup>; Abreu, E.F.M.<sup>2</sup>; Sanches, M.M.<sup>3</sup>; Alves-Freitas, D.M.T.<sup>4</sup>; Lacorte, C.<sup>5</sup>; Rosa, R.C.C.<sup>6</sup>; Jesus, O.N.<sup>7</sup>; Campos, M.A.<sup>8</sup>; Varsani, A.<sup>9</sup>; Ribeiro, S.G.<sup>10</sup>

Em 2015, uma alta incidência de sintomas típicos de infecções virais foi relatada por produtores de maracujá no estado da Bahia, o atual maior produtor do fruto no Brasil. Folhas sintomáticas de *Passiflora* spp. foram coletadas nos municípios de Lençóis (n=21) e Jussiape (n=9) na Bahia. O dsRNA das amostras foi extraído, condicionadas em um pool, e sequenciado na plataforma *Illumina HiSeq 2500*. O *De novo assembly* dos *reads* utilizando o programa *ABYSS* (*K-mer*=64) resultou em vários *contigs* relacionados ao Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV, *Polerovirus*, *Luteoviridae*), e ao Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV, *Potyvirus*, *Potyviridae*). Para a montagem da sequência de CABYV de maracujazeiro, o genoma CABYV JF939814 da Espanha foi usado como referência para mapear os *reads*, produzindo um consenso de 5,643 nt, nomeado CABYV-PF (MH257573). O CABYV-PF codifica as ORFs P0 a P5 e P3a, típicas de polerovírus, e apresenta 87-94% de identidade de nucleotídeos com isolados de CABYV de diferentes países. As identidades de aminoácidos variam entre 92-99%, em relação às sequências proteicas do genoma referência de CABYV (NC\_003688). A incidência de CABYV nas amostras individuais foi avaliada por RT-PCR e Southern blot utilizando uma sonda específica para o CABYV. A incidência de CABMV foi avaliada por RT-PCR. Em Lençóis, o CABYV foi detectado em 52% (11/21), e o CABMV em 91% (19/21) das amostras, e 48% (10/21) das plantas apresentaram infecção por ambos os vírus. Em Jussiape, as frequências de infecção por CABYV e CABMV foram de 11% (1/9) e 55% (5/9), respectivamente, e nenhuma infecção mista foi detectada. O CABYV possui uma ampla gama de hospedeiras, e o CABMV é comumente relatado em maracujazeiros no país, no entanto, este é o primeiro registro de CABYV em maracujazeiros no mundo.

Apoio: Embrapa, CNPq, e FAP-DF.

---

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

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

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

<sup>4</sup> Biologia Molecular, pós doutorado, Universidade de Brasília-UnB

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

<sup>6</sup> Produção Vegetal, Ph.D., Embrapa Agrobiologia

<sup>7</sup> Genética e Melhoramento de Plantas, Ph.D., Embrapa Mandioca e Fruticultura

<sup>8</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Universidade Federal de Campina Grande-UFCG

<sup>9</sup> Virologia, Ph.D., Arizona State University-USA

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

## 47 - ISOLADO VIRAL DE *Chrysodeixis includens* (ChinNPV-MG.B) SELECIONADO PARA USO NA PRODUÇÃO DE BIOINSETICIDA

Fernandes, L.S.P.<sup>1</sup>; Ferreira, A.C.Q.<sup>2</sup>; Mota, I.S.<sup>2</sup>; Santos, L.A.V.M.<sup>3</sup>; Ribeiro, Z.M.A.<sup>4</sup>; Gomes, A.C.M.M.<sup>5</sup>; Castro, M.E.B.<sup>6</sup>

A lagarta falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker,1857) (Lepidoptera: Noctuidae) causa severos danos a diversas culturas de grande importância agrícola no Brasil, como em plantações de soja. As características inseticidas dos baculovirus aliadas às vantagens de não causar riscos ao meio ambiente e a saúde humana têm fortalecido o interesse progressivo de uso de baculovirus em sistemas de manejo integrado de pragas (MIP). Com o objetivo de selecionar vírus que possuam alto grau de virulência e patogenicidade em seus insetos hospedeiros, vários isolados virais de *Chrysodeixis includens* vêm sendo avaliados e caracterizados. Neste trabalho, um novo isolado de *Chrysodeixis includens* NPV foi identificado e avaliado quanto a sua virulência. O isolado viral, obtido de larvas mortas coletadas em plantação de soja em Minas Gerais, foi identificado por microscopia e nomeado como *Chrysodeixis includens* NPV-MG (ChinNPV-MG.B). Inicialmente, ensaios de multiplicação do vírus foram realizados para formação de um estoque viral e para avaliar a infectividade desse isolado. Bioensaios preliminares foram realizados usando três diferentes concentrações ( $4,3 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^5$  e  $2,7 \times 10^4$  OBs/mL de dieta), larvas *C. includens* de terceiro instar, 2 larvas/copo, totalizando 40 larvas por repetição. Esses ensaios foram realizados em triplicata e incubados em condições adequadas de crescimento de insetos (BOD:  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , 14h fotoperíodo, 70% de UR) e monitorados diariamente. A partir do terceiro dia pós-infecção (dp.i.), o número de larvas mortas foi registrado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de Probit e os resultados mostraram uma  $CL_{50}$  (concentração média letal) de 1.624,424 OBs/mL. Dentre os 13 isolados de ChinNPV já testados quanto a patogenicidade em ensaios de laboratório, esse isolado, ChinNPV-MG.B, foi o que se apresentou mais virulento, sendo altamente indicado para uso no controle biológico da praga *C. includens*.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, FAP-DF, UnB, CNPq.

---

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

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

<sup>3</sup> Biologia, graduação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista Pronex/FAP-DF

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

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

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

## 48 - ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS ESTIRPES DE *Lysinibacillus sphaericus* COM ATIVIDADE DíPTERO-ESPECÍFICA

Ferreira, A.D.C.L.<sup>1</sup>; Silva, E.Y.Y.<sup>2</sup>; Hirbs, J.B.S.X.<sup>3</sup>; Almeida, Z.G.<sup>4</sup>; Stefanello, A. M.<sup>5</sup>; Brito, C.H.<sup>6</sup>; Miranda, J.E.<sup>7</sup>; Monnerat, R.G.<sup>8</sup>

Algumas espécies de culicídeos como os gêneros *Culex* e *Aedes* são consideradas importantes agentes transmissores de doenças aos seres humanos e por isso, vêm sendo alvo de programas para supressão de sua densidade populacional visando a diminuição da transmissão de doenças. Este trabalho teve como objetivo isolar a partir de amostras de solos de diferentes regiões do Brasil, estirpes de *Lysinibacillus sphaericus* (*Lsp*) visando o reconhecimento de novas linhagens que possam ser usadas em formulações de bioinsetidas para controle dos vetores *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. Foram coletadas 144 amostras de solo e destas, foi retirado 0,1g que foi diluído em 1mL de solução salina [8,5g/L], para o isolamento foi utilizado a metodologia de choque térmico (80°/12min e banho de gelo/5min) e plaqueamento em Meio Embrapa (ME) e ME+Estreptomicina [100ug/mL]. Após 24h, as colônias que apresentaram aspecto semelhante as colônias de *Lsp*, foram inoculadas em ME líquido e cultivado por 72h. Em seguida realizou-se a microscopia óptica para caracterização estrutural e verificação da presença de inclusões cristalinas. Os 22 isolados que apresentaram esporos característicos de *Lsp* e cristais, foram preservados em papel filtro e utilizados para realização de bioensaios de patogenicidade. Os ensaios foram conduzidos em duplicata, utilizando copos contendo 100 mL de água filtrada e desclorificada e 25 larvas (2°- 3°instar) de *Ae. aegypti* e *C. quinquefasciatus*. Em seguida, foi colocado 1mL do caldo bacteriano crescido por 72h e adicionado uma pitada de levedo de cerveja para alimentação das larvas. Também foi utilizado um controle negativo sem adição da bactéria. Após 48h foi realizada a leitura e calculada a porcentagem de mortalidade. Ao todo, uma estirpe provocou de mortalidade simultânea de 100% para *Ae. aegypti* e para *C. quinquefasciatus*, e foi caracterizada bioquimicamente pela análise das proteínas em Gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE), obtendo-se fragmentos de aproximadamente 102, 58 e 38 KDa. Essa estirpe também passará pela caracterização molecular para determinação dos genes associados às proteínas detectadas e por bioensaios de dose para estimar a CL<sub>50</sub>. O isolado obtido neste estudo possui potencial para aplicação no controle desses insetos vetores.

Apoio: Embrapa Algodão, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e Capes.

---

<sup>1</sup> Agronomia, doutoranda, Universidade de Federal da Paraíba-UFPB

<sup>2</sup> Engenharia de Alimentos, Ph.D., colab. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia, graduação, colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biomedicina, graduação, colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e biotecnologia

<sup>5</sup> Agronomia, graduação, Universidade Católica Dom Bosco-UCDB

<sup>6</sup> Biologia, Ph.D., Universidade Federal da Paraíba-UFPB

<sup>7</sup> Agronomia, Ph.D., Embrapa Algodão

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

## 49 - LINHAGENS CELULARES DE INSETOS SUSCEPTÍVEIS A ISOLADOS PATOGÊNICOS EM INSETOS *Chrysodeixis includens*

Santos, L.A.V.M.<sup>1</sup>; Ribeiro, Z.M.A.<sup>2</sup>; Castro, M.E.B.<sup>3</sup>

Os baculovirus são vírus de ocorrência natural apresentando alta especificidade aos seus hospedeiros. Em seu ciclo de infecção produzem dois tipos de vírus fenotipicamente distintos, os extracelulares (BVs), produzidos na fase inicial de infecção, disseminando o vírus célula a célula em um mesmo inseto, e os derivados dos corpos de inclusão (ODVs) responsáveis pela transmissão inseto-inseto. Em infecções *in vitro* os vírus extracelulares são os mais usados por apresentarem maior infectividade em relação aos ODVs. O objetivo deste trabalho foi identificar linhagens celulares de insetos suscetíveis ao vírus *Chrysodeixis includens* NPV. Os testes de infecção consistiram de:  $2 \times 10^5$  células/poço (placas de 6-poços), 600µl de inóculo (hemolinfa infectada, diluída e filtrada), adsorção do vírus por 1h, incubação a 27°C. Ensaio de infecções previamente realizados mostraram que dentre as cinco linhagens celulares de insetos testadas: Sf-9, SF21-AE, Tn 368, Tn5B1-4 e UFLAG-286 com diferentes isolados de ChinNPV, a linhagem Tn5B1-4 foi a mais suscetível apresentando efeitos citopáticos típicos de infecção viral com grande número de poliedros (OBs) produzidos na fase tardia da infecção. Os sistemas de infecção usando células Tn5B1-4 e os isolados ChinNPV-MG.B e ChinNPV-MT.B produziram  $2 \times 10^8$  e  $5,7 \times 10^7$  OBs/mL (6dp.i), respectivamente. Estas partículas foram testadas em larvas de *C. includens* (4º instar) para avaliar a atividade biológica nesses insetos. Outra linhagem celular (WU-CcE-1) derivada de *Chrysodeixis chalcites*, inseto do mesmo gênero de *Chrysodeixis includens*, foi incluída nos testes de suscetibilidade celular. Essa linhagem foi permissiva ao vírus ChinNPV também produzindo poliedros nos núcleos da célula. Passagens do vírus utilizando o sobrenadante das infecções contendo BVs estão sendo realizadas nessas células para assegurar a continuidade da produção de BV nas infecções realizadas.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, FAP-DF, UnB e CNPq.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista Pronex/FAP-DF

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

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

## 50 - NANOBIOFABRICAÇÃO DE ESTRUTURAS 3D PARA APLICAÇÕES EM CULTIVO CELULAR

Carvalho, B.S.<sup>1</sup>; Bonatto, C.C.<sup>2</sup>; Silva, L.P.<sup>3</sup>

A nanobiofabricação consiste na utilização de nanomateriais e materiais biológicos (células e biomoléculas) como principais insumos para construção de estruturas funcionais, tais como miméticos de tecidos e órgãos. Estas estruturas podem ser construídas utilizando técnicas de biofabricação e empregadas como biomiméticos em testes de atividade biológica de princípios ativos e na incorporação de nanomateriais com propriedades únicas. Sendo assim, este estudo tem por objetivo utilizar técnicas como fiação úmida e gotejamento com formação de esferoides para a biofabricação 3D de estruturas contendo nanopartículas de prata (AgNPs) em sua composição e para testes de atividade biológica. Os insumos utilizados para a nanobiofabricação das estruturas 3D foram hidrogeis baseados em alginato de sódio reticulado com cloreto de cálcio e AgNPs produzidas por rotas de síntese verde utilizando chás. As técnicas utilizadas para a biofabricação das estruturas foram a fiação úmida (para a formação de fibras) e gotejamento por injetor de seringa e também de forma manual (para formação de esferas); ambas utilizaram o cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) como agente de *crosslinking* das moléculas de alginato. Após a formação das estruturas 3D foram realizados testes de estabilidade em meio de cultivo a 37°C e análises de secções micrométricas das estruturas formadas por microscopia de luz. Os resultados parciais deste trabalho indicam a formação de fibras e esferas estáveis e com estrutura interna favorável à construção de estruturas 3D funcionais aplicáveis em cultivo celular. Portanto, materiais com alto potencial para aplicações na área de biofabricação e engenharia de tecidos. Futuramente, serão realizadas análises de difusão das AgNPs, avaliação da possível atividade antimicrobiana e cultivo celular nas estruturas 3D produzidas.

Apoio: Embrapa, FAP-DF, CNPq, Capes e UnB.

---

<sup>1</sup> Nanociência e Nanobiotecnologia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., TecSinapse

<sup>3</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 51 - NOVOS ISOLADOS DA BACTÉRIA *Bacillus thuringiensis* COM ATIVIDADE ENTOMOCIDA A LEPIDÓPTEROS-PRAGAS

Ferreira, A.D.C.L.<sup>1</sup>; Silva, E.Y.Y.<sup>2</sup>; Hirbs, J.B.S.X.<sup>3</sup>; Almeida, Z.G.<sup>4</sup>; Stefanello, A. M.<sup>5</sup>; Brito, C.H.<sup>6</sup>; Miranda, J.E.<sup>7</sup>; Monnerat, R.G.<sup>8</sup>

Problemas com insetos-pragas são frequentes em áreas de cultivos agrícolas, e os lepidópteros destacam-se pela severidade dos danos e perdas que provocam nas culturas comerciais como algodão, milho e soja. Para controle destas pragas, o uso de inseticidas químicos ainda é muito utilizado, entretanto, faz-se necessário que alternativas mais seguras aos seres humanos e ao ambiente sejam exploradas. O objetivo deste trabalho foi isolar estirpes de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), a partir de amostras de solo de áreas de produção agrícola de diferentes regiões do Brasil, visando ao reconhecimento de novas estirpes que possam ser usadas em formulações de bioinseticidas, ou como doadoras de genes para o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas resistentes a lepidópteros-pragas. Foram coletadas 144 amostras e destas retirou-se 0,1g de solo, que foi diluído em 1mL de solução salina (8,5g/L). As amostras foram submetidas a choque térmico (80°/12 min e banho de gelo/5 min) e inoculadas em Meio Embrapa (ME) e ME+Penicilina (25µg/mL). Após 24h, as colônias que apresentaram aspecto semelhante às colônias de *Bt* foram inoculadas em ME líquido por 72h e em seguida realizou-se a microscopia para verificação da presença de inclusões cristalinas e formato dos esporos. As amostras que apresentaram cristais foram armazenadas em papel filtro e selecionadas para realização dos bioensaios com *Anticarsia gemmatalis* (*Ag*), *Helicoverpa armigera* (*Ha*) e *Spodoptera frugiperda* (*Sf*). Nos ensaios com *Ha* e *Sf* foi utilizado uma placa de cultivo de células com 24 poços para cada estirpe, sendo a dieta vertida em cada poço que recebeu 35µL do caldo bacteriano. Uma lagarta/poço foi colocada logo que o inóculo secou sobre a dieta. Para *Ag* os ensaios foram feitos em duplicata, e a dieta foi vertida em copos de poliestireno (50mL). Após a solidificação da dieta, foi adicionado 150µL do caldo bacteriano e, posteriormente, foram colocadas 10 lagartas em cada copo. Ao todo, 272 colônias bacterianas foram isoladas e, destas 70 foram classificadas como *Bt*. Nos bioensaios, 6 estirpes apresentaram mortalidade média superior a 80 % para *Ag*, 7 estirpes para *Ha* e 4 estirpes para *Sf*. As estirpes que apresentaram maior atividade entomocida serão submetidas a bioensaios para cálculo da concentração letal necessária para matar 50% das larvas (CL<sub>50</sub>) e caracterizadas bioquímica e molecularmente para determinação do perfil de proteínas Cry e respectivos genes associados. Os isolados obtidos apresentam potencial para controle destes lepidópteros-pragas.

Apoio: Embrapa Algodão, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e Capes.

---

<sup>1</sup> Agronomia, doutoranda, Universidade Federal da Paraíba-UFPB

<sup>2</sup> Engenharia de Alimentos, Ph.D., colaboradora Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Biologia, graduação, colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biomedicina, graduação, colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e biotecnologia

<sup>5</sup> Agronomia, graduação, Universidade Católica Dom Bosco-UCDB

<sup>6</sup> Biologia, Ph.D., Universidade Federal da Paraíba-UFPB

<sup>7</sup> Agronomia, Ph.D., Embrapa Algodão

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

## 52 - PRIMEIRO RELATO DE *Meloidogyne izarcoensis* PARASITANDO CAFEIROS NO BRASIL

Stefanelo, D.R.<sup>1</sup>; Santos, M.F.A.<sup>2</sup>; Mattos, V.S.<sup>3</sup>; Monteiro, J.M.S.<sup>4</sup>; Mendonça, J.S.M.<sup>5</sup>; Braghini, M.T.<sup>6</sup>; Cares, J.E.<sup>7</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>8</sup>

Nematóides das galhas do gênero *Meloidogyne* Göeldi, 1887, estão entre os nematóides parasitas de plantas mais importantes do ponto de vista econômico. *Meloidogyne izarcoensis* foi descrito pela primeira vez a partir de uma população proveniente de El Salvador. O fenótipo de esterase e marcadores SCAR são métodos capazes de diferenciar *M. izarcoensis* de outras espécies do cafeeiro. O objetivo do trabalho foi identificar uma espécie atípica presente nas amostras de raízes de cafeeiros, provenientes do município de Indianópolis – MG. Para tanto, uma amostra de raízes infectadas mais solo foi inoculada em cafeeiros cv. Mundo Novo. Para identificação da espécie, procedeu-se a caracterização mediante o fenótipo de esterase (Est I4, Rm: 0.86, 0.96, 1.24, 1.30). Para confirmação da identificação, foi realizada PCR usando primer SCAR espécie-específico. Houve a amplificação de um fragmento específico (670 pb) característico de *M. izarcoensis*. A identidade da espécie foi ainda confirmada a partir de características morfológicas, de acordo com a descrição. *Meloidogyne izarcoensis* causa galhas com massas de ovos externas e severa destruição radicular, levando frequentemente à morte das plantas em El Salvador. No Brasil, as plantas de cafeeiro foram erradicadas e a cultura da soja implantada na área infestada. Essa espécie foi identificada erroneamente como *M. incognita* em amostras provenientes de Indianópolis devido ao padrão perineal não específico e foi detectada, também, em Araguari-MG (Est S4) em *Momordica indica* L. Este é o primeiro relato de *M. izarcoensis* ocorrendo em cafeeiros no Brasil. Embora a distribuição dessa espécie no Brasil seja desconhecida, sua ocorrência no cafeeiro indica a necessidade de levantamentos em cultivos comerciais de café, em particular no Triângulo Mineiro.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; CNPq; FAP-DF.

---

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

<sup>2</sup> Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/INCT/Café

<sup>3</sup> Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/bolsista CNPq

<sup>4</sup> Fitopatologia/Nematologia, Ph.D., Empresa JCO Bioprodutos

<sup>5</sup> Biologia, graduação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/bolsista

<sup>6</sup> Biologia, B.Sc., Instituto Agrônomo de Campinas-IAC

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

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

## 53 - PROSPECÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* COM ATIVIDADE TÓXICA A INSETOS DA FAMÍLIA NOCTUIDAE

Stefanello, A.M.<sup>1</sup>; Martins, E.S.<sup>2</sup>; Hirbs, J.B.S.X.<sup>3</sup>; Almeida, Z.G.<sup>4</sup>; Ferreira, A.D.C.L.<sup>5</sup>; Monnerat, R.G.<sup>6</sup>

As lagartas *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), são responsáveis por perdas causadas em diversas culturas, como a soja e o milho. Devido à importância econômica dessas culturas, faz-se necessário encontrar formas alternativas de controle desses insetos-praga. *Bacillus thuringiensis* (Bt) entra como um grande aliado para solucionar tais problemas nas lavouras. Este trabalho teve como objetivo selecionar estirpes de Bt patogênicos à *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*. Foram realizados bioensaios seletivos, nos quais foram avaliadas 38 estirpes contra *A. gemmatalis* e 23 estirpes contra *S. frugiperda*, pertencentes ao Banco de Bactérias de Invertebrados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Para a realização dos bioensaios, as bactérias foram cultivadas em meio Embrapa, em incubador rotativo a 200 rpm, a 28°C, por 72 horas. O bioensaio contra *A. gemmatalis* foi realizado aplicando-se 150µL de cada suspensão bacteriana na superfície da dieta artificial, distribuída previamente em copos plásticos de 50 mL. Depois da absorção da suspensão pela dieta, 10 larvas de segundo instar de *A. gemmatalis* foram colocadas em cada copo e os mesmos foram cobertos com placas de acrílico. O bioensaio contra *S. frugiperda* foi realizado aplicando-se 35µL de cada suspensão bacteriana na superfície da dieta artificial, distribuída previamente em placas de cultivo com 24 poços. Depois da absorção da suspensão pela dieta, foi colocado uma larva de segundo instar de *S. frugiperda* em cada poço e as placas foram cobertas com uma tampa acrílica. Os ensaios foram armazenados em sala climatizada, com temperatura de 28 ± 2°C e fotoperíodo de 12 horas. A primeira leitura foi feita 48 horas após o início do ensaio, na qual foram contabilizadas as larvas vivas, que foram realocadas em copos plásticos de 50 mL (dez larvas/copo para *A. gemmatalis* e uma larva/copo para *S. frugiperda*), contendo um pedaço de dieta livre de quaisquer contaminantes e uma tampa de acrílico. Os copos ficaram sob as mesmas condições de armazenamento previamente descritas. Para os ensaios com *A. gemmatalis* a última leitura e o descarte foram realizados após cinco dias do início do ensaio, sendo que, das 38 estirpes avaliadas, dez apresentaram taxa de mortalidade igual ou superior a 80%, sinalizando serem potenciais estirpes a serem usadas no controle biológico dessa praga. A última leitura e o descarte do ensaio contra *S. frugiperda* foi realizada sete dias após o início do ensaio, e foi constatado que nenhuma das 23 estirpes avaliadas apresentou taxa de mortalidade igual ou superior a 80%, ou seja, não apresentam alta toxicidade a esse inseto-praga.

Apoio: Embrapa, IMAmt, CNPq e Funbio.

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade Católica Dom Bosco-UCDB

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

<sup>3</sup> Biologia, graduação, colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biomedicina, graduação, colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Agronomia, doutoranda, Universidade Federal da Paraíba-UFPB

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

## 54 - PROSPECÇÃO DOS CONSTITUINTES DA MATRIZ GELATINOSA DO NEMATÓIDE DAS GALHAS RADICULARES *Meloidogyne incognita*

Oliveira, P.H.S.<sup>1</sup>; Miranda, V.J.<sup>2</sup>; Ferreira, A.A.<sup>3</sup>; Ferreira, P.D.S.<sup>3</sup>; Soll, C.B.<sup>4</sup>; Rodrigues, C.M.<sup>5</sup>; Polez, V.L.P.<sup>6</sup>; Rocha, T.L.<sup>7</sup>

As fêmeas do fitonematóide *Meloidogyne incognita* sintetizam uma matriz gelatinosa (MG) por meio de suas glândulas retais, antes e durante a oviposição. Acredita-se que esta matriz, possivelmente, exerça ação antimicrobiana e antidessecamento visando à proteção dos ovos e, portanto, pode ter papel essencial no ciclo de vida do fitoparasita. Os conhecimentos sobre a composição química e degradabilidade dessa matriz são limitados, bem como a sua função em todo o patossistema. Neste contexto, o objetivo desse estudo foi fracionar e identificar os compostos da MG de *M. incognita* visando encontrar possíveis alvos para controle de fitonematóides. Para tanto, raízes com galhas de duas plantas de *Nicotiana tabacum*, previamente inoculadas, foram cuidadosamente lavadas e coradas com Floxina B. Em seguida, aproximadamente 40 MGs coloridas foram removidas com o auxílio de bisturi, em lupa estereoscópica e submetidas a testes de solubilização utilizando as soluções: 0.1 a 1% NaClO; Água+0.1% TFA; ACN+0.1% TFA; 1% SDS e Hexano. As MGs solubilizadas foram centrifugadas e os sobrenadantes coletados e liofilizados. Os materiais secos foram solubilizados em água (3g/150mL) e submetidos a fracionamento em coluna SPE C18 de fase reversa e posteriormente analisadas via CLAE em coluna C18 HSST3. Entre as soluções testadas, 0.1% de NaClO foi a mais eficaz na solubilização da MG. A partir do fracionamento em SPE foram coletadas três frações diferentes em água, EtOH 50% e EtOH 100%, na qual, o eluato aquoso foi liofilizado e o etanólico seco em rotavapor. As amostras (10mg/mL) analisadas via CLAE e o eluato EtOH 50% apresentaram a separação de algumas frações cromatográficas com tempos de retenção variando entre 2 e 34 minutos. No momento, estas frações estão sendo analisadas por espectrometria de massa para a identificação dos compostos da MG de *M. incognita* visando ao desenvolvimento de estratégias de controle deste problemático fitoparasita.

Apoio: Embrapa, CNPq, Faculdade LS Educacional.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Faculdade LS Educacional

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

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

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

<sup>5</sup> Química Analítica, Ph.D., Embrapa Agroenergia

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

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

## 55 - PROSPECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE COGUMELOS PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne incognita*

Rodrigues, A.F.O.<sup>1</sup>; Soll, C.B.<sup>2</sup>; Urben, A.F.<sup>3</sup>; Souza, M.L.<sup>4</sup>; Sihler, W.<sup>5</sup>; Rodrigues, C.M.<sup>6</sup>; Rocha, T.L.<sup>7</sup>; Polez, V.L.P.<sup>8</sup>

O fitonematóide *Meloidogyne incognita* é responsável pela redução na produtividade e na qualidade dos produtos agrícolas em termos mundiais. Atualmente, a estratégia de controle mais utilizada é o uso de nematicidas sintéticos que podem gerar danos ao meio ambiente, saúde animal e humana. Assim, existe uma demanda por estratégias que contribuam para o controle desse fitonematóide. O objetivo do trabalho foi realizar a prospecção de extratos de biomassa de micélios de cogumelos com ação nematotóxica para o controle de *Meloidogyne incognita* bem como a avaliação da citotoxicidade. Neste caso, as linhagens de cinco espécies de cogumelos foram adquiridas no Banco de Cogumelos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Os micélios foram cultivados em condição submersa (meio batata-dextrose, 25°C, 120 rpm, 7-10 dias) em seguida foram tratados, liofilizados e processados para a obtenção dos extratos conforme procedimento padronizado. Os bioensaios *in vitro* contra *M. incognita* em fase infectiva (segundo estágio - J2) foram realizados utilizando-se 60 nematóides/tubo (triplicata) contendo: os extratos (2mg/ml e 1mg/ml), o controle negativo (água) e o controle positivo (álcool 70%). As amostras foram incubadas por 24hs e as leituras realizadas em microscópio óptico. Adicionalmente, foram realizados testes de citotoxicidade utilizando-se células de inseto (ovário de *Spodoptera frugiperda*) como modelo de célula eucariótica. Os bioensaios foram realizados em microplacas de fundo chato (96 poços) com os extratos (1mg/ml e 2mg/ml) e os controles (meio de cultura, água e dimetilsulfóxido) sendo os experimentos realizados em quadruplicata. A viabilidade celular foi realizada de acordo com o protocolo de MTT {brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium]} modificado. Nos bioensaios *in vitro* contra *M. incognita* os extratos obtidos apresentaram mortalidade superior a 95% na concentração de 2mg/ml e acima de 85% para 1mg/ml. Nos testes de MTT foi observada viabilidade celular superior a 80% nas concentrações de 2mg/ml e 1mg/ml. Deste modo, os extratos provenientes de micélios de cogumelos apresentaram resultados promissores para o controle de J2 *M. incognita* e também apresentam uma baixa toxicidade sendo sugeridos como uma estratégia alternativa promissora para o controle deste fitonematóide.

Apoio: Embrapa, CNPq e Universidade de Brasília-UnB.

---

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

<sup>2</sup> Biologia, B.Sc., Empresa Carbom Brasil

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

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

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

<sup>6</sup> Química, Ph.D., Embrapa Agroenergia

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

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

## 56 - PROSPECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE SEMENTES DE POACEAS NO CONTROLE SUSTENTAVÉL DE *Meloidogyne incognita*

Ferreira, P.M.<sup>1</sup>; Miranda, V.J.<sup>2</sup>; Ferreira, P.D.S.<sup>1</sup>; Polez, V.L.P.<sup>3</sup>; Rocha, T.L.<sup>4</sup>

O Brasil representa um papel importante na produção agrícola mundial. Entretanto, várias pragas impactam a produção de alimentos em bilhões de dólares. Nesse contexto, destaca-se o nematóide das galhas radiculares *Meloidogyne incognita*. Esse fitoparasita é responsável pela vasta redução da produtividade e da qualidade dos produtos agrícolas, acarretando aos agricultores prejuízos anuais de milhões de dólares. Atualmente, o controle de *M. incognita* está centrado no uso maciço de nematicidas sintéticos, que causam graves problemas à saúde humana, animal e ao meio ambiente. Existindo assim uma necessidade premente na busca de novas alternativas eco amigáveis visando ao controle de *M. incognita*. Nesse sentido, plantas, em especial sementes, representam um arsenal de compostos biocidas. Assim, esse trabalho visa obter extratos crus aquosos (ECAs) nematotóxicos a partir de sementes de plantas da família Poaceae e caracterizar os mais efetivos quanto a termoestabilidade, citotoxicidade, fitotoxicidade, especificidade em relação a organismos não alvo e em casa de vegetação. Para tanto, os gêneros *Paspalum* (20 espécies e 3 acessos de cada), *Brachiaria* (14 espécies e 3 acessos de cada) e *Panicum* (1 espécie e 3 acessos) pertencentes ao banco de germoplasma da Embrapa foram utilizados. A extração de ovos e obtenção de juvenis de segundo estágio J2 de *M. incognita* seguiram a metodologia de Hussey e Barker enquanto os bioensaios de viabilidade utilizando J2, de caracterização e em casa de vegetação dos extratos mais efetivos seguirão os protocolos descritos pelo LPCB (Laboratório de Prospecção de Compostos Biológicos). Os ECAs de sementes de todos os gêneros foram obtidos com sucesso, liofilizados e estão mantidos em temperatura ambiente. Bioensaio *in vitro* utilizando as espécies e acessos de plantas do gênero *Brachiaria* demonstraram atividade nematicida para 4 dos extratos testados com 90% de J2 mortos, após 48 horas de exposição. No momento, o restante dos ECAs estão sendo submetidos a bioensaios *in vitro* de viabilidade enquanto aqueles exibindo atividade nematicida sendo testados quanto a termoestabilidade, citotoxicidade, fitotoxicidade e especificidade.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e CNPq.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade do Distrito Federal-UDF

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

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

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

## **57 - RECOMPOSIÇÃO DA COLEÇÃO DE BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS DE IMPORTÂNCIA QUARENTENÁRIA: SOBREVIVÊNCIA DOS ISOLADOS E PRESERVAÇÃO**

Moura, Y.F.<sup>1</sup>; Favilla, L.D.<sup>1</sup>; Souza, E.S.C.<sup>2</sup>; Marques, A.S.A.<sup>3</sup>

Bactérias fitopatogênicas causam doenças destrutivas em diversas espécies vegetais, ocasionando perdas significativas aos cultivos agrícolas. Métodos de controle de bacterioses baseiam-se em diferentes princípios, entre os quais, a exclusão. Neste caso, culturas ou material genético das pragas quarentenárias, aquelas ausentes ou de distribuição restrita no país, devem ser usados para comparação em análises fitossanitárias. O Laboratório de Quarentena Vegetal do Cenargen abriga a “Coleção de Bactérias Fitopatogênicas de Importância Quarentenária”, dispondo de isolados de referência, grupos para estudos de diversidade e aqueles detectados durante a análise de germoplasma vegetal importado. Na escolha dos métodos de preservação, é necessário considerar fatores como a sobrevivência a longo prazo, recursos para manutenção da coleção e taxas mínimas de mutação, de forma a manter as características originais do isolado. Nessa Coleção, as culturas são conservadas como suspensão em água destilada estéril, a 12°C; em meio de cultura contendo CaCO<sub>3</sub> (YDC) sob óleo mineral; dessecação em papel de filtro; congelamento a -20°C, como suspensão em meio líquido com glicerol a 20%. Contando com isolados preservados desde o estabelecimento da Coleção, em 1983, reorganizada em 2000, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência dos mesmos e fazer a preservação necessária. Foi analisada a totalidade dos isolados incorporados entre 2000 e 2018, testando-se todas as alíquotas armazenadas. Foram recolocadas em cultura, amostras de, aproximadamente, 3.500 alíquotas. A sobrevivência foi avaliada pelo crescimento de colônias em meio de cultura e aquelas contaminadas foram purificadas. Alíquotas que não apresentaram crescimento foram substituídas, mantendo-se três repetições em água e glicerol e duas em YDC. Realizou-se extração e armazenamento de DNA de 10% dos isolados, para a formação do banco de material genético. De 486 isolados catalogados, 367 foram recuperados e multiplicados para preservação completa (76%), substituindo-se alíquotas que não apresentaram crescimento. Os de referência, isolados-tipo adquiridos em Coleções estrangeiras, foram mantidos. Um quarto do total se perdeu, pois não houve crescimento de nenhuma alíquota. Foram incorporados 154 isolados resultantes de coleta específica em 2014. Essa etapa de recomposição foi concluída no prazo de um ano, totalizando 521 isolados, cuja sobrevivência foi garantida. Considerando-se a necessidade de incluir métodos para conservação a longo prazo e que reduzam possíveis alterações genéticas, serão utilizados liofilização e congelamento a -80°C, na próxima etapa de atividades.

Apoio: Embrapa.

---

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

<sup>2</sup> Fitopatologia, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

## 58 - SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* EFETIVAS CONTRA O BICUDO DO ALGODOEIRO (*Anthonomus grandis*)

Hirbs, J.B.S.X.<sup>1</sup>; Ferreira, A.D.C.L.<sup>2</sup>; Martins, E.S.<sup>3</sup>; Queiroz, P.R.M.<sup>4</sup>; Stefanello, A.M.<sup>5</sup>; Almeida, Z.G.<sup>6</sup>; Tomazette, M.<sup>7</sup>; Monnerat, R.G.<sup>8</sup>

*Anthonomus grandis* é considerado a principal praga do algodoeiro, tanto pelos danos que causa, quanto pelas dificuldades de seu controle. Com o intuito de minimizar os danos provocados por esta espécie, diferentes alternativas vem sendo estudadas, como o uso de plantas resistentes, que pode ser considerado um método viável de controle, por apresentar especificidade as pragas alvos e efeito não poluente ao homem e ao ambiente. Uma forma de viabilizar a produção de cultivares resistentes é pela inserção de genes de resistência. A bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) pode ser considerada um agente promissor como doador de genes, pois produz toxinas que podem ser efetivas para o controle deste inseto. Este trabalho foi realizado em parceria com o Instituto Mato-Grossense do Algodão e teve como objetivo selecionar estirpes com ação entomocida para controle de *A. grandis*. Foram testadas 30 estirpes de *Bt* pertencentes à Coleção de Bactérias Entomopatogênicas do Centro de Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen) por meio de ensaios seletivos. A partir desses ensaios, as estirpes que apresentaram mortalidade igual ou superior a 90% tiveram sua CL50 determinada através de bioensaio de dose e foram caracterizadas quanto ao seu perfil protéico e molecular. Das estirpes analisadas 6 mostraram-se promissoras para terem seus genes clonados e analisados individualmente para o controle de *A. grandis*.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>2</sup> Agrônoma, doutoranda, Universidade Federal da Paraíba-UFPB

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

<sup>4</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt/UnB/UniCEUB

<sup>5</sup> Agronomia, graduação, Universidade Católica Dom Bosco-UCDB

<sup>6</sup> Biomedicina, graduação, colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>7</sup> Biologia, graduação, Instituto Federal do Rio de Janeiro-IFRJ

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

## 59 - SELEÇÃO DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* TÓXICAS À *Helicoverpa armigera*

Stefanello, A.M.<sup>1</sup>; Martins, E.S.<sup>2</sup>; Hirbs, J.B.S.X.<sup>3</sup>; Almeida, Z.G.<sup>4</sup>; Ferreira, A.D.C.L.<sup>5</sup>; Monnerat, R.G.<sup>6</sup>

A lagarta *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga polífaga, que se adapta a diferentes condições climáticas, causando danos a diversas culturas de interesse econômico, tais como milho, algodão e soja. Apresenta uma elevada capacidade de sobrevivência e ao longo de um ano, é capaz de completar vários ciclos, o que dificulta ainda mais o seu controle em campo. A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt) entra como uma importante ferramenta para lidar com tal problema nas lavouras. Seu uso já é difundido para o controle de insetos da ordem Lepidoptera, tais como para as espécies *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*. Este trabalho teve como objetivo selecionar estirpes de Bt com patogenicidade à *H. armigera*. Para tal foram realizados bioensaios seletivos nos quais foram avaliadas 59 estirpes do Banco de Bactérias de Invertebrados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Para cada bactéria testada, foi preparado uma placa de cultivo com 24 poços (repetições), contendo dieta até a metade dos mesmos. Foram inoculadas 35µL das soluções bacterianas, cultivadas previamente em meio Embrapa, em incubador rotativo a 200 rpm, a 28°C, por 72 horas. Em seguida, em cada poço foi colocado uma larva de segundo instar. As placas foram fechadas com tampas acrílicas e ligas elásticas. Os ensaios foram armazenados em sala climatizada a temperatura de 28 ± 2°C e fotoperíodo de 12 horas. A primeira leitura do ensaio foi feita após 48 horas, sendo contabilizadas as larvas vivas, que foram realocadas em copos plásticos de 50 mL contendo um pedaço de dieta livre de quaisquer contaminantes e uma tampa de acrílico. Os copos foram armazenados sob as mesmas condições das placas. A última leitura e o descarte foram realizados após uma semana do início do bioensaio. Das 59 estirpes avaliadas, cinco apresentaram taxa de mortalidade igual ou superior a 80%, sinalizando serem potenciais estirpes para uso no controle biológico dessa praga.

Apoio: Embrapa, IMAmt, CNPq e Funbio.

---

<sup>1</sup> Agronomia, graduação, Universidade Católica Dom Bosco-UCDB

<sup>2</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

<sup>3</sup> Biologia, graduação, colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Biomedicina, graduação, colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>5</sup> Agronomia, doutoranda, Universidade Federal da Paraíba-UFPB

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

## 60 - SEQUENCIAMENTO E MONTAGEM DO GENOMA COMPLETO DE UM ISOLADO DE *Plutella xylostella granulovirus*

Santos, L.A.V.M.<sup>1</sup>; Craveiro, S.R.<sup>2</sup>; Chaves, L.C.S.<sup>3</sup>; Inglis, P.W.<sup>4</sup>; Ribeiro, Z.M.A.<sup>5</sup>; Castro, M.E.B.<sup>6</sup>

*Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera, Plutellidae), conhecido popularmente como traça-das-crucíferas, é um microlepidóptero causador de grande devastação foliar de crucíferas, no Brasil e no mundo. Essa praga causa sérios danos a hortaliças em geral, podendo inviabilizar a produção e trazendo grandes perdas para os agricultores. *Plutella xylostella* GV é um baculovírus patogênico a esse inseto e desde 2009, estudos com esse patógeno vêm sendo realizados no Laboratório de Virologia de Insetos (LVI-Cenargen). Um baculovírus isolado de larvas de *P. xylostella* coletadas em plantações de couve, na região do Distrito Federal, foi identificado e classificado como *Plutella xylostella granulovirus*. Análise de restrição de DNA do isolado, nomeado P<sub>lxy</sub>GV-IDF2, mostrou tratar-se de um isolado distinto de outros isolados virais já descritos. Em continuidade, o presente trabalho teve como objetivo determinar a sequência completa do genoma de P<sub>lxy</sub>GV-IDF2. Esse isolado foi então sequenciado por pirosequenciamento 454 (Roche) e as leituras (reads) foram montadas utilizando os programas MIRA e Newbler resultando em um contig de 97.028 pb, aproximadamente. Para obtenção de uma melhor qualidade da sequência genômica do vírus, oligonucleotídeos de regiões de baixa cobertura desse genoma foram desenhados para ampliações de PCR. Os produtos obtidos dessas reações possuem tamanhos esperados entre 2000 e 3000pb e estão sendo sequenciados para confirmação da anotação genômica dessas regiões. Em todo o genoma desse isolado foram identificadas 116 ORFs, um número de genes menor quando comparado com isolados descritos na literatura. P<sub>lxy</sub>GV-IDF2 também apresentou um número menor de *homologous regions (hrs)* quando comparado a P<sub>x</sub>GV e uma variação estrutural indicando existir diversidade entre os genomas analisados. O sequenciamento dos produtos de PCR das regiões de baixa cobertura serão essenciais para a finalização da anotação do genoma, que servirá de base para outras análises futuras.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, FAP-DF, UnB e CNPq.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista Pronex/FAP-DF

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

<sup>3</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Boyce Thompson Institute, Ithaca-USA

<sup>4</sup> Genética Molecular de Microrganismos, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

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

## 61 - VARIABILIDADE DE *Meloidogyne* spp. DO ARROZ E MARCADORES-SCAR PARA *M. graminicola*, *M. oryzae*, *M. salasi*

Mattos, V.S.<sup>1</sup>; Mulet, K.<sup>2</sup>; Cares, J.E.<sup>3</sup>; Gomes, C.B.<sup>4</sup>; Fernandez, D.<sup>5</sup>; Grossi-de-Sá, M.F.<sup>6</sup>; Carneiro, R.M.D.G.<sup>7</sup>; Castagnone-Sereno, P.<sup>8</sup>

Os nematóides das galhas (NGs) são importantes patógenos da cultura do arroz (*Oryza sativa*). Juntamente com *Meloidogyne graminicola*, *M. oryzae* e *M. salasi* causam danos em campos de arroz irrigados nas Américas Central e do Sul. Além disso, seis outras espécies já foram detectadas nessa cultura em outras regiões do mundo. A correta identificação de *Meloidogyne* spp. é essencial para seu manejo. Os objetivos deste estudo foram avaliar a variabilidade genética inter e intraespecífica de isolados de *Meloidogyne* spp. relacionados ao arroz irrigado através dos marcadores neutros AFLP e RAPD e desenvolver primers SCAR específicos para o diagnóstico de *M. graminicola*, *M. oryzae* e *M. salasi*. Sete isolados de *M. graminicola*, dois de *M. oryzae* e duas espécies atípicas de *Meloidogyne* obtidas em arrozais do sul do Brasil foram estudados junto com um isolado de *M. salasi* da Costa Rica. Os resultados mostraram alto nível de diversidade entre os isolados de *M. graminicola* (72,5%). Os dois isolados de *M. oryzae* apresentaram baixa variabilidade (12,9%) e agruparam-se separadamente de *M. graminicola* (100% bootstrap). *Meloidogyne salasi* mostrou-se geneticamente distante de ambas espécies. Amplificações de RAPD de *M. graminicola*, *M. oryzae* e *M. salasi* permitiram a identificação de fragmentos de DNA diferenciais que foram convertidos em marcadores SCAR para cada espécie. A amplificação por PCR com primers desenhados para *M. graminicola* (GRAJ17 F/R), *M. oryzae* (ORYA12 F/R) e *M. salasi* (SALR12-1 F/R) produziram fragmentos específicos de 230 pb em todos os sete isolados de *M. graminicola*, 120 pb nos dois de *M. oryzae* e 190 pb na população de *M. salasi*, em contraste com as outras espécies testadas. Os marcadores SCAR desenvolvidos demonstraram ser um método molecular potencial para aplicação em procedimentos de diagnóstico de rotina.

Apoio: Embrapa e CNPq/FAP-DF

---

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

<sup>2</sup> Biologia, B.Sc., graduada, INRA-França

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

<sup>4</sup> Agronomia, Ph.D., Embrapa Clima Temperado

<sup>5</sup> Biologia Molecular, Ph.D., IRD-França

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

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

<sup>8</sup> Fitopatologia, Ph.D., INRA-França

## VEGETAIS

## 62 - AMENDOIM (*Arachis hypogaea*) EM ALDEIAS INDÍGENAS BRASILEIRAS: EVIDÊNCIAS CITOGENÉTICAS DE SUA ORIGEM

Nascimento, E.F.M.B.<sup>1</sup>; Silva, R.K.P.<sup>2</sup>; Freitas, F.O.<sup>3</sup>; Valls, J.F.M.<sup>4</sup>; Guimarães, P.M.<sup>3</sup>; Brasileiro, A.C.M.<sup>3</sup>; Araújo, A.C.G.<sup>5</sup>

No Brasil, *Arachis hypogaea* é cultivado há muito tempo pela tribo indígena Kayabi, que habita o Parque Indígena do Xingu, localizado na região central do país. Recentemente, a análise do germoplasma local indicou a ocorrência de diferentes características morfológicas a partir da variação taxonômica já descrita na literatura para o amendoim cultivado, levantando questões como: as variedades indígenas oriundas do Parque Xingu apresentam a mesma origem, ou são resultantes de outros processos evolutivos, incluindo espécies diferentes? Para melhor caracterizar esse germoplasma e melhorar o conhecimento sobre a origem e a organização estrutural do genoma de *A. hypogaea*, três acessos morfológicamente diferentes oriundos do Parque Xingu foram caracterizados citogeneticamente. Resultados do bandeamento CMA/ DAPI, distribuição de DNAr e afinidade genômica com diferentes espécies diploides de *Arachis* via GISH foram comparados com os padrões obtidos no amendoim cultivado e *A. monticola*. A análise dos acessos Xingu mostrou que seus cariótipos são em sua maioria similares aos demais alotetraploides de *Arachis*, compartilhando o mesmo número e morfologia geral dos cromossomos; número e localização de bandas DAPI+ e dos loci de DNAr 5S e 45S; dominância nucleolar e a ocorrência de região organizadora do nucléolo (RON) no subgenoma A. Diferindo dos demais alotetraploides de *Arachis* apenas na quantidade de bandas CMA+, com um número menor observado nos três acessos Xingu. A afinidade genômica com sondas de diferentes espécies diploides mostrou sinais de hibridização mais evidentes com sondas de *A. duranensis* e *A. ipaensis* quando comparados com as demais espécies testadas. Esses dados sugerem que, provavelmente, as espécies diploides que originaram esses acessos Xingu são de fato *A. duranensis* e *A. ipaensis*, as mesmas que originaram o amendoim cultivado e *A. monticola*.

Apoio: Embrapa, CNPq e FAP-DF.

---

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

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

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

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

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

## 63 - ANÁLISES DE RESÍDUOS ALIMENTARES COMO POTENCIAIS FONTES PARA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Fonseca, T.F.<sup>1</sup>; Silva, L.P.<sup>2</sup>

Os processos de síntese de nanopartículas metálicas (NPMs), quando realizados por vias físicas e químicas, podem ser extremamente onerosos, além de envolverem a geração de resíduos potencialmente nocivos e utilização de solventes tóxicos. Em contraposição a estas técnicas, a síntese verde tem ganhado cada vez mais atenção, por ser uma abordagem que utiliza extratos de recursos biológicos para sintetizar NPMs. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo analisar o potencial de diversos resíduos alimentares para sintetizar nanopartículas de prata (AgNPs) por rotas de síntese verde. Para tanto, foram produzidos extratos aquosos de 6 resíduos alimentares derivados de frutas comumente consumidas em residências e cada um destes foi testado em 5 concentrações para avaliação de sua possível ação na produção de AgNPs. Primeiramente, um fragmento do resíduo foi seccionado e em seguida lavado com água destilada e detergente neutro. Após, o fragmento foi enxaguado e novamente segmentado em pedaços menores, que foram adicionados a um béquer contendo água fervente, onde permaneceram em ebulição sobre chapa aquecedora. A solução foi filtrada e o filtrado foi utilizado como agente redutor de íons prata e estabilizante de AgNPs. Então, foi adicionado nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) ao extrato e este foi acondicionado em banho-maria para reação de formação. Foram realizadas medições em leitora de microplacas em comprimento de onda de 450 nm, primeiramente no momento da adição do  $\text{AgNO}_3$  e, após, a cada 30 min para observar a possível produção de AgNPs. As AgNPs foram caracterizadas utilizando espalhamento de luz dinâmico para verificação do dinâmico hidrodinâmico (DH) e do índice de polidispersividade e também foi realizada a medição do potencial Zeta. As AgNPs produzidas tiveram suas características modificadas de acordo com o resíduo e a concentração de extrato utilizados. O resíduo 3 produziu as AgNPs de menor DH, enquanto o resíduo 6 produziu as de maior DH. Com relação ao índice de polidispersividade, as AgNPs produzidas com os resíduos 1, 4 e 5 apresentaram suspensões monodispersas, enquanto o resíduo 2 apresentou alta polidispersão das partículas formadas. Já o potencial Zeta demonstrou que as AgNPs produzidas com o resíduo 2 apresentaram os valores mais negativos e, conseqüentemente, maior estabilidade coloidal. As maiores taxas de absorção, associadas ao rendimento das rotas de síntese, foram observadas nas AgNPs produzidas com o resíduo 5. Por meio da síntese verde, foi possível verificar que resíduos alimentares comumente descartados como lixo orgânico apresentaram grande potencial para serem empregados de forma simples, de custo baixo e eco-amigável na síntese de AgNPs.

Apoio: Embrapa, FAP-DF, UnB, CNPq e Capes.

---

<sup>1</sup> Nanociência e Nanobiotecnologia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 64 - ANÁLISES DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DE *Arabidopsis thaliana* COM SUPEREXPRESSIONO DO GENE *AtLOG4*

Farias, C.S.<sup>1</sup>; Ferreira, L.G.<sup>2</sup>; Irsigler, A.S.T.<sup>3</sup>; Carnaúba, L.A.<sup>1</sup>; Carneiro, V.T.C.<sup>3</sup>; Dusi, D.M.A.<sup>3</sup>

Em *Brachiaria brizantha* genes da família *LOG* foram identificados com expressão diferencial em ovários de plantas de reprodução apomítica e sexual, sugerindo envolvimento na diferenciação do saco embrionário (SE) característico de cada modo de reprodução. Em *Arabidopsis thaliana*, o gene *AtLOG4* codifica uma enzima ativadora de citocinina, hormônio vegetal responsável pelas divisões celulares. Previamente, plantas transgênicas de *A. thaliana* superexpressando o gene *AtLOG4* sob controle do promotor *STK* (*SEEDSTICK*), que direciona a expressão do gene para o óvulo, foram geradas e diferentes níveis de fertilidade verificados. O objetivo deste trabalho foi verificar se a superexpressão desse gene afeta o desenvolvimento do saco embrionário de *A. thaliana*. Para analisar as características morfológicas dos óvulos, inflorescências em diferentes estádios de desenvolvimento foram coletadas e fixadas em FAA 70% por 24 horas, posteriormente transferidas para etanol 70% e mantidas a 4°C. Para análise e visualização dos óvulos, as inflorescências foram clareadas em solução de cloral hidrato/glicerol/água (3:1:2) por 18 horas. Os ovários foram isolados e dissecados para exposição dos óvulos e montados em lâminas de vidro e cobertos com lamínula. Os óvulos foram observados em microscópio ótico Axiophot (Zeiss) com contraste de interferência diferencial e fotodocumentados com câmera digital AxioCam MRc – Zeiss e as imagens capturadas com o software Axiovision 4.7 (Zeiss). A morfologia dos óvulos das plantas transgênicas foi comparada com a de plantas silvestres. O desenvolvimento do SE foi observado desde a diferenciação da célula mãe do megásporo até o SE maduro. Os resultados serão discutidos com base na análise de fertilidade previamente executada.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

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

<sup>3</sup> Biologia Celular e Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 65 - ANÁLISES DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DE PLANTAS DE *Arabidopsis thaliana* SUPEREXPRESSANDO *AtLOG5*

Carnaúba, L.A.<sup>1</sup>; Farias, C.S.<sup>1</sup>; Ferreira, L.G.<sup>2</sup>; Dusi, D.M.A.<sup>3</sup>; Irsigler, A.S.T.<sup>3</sup>; Carneiro, V.T.C.<sup>3</sup>

*Arabidopsis thaliana* vem sendo usada como planta modelo para pesquisas científicas por apresentar ciclo de vida curto, ser de pequeno porte, ter seu desenvolvimento reprodutivo caracterizado e pela disponibilidade de protocolos simples de transformação genética. O genoma de *A. thaliana* já foi sequenciado e vários genes tiveram a função identificada nesta planta. Os genes *AtLOG* de *A. thaliana* são fundamentais para o desenvolvimento da planta e estão envolvidos na ativação dos reguladores de crescimento, as citocininas. Em *Brachiaria brizantha* foi identificado gene similar aos *AtLOG*, *BbrizLOG*, com expressão diferencial em plantas de reprodução sexual e plantas de reprodução apomítica que possuem estrutura diferenciada de sacos embrionários, tipo-Polygonum ou tipo-Panicum, respectivamente. O objetivo deste trabalho foi avaliar em *A. thaliana* o efeito da superexpressão de *AtLOG5* em seu desenvolvimento reprodutivo. Foram utilizadas plantas silvestres de *A. thaliana* do ecótipo Columbia (Col0) como controle e plantas transgênicas superexpressando *AtLOG5* oriundas de três eventos de transformação (AI10#14, AI10#6, AI10#3). Para a germinação *in vitro* das sementes foi utilizado o meio de cultura MS 0,5x. Para selecionar as plantas transformadas com *AtLOG5* foi acrescido ao meio de cultura o herbicida Basta 5 mg/L. As sementes foram desinfestadas, inoculadas em placas de Petri com meio de cultura e mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 de escuro. Após 30 dias, as plântulas foram transferidas para o substrato agrícola e mantidas nas mesmas condições de cultura. Inflorescências em diferentes estádios de desenvolvimento das gerações T1, T2 e da Col0 foram coletadas e fixadas em FAA 70% (5 ml de ácido acético glacial + 5 ml de formaldeído + 90 ml de etanol 70%) por 24 horas e posteriormente transferidas para etanol 70%. Para análise e visualização dos óvulos foi realizado clareamento em solução de cloral hidrato/glicerol/água (3:1:2). Óvulos foram extraídos das sílicas e a morfologia dos sacos embrionários analisada em microscópio de luz com contraste de interferência diferencial (DIC) e documentada. A proporção de sementes transformadas foi avaliada nas duas primeiras gerações (T1 e T2) pelo número de sementes germinadas sobre o número total de sementes. O efeito da superexpressão de *AtLOG5* no desenvolvimento do saco embrionário será discutido.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

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

<sup>3</sup> Biologia Celular e Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 66 - CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA OBTIDAS COM EXTRATOS AQUOSOS DE REPOLHOS

Fernandes, J.B.<sup>1</sup>; Araujo-Neto, L.A.<sup>2</sup>; Silva, L.P.<sup>3</sup>

As nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de plantas estão incluídas entre alguns dos principais nanomateriais produzidos por rotas de síntese verde. Essas AgNPs apresentam um elevado potencial biotecnológico em função de propriedades intrínsecas, dentre elas as ações bactericidas ou bacteriostáticas. O objetivo deste estudo foi investigar a formação de AgNPs utilizando extrato aquoso de repolhos roxo (*Brassica oleracea var. capitata f. rubra*) e verde (*Brassica oleracea var. capitata*), e avaliar a possível toxicidade *in vitro* dessas AgNPs contra as bactérias *Escherichia coli* ATCC<sup>®</sup> 8739 e *Staphylococcus aureus* ATCC<sup>®</sup> 25923. As folhas referentes a diferentes camadas dos repolhos foram identificadas e separadas como RR1, RR2 e RR3 (sendo RR referente às folhas de repolho roxo); e RV1, RV2 e RV3 (sendo RV referente às folhas de repolho verde), em que 1 relaciona-se às folhas externas, 2 às folhas do meio e 3 para as folhas mais internas. As AgNPs foram sintetizadas a partir dos extratos aquosos das folhas destas diferentes regiões, em meio reacional com solução de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) a 1 mM, em banho maria a 75°C, por 12 h. Para a caracterização das AgNPs produzidas foi utilizado o ZetaSizer Nano ZS para determinar os diâmetros hidrodinâmicos (DH), índices de polidispersividade (Pdl) e potenciais Zeta (PZ). A atividade biológica foi avaliada por meio do ensaio de concentração inibitória mínima (MIC) após a exposição *in vitro* das linhagens de *E. coli* e *S. aureus* às AgNPs. Os DH foram RR1 305,4 ± 23,2 nm; RR2 163,0 ± 39,3 nm; RR3 84,3 ± 17,1 nm; RV1 908,4 ± 37,9 nm; RV2 71,7 ± 37,8 nm; e RV3 314,8 ± 12,8 nm. Já o PZ foi negativo para todas as amostras, variando entre -14,2 e -38,9 mV. Durante as reações de síntese, observou-se pelas curvas de formação com base em espectrofotometria de absorção que os extratos RR3 e RV1 formaram mais AgNPs quando comparado aos demais, por isso o ensaio de atividade biológica foi realizado apenas com esses nanomateriais. Para a bactéria *E. coli*, RR3 apresentou MIC de 128 µM; já considerando RV1 não foi possível determinar a MIC até a máxima concentração avaliada. Por outro lado, para a bactéria *S. aureus*, RR3 e RV1 apresentaram 256 µM como a MIC. As diferenças encontradas nas características das AgNPs são justificadas pelas composições químicas de cada variedade da planta e folhas utilizadas. De acordo com a literatura, é possível sugerir que a clorofila provavelmente apresenta influência no extrato do repolho verde e as antocianinas devem influenciar o extrato do roxo em termos de composição fitoquímica, mas a possível contribuição dessas moléculas na formação das AgNPs ainda precisa ser futuramente investigada.

Apoio: CNPq, FAP-DF, Capes e Embrapa.

---

<sup>1</sup> Ciências Ambientais, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Ciências Farmacêuticas, mestrando, Universidade Federal do Paraná-UFPR

<sup>3</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 67 - DIGITALIZAÇÃO 3D COMO FERRAMENTA INOVADORA EM ESTUDOS BOTÂNICOS

Carvalho, B.S.<sup>1</sup>; Silva, L.P.<sup>2</sup>

A digitalização 3D consiste em um processo que analisa um objeto real para coletar dados sobre a forma e aparência, onde as informações coletadas são utilizadas para construir um desenho assistido por computador (CAD). Estes modelos 3D digitais podem ser utilizados em pesquisa científica e diversos setores industriais, geralmente utilizados em áreas de engenharias, *design*, entretenimento, odontologia, biomedicina e até patrimônio cultural. Na área vegetal, já é utilizada apenas a digitalização bidimensional dos documentos de exsicatas para bancos de herbários, mas não as informações tridimensionais dos espécimes. Sendo assim, este estudo tem por objetivo utilizar a técnica de digitalização 3D como proposta para incrementar informações contidas em exsicatas e também em estudos de morfometria vegetal. Os materiais vegetais utilizados neste estudo foram tecidos vegetais como folhas, sementes e flores. O equipamento utilizado para a digitalização 3D foi um escâner 3D de bancada (*desktop*), do tipo sem contato e ativo (fonte própria de radiação). Foram obtidos pelo menos dois escaneamentos de cada material para aquisição dos dados tridimensionais e posteriormente gerar o modelo CAD. Os escaneamentos 3D foram obtidos logo após a coleta do tecido vegetal, e durante períodos de senescência e germinação, sendo que cada aquisição durou de 20 a 90 minutos. A partir dos modelos 3D, serão analisadas características morfológicas qualitativas e quantitativas, comparando-as com propriedades dos materiais originais. Os resultados esperados deste trabalho são a obtenção de uma ampla gama de modelos digitais 3D com bom grau de fidelidade com o material utilizado no momento do escaneamento; e as medidas de morfometria similares entre os modelos reais e digitais. Portanto, a digitalização 3D possui alto potencial como ferramenta para auxiliar na identificação e caracterização de espécies vegetais. Por exemplo, exsicatas 3D poderão representar um modelo virtual tridimensional com características de um material vegetal fresco, diferentemente de uma exsicata convencional na qual o material é prensado e seco. Estas informações poderão ser armazenadas em bancos de dados (herbários 3D) e serem prontamente acessíveis a pesquisadores e estudantes para estudos botânicos. Além disso, um modelo digital, que por si oferece informações visuais sobre o material, também pode fornecer medidas estruturais em alta resolução e fidedignidade, além de informações que comumente não são obtidas em avaliações morfométricas como o volume do tecido vegetal, portanto podendo atuar como ferramenta inovadora para estudos de morfologia e taxonomia vegetal.

Apoio: Embrapa, FAP-DF, CNPq, Capes e Matter and Form.

---

<sup>1</sup> Nanociência e Nanobiotecnologia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 68 - EFEITO DO EXTRATO DE *Rhizobium tropici* NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* EM *Brassica oleracea*

Costa, Y.C.C.<sup>1</sup>; Rios, T.B.<sup>2</sup>; Ribeiro, D.G.<sup>3</sup>; Reis Jr., F.B.<sup>4</sup>; Megias, M.<sup>5</sup>; Mehta, A.<sup>6</sup>

Bactérias fitopatogênicas do gênero *Xanthomonas* causam doenças em muitas plantas consideradas importantes economicamente. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) é o agente causal da podridão negra, que afeta crucíferas como *Brassica oleracea* var. *capitata* (repolho). Uma das estratégias para combater o patógeno é a utilização de biomoléculas envolvidas na indução de genes de defesa das plantas com a intenção de reduzir o uso de pesticidas. Em um estudo realizado previamente, as plantas tiveram suas sementes tratadas com extrato de *Rhizobium tropici* e houve a aplicação deste extrato nas raízes. Ao fazer a análise por RT-qPCR, foi possível observar que a maioria dos genes seguiu um mesmo padrão de expressão, sendo regulados negativamente na parte aérea e positivamente na raiz 24 h após a aplicação do extrato. Este resultado mostra que os genes de defesa avaliados são induzidos na raiz, onde foi aplicado o extrato. Baseado nestes resultados, o objetivo do presente estudo foi analisar o efeito da aplicação do extrato na parte aérea das plantas na indução de resistência a Xcc. Foram analisadas três réplicas biológicas de plantas na condição controle e tratadas com o extrato, ambas inoculadas com Xcc. O período de análises de sintomas durou cerca de 20 dias e foi possível observar que os sintomas de podridão negra, que incluem clorose e necrose da planta, surgiram aos 5 dias após a inoculação (DAI) de Xcc, tornando-se mais intensos aos 9 dias. Foi possível observar que as plantas tratadas com o extrato apresentaram sintomas mais brandos, indicando que o extrato foi capaz de induzir a resistência da planta ao patógeno. A próxima etapa deste trabalho será analisar a indução de genes de defesa na parte aérea por meio de RT-qPCR.

Apoio: Embrapa e CNPq.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Centro Universitário do Distrito Federal-UDF

<sup>2</sup> Biotecnologia, mestranda, Universidade Federal de Juíz de Fora-UFJF

<sup>3</sup> Biologia, doutoranda, Universidade Católica de Brasília-UCB

<sup>4</sup> Agronomia, Ph.D., Embrapa Cerrados

<sup>5</sup> Biologia, Ph.D., Universidade de Sevilla, Espanha

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

## 69 - ESTRATÉGIA PARA ESCALONAMENTO DE ROTAS DE SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO PLANTAS

Pupe, J.M.<sup>1</sup>; Bonatto, C.C.<sup>2</sup>; Silva, L.P.<sup>3</sup>

Nanopartículas de prata (AgNPs) produzidas via síntese verde utilizando extratos aquosos de plantas apresentam alto potencial biotecnológico. Contudo, para a maioria das rotas, a produção ainda se encontra em escala laboratorial. Consensualmente, o escalonamento da síntese verde de AgNPs é influenciado por parâmetros que necessitam de estudo e padronização, dentre eles temperatura, aeração, agitação e concentração de reagentes. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e aperfeiçoar uma estratégia para o escalonamento de rotas de síntese verde de AgNPs utilizando extrato aquoso de planta nativa do Cerrado (informação sigilosa). A estratégia foi baseada em uma metodologia estatística de superfície de resposta chamada delineamento composto central (DCC), em que 13 ensaios independentes foram conduzidos para produção de AgNPs em escala de 1 L utilizando biorreator. Os valores de agitação e aeração foram modulados e os valores de temperatura, concentração de reagentes e tempo de reação foram adaptados de Bonatto e Silva (2014) e mantidos constantes. As reações foram monitoradas espectrofotometricamente em leitora de microplacas em intervalos de 30 min em comprimentos de onda de 405, 450 e 490 nm, e o diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersividade (Pdl), assim como potencial Zeta (PZ) das AgNPs foram medidos pelas técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e mobilidade eletroforética, respectivamente. As 13 suspensões de AgNPs mostraram maior absorvância em 450 nm. O DH, o Pdl e o PZ variaram apenas moderadamente entre 55 a 81 nm; 0,200 a 0,400; -26,0 a -32,0 mV, respectivamente, indicando a produção de partículas nanométricas, com polidispersividades de baixas a moderadas, e potenciais Zeta característicos de estabilidades coloidais moderadas. Os resultados demonstram que o DCC é um método estatístico que pode ser utilizado para a otimização de bioprocessos relacionados à síntese de nanomateriais. Além disso, os 13 ensaios realizados utilizando diferentes valores de aeração e agitação resultaram em AgNPs com características físico-químicas distintas demonstrando a viabilidade da estratégia para modulação das características finais das AgNPs.

Apoio: CNPq, Capes, FAP-DF, Universidade de Brasília-UnB e Embrapa.

---

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

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., TecSinapse

<sup>3</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 70 - ESTUDO DA ADSORÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM SUPERFÍCIE DE MATERIAIS

Seabra, H.M.<sup>1</sup>; Bonatto, C.C.<sup>2</sup>; Silva, L.P.<sup>3</sup>

Nanopartículas de prata (AgNPs) são aglomerados metálicos com propriedades químicas, físicas e biológicas únicas. Atualmente, a formação de AgNPs vem sendo investigada em estudos utilizando extratos aquosos de plantas, sendo um dos gêneros de plantas mais recorrentes na literatura, a *Mentha*. Assim, propôs-se estudar a possível adsorção em diferentes materiais de AgNPs produzidas por rotas de síntese verde a partir de extratos aquosos de *Mentha pulegium*. Inicialmente foi realizada uma revisão bibliográfica exaustiva para obter informações acerca de estudos com plantas desse gênero. Para o estudo de adsorção de AgNPs em superfícies foram escolhidos materiais incluindo plástico, vidro, papel, tecido e látex (ponteira de micropipeta, lamínula, folha A4, máscara cirúrgica e luvas de procedimentos, respectivamente), cortando-os de forma quadricular ( $\cong 1 \text{ cm}^2$ ). Para a síntese das AgNPs, folhas de *M. pulegium* foram lavadas, pesadas e preparou-se um extrato aquoso utilizando água em ebulição. Posteriormente, os materiais para adsorção de AgNPs foram acondicionados no fundo de tubos de ensaio de vidro e em seguida foram adicionadas soluções de nitrato de prata e extrato de *M. pulegium* ou apenas nitrato de prata ou extrato como controles. As reações dos materiais nestas condições foram conduzidas em banho-maria a 75°C por 2,5 h. Para a caracterização e avaliação da possível adsorção de AgNPs, analisou-se todos os materiais por microscopia de força atômica (MFA) para obtenção de imagens topográficas das superfícies. Em uma segunda etapa do estudo, realizou-se nova síntese de maneira similar à anterior para teste de atividade antimicrobiana, e por serem materiais muito utilizados em ambiente médico-hospitalar, foram selecionados vidro, papel e luva. Posteriormente, estes foram depositados em placas com meio de cultivo sólido semeado com bactérias *Escherichia coli*, e durante três dias as placas foram submetidas à inspeção visual a cada 24 h e tiveram o halo de inibição medido utilizando paquímetro. Com estas abordagens experimentais observou-se mudança de cor nas suspensões em que se formaram AgNPs e por MFA observou-se nas superfícies a presença de estruturas nanométricas semelhantes entre os diferentes materiais, mas depositadas em superfícies com características distintas. Além disso, indicou que as AgNPs conferiram maior homogeneidade às superfícies dos materiais. Nos testes de atividade antimicrobiana não houve formação de halo em vidro e luva, mas observou-se inibição do crescimento quando a incubação foi realizada com superfície de papel, apresentando halo de  $\cong 1 \text{ mm}$  constatando viabilidade da utilização de AgNPs produzidas com extrato aquoso de *M. pulegium* como agentes antimicrobianos em certas superfícies de materiais.

Apoio: CNPq, Capes, FAP-DF e Embrapa.

---

<sup>1</sup> Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., TecSinapse

<sup>3</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 71 - EXPLORAÇÃO *IN SILICO* DE DADOS DE RNA-Seq DE SEMENTES DE *Elaeis guineensis*, *Jatropha curcas* E *Ricinus communis* PARA RECONSTRUÇÃO DE VIAS METABÓLICAS DE ÁCIDOS GRAXOS

Lemos, V.N.S.<sup>1</sup>; Togawa, R.C.<sup>2</sup>; Grynberg, P.<sup>3</sup>; Rech, E.L.<sup>4</sup>

*Elaeis guineensis* (dendê), *Jatropha curcas* (pinhão-mansão) e *Ricinus communis* (mamona) produzem ácidos graxos que podem ser utilizados como fonte renovável na matriz energética, apresentando assim um grande potencial biotecnológico para as indústrias do ramo. O melhor conhecimento das vias metabólicas associadas com a síntese de ácidos graxos contribuirá para a maximização da produção utilizando métodos de engenharia metabólica e biologia sintética. O objetivo deste trabalho foi identificar possíveis transcritos relacionados com a síntese de ácidos graxos e determinar a sua via metabólica. Para isto RNA total destas três espécies de sementes foram extraídas e sequenciadas (*paired-end*) utilizando a tecnologia Illumina HiSeq 2500. FastQC e cutadapt foram utilizados para checar a qualidade das sequências, retirar os adaptadores e eliminar as bases de baixa qualidade. O programa BUSCO foi utilizado para verificar a completude dos transcriptomas produzidos. Obtivemos 1.4x/60.4%, 8.7x/78.3% e 8.0x/80.3% de cobertura e completude para *E. guineensis*, *J. curcas* e *R. communis* de acordo com os respectivos tamanhos do genoma. 5,430 sequências proteicas de 10 espécies de plantas, incluindo as três deste trabalho, correspondentes a 12 vias metabólicas associadas à ácidos graxos, foram baixadas do KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) para a montagem de um banco de dados local. Este banco de dados foi utilizado para identificar as proteínas de interesse em nossos dados. *Scripts* foram desenvolvidos para a manipulação dos arquivos e futuras análises. No total, 857, 707 e 607 proteínas relacionadas com a produção de óleo em *E. guineensis*, *J. curcas* e *R. communis* foram identificadas respectivamente. Destas, 110 proteínas são comuns nas três espécies e estão presentes nas 12 vias metabólicas de ácidos graxos. Este é um indicador que as vias metabólicas associadas à síntese de ácidos graxos é conservada. A informação obtida neste trabalho pode ser utilizada como material de referência para estudos de engenharia metabólica e melhoramento da produção de ácidos graxos para propósitos industriais.

---

<sup>1</sup> Tecnologia Química e Biológica, mestrando, Universidade de Brasília-UnB

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

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

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

## 72 - EXTRAÇÃO DE BIOPIGMENTOS, POR QUÍMICA VERDE, UTILIZANDO RESÍDUOS ALIMENTARES PARA A PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS

Lauria, V.B.M.<sup>1</sup>; Silva, L.P.<sup>2</sup>

Em virtude da adoção de hábitos alimentares mais saudáveis por parte da população e a preocupação com relação à qualidade e segurança dos alimentos consumidos, medidas que visam à substituição gradativa de corantes artificiais por corantes naturais, nas indústrias alimentícias, estão sendo adotadas. Contudo, a adesão de corantes naturais pela indústria mostra-se desafiadora, tendo em vista uma carência de fontes adequadas e em virtude da instabilidade desses compostos nas condições de processamento e armazenamento. Dessa forma, é crescente a busca por inovações tecnológicas de aperfeiçoamento dos processos de extração e estabilização de pigmentos naturais (biopigmentos). Em razão das grandes perdas e desperdícios ao longo da cadeia produtiva, os resíduos alimentares mostram-se como matrizes promissoras para a obtenção de biopigmentos. Dessa forma, o presente trabalho objetiva estudar e padronizar métodos de extração, aquosa ou oleosa conforme o caso, de biopigmentos, por estratégias de química verde, mediante a utilização de resíduos das cascas de cenouras, berinjelas e beterrabas, e avaliá-las quanto à aplicabilidade para o desenvolvimento de materiais nanoparticulados, a fim de investigar suas influências nas características organolépticas dos alimentos. Com esse propósito, pigmentos naturais foram obtidos das cascas de cenoura por meio de diferentes extrações oleosas e avaliados pelo modelo de espaço de cor RGB, utilizando o *software ImageJ*. As análises revelaram a presença de biopigmentos, com cores e tons variados, e se mostraram promissoras para a investigação de novos compostos mediante o emprego de outros resíduos orgânicos, como as cascas de berinjelas e beterrabas em etapas posteriores deste estudo.

Apoio: Embrapa, CNPq, FAP-DF e Capes.

---

<sup>1</sup>Ciências Farmacêuticas, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

### 73 - EXTRATO AQUOSO DE RAIZ DE SOLANÁCEA COM PROPRIEDADE NEMATICIDA SOBRE *Meloidogyne incognita*

Ferreira, A.A.<sup>1</sup>; Pimentel, R.R.<sup>2</sup>; Furlanetto, C.<sup>3</sup>; Gomes, J.C.<sup>4</sup>; Rodrigues, C.M.<sup>4</sup>; Reis Junior, F.B.<sup>5</sup>; Ferreira, P.D.S.<sup>1</sup>; Mello, S.C.M.<sup>6</sup>; Martins, I.<sup>7</sup>; Rocha, T.L.<sup>8</sup>

O nematóide das galhas radiculares *Meloidogyne incognita* é responsável pela redução na produtividade e na qualidade dos produtos agrícolas em termos mundiais. Os prejuízos ocasionados anualmente aos agricultores são da ordem de milhões de dólares. O controle desse fitoparasita está centrado na utilização maciça de métodos químicos. A utilização indiscriminada desses nematicidas sintéticos pode causar efeitos indesejáveis sobre a saúde humana, animal e ao meio ambiente. A flora brasileira representa um arsenal de compostos biocidas. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi obter e selecionar extratos crus aquosos (ECAs) e frações oriundas de raízes de cinco espécies de plantas da família Solanaceae efetivos no controle de juvenis de segundo estágio (J<sub>2</sub>) e sob a eclosão de ovos de *M. incognita*. Adicionalmente, os extratos exibindo ação nematicida foram testados em bioensaios *in vitro* de estabilidade térmica, citotoxicidade, fitotoxicidade e sobre organismos não alvo da rizosfera. Dentre os ECAs avaliados, o ECA da espécie 5 foi o mais efetivo com 99% de mortalidade dos J<sub>2</sub>, e uma inibição de 95% da taxa de eclosão dos ovos. Todos os extratos analisados apresentaram atividade nematicida acima de 60%, após aquecimento a 50°C. Diametralmente oposto, todos os ECAs utilizados no teste de germinação, não apresentaram fitotoxicidade sobre sementes de *Glycine max*. Os resultados de citotoxicidade demonstraram que apenas o ECA da espécie 1 foi tóxico, lisando 80% das hemácias suínas. Para os testes *in vitro* utilizando organismos não-alvo, nenhum dos extratos inibiu o crescimento de bactérias e levedura. Já para os fungos filamentosos, apenas o ECA da espécie 1 apresentou baixa inibição do crescimento micelial em placa de Petri. Em relação ao fracionamento, utilizando cromatografia sólida (SPE-C18), o eluato 1 da espécie 5 apresentou o melhor desempenho com 95% dos J<sub>2</sub> mortos. O eluato 1 foi submetido à cromatografia (HPLC) utilizando coluna de fase reversa C-18 gerando 56 frações, as quais foram reunidas em 7 grupos. O grupo mais efetivo foi submetido a análises de LC-MS-MS e indicou a presença de (ácidos orgânicos, carboidratos, glicosídeos, alcaloides, flavonoides, diterpenos e sesquiterpenos). Os dados gerados neste trabalho abrem novas perspectivas para o controle simultâneo de J<sub>2</sub> e ovos de *M. incognita*.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CNPq e UnB.

---

<sup>1</sup> Fitopatologia, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, bolsista CNPq  
<sup>2</sup> Fitopatologia, doutorando, Universidade de Brasília-UnB, bolsista CNPq  
<sup>3</sup> Agonomia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB  
<sup>4</sup> Química Analítica, Ph.D., Embrapa Agroenergia  
<sup>5</sup> Agrônomo, Ph.D., Embrapa Cerrados  
<sup>6</sup> Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
<sup>7</sup> Ciências Agrárias, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
<sup>8</sup> Bioquímica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 74 - EXTRATO E FRAÇÕES NEMATOTÓXICAS DE SOLANACEAE ASSOCIADOS A ADJUVANTE PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne incognita*

Costa, T.G.<sup>1</sup>; Dias, S.C.<sup>2</sup>; Engler, J.A.<sup>3</sup>; Sihler, W.<sup>4</sup>; Souza, M.L.<sup>5</sup>; Polez, V.L.P.<sup>6</sup>; Rocha, T.L.<sup>7</sup>

O fitonematóide *Meloidogyne incognita* acarreta perdas significativas na produção agrícola mundial. O controle desse microrganismo é realizado quase exclusivamente por nematicidas sintéticos, geralmente nocivos à saúde humana, animal e ao meio ambiente. O uso de extratos e/ou compostos vegetais surge como alternativa de menor custo financeiro e ambiental. Diversas solanáceas apresentam breve histórico de resistência a fitonematóides. Assim, esse trabalho objetivou a identificação e caracterização de extrato e frações nematotóxicas de sementes de uma planta da família Solanaceae e sua associação com adjuvante visando ao controle sustentável de J<sub>2</sub> de *M. incognita*. O extrato aquoso de sementes da planta estudada e seus dialisados interno (DI) e externo (DE) apresentaram atividade nematicida com mais de 95% dos juvenis de segundo estágio (J<sub>2</sub>) de *M. incognita* mortos, após 48 horas de exposição. As frações DE e DI submetidas a tratamento térmico (50°C/24h) demonstraram 95% de letalidade contra J<sub>2</sub>. Adicionalmente, essas amostras exibiram baixa toxicidade sobre eritrócitos bovinos e contra os organismos não alvo (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Caenorhabditis elegans*) em testes realizados *in vitro*. O DE inibiu a germinação de sementes de *A. thaliana* em (44%), enquanto o DI a estimulou (10%). Por fim, a utilização do DE associado a um adjuvante para liberação controlada apresentou resultados efetivos contra J<sub>2</sub> de *M. incognita*. Ensaio *in vitro* demonstraram que DE+adjuvante (10 mg/50mg) causou mortalidade maior que 95% dos J<sub>2</sub>, após 48 h de exposição. Em casa de vegetação utilizando a associação de 16.6mL de DE (1mg/mL) com adjuvante (165mg), foi observada a redução acima de 97% do número de ovos, contra 99% para o controle positivo (Aldicarbe) e o tratamento com o DE em plantas de *N. tabacum* desafiadas com *M. incognita*, após 45 dias da inoculação. Adicionalmente, as plantas de *N. tabacum* tratadas com o adjuvante contendo (dH<sub>2</sub>O ou DE) apresentaram aumento de mais de 400% do peso fresco das raízes e mais de 200% no tamanho das plantas em relação ao controle. Esses resultados consubstanciam a possibilidade da aplicação biotecnológica da composição baseada na associação do DE e adjuvante como possível alternativa aos nematicidas sintéticos, visando ao controle sustentável de *M. incognita*.

Apoio: Embrapa, CNPq, UCB e INRA.

---

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

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

<sup>3</sup> Genética, Ph.D., Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ/INRA

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

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

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

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

## 75 - INFLUÊNCIA DOS VOLÁTEIS DO ALGODOEIRO NO COMPORTAMENTO DE BUSCA DE *Bracon vulgaris* ASHMEAD (BRACONIDAE)

Silva, I.T.F.A.<sup>1</sup>; Magalhães, D.M.<sup>2</sup>; Borges, M.<sup>3</sup>; Laumann, R.A.<sup>3</sup>; Miranda, J.E.<sup>4</sup>; Brito, C.H.<sup>5</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>6</sup>

As plantas desenvolveram diferentes estratégias de defesa contra o ataque de herbívoros as quais podem ser constitutivas ou induzidas e ter ação direta e/ou indireta sobre o herbívoro. Os compostos orgânicos voláteis provenientes do metabolismo secundário podem agir na defesa indireta das plantas atraindo os parasitoides dos herbívoros. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência dos voláteis do algodoeiro, tanto os constitutivos como os induzidos por herbivoria de *Anthonomus grandis* (Boheman)(Curculionidae), no comportamento de busca de *Bracon vulgaris* Ashmead (Braconidae). Foram realizadas coletas de voláteis de plantas de algodão, nos estágios vegetativo e reprodutivo com e sem danos de herbivoria. Os extratos de aeração contendo os voláteis do algodoeiro foram analisados por CG-FID e CG-EM e usados em bioensaios em olfatômetro em "Y" para avaliar a resposta de fêmeas de *B. vulgaris* aos diferentes tratamentos. O comportamento de busca de *B. vulgaris* foi avaliado em relação aos tratamentos: (i) voláteis constitutivos do algodoeiro VCAs versus hexano, (ii) voláteis do algodoeiro induzidos pela herbivoria de adultos de *A. grandis* (VAIHs) versus hexano, (iii) VCA versus VAIH. As análises químicas mostraram que o algodoeiro produz diferentes perfis de compostos voláteis de acordo com seu estágio fenológico, no estágio vegetativo há uma produção maior de voláteis em relação ao estágio reprodutivo e, em ambos os estágios, plantas danificadas por herbivoria de *A. grandis* liberam uma maior quantidade de voláteis do que plantas saudáveis. Os dados de olfatométrica mostraram que as fêmeas de *B. vulgaris* não apresentaram preferência aos VCAs quando contrastados com o odor do hexano, nos estágios vegetativo ( $\chi^2 = 2,08$ ,  $p = 0,14$ ) e reprodutivo ( $\chi^2 = 1,84$ ,  $p = 0,17$ ), nem aos VAIHs no estágio vegetativo ( $\chi^2 = 0,11$ ,  $p = 0,74$ ). No entanto, quando VAIHs foram contrastados com o odor do hexano (vegetativo:  $\chi^2 = 3,72$ ,  $p = 0,05$ ; reprodutivo:  $\chi^2 = 6,30$ ,  $p = 0,012$ ) e contrastados com VCAs no estágio reprodutivo ( $\chi^2 = 4,16$ ,  $p = 0,04$ ), os parasitoides preferiram os VAIHs. Os resultados mostraram que *B. vulgaris* discrimina voláteis de algodão em diferentes estágios fenológicos e se orienta seguindo as pistas originadas de plantas que emitem voláteis induzidos por herbivoria de *A. grandis*.

Apoio: Capes e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

---

<sup>1</sup> Agronomia, doutoranda, Universidade Federal da Paraíba-UFPB

<sup>2</sup> Zoologia, Ph.D., colaborador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>3</sup> Ecologia Química, Ph.D., Embrapa recursos Genéticos e Biotecnologia

<sup>4</sup> Agronomia, Ph.D., Embrapa Algodão

<sup>5</sup> Biologia, Ph.D., Universidade Federal da Paraíba-UFPB

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

## 76 - MODELAGEM TRIDIMENSIONAL DE PLATAFORMA MICROFLUIDICA MIMÉTICA DE FOLHA DICOTILEDÔNEA VIA DESENHO ASSISTIDO POR COMPUTADOR (CAD)

Takematsu, M.H.<sup>1</sup>; Silva, L.P.<sup>2</sup>

As plataformas microfluídicas consistem na utilização de circuitos integrados em microescala para passagem de fluidos. A partir delas, dispositivos para ensaios biológicos podem ser construídos por constituírem uma alternativa que envolve menores custos, menor tempo de experimento, ensaios multiplex, reprodutibilidade e alta resolução. Visto que há carência de criação de plataformas microfluídicas voltadas para ensaios com células ou tecidos vegetais, o presente trabalho apresenta o desenvolvimento de uma plataforma que mimetiza o formato e a venação de uma folha dicotiledônea, em *software* de modelagem 3D. Inicialmente, por meio de revisão bibliográfica, foram encontrados alguns modelos de dispositivos de microfluídica já existentes, os quais serviram como base para o conceito proposto nessa plataforma. A modelagem seguiu como referência a imagem de uma folha dicotiledônea. No intuito de viabilizar a aplicação para análise de células vegetais, o modelo apresentado incluiu micropoços para deposição de células e entrarão em contato com fluidos por meio de canais. O *software* utilizado para construção do modelo foi o *Blender* (versão 2.79), no qual se empregou o uso de diversas ferramentas para modelagem e renderização. O resultado final foi a obtenção de um modelo computadorizado e gravado em formato *.stl* pronto para ser futuramente fabricado em impressora 3D. Somente após a fabricação, o modelo poderá ser efetivamente testado quanto à sua eficiência e funcionalidade para aplicação em ensaios biológicos.

Apoio: Embrapa, Universidade de Brasília-UnB e FAP-DF.

---

<sup>1</sup> Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 77 - MODULAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO EXTRATO DE SEMENTES DE FLAMBOYANT AMARELO

Pupe, J.M.<sup>1</sup>; Silva, L.P.<sup>2</sup>

*Delonix regia*, também conhecida como flamboyant, é uma planta nativa de Madagascar, e cujas folhas, sementes, raízes e flores apresentam diversos compostos fitoquímicos com propriedades farmacológicas reconhecidas. Em especial, as sementes do flamboyant contêm ácidos graxos, carboidratos, aminoácidos, taninos e esteroides. Neste contexto, o extrato aquoso das sementes de flamboyant amarelo, em diferentes concentrações, foi utilizado como possível fonte biorredutora e estabilizante para a síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs). As reações de síntese de AgNPs ocorreram no escuro por 180 min, a 75°C, em concentrações de extrato de 1, 2, 4, 8 e 16 mg/mL e concentração final de AgNO<sub>3</sub> de 1 mM. As reações foram monitoradas espectrofotometricamente em leitora de microplacas em comprimentos de onda de 405, 450 e 490 nm. As AgNPs foram caracterizadas em relação ao diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersividade (Pdl); além de potencial Zeta (PZ) por espalhamento de luz dinâmico e mobilidade eletroforética, respectivamente. De uma maneira geral, as AgNPs apresentaram maior absorvância em 405 nm. Os DH, Pdl e PZ das AgNPs sintetizadas em diferentes concentrações de extratos aquosos foram, respectivamente: 92,7 ± 6,2 nm; 0,394 ± 0,042; -21,3 ± 2,1 mV (1); 124,8 ± 2,6 nm; 0,354 ± 0,009; -30,5 ± 2,2 mV (2); 240,1 ± 1,6 nm; 0,429 ± 0,004; -35,0 ± 0,8 mV (4); 253,3 ± 1,5 nm; 0,269 ± 0,004; -35,5 ± 0,3 mV (8); 294,6 ± 5,2 nm; 0,264 ± 0,008; -35,0 ± 0,7 mV (16). Portanto, é possível observar que as diferentes concentrações de extratos aquosos de sementes de flamboyant amarelo modularam as características físico-químicas das AgNPs, já que quanto maior a concentração de extrato utilizada, maior é o DH, menor é o Pdl e maior é o PZ. Ademais, o extrato aquoso das sementes de flamboyant amarelo será posteriormente caracterizado quanto ao perfil fitoquímico, e as AgNPs serão analisadas quanto à possível atividade biológica contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Apoio: CNPq, Capes, FAP-DF, Universidade de Brasília-UnB e Embrapa.

---

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

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 78 - NANOPARTÍCULAS DE PRATA FITOSSINTETIZADAS COM *Ilex paraguariensis*: AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE SOBRE LINHAGEM CELULAR IPLB-SF-21

Silveira, A.P.<sup>1</sup>; Polez, V.L.P.<sup>2</sup>; Souza, M.L.<sup>3</sup>; Silva, L.P.<sup>4</sup>

O perfil fitoquímico de uma planta pode ser modificado em função de fatores bióticos e abióticos, como o modo de cultivo, temperatura, pluviosidade, seca, interação com insetos e microrganismos, entre outros, provocando aumento ou diminuição de determinados compostos. Tais alterações neste perfil podem afetar diretamente as propriedades finais de nanopartículas sintetizadas utilizando extratos de plantas (fitossintetizadas). Nesse sentido, nanopartículas de prata (AgNPs) foram obtidas a partir dos extratos aquosos de *Ilex paraguariensis* advindas de três regiões geográficas distintas (A, B e C) e cultivadas de maneiras específicas: (A) com uso de agrotóxicos; (B) sem uso de agrotóxicos; e (C) cultivada *ex situ* em condições naturais, com uso de compostos atóxicos para contenção de insetos. As AgNPs foram caracterizadas pelas técnicas de espectroscopia por correlação de fótons e mobilidade eletroforética; e submetidas a ensaios *in vitro* para avaliação da possível citotoxicidade, pelo método de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2, 5-difenil-2H-tetrazólio), em linhagem celular de *Spodoptera frugiperda* (IPLB-SF-21) visando determinar se a região de origem, método de cultivo e/ou as características físico-químicas das AgNPs exercem alguma influência na resposta biológica. Os resultados mostraram distribuição dos diâmetros hidrodinâmicos médios (DH) variados (80,3; 207,7; e 33,6 nm); índices de polidispersividade (Pdl) de baixos a moderados (0,308; 0,218; e 0,553); e potenciais Zeta de superfície negativos com indicativos de instabilidade coloidal incipiente a estabilidade moderada (-24,5; -21,1; e -24,6 mV), para AgNPs(A), AgNPs(B) e AgNPs(C), respectivamente. As análises realizadas pelo ensaio de MTT indicaram manutenção da viabilidade celular após exposição à todas as AgNPs testadas, sugerindo que (i) AgNPs produzidas com *I. paraguariensis* não apresentaram atividade citotóxica; e que (ii) a região de origem da planta, (iii) o método de cultivo, e (iv) as características das AgNPs analisadas não exerceram influência sobre a viabilidade da linhagem celular de inseto avaliada.

Apoio: Capes, CNPq, FAP-DF, UnB e Embrapa.

---

<sup>1</sup> Nanociência e Nanobiotecnologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

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

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

<sup>4</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 79 - OBTENÇÃO DE TOMATEIROS cv. MICRO-TOM TRANSFORMADOS COM UM GENE PR DE CUPUAÇUZEIRO (*Theobroma grandiflorum*)

Neves, M.S.<sup>1</sup>; Mesquita, I.L.<sup>2</sup>; Falcão, L.L.<sup>3</sup>; Marcellino, L.H.<sup>4</sup>; Silva-Werneck, J.O.<sup>4</sup>; Barros, L.M.G.<sup>4</sup>

O cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schumm., é uma frutífera arbórea, nativa da Amazônia, de grande importância sócio-econômica para a região. O cupuaçu pode ser utilizado na produção de sucos, sorvetes, licores, doces e cosméticos. Essa cultura, assim como a do cacauzeiro, é afetada pela doença vassoura-de-bruxa (VB), causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, responsável por grande redução na produção. A partir do estudo do transcriptoma de cupuaçuzeiro, foram identificados alguns genes do tipo PR (*Pathogenesis-related*) que podem estar relacionados com a resistência a *M. perniciosa*. O objetivo do presente trabalho foi transformar tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) cv. *Micro-Tom-Rg1* (MT-Rg1) com o gene *TgPR* de cupuaçuzeiro para avaliação de função da proteína, considerando que *M. perniciosa* biótipo-S infecta esta planta. Após a clonagem do gene em vetor binário, foi realizada a transferência do vetor para *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 e esta utilizada para a transformação de MT-Rg1. Inicialmente, foi realizada cocultura da agrobactéria com segmentos cotiledonares de MT-Rg1 germinados in vitro. Em seguida, os explantes foram transferidos para meio de regeneração (sais de MS, vitamina B5, sacarose 30%, zeatina 1 mg/L, BAP 1 mg/L e ágar 0,7%) na presença de canamicina 50 mg/L. Após a regeneração, os brotos foram transferidos para meio de alongamento (sais de MS, vitamina B5, sacarose 30%, zeatina 0,5 mg/L e ágar 0,7%) e, subsequentemente, para meio de enraizamento (sais de MS, vitamina B5, sacarose 30%, AIB 1 mg/L e ágar 0,7%), ambos contendo canamicina. As plantas resistentes ao antibiótico foram analisadas por ensaio histoquímico para detecção de GUS em segmentos de folhas e de raízes, o qual confirmou a transformação. As plantas GM estão sendo cultivadas em casa-de-vegetação para análises moleculares e produção de sementes T1. Posteriormente, tomateiros homocigotos para o gene *TgPR* serão desafiados com *M. perniciosa* para avaliação da ação da proteína no desenvolvimento de VB nesta planta.

Apoio: Embrapa e CNPq/PIBIC.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

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

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

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

## 80 - O GENE *ASDUF* DE ESPÉCIE SILVESTRE *Arachis* ESTÁ ENVOLVIDO NA RESISTÊNCIA AOS NEMATÓIDES DE GALHA

Teixeira, L.A.<sup>1</sup>; Martins, A.C.Q.<sup>2</sup>; Oliveira, T.N.<sup>3</sup>; Pereira, B.M.<sup>4</sup>; Araujo, G.S.<sup>5</sup>; Araujo, A.C.G.<sup>6</sup>; Guimarães, P.M.<sup>7</sup>; Brasileiro, A.C.M.<sup>7</sup>

Diversas plantas cultivadas têm seu desenvolvimento e produtividade afetados pelo ataque de pragas e doenças, como é o caso do amendoim (*Arachis hypogaea*). Por outro lado, espécies silvestres vêm sendo exploradas como fonte de novos alelos de interesse agrônomo a ser introduzida em programas de melhoramento genético. *A. stenosperma*, parente silvestre do amendoim cultivado, é resistente a inúmeros fitopatógenos, incluindo o nematóide das galhas (*Meloidogyne arenaria*), apresentando resposta de hipersensibilidade (HR) no local de formação do seu sítio de alimentação. A infecção pelo nematóide desencadeia várias vias de resposta de defesa, incluindo genes envolvidos na HR. Dentre eles, o gene que codifica uma proteína de função desconhecida, denominada DUF (*Domain of Unknown Function*), foi positivamente regulado em *A. stenosperma* durante os primeiros estádios de infecção do nematóide, sugerindo seu envolvimento na resposta de defesa. Visando avaliar o efeito da superexpressão do gene *AsDUF* na resistência à infecção do nematóide das galhas, plantas de *Arabidopsis thaliana* foram transformadas com o vetor pPZP\_*AsDUF* pelo método de *Floral Dip*. Par tal, dez eventos de *A. thaliana* superexpressando *AsDUF* em homozigose (geração T<sub>2</sub>), e o controle (Columbia 0) foram desafiados com 2.000 J<sub>2</sub> de *M. incognita* 30 dias após o plantio. Sessenta dias após a inoculação com o nematóide, a razão entre a quantidade de galhas por peso (mg) de raiz foi calculada. Ao todo, seis eventos transgênicos de *A. thaliana* apresentaram diferenças significativas no número de fêmeas por peso (mg) de raiz de infecção, variando de 34 a 49% de redução, quando comparada ao controle não transformado. Esses resultados sugerem que *AsDUF* modula positivamente a resposta de defesa contra o nematóide das galhas e que sua superexpressão em *A. thaliana*, reduz significativamente a infecção com *M. incognita*.

Apoio: Embrapa.

---

<sup>1</sup> Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB, bolsista Embrapa

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

<sup>3</sup> Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>4</sup> Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

<sup>5</sup> Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

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

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

## 81 - PRODUÇÃO DE FIBRAS COMO SUBSTRATOS PARA PROCESSOS DE BIOFABRICAÇÃO 4D

Balbino, R.C.B.<sup>1</sup>; Silva, L.P.<sup>2</sup>

Observando a natureza é possível identificar processos e estruturas que podem servir como modelos adequados ao desenvolvimento de novos produtos ou processos que apresentem aplicações em diferentes setores industriais e áreas do conhecimento. O biomimetismo é uma área que estuda a elaboração de soluções inspiradas na natureza, porém de forma aperfeiçoada, permitindo um ajuste fino de acordo com o interesse e a necessidade. Uma das tecnologias baseadas nesse conceito que têm sido consideradas atualmente é a chamada biofabricação 4D. Este termo refere-se a produtos gerados por biofabricação 3D em que há utilização de materiais biológicos, formando uma estrutura tridimensional, aditado da possibilidade de ter características moduladas conforme o ambiente e com o decorrer do tempo, permitindo que eles se ajustem às condições em que estão inseridos. Por ser uma tecnologia nova, não há muitos procedimentos pré-estabelecidos para obter um biofabricado com essa potencialidade. Nesse contexto, com base em revisões bibliográficas envolvendo biopolímeros, como o alginato de sódio, e agentes de reticulação (crosslinking), como o cloreto de cálcio, construiu-se uma curva de distribuição normal que permitiu achar as melhores concentrações de ambos. Partindo das concentrações selecionadas, estruturas esferoides ou fibrosas estáveis foram criadas com o gotejamento ou extrusão em fluxo contínuo de alginato em soluções calcáreas. Adicionalmente, no caso das estruturas fibrosas formadas foi observada uma clara tendência de encaracolamento e mesmo helicoidização dos biofabricados. Para averiguar o comportamento destas estruturas em função do meio circundante foram aplicados diferentes solventes (água de abastecimento urbano, água filtrada, água destilada, água ultrapura, tampão fosfato salina, metanol, etanol, isopropanol, butanol, acetona, acetonitrila, dimetilsulfóxido e óleo de girassol) e foi possível notar mudanças estruturais caracterizadas por perda de volume quando em acetonitrila e solventes alifáticos ou formação de camada de solvatação quando imerso em óleo de girassol, constatando a possibilidade de alteração das biofibras após a fabricação e sua possível modulação em termos de tamanho e forma, características muito almejadas do ponto de vista de processos de biofabricação 4D. Estudos futuros em matrizes fibrosas celularizadas permitirão a compreensão do envolvimento destes novos materiais desenvolvidos para a mimetização de estruturas biológicas.

Apoio: Embrapa, FAP-DF, CNPq, Capes e UnB.

---

<sup>1</sup> Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

<sup>2</sup> Biologia Animal/Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## 82 -TRANSMISSÃO DE COWPEA MILD MOTTLE VIRUS POR SEMENTES DE FEIJOEIRO COMUM

Felix, G.P.<sup>1</sup>; Alves-Freitas, D.M.T.<sup>2</sup>; Pinheiro-Lima, B.<sup>3</sup>; Lacerda, A.L.M.<sup>2</sup>; Minari, M.<sup>1</sup>; Vidal A.H.<sup>3</sup>; Faria, J.C.<sup>4</sup>; Ribeiro, S.G.<sup>5</sup>

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) é um importante alimento no Brasil e é afetado por vários vírus, incluindo o Cowpea mild mottle virus - CPMMV (gênero *Carlavirus*, família *Betaflexiviridae*). O CPMMV, transmitido pela mosca branca (*Bemisia tabaci*), foi encontrado infectando feijoeiros em altas incidências nas regiões Central e Nordeste do país. Isolados africanos de CPMMV são transmitidos por sementes de cultivares de caupi, soja e feijão. Para o CPMMV brasileiro, os ensaios de transmissão por sementes de feijão e soja foram negativos, utilizando a visualização dos sintomas e ELISA como métodos de avaliação. Neste trabalho, utilizamos as técnicas de qPCR e RT-PCR para avaliar a transmissão de CPMMV por sementes de feijoeiro. Plântulas de feijão 'BRS FC 401 RMD' foram mecanicamente inoculadas com CPMMV. A infecção foi confirmada por RT-PCR. Vinte sementes oriundas das plantas sabidamente infectadas de 'BRS FC 401 RMD' foram coletadas, plantadas e mantidas em uma câmara de crescimento protegida de insetos. O RNA total foi extraído de folhas jovens 30 dias após a inoculação. O cDNA foi preparado usando oligodT e *primers* randômicos com Transcriptase Reversa SuperScript III. As reações de qPCR foram realizadas em triplicata usando Platinum® SYBR® Green qPCR SuperMix-UDG com ROX (Invitrogen) e *primers* específicos para CPMMV. O gene Actina 11 foi utilizado como controle interno e o cDNA de plantas de tomate e *arabidopsis* como controles negativos. Análises das curvas de *Melt* confirmaram a especificidade das amplificações. Transmissão de CPMMV por sementes foi detectada em 100% das plantas quando avaliadas por qPCR. Entretanto, apenas 20% das plantas foram positivas por RT-PCR usando o mesmo cDNA, seguido de PCR, eletroforese em gel e visualização de bandas derivadas do vírus. Os resultados mostram que o isolado do CPMMV brasileiro pôde ser transmitido por sementes de "BRS FC 401 RMD" em altas taxas, embora o vírus tenha sido detectado mais eficientemente por qPCR do que RT-PCR. Mais estudos são necessários para verificar os efeitos do CPMMV em sementes de feijão e o comportamento de plantas oriundas de sementes infectadas como fontes de inóculo para a transmissão do vírus pelo vetor.

Apoio: Embrapa, CNPq e FAP-DF.

---

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

<sup>2</sup> Biologia Molecular, pós-doutorado, Universidade de Brasília-UnB

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

<sup>4</sup> Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Arroz e Feijão

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

### 83 - USO DE SPME NA AVALIAÇÃO QUALITATIVA DE DOIS ACESSOS DE *Mentha* DO BANCO DE GERMOPLASMA IN VITRO DA EMBRAPA CENARGEN

Diniz, W.B.<sup>1</sup>; Silva, I.G.<sup>2</sup>; Alves, R.B.N.<sup>3</sup>; Silva, D.B.<sup>4</sup>; Flores, P.S.<sup>4</sup>; Blassioli-Moraes, M.C.<sup>5</sup>; Bizzo, H.R.<sup>6</sup>; Vieira, R.F.<sup>7</sup>

Espécies de *Mentha* são amplamente cultivadas, com produção principalmente nos Estados Unidos, China, Europa Oriental, Índia e países do Mediterrâneo. O óleo essencial obtido de diversas espécies de *Mentha* são utilizados nas áreas de cosméticos, indústria de alimentos, higiene e fitoterapia. O germoplasma de diversas espécies de *Mentha* foram introduzidas na coleção in vitro no Brasil pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. Diversos acessos de *Mentha* apresentam muita semelhança morfológica, com grande diversidade química e dificuldade para serem identificados. O objetivo deste trabalho é avaliar e comparar a viabilidade do uso da técnica de extração por SPME (Solid Phase MicroExtraction) em relação a hidrodestilação para identificação dos principais quimiotipos da coleção de germoplasma de *Mentha* in vitro da Embrapa. Estão sendo utilizados dois acessos de *Mentha* (*M. x villosa* - CM47 e *M. spicata* - CM50), obtidos da coleção mantida na Embrapa. Para extração do óleo essencial por hidrodestilação usou-se amostras de 40g de folhas trituradas em moinho (Modelo IKA) de ambos acessos, secas em estufa com ar circulante a 40°C. Amostras de 10mg de folhas foram utilizadas para extração por SPME, acondicionadas em vials de 4 ml, e posteriormente aquecidas por 15 minutos a 60°C. Utilizou-se fibra de SPME (50/30µm DVB/Carboxen/PDMS) exposta durante 30 minutos, e injetada em CG-MS. Os espectros de massa foram obtidos em um Agilent 5973N que opera por impacto de elétrons (EIMS) a 70 Ev, acoplado ao cromatógrafo Agilent 6890, em coluna capilar HP-5 (25m X 0,32mm X 0,25 µm). A temperatura do forno variou de 60° a 240°C a 3°C/min, detector a 250°C, e o hidrogênio foi o gás carregador (1,4ml/min). As amostras foram injetadas no modo Split (1:20; injetor a 250°C). Os acessos serão discriminados com base na porcentagem relativa dos principais constituintes extraídos por hidrodestilação e SPME. Foram encontrados como compostos majoritários do óleo essencial a carvona (80%) no acesso CM47 e mentona (41,8%), iso-mentona (16,6%) e pulegona (24,7%) no acesso CM50. Espera-se poder discriminar quimicamente os acessos estudados e ampliar o uso da técnica para toda a coleção de germoplasma.

---

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

<sup>2</sup> Química, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

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

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

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

<sup>6</sup> Química, Embrapa Agroindústria de Alimentos

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

## 84 - VALIDAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GENES DE CAFEIEIRO HOMÓLOGOS À MIRACULINA EM RESPOSTA AO NEMATÓIDE

Vidal, L.A.<sup>1</sup>; Grynberg, P.<sup>2</sup>; Petitot, A.<sup>3</sup>; Mota, A.<sup>4</sup>; Togawa, R.C.<sup>5</sup>; Fernandez, D.<sup>6</sup>; Freire, E.V.S.A.<sup>7</sup>

O nematóide das galhas (RKN) *Meloidogyne incognita* é considerado um dos patógenos mais prejudiciais economicamente nas lavouras de café. Estratégias de melhoramento genético para introgressão de genes R resultam em quebra de resistência, enquanto substâncias químicas nematicidas são consideradas prejudiciais. Em trabalhos anteriores observamos que um gene homólogo à miraculina foi superexpresso em 5 e 6 dias após a infecção em raízes de cafeeiro resistente a *M. incognita*. Amostras dessas raízes foram sequenciadas por RNAseq Illumina HiSeq 4000, gerando mais de 800 milhões de leituras de comprimento de 2x100 nt. A análise diferencial de expressão *in silico* e os resultados do enriquecimento GO indicam que algumas famílias de genes são fortemente desreguladas na resposta de resistência. Foram identificados 14 genes superexpressos de inibidores de proteinases (PI) da família tipo Kunitz, semelhantes à miraculina. Os indícios até o momento são de que a miraculina deve ser importante na resposta a estresses em cafeeiro, pois o gene de miraculina *CoMir* é superexpresso por ataque do bicho-mineiro-do-cafeeiro (*Leucoptera coffeella*). O presente projeto objetivou a validação da expressão de genes de *CoMir* em café por qPCR, buscar por homólogos em bancos de dados para comparação, e ainda, a verificar a possível expressão de genes de miraculina em plantas de cafeeiro desafiadas com outros estresses bióticos ou abióticos. Esses genes podem ser atores importantes na resposta imune de cafeeiro e podem ser potencialmente usados em abordagens biotecnológicas para o controle de nematóides e pragas.

---

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

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

<sup>3</sup> Fitopatologia, Ph.D., Institut de Recherche pour le Développement (IRD)

<sup>4</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Universidade do Rio Grande do Sul-UFRGS

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

<sup>6</sup> Biologia Molecular, Ph.D., Institut de Recherche pour le Développement (IRD)

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

# Índice de Autores

Obs.: A numeração corresponde ao número do resumo.

Abreu, E.F.M. ....	46
Almeida, J.D. ....	13
Almeida, Z.G. ....	48, 51, 53, 58, 59
Alves, G.S.C. ....	32
Alves, R.B.N. ....	83
Alves-Freitas, D.M.T. ....	39, 46, 82
Amorim, E.P. ....	32
Andow, D.A. ....	02
Angarten, M.B.O. ....	37
Araújo, A.C.G. ....	62, 80
Araujo, G.S. ....	80
Araujo-Neto, L. A. ....	33, 35, 66
Assunção, R.M. ....	12
Balbino, R.C.B. ....	81
Baptista, P.H.G. ....	10, 12
Barros, L.M.G. ....	79
Barros, R.M. ....	03
Benito, N.P. ....	28
Biazio, G.R. ....	07
Bizzo, H.R. ....	83
Blassioli-Moraes, M.C. ....	04, 09, 11, 16, 42, 75, 83
Bonato, C.C. ....	03, 43, 45, 50, 69, 70
Borges, M. ....	04, 09, 11, 16, 42, 75
Braghini, M.T. ....	52
Brandão, R.P. ....	10
Brasileiro, A.C.M. ....	62, 80
Brito, C.H. ....	16, 48, 51, 75
Caetano, A.R. ....	07
Caixeta, F.M.C. ....	18, 19, 20, 23, 24, 25
Campos, M.A. ....	46
Cares, J.E. ....	31, 40, 52, 61
Carnaúba, L.A. ....	64, 65
Carneiro, R.M.D.G. ....	31, 34, 40, 52, 61
Carneiro, V.T.C. ....	64, 65
Carvalho, B.S. ....	50, 67
Carvalho, J.O. ....	21, 23
Castagnone-Sereno, P. ....	34, 61
Castro, M.E.B. ....	38, 47, 49, 60
Chaves, L.C.S. ....	60
Corrêa, C.M.C. ....	11
Costa, M.M.C. ....	32
Costa, T.G. ....	74
Costa, Y.C.C. ....	68
Craveiro, S.R. ....	60
Cunha, A.T.M. ....	23
De Souza, S.L.B. ....	37
Dias, L.R.O. ....	18, 25
Dias, S.C. ....	74
Diniz, W.B. ....	83

Dode M.A.N. ....	18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25
Dusi, D.M.A. ....	64, 65
Eizono, R.F. ....	38
Engler, J.A. ....	74
Falcão, L.L. ....	79
Faria, J.C. ....	82
Faria, O.A.C. ....	17, 18, 25
Farias, C.S. ....	64, 65
Favilla, L.D. ....	29, 57
Felix, G.P. ....	82
Fernandes, G.O. ....	23
Fernandes, J.B. ....	66
Fernandes, L.S.P. ....	47
Fernandez, D. ....	13, 61, 84
Ferreira, A.A. ....	54, 73
Ferreira, A.C.Q. ....	47
Ferreira, A.D.C.L. ....	48, 51, 53, 58, 59
Ferreira, C.F. ....	32
Ferreira, C.L. ....	45
Ferreira, L.G. ....	64, 65
Ferreira, P.D.S. ....	54, 56, 73
Ferreira, P.M. ....	56
Fidelis, A.A.G. ....	22
Figueiredo, R.A. ....	17
Flores, P.S. ....	83
Fonseca, F.C.A. ....	32
Fonseca, T.A. ....	63
Fonseca, T.F. ....	36
Fontes, E.M.G. ....	02, 10, 12
Freire, E.V.S.A. ....	13, 84
Freitas, F.O. ....	62
Furlanetto, C. ....	73
Gomes, A.C.M.M. ....	31, 34, 38, 47
Gomes, C.B. ....	61
Gomes, G.C. ....	05
Gomes, J.C. ....	73
Grossi-de-Sá, M.F. ....	61
Grynberg, P. ....	32, 71, 84
Guerreiro Filho, O. ....	13
Guimarães, G.C. ....	37
Guimarães, P.M. ....	62, 80
Hirbs, J.B.S.X. ....	44, 48, 51, 53, 58, 59
Ianella, P. ....	07
Inglis, P.W. ....	41, 60
Irsigler, A.S.T. ....	64, 65
Jesus, O.N. ....	46
Kawamoto, T.S. ....	17, 19, 20
Kitajima, E.W. ....	39
Kussano, N.R. ....	19
Lacerda, A.L.M. ....	82
Lacorte, C. ....	39, 46
Lagôa, A.C.G. ....	01
Laumann, R. A. ....	04, 09, 10, 11, 12, 16, 75
Lauria, V.B.M. ....	72
Leite, R.R. ....	31

Leme, L.O. ....	21, 24
Lemos, V.N.S. ....	71
Lima, B.P. ....	39
Lima, D.D. ....	01, 02
Lima, R.B. ....	30
Lopes, C.M.L. ....	40
Lopes-da-Silva, M. ....	37
Macêdo, K. ....	41
Magalhães, D.M. ....	16, 42, 75
Maito, G.P. ....	09
Malaquias, J.B. ....	16
Marcellino, L.H. ....	79
Marques, A.S.A. ....	28, 29, 57
Martins, A.C.Q. ....	80
Martins, E.S. ....	08, 27, 44, 53, 58, 59
Martins, I. ....	30, 41, 42, 73
Martins, O.M. ....	37
Mattos, V.S. ....	31, 34, 52, 61
Megias, M. ....	68
Mehta, A. ....	68
Mello, S.C.M. ....	26, 30, 41, 42, 73
Melo, E.O. ....	06
Melo, F.L. ....	39
Mendes, P.N. ....	14
Mendonça, J.S.F. ....	40
Mendonça, J.S.M. ....	52
Menezes, J.E. ....	30
Mesquita, I.L. ....	79
Miller, R.N.G. ....	32
Minari, M. ....	82
Miranda, J. E. ....	16, 48, 51, 75
Miranda, V.J. ....	54, 56
Moita, A.W. ....	40
Monnerat, R.G. ....	05, 08, 14, 27, 44, 48, 51, 53, 58, 59
Monteiro, J.M.S. ....	34, 52
Moreira, R.J. ....	08, 27, 44
Mota, A. ....	84
Mota, I. S. ....	38, 47
Moura, Y.F. ....	29, 57
Mulet, K. ....	61
Nascimento, E.F.M.B. ....	62
Nascimento, G.F. ....	40
Nepomuceno, A.R. ....	07
Neves, M.S. ....	79
Oliveira, P.H.S. ....	54
Oliveira, T.N. ....	80
Paula, D.P. ....	02
Pereira, B.M. ....	80
Pereira, T.M. ....	33, 35
Perina, F.J. ....	40
Petitot, A. ....	84
Pimentel, R.R. ....	73
Pinheiro, T.D.M. ....	32
Pinheiro-Lima, B. ....	46,82
Pinto, E.R.C. ....	13

Pires, C.S.S. ....	01, 02, 10, 12
Polez, V.L.P. ....	54, 55, 56, 74, 78
Pontelo, T.P. ....	19, 20, 24
Pupe, J.M. ....	45, 69, 77
Queiroz, P.R.M. ....	08, 27, 44, 58
Ramada, M.H.S. ....	03
Rech, E.L. ....	71
Rego, E.C.S. ....	32
Reis Jr., F.B. ....	68
Reis Junior, F.B. ....	73
Ribeiro, D.G. ....	68
Ribeiro, S.G. ....	39, 46, 82
Ribeiro, Z.M.A. ....	38, 47, 49, 60
Rios, T.B. ....	68
Rocha, T.L. ....	54, 55, 56, 73, 74
Rodrigues, A.F.O. ....	55
Rodrigues, C.M. ....	54, 55, 73
Rodrigues, S.A.D. ....	19
Rosa, R.C.C. ....	46
Sanches, M.M. ....	37, 46
Santos, L.A.V.M. ....	38, 47, 49, 60
Santos, M.F.A. ....	34, 52
Schmidt, F.G.V. ....	05, 14
Seabra, H.M. ....	70
Sihler, W. ....	55, 74
Silva, A.C. ....	02
Silva, A.T. ....	04
Silva, D.B. ....	83
Silva, E.Y.Y. ....	48, 51
Silva, I.G. ....	83
Silva, I.P. ....	43
Silva, I.T.F.A. ....	16, 75
Silva, J.B.T. ....	26
Silva, L.P. ....	03, 15, 33, 35, 36, 43, 45, 50, 63, 66, 67, 69, 70, 72, 76, 77, 78, 81
Silva, L.R. ....	26, 42
Silva, N. M.L. ....	07
Silva, N.M.A. ....	07
Silva, R.K.P. ....	62
Silva, V.A.O. ....	25
Silva-Werneck, J.O. ....	79
Silveira, A.P. ....	78
Soll, C.B. ....	54, 55
Sousa, A.A.T.C. ....	01, 10, 12
Souza, E.S.C. ....	57
Souza, L.M. ....	01, 02, 10, 12
Souza, L.S. ....	01
Souza, M.L. ....	55, 74, 78
Sprícigo, J.F.W. ....	18, 25
Stefanello, A. M. ....	48, 51, 52, 53, 58, 59
Sujii, E.R. ....	01, 02, 10, 12
Takematsu, M.H. ....	76
Teixeira, L.A. ....	80
Togawa, R.C. ....	32, 71, 84
Tomazette, M. ....	08, 44, 58
Urban, A.F. ....	55

Valadares, K.H.A. ....	26
Valadares-Inglis, M.C. ....	41, 42
Valls, J.F.M. ....	62
Varsani, A. ....	46
Vaz, G.M.R. ....	15
Veiga, A.D. ....	13
Veras, J.F. ....	28
Viana, J.H.M. ....	17
Vidal, A.H.....	46, 82
Vidal, L.A.....	13,84
Vieira, R.F.....	83
Yamashita, M.S.A. ....	06

# Índice de Orientadores

Obs.: A numeração corresponde ao número do resumo.

Abi Soares dos Anjos Marque.....	28, 29, 57
Alexandre Rodrigues Caetano .....	07
Ana Cláudia Guerra Araújo .....	62
Ana Cristina M. Brasileiro .....	80
Angela Mehta .....	68
Carmen Sílvia Soares Pires .....	2, 10, 12
Diva Maria Alencar Dusi .....	64
Edison Ryoiti Sujii .....	01
Eduardo Oliveira Melo .....	06
Elíbio Leopoldo Rech Filho .....	71
Erika Valeria Saliba Albuquerque Freire .....	13, 84
Francisco Guilherme V. Schmidt.....	05, 14
João Batista tavares da Silva .....	26
Leila MariaGomes Barros.....	79
Luciano Paulino da Silva.....	03, 15, 33, 35, 36, 43, 45, 50, 63, 66, 67, 69, 70, 72, 76, 77, 78, 81
Márcio Martinello Sanches .....	37
Margot Alves Nunes Dode.....	18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25
Maria Carolina Blassioli Moraes .....	04, 09, 11, 16, 75
Maria Cléria Valadares-Inglis .....	41
Maria Elita Batista de Castro .....	38, 47, 49, 60
Priscila Grynberg .....	32
Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro.....	31, 34, 40, 52, 61
Ricardo Alamino Figueiredo .....	17
Roberto Fontes Vieira.....	83
Rose Gomes Monnerat .....	08, 27, 44, 48, 51, 53, 58, 59
Simone da Graça Ribeiro .....	39, 46, 82
Sueli Corrêa Marques de Mello .....	30, 42
Thales Lima Rocha.....	54, 55, 56, 58, 73, 74
Vera Tavares de Campos Carneiro.....	65

# Índice de Instituições

Obs.: A numeração corresponde ao número do resumo.

Abapa – .....	40
Aquatec – .....	07
Arizona State University, Arizona, USA – .....	46
Boyce Thompson Institute, Ithaca-USA – .....	60
Capes –.....	03, 16 20, 21, 24, 25, 26, 30, 31, 33, 35, 36, 40, 42, 43, 45, 48, 50, 51, 63, 66, 67, 69, 70, 72, 75, 77, 78, 81
Centro Universitário de Brasília (UnICEUB) – .....	08, 27, 37, 38, 40, 41, 44, 47, 58
Centro Universitário do Distrito Federal-UDF – .....	02, 05, 56, 68
CNPq – .....	03, 04 08, 23, 24, 27, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 43, 44, 45, 46, 47, 49, 50, 52, 53, 54, 55, 56, 59, 60, 61 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 72, 73, 74, 77, 78, 79, 81, 82, 83, 84
Embrapa – .....	03 04, 07, 12, 14, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 40, 43, 45, 46, 50, 53, 54, 55, 57 59, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 72, 73, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82
Agrobiologia – .....	46
Agroenergia – .....	54, 55, 73
Agroindústria de Alimentos – .....	83
Algodão – .....	16, 40, 48, 51, 75
Arroz e Feijão – .....	82
Cerrados – .....	13, 68, 73
Clima Temperado – .....	61
Hortaliças – .....	40
Mandioca e Fruticultura – .....	32, 46
Recursos Genéticos e Biotecnologia – .....	01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09 10, 11, 12, 13, 14 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84
Empresa Carbom Brasil – .....	55
Empresa JCO Bioprodutos – .....	52
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) – .....	16
Faculdade ICESP – .....	25, 26
Faculdade LS Educacional – .....	54
FAP-DF – .....	01, 03, 04, 10, 12, 19, 24, 31 33, 35, 36, 38, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 49, 50, 52, 60, 61, 62, 63, 66, 67, 69, 70, 72, 76, 77, 78, 81, 82
Fapes – .....	21
Funbio – .....	53, 59
Fundação Araucária – .....	33
II/PCDF – .....	03
INRA, Univ. Nice Sophia Antipolis, CNRS, UMR 1355-7254 Institut Sophia, France – .....	34
Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier, France – .....	13, 61, 84

Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), France – .....	61, 74
Instituto Agronômico de Campinas- IAC – .....	13, 52
Instituto Federal de Brasília (IFB) – .....	28
Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ) – .....	08, 44, 58
Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café-INCT-Café – .....	34, 52
Instituto Mato-Grossense do Algodão (IMAmt) – .....	08, 27, 44, 53, 58, 59
Jardim Botânico de Brasília – .....	35
Mater and Form – .....	67
Nano3D Biosciences – .....	33
NOOA – .....	14
Seagri – Distrito Federal – .....	37
TecSinapse – .....	03, 43, 45, 50, 69, 70
Universidade Católica de Brasília – .....	03, 12, 68, 74, 80
Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande – .....	48, 51, 53, 58, 59
Universidade de Brasília – .....	01, 03, 04, 07, 08, 09, 13, 15 17, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 38, 39, 40, 42, 43, 45, 46, 47, 49, 50 52, 54, 55, 57, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84
Universidade de São Paulo – .....	39
Universidade de Sevilla, Espanha – .....	68
Universidade Federal da Paraíba – .....	16, 48, 51, 53, 58, 59, 75
Universidade Federal de Campina Grande – .....	46
Universidade Federal de Juiz de Fora – .....	68
Universidade Federal de Lavras – .....	19, 20, 24
Universidade Federal de Uberlândia – .....	17, 19, 20
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) – .....	21, 23, 24
Universidade Federal do Paraná – .....	33, 35, 66
Universidade Federal do Rio de Janeiro – .....	74
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – .....	84
Universidade Federal do Tocantins – .....	06
Universidade Paulista (UNIP) – .....	01, 02, 10, 11, 12, 14, 44, 58, 64, 65, 79
University of Guelph, Canadá – .....	18, 25
University of Minnesota, USA – .....	02

Apoio financeiro:



MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO

