



DOCUMENTOS **368**

XXIV Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Resumos



Brasília, DF
2020

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

DOCUMENTOS 368

XXIV Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Priscila Grynberg
Érika Valéria Saliba Albuquerque Freire
João Batista Tavares da Silva
Leila Maria Gomes Barros
Natália Florêncio Martins

***Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Brasília, DF
2020***

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
Milene Castellen Sathler

Secretária-Executiva
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Membros
Bruno Machado Teles Walter; Daniela Aguiar de Souza; Eudes de Arruda Carvalho; Luiz Joaquim Castelo Branco Carvalho; Marcos Aparecido Gimenes; Solange Carvalho Barrios Roveri Jose; Márcio Martinello Sanches; Sérgio Eustáquio de Noronha

Supervisão editorial
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Revisão de texto
Priscila Grynberg

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

Ilustração
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 (24 : 2019 : Brasília, DF).

Anais: Resumos dos trabalhos / XXIV Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 05-06 dezembro 2019, Brasília, DF / Editores Priscila Grynberg et al. – Brasília, DF : Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2020.

111 p. (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 368)

1. Recursos genéticos. 2. Biotecnologia. 3. Controle biológico. I. Grynberg, Priscila. II. Freire, Érika Valéria Saliba Albuquerque. III. Silva, Joao Batista Tavares da. IV. Barros, Leila Maria Gomes. V. Martins, Natália Florêncio. Título: XXIV Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Editores Técnicos

Priscila Grynberg

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

Érika Valéria Saliba Albuquerque Freire

Bióloga, doutora em Biologia Celular e Molecular, pesquisadora 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

Leila Maria Gomes Barros

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

Natália Florêncio Martins

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

Comissão organizadora

Priscila Grynberg - Coordenação
Prédio da Biotecnologia

Adilson Amaral Werneck
Ana Flávia do Nascimento Dias
Érika Valéria Saliba Albuquerque Freire
Fernanda Álvares da Silva
Joao Batista Tavares da Silva
Leila Maria Gomes Barros
Natália Florêncio Martins

Comitê científico

Angela Mehta
Antonieta Nassif Salomão
Bárbara Eckstein
Érika Valéria Saliba Albuquerque Freire
Glaucia Salles Cortopassi Buso
Joao Batista Tavares da Silva
Joseílde Oliveira S Werneck
Margot Dode
Maria Carolina Blassioli Moraes
Marisa Toniolo Pozzobon
Naiara Milagres
Natália Florêncio Martins
Patrícia Ianella
Ricardo Alamino Figueiredo
Rosa de Belém das N.Alves
Solange C. B. Roveri José
Tallyrand Moreira Jorcelino

Apresentação

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realiza anualmente o Encontro do Talento Estudantil. Este evento proporciona a integração de alunos de graduação, mestrado e doutorado das diversas áreas de Unidade, permitindo a divulgação dos resultados obtidos nas suas pesquisas. Além de proporcionar o treinamento dos estudantes para apresentarem seus trabalhos e responderem aos questionamentos técnicos apresentados pelos visitantes e pela comissão julgadora, permite a participação de todos os alunos em um único ambiente científico que promove a colaboração científica. Em 2019 foram apresentados 106 trabalhos divididos nos temas de pesquisa animal, vegetal e de microrganismos.

Os trabalhos são expostos em forma de pôsteres, com a apresentação oral dos alunos, sendo os trabalhos e os alunos avaliados por uma comissão composta por professores e pesquisadores externos à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Os melhores trabalhos são premiados, como forma de reconhecimento, sendo apresentados oralmente, pelos alunos, em cerimônia pública de encerramento.

Agradecemos a todos os participantes que orientam, participam, apoiam e avaliam os trabalhos, com a certeza de que estamos contribuindo, de forma impactante, para a formação de profissionais na área de ciência, tecnologia e inovação, para atuarem em benefício do nosso país. Especial agradecimento à Comissão Organizadora pela sua dedicação e às instituições que apoiam a realização do evento.

Maria Cléria Valadares-inglis

Chefe-Geral

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

ANIMAL

001 - A expressão de genes candidatos é semelhante em embriões bovinos in vivo e in vitro D14.

Ligiane de Oliveira Leme¹, José Oliveira Carvalho Neto¹, Mauricio Machaim Franco², Margot Alves Nunes Dode²

¹Universidade Federal do Espírito Santo; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

É bem fundamentado que o cultivo in vitro afeta qualidade, expressão gênica e processos epigenéticos em embriões bovinos. Entretanto, a maioria dos estudos avaliam essas diferenças em embriões produzidos in vivo e in vitro no dia 7 (D7) de desenvolvimento. Considerando que o período pós-eclosão é o menos estudado e o que apresenta as maiores perdas embrionárias, pode-se supor que essas alterações ocorridas durante o processo in vitro são mantidas e/ou agravadas após os embriões serem transferidos para úteros receptores. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil transcricional da expressão de genes candidatos em embriões D14. Foram utilizados dois grupos de embriões, um produzido in vitro até o D7 (grupo VT), e outro grupo produzido in vivo, com embriões coletados em D7 (grupo VV). Embriões em estágio de desenvolvimento semelhante, de ambos os tratamentos, foram transferidos para úteros receptores e coletados novamente em D14. Estes foram selecionados quanto ao formato e tamanho e então biopsiados sob estereomicroscópio e armazenados para sexagem e avaliação da expressão gênica. Todos os embriões foram sexados por PCR e somente os machos foram utilizados. Para expressão gênica, 8 genes (PPIA, SLC39A2, DCBLD2, FOXN2, SCEL, SLC39A14, BEX5, ANKRD1) indicados previamente como sendo diferencialmente expressos entre embriões VV e VT foram utilizados para análise por RT-qPCR. Foram utilizadas 4 réplicas biológicas de 4 embriões. O resultado da análise de expressão de genes não acusou diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos para os genes avaliados. Esses resultados sugerem que o ambiente uterino pode estar de alguma forma minimizando as diferenças transcricionais ou que outros genes ou outros eventos podem ser responsáveis pelas perdas embrionárias que ocorrem nesse período.

002 - Análise comportamental de *Melipona quadrifasciata* visando avaliar a qualidade dos ninhos para uso na polinização de tomate em cultivo protegido

Raissa Silva Costa¹, Eliana M. G. Fontes², Carmen Silvia Soares Pires² e Edison Ryoiti Sujii²

¹Universidade do Distrito Federal; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A polinização do tomateiro se dá por meio da vibração da antera, liberando os grãos de pólen para o estigma, promovendo a fecundação. A abelha *Melipona quadrifasciata*, mandaçaia, é capaz de vibrar as flores no momento da coleta do pólen, realizando a polinização de forma específica. O estudo objetivou avaliar a qualidade de ninhos de mandaçaia para uso em casas de vegetação para polinização do tomateiro por meio da observação de seus comportamentos de forrageamento correlacionado com temperatura e umidade. Durante uma hora, em diferentes dias, em intervalo de 5 minutos, foram observados em seis ninhos de mandaçaia os movimentos de saída, entrada e entrada com pólen e obtido os dados de temperatura e umidade com relógio digital THU-100 (UNITY) e radiômetro L.N.E (Mv/cm³). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney pairwise e correlação de Pearson, no programa PAST, para avaliar os ninhos e correlacionar com as condições climáticas. Houve correlação significativa entre as variáveis de abelhas saindo do ninho com abelhas entrando com pólen (Pearson $r = 0,849$; $p < 0,001$). Percebeu-se uma diferença relevante no número médio de abelhas saindo do ninho sendo possível considerar os ninhos N3, N4 e N6 como "fortes" e em melhores condições para uso em casas de vegetação. O comportamento das abelhas de saída dos ninhos apresentou baixa correlação com umidade e temperatura, sendo esta positiva para umidade ($r = 0,339$, $p = 0,03$). A dispersão por horário sugere maior movimentação no início da manhã e no final da tarde. Os dados indicam que a taxa de saída dos ninhos das abelhas pode ser utilizada para avaliar a qualidade das colônias para uso na polinização do tomateiro em casas de vegetação. Esta taxa não está relacionada com a umidade relativa e a temperatura. Os melhores horários para fazer as observações que possam indicar qualidade dos ninhos são no início da manhã e final da tarde.

003 - Aumento na taxa de recuperação de estruturas após a transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI)

Luzia Renata Oliveira Dias¹, Otávio Augusto Costa de Faria¹, Margot Alves Nunes Dode²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) pode ser uma alternativa para a produção de embriões bovinos, já que permite associar as vantagens da produção in vivo e in vitro de embriões. Entretanto, a taxa de recuperação embrionária após a TIFOI ainda é baixa, limitando o seu uso. Objetivou-se avaliar se o tempo em que os ovócitos permanecem no folículo após a TIFOI realizada em diferentes momentos afeta a taxa de recuperação embrionária. Vacas ovuladoras Nelore (n=36) foram submetidas a um protocolo padrão de sincronização do estro, utilizando implante vaginal de progesterona (P4), Benzoato de Estradiol e Prostaglandina F2 α . A retirada do implante foi realizada no dia 8 (D8) e 24 (TIFOI D9, n=255), 36 (TIFOI D9,5, n=204) e 52 (TIFOI D10, n=312) horas após, os animais com folículo dominante receberam a injeção dos ovócitos imaturos (25 a 30/animal). A inseminação artificial (IA) e a indução da ovulação foram realizadas 52 horas após a remoção de P4 em todos os tratamentos. Oito dias após a TIFOI, foi realizada a lavagem uterina para a recuperação embrionária. Após a coleta de embriões, foram avaliadas as taxas recuperação embrionária e de estruturas (embriões, degenerados e não fecundados) total (quando o ovócito nativo da ovuladora é incluído) e verdadeira (quando o ovócito nativo é excluído). Os dados foram analisados pelo teste Qui-quadrado ($P < 0,05$). A recuperação total de embriões foi semelhante ($P > 0,05$) entre tratamentos TIFOI D9 (2,7%); TIFOI D9,5 (6,4%); TIFOI D10 (5,4%). No entanto, a taxa de recuperação total e verdadeira de estruturas foi maior no grupo TIFOI D9,5 (61,3%; 57,8%), com relação aos grupos TIFOI D9 (26,6%, 24,7%) e TIFOI D10 (28,2%, 23,1%). Apesar da taxa de recuperação de embriões ter sido semelhante entre os grupos, os resultados mostraram que a TIFOI D9,5 proporcionou uma maior recuperação de estruturas. Portanto, conclui-se que o tempo em que os ovócitos permaneceram dentro do folículo após a TIFOI interferiu na taxa de recuperação de estruturas.

004 - Caracterização da região reguladora do gene da mucina 2 (MUC2) bovina

Melissa Shizue De Almeida Yamashita¹ e Eduardo De Oliveira Melo²

¹Universidade Federal do Tocantins; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Um dos gargalos que a pecuária enfrenta são as doenças infecciosas e parasitárias. Uma das formas de se abordar tais obstáculos é o uso de técnicas de genética molecular e, para se direcionar a expressão heteróloga de genes, são necessários o isolamento e a caracterização de promotores tecido-específico. Ao longo da superfície epitelial intestinal dos 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. A mucina 2 (MUC2) é a principal mucina nos intestinos delgado e grosso. Com o objetivo de caracterizar o promotor da MUC2 bovino, através de uma comparação dos promotores do gene MUC2 humano e murino já caracterizados e pela sequência do genoma bovino depositado no *GeneBank* foi possível desenhar primers e isolar por PCR uma região candidata a promotor do gene MUC2 bovino de 1454pb. Essa sequência amplificada foi clonada no vetor de clonagem pCRII-Topo e enviada para sequenciamento. Após análise e confirmação como a sequência desejada, a região foi clonada num vetor contendo o gene repórter da luciferase (pSX-LUC). Utilizando como base a literatura sobre sítios regulatórios do promotor da MUC2 já descritos, identificamos possíveis sítios regulatórios na região bovina. Com esses dados, realizamos uma série de deleções a fim de achar a sequência promotora com maior capacidade de expressão e alta especificidade. Essas deleções possuem os tamanhos de 1035pb, 812pb, 517pb, 247pb e 101pb. As construções foram testadas através ensaios de transfecção em células intestinais LoVo (linhagem celular de adenocarcinoma coloretal humano) e fibroblastos bovinos e submetidas ao kit Dual-Luciferase (Promega) onde foi possível realizar a medição da luminescência gerada pela luciferase no luminômetro e assim a quantificação da expressão relativa do promotor. Os resultados apresentados comprovaram que a sequência amplificada corresponde, de fato, a uma sequência promotora, uma vez que ela foi capaz de induzir expressão de um gene repórter em cultivo de células in vitro.

005 - Caracterização da transcrição *sense* e *antisense* ao longo do *locus* do transcrito específico do X inativo (XIST) na placenta fetal bovina

Paloma Soares de Castro¹, Luna Nascimento Vargas¹, Anelise dos Santos Mendonça², Álvaro Fabrício Lopes³, Mauricio Machaim Franco⁴

¹Universidade Federal de Uberlândia; ²Universidade Federal do Triângulo Mineiro; ³Universidade Federal do Norte Fluminense; ⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A inativação do cromossomo X (ICX) é um evento bem compreendido em camundongos. Esse processo ocorre como uma forma de compensar o desequilíbrio entre os sexos macho e fêmeas com relação à expressão gênica. Em camundongos, o RNA longo não-codante (lncRNA) transcrito específico do X inativo (XIST) é essencial para a iniciação do processo de ICX, atuando em *cis* ao longo do cromossomo em que é transcrito para realizar o silenciamento cromossomal. O transcrito *antisense* mais bem conhecido no *locus* XIST é o TSIX, um modulador negativo para XIST. Mas em bovinos, esses eventos são pouco compreendidos. O objetivo deste estudo foi caracterizar os padrões de transcrição fita-específica ao longo do *locus* XIST na placenta fetal bovina. O RNA total foi isolado a partir de amostras de cotilédone. Para detectar a transcrição fita-específica, sintetizamos o cDNA usando primers *forward* e *reverse* específicos do éxon 1, éxon 4 e éxon 6 do gene XIST. Como controle positivo, foi utilizado o cDNA usando primer Oligo (dT). Como controle negativo, foi utilizado o cDNA com primer Oligo (dT) na ausência da enzima transcriptase reversa. Cada amostra de cDNA foi amplificada usando a SS-RT-PCR (Strand-Specific Reverse Transcription Polymerase) analisada em duplicata e interpretada qualitativamente, como presença ou ausência de expressão. A especificidade de cada *amplicon* foi confirmada pelo tamanho em gel de agarose (éxon 1 - 172 pb, éxon 4 - 96 pb e éxon 6 - 159 pb) e pela análise da curva de *melting*. Nossos resultados mostraram que há transcrição *sense* e *antisense* em todo o *locus* XIST na placenta bovina e são importantes para melhorar nosso entendimento sobre XCI em bovinos. No entanto, estudos futuros ainda devem ser feitos para melhor caracterizar os eventos envolvidos no XCI nessa espécie. Finalmente, nossos resultados mostram a relevância de levar em conta a possibilidade da expressão *antisense* quando se propõe a realizar estudos de expressão gênica, especialmente em *locus* de RNA não codante, onde a transcrição das duas cadeias de DNA é frequente.

006 - Confeção de fibras biopoliméricas produzidas por fiação molhada para diferenciação celular

Lucio de Assis Araujo Neto¹, Luciano Paulino da Silva²

¹Universidade Federal do Paraná; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Hidrogéis são materiais constituídos por rede de cadeias poliméricas hidrofílicas, produzidos pela reação de monômeros ou polímeros em conjunto com unidades de reticulação. O estudo desenvolvido objetivou a produção de hidrogéis poliméricos à base dos biomateriais gelatina e alginato de sódio, em diferentes proporções para formar variadas propriedades mecânicas, para potencial promoção de diferenciação celular por estímulos físicos. A fabricação dos hidrogéis ocorreu a partir da diluição dos polímeros, obtendo ao final três tipos diferentes, identificados por I, II e III. O polímero alginato de sódio foi mantido na concentração X para o hidrogel I, II e III; já a gelatina estava na concentração Y para o hidrogel II e na concentração Z para o hidrogel III. Como agente de reticulação, foi utilizado cloreto de cálcio por 20 min após a extrusão dos hidrogéis utilizando seringas de 1 mL, formando fibras com alguns centímetros. Posteriormente, estas foram lavadas em um tampão fosfato salina e secados gentilmente com papel toalha. Consequente, em uma extensora eletromecânica, as fibras foram colocadas para avaliação da extensibilidade que cada tipo de hidrogel apresentava em triplicatas experimentais. As fibras produzidas com o hidrogel I apresentaram força na extensão máxima de $2,818 \pm 0,341$ N; já a fibra produzida com o hidrogel II apresentou força máxima de $2,245 \pm 0,236$ N; e por último a fibra produzida com o hidrogel III apresentou força na extensão máxima de $2,179 \pm 0,170$ N. As fibras fabricadas ressaltaram suas propriedades elásticas durante o processo de extensão, evidenciando que a variação da concentração de gelatina nos hidrogéis II e III, além de ser responsável pelo aumento da viscosidade, mantém próximo o potencial de extensão quando comparado com a fibra confeccionada com o hidrogel I. A partir disso, o estudo permitiu a fabricação de fibras sintéticas para construção de biomateriais ou miméticos teciduais para proporcionar a adição de células e promover sua diferenciação por estímulos físicos, como por exemplo, o de extensão.

007 - Corpo lúteo ovino: análise da regressão luteal

Lucas Macedo Santos¹, Gabriela Cordeiro Brilhante¹, Jéssica Drechmer², Alexandre Floriani Ramos³, Bianca Damiani Marques Silva³

¹Uniceplac; ²Instituto federal Catarinense; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Na luteogênese ocorre intensa atividade angiogênica, levando o corpo lúteo (CL) a ser um dos órgãos mais irrigados do organismo, o que está relacionado à capacidade de produção de progesterona (P4). Normalmente o CL é avaliado por ultrassonografia e/ou laparoscopia, mas sem conseguir estimar sua funcionalidade. A ultrassonografia Doppler é uma técnica na qual se consegue estimar a funcionalidade dos tecidos e órgãos por seu aspecto vascular e hemodinâmico. Objetivou-se avaliar o fluxo sanguíneo (FS) luteal para caracterizar a fase de luteólise em ovelhas. Foram utilizadas 20 ovelhas da raça Santa Inês aptas a reprodução, com idade entre 2 a 5 anos, escore corporal médio de 2,5 e criadas em pasto de *Brachiaria* spp. com sal mineral e água *ad libitum*. Protocolo de sincronização de estro constou de dispositivo intravaginal de P4 (0,33 g) por 7 dias, gonadotrofina coriônica equina (300 UI) e prostaglandina F2 α (0,275 mg) na retirada do dispositivo. O estro foi avaliado através de rufião com tintura peitoral, 53 a 76 horas após retirada da P4. As avaliações de diâmetro e FS foram realizadas com ultrassom Doppler via transretal, nos dias 13,15,17,19,21 e 23 após a observação do estro. O FS foi avaliado pelo percentual de vascularização do CL, sendo grau 1 (0-25%), 2 (26-50%), 3 (51-75%) e 4 (76-100%). Os resultados dos diâmetros e FS foram analisados pelos testes de ANOVA e Kruskal-Wallis, respectivamente ($P<0,05$). Houve redução no diâmetro médio dos CLs entre D15 ($9,55\pm 0,82$ mm) e D17 ($8,43\pm 1,20$ mm), assim como no FS ($2,44\pm 0,86$; $1,80\pm 1,01$; D15 e 17, respectivamente). Apesar de visível, o CL não apresentava irrigação em D23 ($5,27\pm 0,82$ mm, grau $1,00\pm 0,00$). Os resultados sugeriram que a luteólise ocorreu entre os dias 15 e 17, quando houve redução no FS e no diâmetro do CL. Foi possível identificar o momento que ocorre a diminuição da vascularização do CL, importante para estudos com diagnóstico de gestação e regressão luteal precoce.

008 - *Crosslinkers* naturais para substituição de químicos sintéticos em processos de reticulação de biopolímeros

Renata Cauê Borges Balbino¹, Luciano Paulino Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A interação entre a sociedade e o meio ambiente tem sido um tema frequentemente discutido, visto os numerosos impactos negativos deixados desde a Primeira Revolução Industrial. A indústria química, por exemplo, é uma das principais responsáveis pela liberação excessiva de resíduos nocivos à saúde. Dessa forma, observa-se a crescente necessidade da implantação de estratégias sustentáveis nos processos produtivos, especialmente no que concerne aos materiais com aplicações biomédicas e veterinárias. Assim, o conceito de química verde tem ganhado notoriedade como uma abordagem alternativa favorável por promover a sustentabilidade a partir do uso de produtos atóxicos em processos seguros. Nesse contexto, este estudo visa buscar a otimização de estruturas biofabricadas tridimensionalmente para uso em bioengenharia a partir da reticulação com moléculas oriundas de fontes naturais em substituição às de origem sintética. A primeira fase deste projeto consistiu em revisões bibliográficas para a definição das concentrações dos componentes biopoliméricos e dos compostos naturais com potencial reticulador. Em seguida, iniciou-se a produção dos biofabricados por extrusão manual de fibras de alginato em solução calcárea. Essas estruturas foram colocadas em soluções formuladas a partir de diferentes concentrações de glicerol, ácido cítrico ou montmorilonita, substâncias pré-selecionadas na primeira fase. Após esses testes, a ação dos reticuladores (*crosslinkers*) foi investigada em duas outras situações: incorporados em alginato ou incorporados na solução de cloreto de cálcio. A influência dos *crosslinkers* foi inicialmente determinada por avaliações dos testes de força em MTS por análises estatísticas. As fibras baseadas no hidrogel produzidos apresentaram características desejáveis para este tipo de biomaterial, resistência, maciez e biodegradabilidade. Já em relação ao possível efeito dos compostos reticulantes naturais nas propriedades mecânicas, nenhum dos reticuladores testados mostrou diferenças estatisticamente significativas em relação às fibras nativas. Estudos futuros com outras variáveis também poderão verificar se houve outros tipos de alterações nas estruturas de mesma composição. Contudo, mesmo sem alterações significativas, bioestruturas mostraram-se favoráveis às aplicações almejadas, incluindo uma ótima alternativa para fios de sutura e fibras alimentares biomiméticas.

009 - Efeito da fonte protéica durante a maturação in vitro no desenvolvimento e sexo de embriões bovinos

Nayara Ribeiro Kussano¹, Ligiane de Oliveira Leme², Margot Alves Nunes Dode³

¹Universidade de Brasília; ²Universidade Federal do Espírito Santo; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Vários estudos têm mostrado que a utilização de diferentes fontes protéicas (FP) durante o cultivo in vitro (CIV) de embriões bovinos afetam a qualidade e desenvolvimento embrionário. Considerando que a maioria dos estudos avalia o efeito da FP no meio de CIV, o presente estudo objetivou avaliar se mudanças na FP durante a maturação in vitro (MIV) causaria alteração no desenvolvimento e sexo de embriões bovinos. Para isso foram realizados 2 experimentos, no primeiro os complexos-cumulus-ovócitos (CCOs) obtidos de ovários de abatedouro foram distribuídos em 2 grupos: grupo MIV-SFB: CCOs maturados na presença de soro fetal bovino (SFB); e, grupo MIV-BSA, CCOs maturados com albumina sérica bovina (BSA), sendo que os ovócitos de ambos os grupos foram fecundados e cultivados na presença de SFB até dia 8 de desenvolvimento (D8). O segundo experimento foi semelhante ao primeiro (grupos MIV-BSA e MIV-SFB), diferindo apenas na fecundação e cultivo até o D8 que foram realizados na presença de BSA. Foram avaliados a taxa de embrião, cinética de desenvolvimento e o sexo dos embriões. A sexagem foi realizada por PCR em 30 blastocistos/grupo. Os dados de desenvolvimento, cinética e sexo dos embriões foram analisados pelo teste de Qui-quadrado ($p < 0,05$). Os resultados mostraram que, quando o cultivo foi realizado na presença de SFB, a FP durante a MIV não afetou ($P > 0,05$) a cinética, mas afetou ($p < 0,05$) a taxa de blastocisto em D8 (MIV-SFB = 64,8% $n = 105$; MIV-BSA = 50,5% $n = 105$). Quando os embriões foram cultivados na presença de BSA nenhum efeito ($P > 0,05$) da FP durante a MIV foi observado na taxa de blastocisto em D8 (MIV-SFB = 41,1% $n = 350$, MIV-BSA = 37,3% $n = 346$). A FP utilizada durante a MIV não afetou o sexo dos embriões ($P > 0,05$), independente do meio de cultivo ser suplementado com SFB ou com BSA. Conclui-se que a FP durante MIV não influencia o sexo dos embriões, mas só afeta o desenvolvimento embrionário se o cultivo for realizado na presença de SFB.

010 - Efeito de sinais visuais e olfativos de flores de *Zinnia* sp. no comportamento do parasitoide de ovos *Telenomus podisi*

Giancarlo Catafesta¹, Michely Ferreira², Maria Carolina Blassioli Moraes³, Miguel Borges³, Raul Alberto Laumann³

¹Univerdidade Paulista; ²Universidade de Brasília; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Recursos alimentares como néctar das plantas são essenciais para a sobrevivência e reprodução de parasitoides de ovos. Estímulos químicos (voláteis de plantas) e físicos (cor) são importantes durante o comportamento de forrageamento dos parasitoides orientando o encontro dos recursos, sejam alimentares ou hospedeiros. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de voláteis e das cores das flores de *Zinnia angustifolia* no comportamento de forrageamento de *Telenomus podisi*, importante inimigo natural de *Euschistus heros*, praga da soja. Para observar a influência dos estímulos florais, foram utilizados parasitoides alimentados e sem alimento por 24 h. Para a observação da influência dos voláteis foram realizados bioensaios em olfatômetro Y e as plantas de *Z. angustifolia* foram contrastadas com o ar. Foram registrados escolha inicial e tempo de residência. Para a avaliação da influência das cores, foram realizados bioensaios em uma arena circular branca de 28 cm de diâmetro. As flores foram dispostas na arena de forma equidistante e o parasitoide liberado no centro para avaliação da sua escolha. Foram feitos bioensaios com flores próximas ao centro da arena, distribuídas num círculo de 15 cm de diâmetro e flores mais distantes do centro (círculo de 28 cm de diâmetro). As flores utilizadas foram das cores: amarela, laranja, branca e rosa. As flores de *Z. angustifolia*, independentemente da cor, apresentaram efeito positivo sobre o comportamento de *T. podisi* sem alimento. As fêmeas preferiram e permaneceram maior tempo médio no braço do olfatômetro que continha os voláteis das flores quando comparado ao braço que continha ar. A cor também influenciou no comportamento do parasitoide quando não alimentado. A cor amarela obteve maior frequência de escolha tanto para o bioensaio com flores próximas quanto distantes do centro da arena. Os voláteis e as cores não apresentaram efeito sobre o parasitoide quando alimentado. Os resultados indicam que os estímulos químicos e físicos da planta têm efeito atrativo para o parasitoide condicionado pela condição fisiológica do parasitoide.

011 - Efeito dos diferentes níveis de enxofre e cobalto na dieta durante os períodos pré e periconcepcionais no perfil de metilação de DNA da progênie em bovinos

Luna Nascimento Vargas¹, Allice R F Nochi², Anelise dos Santos Mendonça³, Roberto Coiti Togawa⁴, Marcos Mota do Carmo Costa⁴, Paloma Soares de Castro¹, Alexandre Rodrigues Caetano⁴, Mauricio Machaim Franco⁴

¹Universidade Federal de Uberlândia; ²Agência de Defesa Agropecuária do Paraná;

³Universidade Federal do Triângulo Mineiro; ⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O epigenoma pode ser modulado por fatores ambientais durante a gametogênese e embriogênese inicial, quando uma grande reprogramação epigenética ocorre. Portanto, baixos níveis de componentes específicos do ciclo de um carbono na dieta da doadora de ovócitos podem alterar a reprogramação epigenética. Nesse estudo, avaliamos os efeitos de baixos níveis de enxofre e cobalto (LowS/Co) na dieta de novilhas Nelore doadoras de ovócitos, durante os períodos pré e periconcepcionais, na metilação de DNA da progênie. O sequenciamento de bissulfito de todo genoma foi feito nos embriões e regiões diferencialmente metiladas (RDM) foram identificadas e usadas para validar em células sanguíneas da progênie durante a vida adulta. Encontrou-se 2,336 RDMs e dentre essas, cinco foram escolhidas para serem avaliadas na F1. A metilação da lisina desmetilase 2A (KDM2A), lisina desmetilase 5A (KDM5A), lisina metiltransferase 2D (KMT2D), DNA metiltransferase 1 (DNMT1) e DNA metiltransferase 3-beta (DNMT3B) foram avaliadas. O DNA genômico foi isolado, tratado com bissulfito de sódio e amplificado por PCR. Os amplicons foram purificados do gel de agarose, clonados e sequenciados. A metilação de DNA dos embriões foi 10% e 100% para KDM2A, 51.5% e 15% para KDM5A, 96.6% e 46.6% para KMT2D, 10% e 77% para DNMT1 e 46.6% e 90% para DNMT3B nos grupos controle e LowS/Co, respectivamente ($p=0.05$). No sangue, diferenças foram encontradas somente para o gene DNMT3B ($p=0.0405$). A metilação foi 96.2% e 94.4% para KDM2A, 96.1% e 97.1% para KDM5A, 97.4% e 97.7% para KMT2D, 91.6% e 93.2% para DNMT1 e 85.3% e 88.7% para DNMT3B nos grupos controle e LowS/Co, respectivamente. Os baixos níveis de enxofre e cobalto na dieta da doadora de ovócitos foi capaz de alterar o padrão de metilação do DNA em embriões pré-implantação e no sangue de animais adultos para o gene DNMT3B. Nós especulamos que a dieta LowS/Co afetou a metilação do DNA e/ou a maquinaria epigenética dos ovócitos durante a gametogênese e embriogênese para o gene DNMT3B.

012 - Elaboração de protocolo para testes de biotintas a serem utilizadas em processos de bioimpressão 3D

Gabriela Mendes da Rocha Vaz¹, Luciano Paulino da Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Bioimpressão 3D é termo geral atribuído a várias tecnologias que possibilitam a formação de estruturas complexas por meio da aplicação de volumes determinados com deposição direta de células, juntamente ou não de substratos e permitindo a formação de arcabouços 3D (*scaffolds*). O desenvolvimento e aprimoramento de biomateriais que possam ser utilizados na bioimpressão 3D é grandemente desejado. Apesar das propriedades ideais desses materiais ainda constituírem uma questão não resolvida, existem algumas características que devem ser alcançadas no desenvolvimento de uma biotinta aplicável aos processos de bioimpressão 3D. São elas: formação de arcabouços com força mecânica adequada para manutenção da forma com alta resolução espacial; grau de gelatinização adequado para extrusão; formação de arcabouços que se assemelhem ao microambiente tecidual; biocompatibilidade; ser passível de modificações químicas; ser passível de escalonamento com pequenas variações entre os lotes, entre outras. De modo geral, o termo printabilidade agrupa diversos parâmetros e refere-se à performance que determinada biotinta tem no processo de extrusão e manutenção da estrutura final. Diante disso, tem-se a necessidade de um protocolo padrão que forneça informações sobre a adequabilidade da biotinta no sentido estrutural, sendo esse então o que se propõe a seguir. O processo proposto e em desenvolvimento busca unir dados qualitativos e quantitativos, complementando o que foi realizado anteriormente, para avaliação da printabilidade de biotintas aplicadas em processos de bioimpressão 3D baseados em extrusão. Com esse objetivo, o protocolo desenvolvido envolve tanto procedimentos para avaliação técnica, como diferentes modelos de desenho assistido por computador (CAD) a serem bioimpressos utilizando biotintas em teste. Os modelos foram elaborados utilizando a ferramenta Tinkercad, uma plataforma aberta para modelagem computacional, e exportados em .stl, formato adequado para bioimpressão 3D. A elaboração do estudo foi realizada com base em revisão criteriosa da literatura e a aplicação prática ainda precisa ser explorada. Dessa forma, quando testado e aprimorado em condições reais tem-se que esse protocolo poderá ser de muita valia no desenvolvimento de novas biotintas.

013 - Estabelecimento do sistema de maturação in vitro (MIV) para ovócitos bovinos desnudos

Isabela de Miranda Caixeta¹, Felipe Manoel Costa Caixeta¹, Margot Alves Nunes Dode²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

As células do *cumulus* (CC) são células especializadas, que mantêm ligação direta com os ovócitos garantindo substratos nutritivos e sinais externos aos mesmos. Portanto, são células essenciais para que ovócitos maturados in vitro tenham desenvolvimento embrionário normal. Entretanto, algumas técnicas, como criopreservação e transferência de genoma, requerem remoção ou perda das CC, afetando a maturação e a capacidade de gerar embriões. O projeto objetivou avaliar diferentes sistemas de maturação para desenvolvimento embrionário, com ovócitos desnudos e vitrificados. Foram realizados 3 experimentos. O primeiro avaliou a maturação in vitro (MIV) de ovócitos desnudos utilizando-se quatro grupos: Grupo I: controle, CCOs (complexos *cumulus* ovócitos) íntegros; II: desnudos; III: desnudos + CCOs, maturados em igual número e IV: CCOs utilizados no co-cultivo. A MIV foi realizada em placa 24 poços contendo tela separadora de grupos de células. Os ovócitos foram fixados, corados e avaliados quanto ao estágio da meiose. No segundo, a capacidade de desenvolvimento embrionário dos mesmos grupos foi avaliada. E no terceiro avaliou-se o efeito do co-cultivo de ovócitos imaturos vitrificados com CCOs durante maturação e na produção de embriões. Foram utilizados: Grupo I: ovócitos desnudos; II: desnudos vitrificados; III: desnudos vitrificados maturados com CCOs; IV: CCOs. Após maturação, parte dos ovócitos foi fixada e classificada quanto aos estágios meióticos, os demais prosseguiram para produção in vitro de embriões (PIVE). Ovócitos desnudos apresentam menor taxa de maturação nuclear (69,0%), contudo, quando co-cultivados com CCOs essa taxa aumentou (77,4%), sendo semelhante ao controle (85,2%). Entretanto, o co-cultivo não melhorou a produção de embriões, e ambos os grupos, desnudos (18,8%) e desnudos com co-cultivo (11,8%) apresentaram menor taxa de blastocisto. Quando ovócitos imaturos vitrificados foram testados, o co-cultivo não melhorou a maturação nuclear, que foi inferior aos demais tratamentos. Da mesma forma, não houve aumento na produção de embriões, todos avaliados pelo teste Qui-quadrado com $P < 0.05$ considerado significativo. Conclui-se que o sistema de maturação com co-cultivo não substituiu ou amenizou a perda das CC.

014 - Expressão gênica e produção in vitro de embriões (PIVE) de ovócitos de fêmeas Nelore (*Bos taurus indicus*) pré-púberes

Taynan Stonoga Kawamoto¹, Thais Preisser Pontelo², João Henrique Moreira Viana³, Otávio Augusto Costa de Faria⁴, Andrei Antonioni Guedes Fidelis⁴, Margot Alves Nunes Dode³, Mauricio Machaim Franco³, Luna Nascimento Vargas¹, Ricardo Alamino Figueiredo³

¹Universidade Federal de Uberlândia; ²Universidade Federal de Lavras; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ⁴Universidade de Brasília

O uso de bezerras como doadoras de ovócitos na PIVE reduz o intervalo entre gerações, acelerando ganhos genéticos. Porém, sabe-se que ovócitos de bezerras são menos competentes do que de vacas. Assim, objetivou-se avaliar a atividade transcricional e a capacidade de desenvolvimento de ovócitos de bezerras Nelore de 2 a 5 e de 8 a 11 meses de idade, na PIVE, comparando-as com vacas (controle). Oito bezerras tiveram seus folículos aspirados a cada 15 dias, nestes dois grupos e as vacas foram aspiradas simultaneamente a estes. Os ovócitos recuperados foram morfológicamente avaliados, seus diâmetros mensurados e submetidos à PIVE. Avaliou-se a atividade transcricional de ovócitos através dos genes HAT1, CREBBP, NCOA2, HDAC1, HDAC2 e HDAC3. Análises estatísticas incluíram ANOVA e Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Vacas tiveram mais ovócitos grau I e menos ovócitos grau III (12,9% e 30,1%) do que bezerras de 2 a 5 (1,7% e 49,0%) e de 8 a 11 meses de idade (4,1% e 44,5%, respectivamente, $P < 0,05$). Este diâmetro em bezerras de 8 a 11 meses ($124,8 \pm 8,5 \mu\text{m}$) foi semelhante ($P > 0,05$) ao das vacas ($126,0 \pm 7,5 \mu\text{m}$) e maior ($P < 0,05$) que o de bezerras de 2 a 5 meses ($121,3 \pm 7 \mu\text{m}$). Na expressão gênica observou-se diferença ($P < 0,05$) apenas para HDAC3, com maior expressão nas vacas (1,3 e 1,7 vezes mais) do que nas bezerras de 2 a 5 e de 8 a 11 meses, respectivamente. As taxas de blastocistos no grupo 8 a 11 meses foram semelhantes às das vacas (42,0% vs. 48,1%, respectivamente, $P > 0,05$), enquanto estas no grupo de 2 a 5 meses foram inferiores às de vacas (31,0% vs. 71,6%, respectivamente, $P < 0,05$). Assim, não se verificou importância da expressão da HDAC3 na competência dos ovócitos das bezerras. Porém, considerando-se apenas os diâmetros e a capacidade de produzir embriões, observou-se que os ovócitos de fêmeas de 8 a 11 meses tiveram competência semelhante às de vacas, sugerindo chance de inclusão desta categoria na PIVE.

015 - Extratos etanólicos de plantas do Cerrado na criotolerância de embriões bovinos produzidos in vitro

Andrei Antonioni Guedes Fidelis¹, Gabriela Fernandes Oliveira¹, Taynan Stonoga Kawamoto², Francislete Rodrigues Melo³, Margot Alves Nunes Dode⁴

¹Universidade de Brasília; ²Universidade Federal de Uberlândia; ³Centro Universitário de Brasília; ⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O presente estudo avaliou o efeito da adição de extratos etanólicos de folhas de plantas do Cerrado na criotolerância de embriões PIVE. Ovócitos grau I e II foram submetidos à maturação, fecundação (D0) e cultivo in vitro. Cinco grupos foram delineados no cultivo: um grupo controle, cultivado em alta tensão de O₂ (GCont) não submetido à criopreservação e quatro grupos criopreservados em D7 — um grupo controle cultivado em alta tensão de O₂ sem adição de extrato no cultivo (GDT); um grupo cultivado em baixa tensão de O₂ (G5%) sem adição de extrato no cultivo, além de dois grupos cultivados sob alta tensão, suplementados com 0,01mg/mL do extrato etanólico de folha seca de cagaita (*Eugenia dysenterica* — GCag) e outro grupo com 0,01mg/mL do extrato de murici (*Byrsonima crassifolia* — GMur). Os blastocistos expandidos (BX) foram submetidos à criopreservação e descongelados em seguida. Foram avaliados: taxa de re-expansão, eclosão e degeneração embrionária, às 12, 24 e 36 horas após o descongelamento, além da taxa de apoptose. A re-expansão embrionária foi semelhante em todos os momentos. Entretanto, as taxas de eclosão e degeneração diferiram entre os grupos, a partir de 24 horas. O GCont obteve a maior taxa de eclosão (47,5±10,3) em relação aos grupos não suplementados com os extratos GDT (14,4±6,7) e G5% (10,5±5,8) mas foi similar aos grupos suplementados com os extratos GCag (22,2±17,1) e GMur (17,5±17,5). A taxa de degeneração foi maior, às 12 horas, para o grupo DT (30,2±11,3) e similar entre os demais (GCont:0; GCag: 16,8±12; GMur: 10,8±10,8; G5%:11±11). Contudo, o GCag obteve taxas de degeneração menores (20±16,7) aos demais grupos criopreservados às 24 horas após o descongelamento (GDT:37,7±5,5; GMur:38,9±8,2; G5%:41,3±14,4). A taxa de apoptose foi significativamente maior para o grupo DT (23,4±1,9) em relação aos grupos GCont (10,6±1,3); GCag (10,8±1,1), GMur (10,1±1,1) e G5% (7,8±1,2). A suplementação com extratos etanólicos (0,01mg/mL) de cagaita e murici podem ser usadas como antioxidantes naturais na PIVE.

016 - Flutuação populacional de *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera, Drosophilidae), no Distrito Federal

Iraene G. Castro Braga¹, Jaqueline Freire Maia², Renata Santos de Mendoça³, José Ricardo Peixoto², Milena de Almeida Magalhães², Marcelo Lopes Da Silva³

¹Universidade do Distrito Federal; ²Universidade de Brasília; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Drosophila suzukii (Diptera, Drosophilidae), também conhecida como drosófila-da-asa-manchada, é uma espécie exótica no Brasil, originária do sudeste da Ásia. A *D. suzukii* foi registrada em 2013 no Rio Grande do Sul (RS), no município de Capão do Leão/RS e em reservas biológicas do Estado de Santa Catarina (SC) e no Distrito Federal (DF) em 2014. Os principais danos causados por *D. suzukii* decorrem da alimentação das larvas no interior dos frutos. Entretanto, a inserção do ovipositor abre portas de entrada para infestações secundárias, como fungos filamentosos, leveduras e bactérias. Além disso, o ataque dessa praga deprecia a qualidade dos frutos, diminuindo a vida útil do produto no período pós-colheita, como o caso do morango. Há poucas informações sobre a bioecologia e manejo desse inseto no Brasil. Este trabalho teve como objetivo estudar a flutuação populacional de *D. suzukii* no DF. Para a captura dos exemplares foram utilizadas armadilhas contendo o vinagre de maçã como atraente. As coletas foram realizadas entre os meses de maio e outubro de 2019, em Brasília (Estação Biológica, IB-UnB), Vargem Bonita (Park Way, SMPW Q Fazendinha e Fazenda Água Limpa, FAL-UnB), Guará (Colônia Agrícola Bernardo Sayão), Brazlândia (Chácara Guarujá), Luziânia e São Sebastião (Morro da Cruz/São José). As amostras foram analisadas no Laboratório de Entomologia da Embrapa Cenargen. As populações foram identificadas morfológicamente consultando-se a literatura pertinente. A identificação realizada comprovou a presença de *D. suzukii* em alguns pontos de Brasília: nas unidades administrativas de Vargem Bonita, (Estação Biológica, IB-UNB) e Brazlândia. Assim, confirma-se que a espécie *D. suzukii* está presente e estabelecida, ainda não tendo registro de ataques ao cultivo do morango no DF, podendo estar danificando outras frutíferas.

017 - Identificação e quantificação dos compostos voláteis do feijão guandu que agem na atração de fêmeas do percevejo *Dichelops melacanthus*

Bruna Sartório de Castro¹, Miguel Borges², Raul Alberto Laumann², Márcio Wandré Moraes de Oliveira², Maria Carolina Blassioli Moraes²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A comunicação dos insetos com o ambiente é feita por meio de semioquímicos. Estudos mostraram que o percevejo *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) prefere ovipositar nas vagens de *Cajanus cajan* do que nas vagens de soja. Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos compostos voláteis do *C. cajan* na atração de fêmeas do percevejo *D. melacanthus*. Os compostos voláteis do *C. cajan* foram obtidos através da aeração das folhas de plantas adultas (var. Mandarin). Os voláteis foram coletados por 24 horas em adsorvente Porapak Q. Os voláteis das folhas também foram obtidos através da técnica de hidrodestilação. Os extratos de aeração e as soluções do óleo das folhas foram analisados por CG-DIC e GC-EM. Para obter dois dos sesquiterpenos identificados nas folhas de *C. cajan*, os compostos α e β -himachaleno, foi conduzido o fracionamento do óleo essencial de *Cedrus atlantica* em coluna de sílica gel. A influência dos compostos voláteis do *C. cajan* na atratividade de fêmeas de *D. melacanthus* foi avaliada através de bioensaios comportamentais em olfatometria em Y. Os seguintes odores foram testados: (i) voláteis das folhas do *C. cajan* vs. hexano, (ii) α e β -himachalenos vs. hexano, (iii) óleo obtido das folhas de *C. cajan* vs. hexano, e (iv) óleo obtido das folhas de *C. cajan* vs. voláteis obtidos da aeração das folhas de *C. cajan*. Os parâmetros avaliados foram a primeira escolha (teste Qui-quadrado) e o tempo de residência (teste t pareado). A análise química dos extratos de aeração e do óleo das folhas mostraram a produção majoritária dos compostos: monoterpenos e sesquiterpenos. O fracionamento do óleo de *C. atlantica* permitiu α -himachaleno e β -himachaleno com 87% e 96% de pureza, respectivamente. As fêmeas de *D. melacanthus* preferiram o odor dos voláteis de *C. cajan*, mas não mostraram preferência para os himachalenos. Estudos estão sendo conduzidos para avaliar a influência dos outros componentes produzidos pelas folhas de *C. cajan*.

018 - Método de maturação afeta o acúmulo de lipídios em ovócitos bovinos

Otávio Augusto Costa de Faria¹, Taynan Stonoga Kawamoto², Luzia Renata Oliveira Dias¹, Andrei Antonioni Guedes Fidelis¹, Ligiane de Oliveira Leme³, Margot Alves Nunes Dode⁴

¹Universidade de Brasília; ²Universidade Federal de Uberlândia; ³Universidade Federal do Espírito Santo; ⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A maturação in vitro é uma etapa “chave” para a produção in vitro de embriões (PIVE). Recentemente demonstraram que durante este estágio ocorre o maior acúmulo de lipídios. No entanto, isto não é observado quando a maturação é realizada in vivo. A hipótese deste trabalho é que este acúmulo será diminuído caso a maturação seja realizada através da Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI). Um total de 90 novilhas foram distribuídas em grupos experimentais: doadoras de ovócitos imaturos (D-IMA); ovuladoras, maturação TIFOI (D-OV); e doadoras superestimadas, maturados in vivo (D-FSH). As D-IMA foram submetidas à aspiração folicular (OPU) com meio suplementado com 500 μ M de IBMX. Após a seleção dos ovócitos, parte foi para a maturação in vitro (MatF) e a outra para TIFOI (MatT). As D-FSH foram superestimadas com FSH por quatro dias, em doses decrescentes. Após 22 horas, os ovócitos foram retirados do cultivo (MatF) e recuperados dos folículos por OPU (MatS e MatT). Apenas ovócitos com corpúsculo polar seguiram para avaliações. Os ovócitos foram desnudados, fixados e corados (Bodipy 493/503) e avaliados por microscopia confocal. A imagem capturada foi avaliada no programa ImageJ. O conteúdo lipídico foi calculado pela razão: área total dos lipídios/área total do ovócito. A análise estatística foi determinada pelo Teste de Tukey com grau de significância de $p < 0,05\%$. Um total de 118 ovócitos foram avaliados: 32 imaturos (CT), 26 MatF, 32 MatS e 28 MatT. A média da área contendo lipídios em ovócitos imaturos ($13\% \pm 1.9$) foi similar ($p > 0.05\%$) aos ovócitos maturados in vivo (MatS= $16\% \pm 1.7$ e MatT= $12\% \pm 1.9$). Nos ovócitos maturados in vitro, houve um maior acúmulo de lipídios ($24\% \pm 1.9$), durante a maturação, do que todos os outros grupos [CT, MatS e MatT ($p < 0.001$)]. Pela primeira vez, foi demonstrado que ovócitos TIFOI são similares aos ovócitos maturados in vivo, no que se refere ao acúmulo de lipídios, o que implica na qualidade superior quando comparado com os in vitro.

019 - Modificação química de biopolímeros para o desenvolvimento de novos biomateriais aplicáveis a processos de biofabricação

Caroline de Araujo Sanchez¹, Matheus Baptista da Silva², Gabriela Mendes da Rocha Vaz², Luciano Paulino da Silva³

¹Universidade Paulista; ²Universidade de Brasília; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A utilização de biopolímeros tem sido foco de interesse crescente como modelos para o desenvolvimento de novos materiais. Esse fato encontra-se particularmente relacionado com características intrínsecas aos polímeros oriundos de recursos biológicos como a diversidade de arranjos estruturais, a fácil remoção de regiões específicas da molécula e a possibilidade de funcionalização visando à obtenção de novas propriedades. Dentre os materiais que podem ser desenvolvidos com o uso de biopolímeros modificados quimicamente, destacam-se os hidrogéis. Esses materiais capazes de reter água em suas estruturas apresentam elevada flexibilidade e resistência com aplicações para produção de miméticos de estruturas biológicas em diversos tamanhos e formas com níveis de organizações fundamentais para processos de biofabricação. O presente estudo tem como foco modificar quimicamente biopolímeros amplamente utilizados nos processos de biofabricação para a produção de hidrogéis, entre eles o alginato, a gelatina e a quitosana, os quais não apresentam propriedades físico-químicas bem definidas e deseja-se obter novas características a partir de alterações moleculares nas suas estruturas. Tais alterações devem respeitar a cinética de reação das cadeias poliméricas, levando em conta, por exemplo, efeitos de mudanças de temperatura, pH e efeito estérico para o processamento de reações de adição ou remoção de grupamentos funcionais da estrutura polimérica. Os biopolímeros obtidos após as alterações devem possuir características necessárias para a biofabricação, dentre elas, alta retenção de água, biodegradabilidade, biocompatibilidade e não toxicidade, maximizados por meio de modificações químicas. Os novos biopolímeros obtidos serão quantificados por meio de testes colorimétricos e espectroscópicos, podendo-se obter informações acerca de propriedades ópticas. Os polímeros serão avaliados quanto à taxa de intumescimento, viscoelasticidade e suas propriedades mecânicas. Os hidrogéis obtidos por meio das modificações químicas com os diferentes grupamentos poderão apresentar características físico-químicas de interesse para a área de biofabricação com variadas propriedades mecanoestruturais. O sucesso das modificações aplicadas poderá resultar em elevada aplicabilidade em áreas como a bioengenharia, indústria têxtil e de alimentos, por exemplo.

020 - Ocorrência da mosca negra dos citros, *Aleurocanthus woglumi ashby* (Hemiptera, Aleyrodidae), no Distrito Federal

Iraene G. Castro Braga¹, Ianne Lara de Oliveira Meireles², Renata Santos de Mendoça², José Ricardo Peixoto², Maria Luiza Santa Cruz de Mesquita Alves², Marcelo Lopes da Silva³

¹Universidade do Distrito Federal; ²Universidade de Brasília; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A mosca negra dos citros *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) é uma espécie exótica de origem asiática, detectada pela primeira vez no Brasil em 2001, no estado do Pará, e que se disseminou pelo país. A espécie é polífaga e tem como hospedeiro primário os citros. Este trabalho teve como objetivo confirmar a suspeita da presença de *A. woglumi* em citros no Distrito Federal. As coletas foram realizadas em Brasília (Estação Biológica, IB-UnB e Lago Sul), Vargem Bonita (Park Way, SMPW Q Fazendinha e Fazenda Água Limpa da UnB), Guará (Colônia Agrícola Bernardo Sayão), Brazlândia (Chácara Guarujá) e Samambaia. As populações foram identificadas morfológicamente consultando-se a literatura pertinente. Além dos estudos morfológicos, foram utilizadas ferramentas moleculares adicionais para a confirmação da espécie. O diagnóstico molecular baseou-se no fragmento padrão do gene citocromo C oxidase I (COI), região *barcoding* para a maioria das espécies de animais. A extração de DNA genômico foi realizada com o Kit DNeasy (Qiagen) e o fragmento COI foi amplificado com os primers HCO2198/LCO1490 e LepF1/LepR1. As amostras de DNA amplificadas foram enviadas para o sequenciamento direto na Plataforma ABI PRISM 3730 XL (Macrogen Korea). Para a confirmação molecular da espécie, as sequências obtidas foram submetidas ao Sistema BOLD de Identificação (BOLD Identification System - IDS). Os resultados da eletroforese foram positivos com bandas bem definidas de aproximadamente 700 pb em gel de agarose (1%) para os dois pares primers testados e foram obtidas oito sequências do fragmento COI. Um único haplótipo foi identificado, tendo as sequências 100% de similaridade com sequências disponíveis no BOLD Identification Systems - IDS. O estabelecimento do protocolo de extração, amplificação e sequenciamento de mosca negra coletada no Distrito Federal representa uma ferramenta importante que agrega confiabilidade à identificação morfológica específica. A presença de *A. woglumi* foi confirmada nas unidades administrativas de Vargem Bonita, Guará, Brazlândia e em Brasília. Sendo uma nova praga registrada nos citros no DF, poderá requerer monitoramento e controle pelos produtores.

021 - Potencial de sinais vibratórios do percevejo marrom para incrementar a eficiência de armadilhas para monitoramento populacional

Matheus Lorrان Figueira Coelho¹, Aline Moreira Dias², Raul Alberto Laumann³, Maria Carolina Blassioli Moraes³, Miguel Borges³

¹Universidade de Brasília; ²Universidade Paulista; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O percevejo marrom, *Euschistus heros*, (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae), é uma das principais pragas da soja no país. Os pentatomídeos utilizam sinais vibratórios transmitidos pelo substrato para a comunicação durante o comportamento reprodutivo. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial dos sinais vibratórios para atrair machos e fêmeas da espécie visando a incorporação destas vibrações em armadilhas para monitoramento populacional de *E. heros*. Foram realizados experimentos em arenas, gaiolas (laboratório) e campo. Nas arenas de dupla escolha, tipo “Y”, o piso foi formado por uma peça de papelão e a parte superior coberta com um vidro. Um dos braços foi vibrado, utilizando um excitador eletromagnético, com os sinais vibratórios de fêmeas ou de machos (tratamentos). Nos experimentos em gaiolas foram utilizadas plantas de soja e, no centro da gaiola, foi introduzida uma armadilha de monitoramento com um sistema de vibração adaptado (tratamento) ou sem sistema de vibração (controle). Nestas gaiolas foram liberados fêmeas e machos e a quantidade de insetos capturados nas armadilhas foi monitorada durante 8 horas. No experimento de campo foram colocadas duas armadilhas, uma com vibração (tratamento) e outra sem (controle). As vibrações de fêmeas e machos atraíram, nas arenas, ambos os sexos de *E. heros* para o braço tratamento em um número significativamente maior em relação ao braço controle. Nos experimentos, os números de insetos capturados nas armadilhas resultaram em 18,7% e nas plantas em contato com as armadilhas resultaram em 49,1%, sendo superior que as gaiolas de experimento controle. No experimento de campo, capturou-se maior número de insetos nas armadilhas do tratamento, sendo 44% superior em relação às armadilhas controle. Os resultados indicaram que os sinais vibratórios em armadilhas de monitoramento foram eficientes na atração de *E. heros* e podem ser um complemento ao feromônio para incrementar a eficiência e precisão das estimativas populacionais.

022 - Produção de embriões bovinos in vitro após a transferência nuclear de corpúsculo polar

Felippe Manoel Costa Caixeta¹, Regivaldo Vieira De Sousa², José Felipe Warmling Sprícigo² e Margot Alves Nunes Dode²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A transferência nuclear de genoma (TNG) é uma técnica na qual o DNA de um ovócito comprometido é transferido, com o auxílio de um micromanipulador, para um citoplasma de ovócito viável. Apesar de o corpúsculo polar (CP) ser uma fonte potencial de DNA, a maioria dos estudos com essa técnica utiliza a vesícula germinativa ou a placa metafásica como fonte do DNA. O objetivo desse estudo foi avaliar a viabilidade da TNG utilizando CP (TNG-CP) em ovócitos bovinos. Foram realizados dois experimentos. O primeiro avaliou a capacidade das estruturas reconstruídas de serem fecundadas e o segundo a taxa produção de blastocisto. Complexos cúmulus-ovócitos (CCO) foram maturados por 21 horas. Parte dos CCO foi utilizada como doadores de CP e a outra como citoplasma receptor, sendo enucleados e reconstruídos com o CP doado. Para avaliar a fecundação das estruturas TNG-CP, os CCO foram divididos em 2 grupos: 1) TNG-CP fecundados com 1×10^6 sptz/ml e 2) Controle PIVE (fecundados com 1×10^6 sptz/ml). Após 18 horas de fecundação, as estruturas foram fixadas e coradas com lacmoide e classificadas em fecundados, não fecundados, polispermicos e anormais. Para a taxa de produção de blastocistos, os CCO foram divididos em dois grupos: 1) TNG-CP fecundados com 1×10^6 sptz/ml; 2) Controle PIVE (fecundados com 1×10^6 sptz/ml) e cultivados até o D7. Foram analisadas taxa de clivagem em D2 e de blastocisto em D7. Os dados foram analisados pelo teste de Qui-Quadrado ($P = 0,05$). Na avaliação da fecundação, a taxa do grupo TNG-CP (82,3%) foi inferior à do grupo controle (96,2%), mas a taxa de polispermia foi semelhante entre eles (12,9% e 12,1% respectivamente). Quanto à produção de embrião, o grupo TNG-CP apresentou taxa de clivagem semelhante ao grupo controle (88,5% e 85,2%, respectivamente), mas a taxa de produção de blastocisto foi inferior (7,7% e 36,8%, respectivamente). Pode-se concluir que a TNG utilizando o CP como material genético pode ser utilizado no aproveitamento de ovócitos bovinos que apresentam citoplasma danificado utilizando o mesmo protocolo da FIV.

023 - Prospecção de marcadores sexo-específicos para *Colossoma macropomum* (tambaqui)

Aline A Campelo¹, Michel Eduardo Belez Yamagishi², Eduardo Sousa Varela³, Alexandre Rodrigues Caetano⁴, Patrícia Ianella⁴

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Informática Agropecuária; ³Embrapa Pesca e Aquicultura; ⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O desenvolvimento de tecnologias para melhorar a produtividade do Tambaqui em cativeiro é objeto de estudo de diferentes grupos públicos e privados brasileiros. Pesquisas sobre mecanismos de determinação sexual são importantes para o produtor, impactando no manejo da criação e no controle sobre o processo de cruzamento. Os sistemas de determinação do sexo em peixes teleósteos são complexos e diversos, porém, resultados positivos têm sido obtidos com sequenciamento de machos e fêmeas, levando a identificação de marcadores sexo-específicos em espécies de peixes comerciais. O objetivo deste estudo foi identificar potenciais marcadores sexo-específicos, capazes de diferenciar machos e fêmeas antes da maturidade sexual, para aplicação em sexagem molecular. A metodologia consistiu em análise de *Scaffolds* do genoma referência de tambaqui (dados não publicados) portadores de sequências presentes somente em machos ou fêmeas, que foram visualizados e explorados, em busca de sítios alvo para desenho de oligonucleotídeos no software Integrative Genomics Viewer. Os primers foram desenhados utilizando o software PRIMER3PLUS buscando-se regiões dos *scaffolds* com menor número de variações (SNPs) para garantir maior especificidade destes. As sequências resultantes foram alinhadas com o genoma referência do tambaqui para averiguar sua especificidade. Cinco pares de primers potencialmente fêmea-específicos e 11 macho-específicos foram desenhados e testados em PCR do tipo gradiente com DNA de *pool* de machos e fêmeas para se constatar sua amplificação sexo-específica e para que as condições de PCR fossem estabelecidas. Pares de primers que amplificaram em somente um dos *pools* de sexo, foram testados em todos os indivíduos que compõe o *pool* nas temperaturas estabelecidas. Nenhum dos pares de primers testados como potencialmente específico a um dos sexos resultou em padrão de presença em somente um dos sexos. O padrão de presença e ausência observado nas reações de PCR não revelou nenhum padrão que pudesse sugerir o envolvimento de determinação do sexo poligênica, ou de associação de um conjunto de marcadores, e o sexo dos animais.

024 - Resposta do parasitoide de ovos *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) a diferentes estímulos químicos e físicos

Brunna Letícia Oliveira Santana¹, Ana Carolina Gomes Lagoa², Maria Carolina Blassioli Moraes³, Miguel Borges³, Raul Alberto Laumann³

¹Universidade Paulista; ²Universidade de Brasília; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O parasitoide de ovos *Telenomus podisi* Ashmead, 1983, é reconhecido como um importante agente de controle biológico por utilizar como hospedeiro ovos de percevejos da família Pentatomidae. Os parasitoides encontram os ovos através dos estímulos químicos e físicos relacionados direta ou indiretamente ao hospedeiro. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência de diferentes estímulos no comportamento de busca e seleção de hospedeiros de fêmeas de *T. podisi*. Os experimentos foram conduzidos em arena de dupla escolha, sendo o tratamento contrastado com o controle (braço do olfatômetro sem estímulos). Quando os estímulos avaliados foram voláteis utilizou-se, na arena, um sistema de circulação de ar. Os tratamentos avaliados foram 1) voláteis induzidos por herbivoria de plantas de soja, 2) 2,6,10 trimetiltridecanoato de metila, componente presente no feromônio sexual do *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), 3) rastros de fêmeas de *E. heros* liberados na arena enquanto caminham, 4) vibração produzida por fêmeas de *E. heros* e 5) cor amarela. Nos diferentes experimentos, o parâmetro medido foi o tempo de residência. Em todos os tratamentos avaliados, o tempo de residência do parasitoide foi maior nas áreas tratamento do que nas áreas controle. Estes resultados corroboram trabalhos prévios que mostraram que parasitoides de ovos são atraídos por estímulos direta ou indiretamente relacionados ao hospedeiro. Com as metodologias estabelecidas para uma melhor compreensão do comportamento de *T. podisi* os estímulos serão avaliados em diferentes combinações, verificando se há sinergia ou efeito aditivo entre eles, já que na natureza não ocorrem de forma isolada.

025 - Riqueza da fauna de parasitoides (Insecta, Hymenoptera) encontrados em cultivo de soja em região de cerrado

Elcimar Pereira da Silva¹, Norton Porto Benito², Rogerio B. Lopes²

¹Universidade Paulista; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O Brasil tem importantes programas de controle biológico utilizando parasitoides. Conhecer a fauna de parasitoides nas diferentes regiões de cultivo de soja no país pode ajudar na escolha de espécies melhor adaptadas para cada região ou produtos químicos e outras formas de controle de pragas que tenham menor impacto na fauna de parasitoides. O objetivo deste trabalho é contribuir com informações sobre a riqueza da fauna de parasitoides de lagartas da família Noctuidae (Lepidoptera), encontrados em cultivo de soja em Planaltina-DF. As lagartas foram coletadas pelo método de pano de batida, totalizando 120 pontos divididos igualmente em três coletas. Foram coletadas 1659 lagartas dos gêneros *Anticarsia* (*A. gemmatalis*), *Chrysodeixis* (*C. includens*) e *Spodoptera* (*Spodoptera* spp.). *A. gemmatalis* representou 72% das lagartas coletadas. Eclodiram de 58 lagartas (3,86%) oito gêneros de himenópteros pertencentes às famílias: Braconidae, Encyrtidae e Ichneumonidae, divididos em seis subfamílias. A família Ichneumonidae apresentou maior riqueza relativa, seguida de Braconidae e, por último, Encyrtidae. O gênero *Copidosoma* (Encyrtidae) apresentou maior número de indivíduos, específicos de lagartas de *C. includens* - foram nove lagartas parasitadas e cada lagarta teve, em geral, mais de 3000 parasitoides (comportamento gregário). O gênero *Glyptapanteles* (Braconidae) parasitou 32 lagartas (56,14%); 22 do gênero *Anticarsia* e 10 do gênero *Chrysodeixis*, sendo o mais abundante. Os gêneros *Microcharops*, *Eniscopilus* e *Eiphosoma* (Ichneumonidae) foram coletados em quatro lagartas (2, 1, 1, respectivamente). O gênero *Campoletis* (Ichneumonidae) foi coletado em seis lagartas (mais abundante dessa família). Da família Braconidae, foram coletados mais dois gêneros, *Microplitis* (4 indivíduos) e *Crysopophthorus* (3 indivíduos). No Cerrado do Distrito Federal, o gênero de parasitoide mais abundante ocorrendo em lagartas da cultura da soja foi *Glyptapanteles*, sendo o primeiro registro de ocorrência em lavouras de soja.

026 - Temperatura e umidade em diferentes materiais de cobertura afetam a mortalidade da abelha *Scaptotrigona postica*?

Rafaela Pontes Brandão¹, Luan S. Souza¹, Lucas Machado De Souza², Alex Antônio Torres Cortês de Sousa², Edison Ryoiti Sujii², Eliana M. G. Fontes² e Carmen Silvia Soares Pires²

¹Universidade Paulista; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O Brasil é rico em espécies nativas de abelhas sem ferrão ou meliponíneos. Conhecer sua biologia é fundamental para a sua domesticação e uso como polinizadoras em cultivos protegidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) em arenas de forrageamento cobertas com diferentes materiais na mortalidade da abelha *Scaptotrigona postica*. Foram utilizadas arenas de 5,2 m³ (2,40 m x 1,20 m x 1,80 m), confeccionadas em ferro, totalmente desmontáveis que permitiu que o teto e uma das laterais fossem cobertos com diferentes materiais e as demais laterais fossem cobertas com madeira. Em cada arena foi instalado um aparelho de ar condicionado. Foram avaliados cinco materiais de cobertura: vidro transparente de 4mm (tratamento 1), plástico Japão 0.15 HK - Difusor de luz (tratamento 2), AgroLord Brasil ultra transparente (tratamento 3), Nortene transparente Fes (tratamento 4) e Suncover AV blue (tratamento 5). Os dados de temperatura e umidade no interior da arena foram registrados através de um termohigrômetro (Hobo Pro® v2). Cinco colônias foram avaliadas durante 10 dias em fevereiro, março, junho e agosto de 2019 em Brasília-DF. Neste período ocorreram dias totalmente ensolarados, parcialmente nublados, nublados e chuvosos. O registro do número de abelhas mortas era realizado todos os dias pela manhã e no final da tarde. As temperaturas e umidades no interior das arenas variaram de 26,18±2,25°C a 31,04±1,20°C e 60,16±6,63% a 65,22±10,00%, respectivamente. Observamos que a ação do plástico no tratamento 4 teve uma relação significativa em relação a mortalidade e que o fator temperatura (°C) também apresentou uma relação considerável no tratamento 4 e 5. Já o fator umidade não apresentou relação com a mortalidade, sugerindo que a temperatura e o plástico Nortene foram variáveis que influenciaram a mortalidade da abelha Mandaguari.

027 - Tomada de decisões em nanotecnologia: classificação de nanomateriais, avaliação da nanosseguurança e controle de qualidade

Francielle Rodrigues de Matos Lopes¹, Luciano Paulino Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A nanosseguurança relaciona-se com as questões de segurança associadas à nanotecnologia. Esta área trata comumente da (eco) toxicologia, avaliação de exposição e avaliação de riscos que podem ser gerados por nanopartículas e outros nanomateriais. A fim de tornar a avaliação de riscos de substâncias mais eficiente, faz-se necessária a classificação e agrupamento, associada com a adoção de ferramentas estruturadas de apoio à decisão. A determinação da segurança dos nanomateriais requer avaliação de riscos potenciais relacionados aos diversos tipos de nanomateriais, a fim de determinar prováveis impactos à saúde humana e ao meio ambiente. De fato, a avaliação de nanomateriais constitui um dos aspectos mais importantes no campo da nanotecnologia na atualidade. Entretanto, até o momento não existe no Brasil uma regulamentação pautada em nanosseguurança, porém esforços estão sendo realizados, como a implementação do Programa Nacional de Nanosseguurança. O presente estudo visa apresentar uma proposta de agrupamento de nanomateriais para avaliação de riscos, selecionar técnicas de avaliação de nanosseguurança e elaborar medidas em nanotecnologia e técnicas de análise. A estratégia racional baseia-se na construção de uma proposta de ferramenta para agrupamento de nanomateriais, que consiste, *a priori*, em classificar o nanomaterial em orgânico e inorgânico, seguido das categorias nanopartículas poliméricas, nanopartículas dendriméricas, nanopartículas lipídicas, óxidos de metais e óxidos de metaloides, metais e sais e, nanopartículas de carbono. Esses nanomateriais foram agrupados segundo alguns parâmetros físico-químicos que podem colaborar para a avaliação de riscos. Posteriormente, a avaliação de risco foi baseada nas vias de exposição às quais o indivíduo está sujeito quando trabalha com um determinado nanomaterial. Com isso, a ferramenta criada deve ser capaz de permitir a tomada de decisão do laboratório e demais *stakeholders* sobre quais técnicas utilizar para cada nanomaterial e como proceder suas pesquisas de forma a apresentar o maior controle de qualidade e segurança ocupacional possível, além de atender as expectativas de uma futura regulamentação para produção e comercialização de nanomateriais manufaturados.

028 - Uso de antígenos peptídicos recombinantes como ferramenta de imunização de capivaras

Lucas Fernandes Santos¹, Eduardo de Oliveira Melo², Israel Nunes Silveira²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A população de capivaras em ambientes urbanos e rurais vem provocando uma série de danos sanitários, econômicos e ecológicos. Seu crescimento gera a necessidade de uma intervenção estratégica de controle populacional. A redução da população deve estar atrelada a métodos viáveis do ponto de vista ambiental, econômico e logístico. Neste sentido, a utilização dos peptídeos sinalizadores do sistema reprodutivo da capivara, responsáveis pelo desenvolvimento folicular de mamíferos, pode ser uma estratégia de esterilização baseada na resposta autoimune nos animais. A ausência de dados em bancos genéticos e de proteomas da capivara gerou a necessidade de sequenciar genes e utilizar peptídeos maduros bovinos, devido à sua disponibilidade e prévia caracterização. Foram feitas coletas do sangue das capivaras e sequenciamento dos indivíduos. Os peptídeos maduros foram produzidos por tecnologia do DNA recombinante em *E. coli*, sonicados e, em seguida, purificados por cromatografia de afinidade. Um processo de diálise foi acrescentado para diminuição do pH e das concentrações de substâncias incompatíveis com a imunização. A produção dos peptídeos viabiliza as imunizações tornando possível futuras aplicações em capivaras e a longo prazo a diminuição das taxas reprodutivas gerando um desenvolvimento de uma ferramenta de controle populacional.

029 - Validação de genes envolvidos com regulação hormonal para o controle do bicudo do algodoeiro

Daniel David Noriega¹, Leonardo Lima Pepino Macedo², Maria Cristina Mattar da Silva², Maria Fátima Grossi de Sá²

¹Universidade Católica de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Brasil é o quinto maior produtor de algodão do mundo gerando aproximadamente 1.5 milhões de toneladas métricas de algodão por ano. Entre as pragas que causam detrimento à cotonicultura, o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae) é considerado uma das pragas mais prejudiciais pela dificuldade de seu controle. Quando não controlado, esse inseto pode destruir completamente a produção de um algodão. Os métodos de controle atual têm se mostrado ineficientes devido aos hábitos endofíticos do inseto que dificultam seu contato direto com os produtos disponíveis no mercado. Alternativas biotecnológicas foram propostas ao longo dos últimos dez anos para o controle de insetos praga. O RNA interferente (RNAi) é um processo celular presente em todos os eucariotos, mediante o qual é possível silenciar a expressão de um gene com o potencial de obter um efeito fenotípico letal de forma altamente específica em um determinado organismo. Neste trabalho foi estudada a interação de dois genes envolvidos com a regulação hormonal via hormônio juvenil (JHRP1 e JHRP2) no bicudo do algodoeiro. O silenciamento dos genes mencionados via moléculas de RNA dupla fita (dsRNA) e polímeros de polietilenoimina (PEI) foi avaliado mediante quantificação da expressão genica dos genes alvo e avaliação fenotípica dos organismos tratados (mortalidade e desenvolvimento). O fato mais importante desvelado por nosso estudo é que existe um efeito compensatório entre os dois genes alvo, sendo que o silenciamento de cada um de forma individual não gera nenhum efeito significativo no desenvolvimento de *A. grandis*. Porém, o silenciamento conjunto dos dois genes interrompe o processo de metamorfose e altera os níveis de hormônio juvenil do organismo. Adicionalmente, foi encontrado que polímeros de PEI podem ser utilizados para validação de função gênica por RNAi, uma vez aumentam a eficiência do silenciamento até 10 vezes quando aplicado diretamente na hemolinfa. Por outro lado, o PEI apresenta alta toxicidade nas células, mesmo em baixas concentrações fazendo seu uso inviável para aplicações práticas.

MICRORGANISMOS

030 - Análise da conversão de material lignocelulósico em proteínas, por basidiomicetos cultivados em diferentes substratos utilizando a técnica jun-cau.

Gustavo Henrique de Oliveira Ferreira¹, Jessé Monsueth Santos¹, Vera Lúcia Perussi Polez², Arailde Fontes Urben²

¹Centro Universitário de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Os cogumelos são alimentos muito apreciados desde a idade antiga por se acreditar em seu elevado valor nutritivo e em seu potencial medicinal, além de ser classificado como uma especiaria nobre em pratos culinários. A produção e o consumo de cogumelos vêm aumentando ao longo do tempo na cultura ocidental envolvendo um grande número de espécies. São conhecidas cerca de 2000 espécies de cogumelos comestíveis, mas apenas 25 delas são comercialmente cultivadas. Sob o ponto de vista nutricional, devido ao alto valor proteico, o cultivo dos cogumelos tem sido apontado como uma alternativa para acrescentar a oferta de proteínas aos países com alto índice de desnutrição. O objetivo do trabalho foi realizar a extração e quantificação de proteínas de *Pleurotus ostreatus* e do substrato inoculado, com o propósito de verificar se ocorrem diferenciações nos percentuais de proteínas nos cogumelos e nos dois tipos do material estudado (capim tifton e serragem de eucalipto). O experimento está sendo realizado no Laboratório de Cogumelos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O cogumelo foi submetido a diversas etapas de cultivo, incluindo multiplicação de fungos em placas com meios de cultura, produção de "sementes" e de substratos contendo gramineas ou serragem, para a produção dos corpos frutíferos. Amostras de diferentes substratos miceliados e dos cogumelos produzidos nos mesmos serão submetidas a extração e quantificação de proteínas. As extrações serão realizadas à quente, usando fórmula biureto ou solvente orgânico, de acordo com o método de extração de Bach. Apesar dos resultados não estarem concluídos, espera-se que a teor proteico do cogumelo produzido pela técnica Jun-cau seja superior às técnicas utilizadas convencionalmente sob o ponto de vista nutricional. O cultivo desses alimentos funcionais podem ser uma alternativa para a dieta alimentar, por ser mais saudável e apresentar maior teor de proteína, quando comparado com a carne bovina.

031 - Análise da identidade de sequência dos genes *cry* e *vip* por meio de perfil de restrição

Matheus de Abreu Gonçalves Caiafa da Silva Soares¹, Paulo Queiroz², Érica Soares Martins² e Rose Gomes Monnerat²

¹Colégio Militar de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Bacillus thuringiensis (Bt) é uma importante bactéria usada no biocontrole devido a sua capacidade de produzir as proteínas Cry que são tóxicas a insetos. Além disso, Bt pode atuar junto com a microbiota das raízes das plantas facilitando a absorção de nutrientes e, também, endofiticamente protegendo a planta de certos patógenos. O conhecimento do potencial dos genes de Bt na biotecnologia teve incremento com o desenvolvimento das ferramentas de bioinformática a qual contribuiu para a identificação dos genes *Cry*, pois existem mais de 800 toxinas conhecidas. O objetivo do trabalho foi analisar o perfil de restrição das principais classes de genes *Cry* a partir da análise *in silico* usando programas disponíveis em sítios de internet especializados no assunto. O perfil de corte foi convertido em uma matriz binária seguindo-se a determinação do cladograma para a definição da identidade de sequência entre os genes *cry*. Baseado nas enzimas de restrição o resultado foi a formação de “Grupos” de genes *cry* que na maioria das vezes possuíam toxicidade para as mesmas espécies de insetos como, por exemplo, o grupo de *cry11Aa1*, *cry30Aa1* e *cry39Aa1*, grupo *cry24Aa1* e *cry49Aa1*, grupo *cry10Aa1* e *cry16Aa1* todos para Diptera e o grupo *cry1Ab1* e *cry32Aa1* para Diptera e Lepidoptera e um grupo de *cry34Aa1*, *cry35Aa1*, *cry17Aa1* e *cry23Aa1* para Coleoptera, exceto a *cry17Aa1* que é tóxica para Diptera, enquanto no cladograma das Vips o grau de identidade foi visto com maior clareza, por exemplo, para o grupo de *vip3Aa1*, *vip3Aj1*, *vip3Ba1*, *vip3Af1* e *vip3Ai1*, todos com perfil tóxico para lepidópteros. Os resultados sugerem que pode ser possível relacionar o perfil de digestão enzimático entre as toxinas *Cry*, como também, entre as toxinas *Vip* com relação ao potencial tóxico para algumas ordens de insetos. Essa pode ser uma estratégia a ser empregada futuramente na determinação do perfil tóxico tanto das toxinas *Cry* quanto das toxinas *Vip*.

032 - Análise de plantas com atrofia letal da coroa do coqueiro quanto à presença de fitoplasmas

Jéssika Veridiano Dutra¹, Sabrina Martins de Souza², Marília Santos Silva³, Dulce R. N. Warwick⁴, Alessandra de Jesus Boari⁵, Barbara Eckstein³

¹Centro Universitário de Brasília; ²Universidade Paulista; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ⁴Embrapa Tabuleiros Costeiros; ⁵Embrapa Amazônia Oriental

A atrofia letal da coroa de coqueiro (ALCC) é uma doença emergente no Brasil sem causa conhecida até o momento, os sintomas em coqueiros, que incluem necrose de folíolos novos e inflorescência, abortamento dos frutos, redução do comprimento dos folíolos culminando com a atrofia da coroa e potencial morte das plantas, podem ser atribuídos à fitoplasmas. Fitoplasmas são bactérias fitopatogênicas que estão associadas a mais de 700 doenças de plantas, inclusive na cultura do coqueiro em outros países. O objetivo deste trabalho foi avaliar se havia ou não a presença de fitoplasmas em amostras de coqueiros com sintomas de ALCC coletadas no Norte e Nordeste do Brasil. 112 amostras de DNA de plantas com sintomas foram testadas quanto à presença de fitoplasmas através da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando-se os iniciadores universais P1/P7 e F2n/R2 em duplo PCR que visa amplificar parte da região 16S rDNA dessas bactérias. Verificou-se a amplificação de fragmentos com tamanho próximo do esperado (1.200pb) em 64 amostras. Algumas amostras apresentaram também outras bandas inespecíficas. Realizou-se o sequenciamento do fragmento de DNA com tamanho próximo ao esperado de três amostras representativas. As sequências obtidas foram analisadas quanto à similaridade de sequência de DNA através da ferramenta online “BLAST”. As sequências obtidas não apresentaram similaridade com sequências de fitoplasmas, nem qualquer outra bactéria de planta. As sequências foram similares àquelas de cloroplasto de coqueiro. Os resultados indicaram para a ausência de fitoplasmas e a amplificação de uma região não-alvo do genoma das plantas. O resultado não era esperado uma vez que os iniciadores deveriam ser específicos para fitoplasmas e amplamente utilizados para detecção desses organismos. Como próximo passo, pretende-se analisar as amostras com outros iniciadores, visando encontrar aqueles que não resultem em falsos positivos, e confirmar, se for o caso, a ausência de fitoplasmas nessas amostras de plantas com sintomas de ALCC.

033 - Análise filogenética de *B. anthracis*, *B. cereus* e *B. thuringiensis*, três espécies próximas evolutivamente, através do uso de grupos ortólogos em uma abordagem de genômica comparativa

Thifany Vilela Purcena¹, Roberto Coiti Togawa², Rose Gomes Monnerat², Paulo Queiroz^{1,2}, Priscila Grynberg²

¹Centro Universitário de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O grupo *Bacillus cereus* sensu lato compreende doze espécies de grande importância econômica, médica e de biodefesa dentre elas *B. anthracis*, o agente etiológico da doença, *B. cereus*, uma bactéria que pode causar infecções gastrointestinais e *B. thuringiensis*, produtora de cristais tóxicos (Cry) que atuam como inseticidas espécie-específicos naturais. São bactérias gram-negativas, formadora de esporos, aeróbica ou anaeróbica facultativa e são encontradas naturalmente no solo. Estas três espécies são muito parecidas geneticamente entre si, dificultando a classificação baseado em métodos moleculares. Assim o objetivo deste trabalho foi usar grupos ortólogos que possam auxiliar na diferenciação destas espécies. Para isso, 44 proteomas cromossomais e plasmidiais sendo 30 obtidos no NCBI e 14 cepas de *B. thuringiensis* do banco de dados da Embrapa foram usados. A busca por grupos ortólogos foi feita com o programa OrthoFinder. Um total de 266.263 proteínas foram incluídas nas análises, sendo que 260.174 (97,7%) foram classificadas em algum dos 11.810 ortogrupos gerados. Destes, 1.705 possuem proteínas de todos os proteomas incluídos e 49 foram específicos para alguma cepa, podendo oferecer possíveis genes marcadores diagnósticos. Uma árvore filogenética foi produzida utilizando o programa RAXML, que mostrou a separação entre *B. anthracis* e as demais espécies. Algumas exceções foram observadas, como as cepas HD571, HD682 e HD1011 de *B. thuringiensis*, que ficaram no meio de algumas cepas de *B. anthracis*. Então usamos o programa blastp para buscar por toxinas Cry nestes proteomas mas nenhuma foi encontrada indicando um possível erro de identificação. Não obtivemos uma separação satisfatória entre *B. cereus* e *B. thuringiensis*. Alguns pesquisadores suspeitam que *B. thuringiensis* tenha evoluído a partir de *B. cereus* quando adquiriu a capacidade de produzir toxinas Cry. Este trabalho mostrou que a aplicação de metodologia baseada em classificação de grupos ortólogos pode ser eficiente em classificar e auxiliar no desenvolvimento de uma metodologia de identificação de espécies do gênero *Bacillus* assim como indicar possíveis erros de nomenclatura.

034 - Antagonismo in vitro de *Sclerotium rolfii* e *Stromatinia cepivora* por isolados de *Trichoderma*

Ana Luiza Bezerra Cardoso¹, Paulo Henrique Pereira Costa Muniz², Irene Martins², Joao Batista Tavares da Silva², Eder Marques¹, Sueli Corrêa Marques de Mello²

¹União Pioneira de Integração Social; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O método de pareamento de culturas é amplamente utilizado na determinação do potencial de linhagens de fungos para controle biológico de doenças de plantas. O objetivo do presente trabalho foi, utilizando este método, verificar a capacidade antagonista in vitro de 15 isolados de *Trichoderma* contra *Sclerotium rolfii* (CEN216) e *Stromatinia cepivora* (CEN1357), respectivos agentes causadores da podridão branca do alho e da cebola e da podridão de diversas espécies de plantas. Foram utilizados os seguintes isolados de *Trichoderma* spp da Coleção de Fungos Para Controle de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: CEN1242, CEN1249, CEN1250, CEN1251, CEN1253, CEN1257, CEN1264, CEN1269, CEN1298, CEN1394, CEN1398, CEN1403, CEN1405, CEN1417, CEN1428. O plaqueamento para as colônias de *Trichoderma* e dos fitopatógenos foi realizado em placas de Petri (90mm Ø), acondicionadas em câmaras B.O.D., ajustada à temperatura de 25°C nos testes com *S. rolfii* e 18°C nos testes com *S. cepivora*. Utilizou-se um delineamento estatístico inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento (linhagem de *Trichoderma*). As avaliações foram realizadas, calculando-se o índice de inibição de crescimento (ICM) adquiridos com base nas medidas do crescimento micelial radial dos patógenos frente aos antagonistas. Dados médios de inibição do crescimento micelial foram comparados pelo teste tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando o programa sisvar 5.6. Os ensaios realizados mostraram que todas as linhagens de *Trichoderma* são capazes de inibir o crescimento de ambos patógenos. Para *S. rolfii* o isolado que apresentou melhor resultado no teste de pareamento foi o CEN1242 (75,0% de inibição); já para *S. cepivora* os isolados com melhores resultados foram: CEN1269, CEN1405, CEN1249, CEN1264, CEN1253 e CEN1257, sendo este último com melhor resultado 60,78% de inibição, superior aos demais. Dessa forma selecionaram-se as linhagens CEN 1242 para *S. rolfii* e CEN1257 para *S. cepivora*, com as quais deverão ser conduzidos ensaios em casa de vegetação, em futuro próximo.

035 - Busca de novos alvos para o controle específico da doença ferrugem do café (*Hemileia vastatrix*)

Jonathan Dias de Lima¹, Diana Fernandez², Angela Mehta³, Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire³, Bernard Maigret⁴, Emmanuel Bresso⁴, Marcelo Oliveira Rodrigues¹, Natalia Florêncio Martins³

¹Universidade de Brasília; ²Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier-France; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ⁴LORIA – Universidade de Lorraine

A ferrugem do café é uma das principais doenças do cafeeiro, causando perdas superiores a US\$ 1 bilhão por ano e interferindo na produção de café arábica (*Coffea arabica* L.). O patógeno da ferrugem do café é o fungo *Hemileia vastatrix* (Basidiomycota, ordem Pucciniales) descrito pela primeira vez em 1869 (Berkeley; Broome). A partir das informações provenientes de genomas e com a compreensão de sistemas biológicos por bioinformática foram crescentes as aplicações biotecnológicas empregadas no controle de patógenos de plantas. A estratégia SBDD (structural based drug design) para desenvolver inibidores químicos para a síntese de toxinas em *Fusarium graminearum*. A abordagem SBDD pode reduzir tempo e investimentos para encontrar soluções menos tóxicas para o meio ambiente e para a saúde humana. Assim, o principal objetivo deste trabalho é a busca de novas moléculas para o controle de *H. vastatrix* com base na estrutura de alvos proteicos. Para tanto, selecionamos proteínas específicas expressas do genoma de *H. vastatrix*, bem como a simulação da estrutura tridimensional em sistemas complexos e a varredura virtual de compostos químicos. Concomitantemente, foram feitos ensaios de expressão do fungo germinado em meio aquoso por 24 horas. Corroborando os achados teóricos, foram validados experimentalmente 10 compostos químicos (*Life Chemicals Worldwide*) por meio de testes de solubilidade e bioensaios do fungo. Para avaliar a inibição da germinação de uredinísporos, foram realizados testes em discos de folhas de café e, após 24 horas, a germinação de esporos foi avaliada utilizando um microscópio de fluorescência Zeiss AxioPhot. Neste trabalho, a estratégia SBDD se mostrou promissora para o desenvolvimento de novas formas de controle da ferrugem do cafeeiro. Além de que, a presença das proteínas expressas a partir dos genes TrpS (triptofano sintase) e Erg6 (esterol metiltransferase) durante o período de 24 horas na germinação do fungo demonstra potenciais alvos específicos da doença a serem utilizados no desenho de compostos inibidores, os quais poderão gerar novos fungicidas ao mercado agroindustrial.

036 - Caracterização morfológica de *Meloidogyne* sp. em áreas de arroz irrigado no sul do Brasil.

Raycenne Rosa Leite¹, Vanessa da Silva Mattos², Ana Cristina Meneses Mendes Gomes², Juvenil Enrique Cares¹, Regina Dechechi Gomes Carneiro²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Um complexo de espécies de *Meloidogyne* com fenótipos de esterase atípicos (M.sp.0, M.sp.1, M.sp.2 e M. sp.3) foi detectado em áreas orizícolas nos estados de Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Medidas de manejo em áreas de arroz irrigado só serão possíveis após a correta identificação desses nematoides. Uma espécie sem fenótipo de esterase, denominada M.sp.0, foi detectada predominantemente em Santa Catarina. Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar essa espécie críptica, via taxonomia clássica. De acordo com nossos resultados, a espécie apresentou padrão perineal da fêmea com formato circular e estrias descontínuas apresentando uma ligeira elevação. O estilete da fêmea é pequeno (9-13µm) e robusto com bulbos arredondados e projetados para fora da haste. A distância do orifício da glândula dorsal até a base do estilete (DEGO) varia entre 3-6 µm. O poro excretor encontra-se abaixo do DEGO, variando de 21-32 µm. Na região anterior, a fêmea possui a primeira anelação destacada. O macho possui estilete delicado e longo (13-19 µm) com bulbos arredondados e levemente projetados para fora. O DEGO mede de 3 a 6 µm. Região anterior lisa podendo apresentar poucas estrias. O estilete dos juvenis de segundo estágio (J2) é curto (9-13 µm) e o DEGO varia de 2-5 µm. A cauda do J2 é longa (62-76 µm) com região hialina afilada medindo de 15-26 µm. Os caracteres morfológicos e morfométricos, sugerem uma proximidade com a espécie *M. ottersoni*. No entanto, a identificação de espécies do grupo graminis é uma tarefa difícil, pois muitas delas são mal descritas. Mais estudos em taxonomia integrativa serão realizados a fim de determinar com precisão a identidade taxonômica dessa espécie.

037 - Compostos orgânicos voláteis de *Trichoderma* sp. promovem o crescimento de plantas de alface

Lincon Rafael da Silva¹, Maria Cleria Valadares Inglis², Gustavo Henrique Silva Peixoto¹, Bruna Elisa G. D. Luccas¹, Maria Carolina Blassioli Moraes², Sueli Corrêa Marques de Mello²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O gênero *Trichoderma* Persoon compreende um grande número de espécies de fungos. Vários isolados desse fungo têm sido relatados como exímios produtores de compostos orgânicos voláteis (COVs). Estes são metabólitos secundários de baixo peso molecular e boa capacidade de difundirem no solo. O objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade dos COVs produzidos por *Trichoderma* sp. CEN1241 em promover o crescimento de plantas de alface. Para tanto, foram conduzidos dois ensaios. No primeiro, uma pequena placa de Petri contendo um disco de meio BDA colonizado pelo fungo foi colocada dentro de uma placa de Petri maior contendo cinco sementes de alface semeadas em meio Murashige e Skoog (MS); outra placa maior foi sobreposta à placa contendo o meio MS. Desta forma, estabeleceu-se uma atmosfera compartilhada por 14 dias a 23-25 °C e fotoperíodo de 12 h. No segundo experimento, frascos de vidro foram preenchidos com meio BDA e receberam ao centro um disco de BDA colonizado com *Trichoderma* sp. Sacos de tecido voal, preenchidos com solo autoclavado e contendo uma semente de alface, foram fixados a esses frascos à distância de 10 mm do disco de BDA. Outro frasco foi sobreposto e então ambos foram envolvidos com Parafilm e filme plástico transparente. Estabeleceu-se assim, uma atmosfera compartilhada por 21 dias a 23-25 °C e fotoperíodo de 12 h. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste Tukey (P=0,05). Os resultados obtidos demonstram que os COVs de *Trichoderma* sp. CEN1241 foram capazes de incrementar em 60 % a massa fresca total, 85% a massa seca total, 8% o comprimento de parte aérea, 38% o comprimento de raízes e 22% a largura das folhas. Os COVs também aumentaram o teor de clorofila A em 107%, clorofila B em 75%, clorofila total em 99% e os carotenoides em 101%. Portanto, evidenciou-se a alta capacidade dos COVs produzidos pelo isolado de *Trichoderma* CEN1241 em promover o crescimento de plantas de alface.

038 - CRISPR/Cas9 apresenta primeiros mutantes de *Trichoderma harzianum* com marca auxotrófica

Amanda Vieira¹, Giovanni R Vianna², Jéssica Carrijo³, Francisco Aragão², Pabline Marinho Vieira⁴

¹Instituto Federal Goiano; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia;

³Universidade de Brasília; ⁴Instituto Federal de Brasília

Trichoderma harzianum é um fungo filamentoso utilizado como agente de controle biológico de pragas agrícolas. Este microrganismo é mundialmente estudado e seus genes são patenteados tanto para uso em biofungicidas quanto em estratégias de melhoramento genético de plantas. Nesse trabalho, apresentamos pioneiramente linhagens mutantes dessa espécie contendo marca auxotrófica produzida através da inovadora técnica CRISPR/Cas9. Para isso, foi realizada a transformação genética de *T. harzianum* com o vetor de deleção através de biobalística e, após as análises moleculares nos mutantes obtidos, estes foram avaliados quanto ao crescimento em diferentes meios seletivos e à capacidade de biocontrole de fitopatógenos. Como resultado, o sequenciamento do gene, referente à marca auxotrófica (*pyr4*) nos mutantes, demonstrou que CRISPR/Cas9 desencadeou tanto deleções quanto inserções de bases na região alvo. Além disso, a análise fenotípica desses mutantes em ausência de uridina comprovou a redução no crescimento, bem como, a resistência ao ácido 5-fluorótico como agentes seletivos. Com relação à capacidade de micoparasitismo de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium oxysporum*, observou-se que o nocaute gênico nesses mutantes não interferiu na capacidade de biocontrole desses fitopatógenos. Com isso, este trabalho é pioneiro ao utilizar essa promissora técnica para deleção de genes nessa espécie de biocontrole e, esses mutantes expressando Cas9 representam perspectiva biotecnológica para novas validações e patenteamento de genes em biotecnologia agrícola.

039 - Desenvolvimento de nanoantibióticos: veiculação de antibióticos em sistemas nanoestruturados e avaliação dos efeitos antibacterianos

Camila Letícia Ferreira¹, Luciano Paulino Silva²

¹Universidade Federal do Paraná; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A invenção e utilização de antibióticos revolucionou o tratamento de doenças causadas por infecções bacterianas. Ao longo dos anos, o arsenal de antibióticos disponíveis no mercado aumentou expressivamente com o desenvolvimento científico e tecnológico. No entanto, o surgimento de resistência de microrganismos aos antibióticos, e a diminuição do interesse da indústria farmacêutica em produzir medicamentos dessa classe representam um grande desafio para o tratamento de infecções. Assim, o presente estudo tem como objetivo desenvolver formulações de sistemas nanoestruturados contendo antibióticos convencionais visando ao aprimoramento das atividades e características dessas moléculas. O copolímero Pluronic® F-127 foi utilizado para formação de micelas poliméricas em meio aquoso por meio da auto-organização, e os antibióticos foram incorporados à solução após a solubilização do copolímero ou em alguns casos adicionados juntamente com este. Como antibióticos foram utilizados ampicilina sódica, cloridrato de tetraciclina, cloranfenicol e estreptomicina. Esses antibióticos representam cada qual uma classe diferente de antibióticos e consequentemente propriedades físico-químicas variadas. Os nanossistemas (nanoantibióticos) ainda serão caracterizados quanto à sua morfologia, à carga, ao tamanho e aos seus aspectos térmicos. Após a caracterização será avaliado o potencial antimicrobiano *in vitro* dos sistemas nanoestruturados em isolados de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, e comparado com os efeitos dos antibióticos livres. Também será avaliada a aplicabilidade dos nanossistemas em procedimentos laboratoriais com aplicação em diferentes superfícies e monitoramento do crescimento bacteriano. Modelos vegetais serão submetidos ao tratamento com os nanossistemas em diferentes concentrações e será observada a possível resistência dessas plantas tratadas frente a patógenos bacterianos importantes na agricultura, como a *Xanthomonas campestris* e *Erwinia amylovora*. Assim, são esperadas formulações de nanoantibióticos com características diferentes e potencialmente melhores que aquelas dos antibióticos livres, ainda, com possíveis aplicações médicas e na agricultura.

040 - Histopatologia comparada de *Oryza sativa* e *O. glumaepatula* a *Meloidogyne graminicola*.

Raycenne Rosa Leite¹, Vanessa da Silva Mattos², Ana Cristina Meneses Mendes Gomes², Juvenil Enrique Cares¹, Regina Dechechi Gomes Carneiro²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Meloidogyne graminicola causa danos significativos à cultura do arroz em várias partes do mundo e fontes de resistência a *M. graminicola* registradas em *Oryza sativa* são limitadas. Resistência a esta espécie tem sido encontrada em *O. glaberrima* e *O. longistaminata*. O objetivo deste trabalho foi determinar o mecanismo de resistência em *O. glumaepatula* a *M. graminicola*. Resultados de observações histológicas da interação de *O. glumaepatula* e *M. graminicola* mostraram redução da penetração de juvenis de segundo estágio (J2) quando o acesso selvagem resistente foi comparado a *O. sativa*. Uma intensa reação de hipersensibilidade foi observada 2 dias após a inoculação (DAI) no córtex radicular do acesso resistente. Poucos J2s foram capazes de se estabelecer no cilindro central e algumas raras células gigantes colapsadas circundavam fêmeas degeneradas. Microscopia fluorescente em *O. glumaepatula* mostrou células gigantes e o corpo das fêmeas presumivelmente exibindo acúmulos de compostos fenólicos. Pode-se distinguir 3 tipos de respostas de defesa: a) resistência pré-infectiva; b) resistência pós-infectiva, com uma reação de HR no córtex radicular; e c) uma resposta tardia apresentada pelo acúmulo de compostos fenólicos nas células gigantes e nas fêmeas. Esse estudo sugere que acessos selvagens de arroz, especialmente os genótipos AA, tais como *O. glumaepatula*, são de grande interesse para usos futuros em programas de melhoramento com *Oryza* spp.

041 - Intercepção de barley stripe mosaic virus (BSMV), praga quarentenária ausente no Brasil, em germoplasma importado de cevada (*Hordeum vulgare*)

Thainá Berbert Gelelete¹, Giovana Curcio Guimarães¹, Tallyrand Moreira Jorcelino², Marcio Martinello Sanches², Norton Porto Benito², Marília Santos Silva²

¹Centro Universitário de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O Núcleo de Gestão da Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal (NEQGV) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) objetiva impedir a entrada e disseminação de pragas quarentenárias regulamentadas (ausentes e presentes restritas no Brasil) de acordo com a IN no 39, de 01/10/2018 do Ministério de Agricultura, Agropecuária e Abastecimento (MAPA), a partir de germoplasma vegetal introduzido no país para fins de pesquisa. Nesse contexto, em 2019, Barley stripe mosaic hordevirus (BSMV), praga regulamentada como quarentenária ausente no país, foi interceptado pelo NEQGV em processo confidencial de importação de sementes de cevada (*Hordeum vulgare*). BSMV foi detectado por Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) utilizando-se antissoro comercial em duplicatas, com espectrofotometria resultante de 1063 vezes maior em amostras foliares sintomáticas oriundas do processo de cevada em relação ao controle negativo. Como BSMV é regulamentado como praga quarentenária ausente no país, sua detecção pelo NEQGV implicou em recomendação de destruição da amostra importada de sementes de cevada por incineração, justificada em laudo técnico. Amostra de folhas sintomáticas de cevada infestadas por BSMV foram armazenadas em ultrafreezer para futuro e oportuno uso como controle positivo em diagnoses quarentenárias e/ou rastreio por germoplasma vegetal resistente a BSMV. Os genótipos vegetais oportunamente identificados como resistentes a BSMV poderão ser indicados tanto para cultivo, banco de germoplasma e uso em programas de melhoramento preventivo. A intercepção quarentenária de BSMV em cevada a ser importada para o Brasil reforça a necessidade de pesquisas em inteligência quarentenária, de desenvolvimento e validação de métodos diagnósticos moleculares mais sensíveis e acurados, e de melhoramento genético vegetal preventivo para combater a vulnerabilidade de introdução de pragas quarentenárias ausentes no país, que podem comprometer seriamente o setor primário da economia nacional.

042 - Manejo do nematoide *Meloidogyne enterolobii* utilizando óleos essenciais em sistemas emulsionados nanoestruturados

Davi Peterson Spindola Dunk Rocha¹, Lenita Lima Haber², Luciano Paulino da Silva²

¹Centro Universitário de Desenvolvimento do Centro Oeste; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Meloidogyne enterolobii é um fitonematoide que causa prejuízos expressivos no cultivo de hortaliças, como pimentão. Alguns dos métodos de controle/manejo são mecânicos, consistindo na total retirada das culturas antigas para um novo plantio no intuito de evitar a presença de possível inóculo no solo; genéticos, utilizando plantas resistentes a essa praga; e químicos, utilizando agentes nematicidas. Por esse motivo, a busca por alternativas sustentáveis baseadas em tecnologias verdes representa uma possível mudança de paradigma na medida em que oferece novas possibilidades para o manejo deste e outros fitonematoides. Dentre essas alternativas, o uso de óleos essenciais constitui uma estratégia recente para o controle de nematoides e outras pragas, sendo esta abordagem em perfeito alinhamento com os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODSs), e consequentemente com amplos potenciais, sobretudo quando utilizados na forma nanoestruturada com vistas a superar alguns desafios relacionados à aplicação na forma livre como degradação, lixiviação e volatilização precoces. Assim, o propósito deste estudo é produzir emulsões e avaliar os efeitos de 7 diferentes óleos essenciais oriundos da Coleção de Plantas Aromáticas e Medicinais da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia sobre a mortalidade de fitonematoides *M. enterolobii*, assim como avaliar a supressão do número de galhas e massas de ovos nas raízes da cultura do pimentão. Nesta primeira etapa, óleos essenciais foram diluídos em solução de água tipo I e dimetilsulfóxido (DMSO) para fins de solubilização e avaliação da possível nanoestruturação espontânea por espalhamento de luz dinâmico (DLS). Para tal, alíquotas de cada um dos 7 óleos essenciais foram acondicionadas em microtubos de 2,0 mL, adicionalmente ao controle (sem óleo) para que posteriormente fossem analisados por DLS para identificação da possível formação de nanossistemas e avaliar suas cargas superficiais por meio de potencial Zeta. Posteriormente serão produzidas emulsões do tipo óleo em água na presença de variados surfactantes e condições no intuito de otimizar e aperfeiçoar aspectos das formulações como estabilidade e aplicabilidade.

043 - Plantas de *Catharantus roseus* L. infectada por fitoplasmas dos subgrupos 16srxiii-e e 16srxiii-h no Brasil

Jéssika Veridiano Dutra¹, Júlio César Barbosa², Marília Santos Silva³, Tallyrand Moreira Jorcelino³, Marcio Martinello Sanches³, Ivan Paulo Bedendo⁴, Raphael Igor Da Silva Corrêa Dias¹ e Bárbara Eckstein³

¹Centro Universitário de Brasília; ²Bayer; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ⁴Universidade de São Paulo

Fitoplasmas do grupo 16SrXIII são pragas emergentes na América Latina. Somente no Brasil, três novos subgrupos foram descritos, incluindo 16SrXIII-E, 16SrXIII-H e 16SrXIII-J. Plantas da espécie vegetal *Catharantus roseus* L. (vinca) são consideradas hospedeiras universais de fitoplasmas, uma vez que podem multiplicar todos os fitoplasmas conhecidos até o momento. No ano de 2008 plantas de vinca com virescência e filodia, sintoma típico de infecção por fitoplasma, foram encontradas na cidade de Carmo do Paranaíba em Minas Gérias. O objetivo desse trabalho foi detectar e descrever os fitoplasmas na planta de *Catharantus roseus* L analisada. Para tal, realizou-se a extração de DNA e análise molecular com iniciadores universais para fitoplasmas, assim como de RFLP, clonagem e sequenciamento dos fragmentos amplificados. Fragmentos de tamanho esperado foram obtidos e a análise de RFLP revelou que se tratava de sequências de fitoplasmas do grupo 16SrXIII, assim como observou-se que haviam perfis sobrepostos referentes à duas sequencias. Após clonagem e sequenciamento dos fragmentos, se obteve duas sequências distintas, as quais foram classificadas de acordo com as normas do Comitê Internacional de Classificação de Fitoplasmas como pertencentes aos subgrupos 16SrXIII-E e 16SrXIII-H, ambos de ocorrência natural no Brasil. Através das análises realizadas não é possível saber se a planta estava infectada por dois fitoplasmas ou com um fitoplasma que possui heterogeneidade de sequência entre as duas cópias do gene 16S rDNA (usado para sua classificação). Esse é o primeiro relato de fitoplasmas desses subgrupos em plantas de vinca naturalmente infectadas no Brasil. A vinca pode servir de reservatório dessa(s) bactéria(s), no entanto o seu papel em patossistemas envolvendo esse grupo de bactérias ainda é desconhecido.

044 - Pragas que afetam arquivos e bibliotecas no Distrito Federal e seu controle

Karolina de Brito da Silva¹, Norton Porto Benito², Denise Navia Magalhães Ferreira², Araidle Fontes Urben²

¹Universidade do Distrito Federal; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Os fungos e os ácaros são pragas que mais afetam o ambiente interno das bibliotecas, arquivos, rolos de filmes, dentre outros documentos. A presença desses organismos, principalmente de fungos, favorece a biodeteriorização do acervo bibliográfico, devido as suas enzimas celulases e lignases, encontradas no micélio. Em ambientes fechados, com ventilação e climatização artificiais podem causar ao homem, manifestações alérgicas que afetam o aparelho respiratório, dores de cabeça e de garganta, pneumonia hemorrágica, entre outras doenças. O objetivo da pesquisa foi a identificação de pragas, como fungos e ácaros que causam prejuízos em material que abrigam impressos, existentes em bibliotecas e arquivos, e os riscos que podem causar à saúde humana. Foram realizadas coletas do ar atmosférico, através de exposição estática de 120 placas de Petri abertas contendo o meio batata-dextrose-água (BDA), durante 15 minutos, em determinados pontos das áreas dos arquivos e bibliotecas, de 06 diferentes órgãos públicos do Distrito Federal. As placas foram fechadas, etiquetadas de acordo com o local de exposição e posteriormente incubadas durante 07-10 dias, sob luz fluorescente contínua. Fungos identificados: *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Alternaria alternata*, *Epicoccum sorghi*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Chaetomium olivaceum*, *Basipetospora chlamydospora*, entre outros. Os de maior ocorrência foram: *Cladosporium cladosporioides* (100%), *Aspergillus flavus* (60%) e *Aspergillus niger* (60%). Ácaros do bolor, *Tyrophagus putrescentiae* (Astigmatina, Acaridae), foram detectados em associação a colônias de *C. cladosporioides* e de *F. oxysporum*. Os fungos e ácaros foram erradicados usando medidas de controle como: higienização periódica do ambiente, com detergente líquido (chão) diariamente, manutenção e limpeza dos livros ou arquivos, com pano levemente umedecido com água e prateleiras com álcool a cada 6 meses ou uma vez ao ano, filtração do ar, monitoramento diário no ambiente de trabalho e mudança de hábito dos funcionários. Esta pesquisa e seus resultados, podem contribuir com novos estudos, bem como determinar políticas institucionais de largo alcance para ambientes de bibliotecas e arquivos no país.

045 - Primeiro relato de *Meloidogyne izarcoensis* e levantamento de *Meloidogyne* spp. em cafeeiros no Triângulo Mineiro

Marcilene Fernandes Almeida dos Santos¹, Daniela Rossato Stefanelo², Vanessa da Silva Mattos³, Massako Toma Braghini⁴, Sonia Maria Lima Salgado⁵, Regina Dechechi Gomes Carneiro³

¹Universidade Católica de Brasília; ²Universidade do Estado da Bahia; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ⁴Universidade Estadual de Campinas; ⁵Epamig Sul - UFLA

Neste estudo foi realizada a identificação de uma nova espécie de *Meloidogyne* no Triângulo Mineiro, em plantas de cafeeiro, e também a detecção de outras espécies de nematoides de galhas ocorrentes nessa região. Para tanto, foram empregadas técnicas bioquímicas a partir dos fenótipos da enzima esterase (Est) e técnicas moleculares, a partir dos marcadores moleculares espécie-específico do tipo SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions). A utilização dessas técnicas permitiu a identificação de *M. izarcoensis* em Indianópolis, MG, que havia sido descrita pela primeira vez em El Salvador parasitando plantas de cafeeiro. Em uma prospecção posterior em locais próximos a detecção dessa espécie nova, foram encontradas outras três espécies de *Meloidogyne* parasitando cafeeiros no Triângulo Mineiro: *M. exigua*, *M. paranaensis* e *M. incognita*. Em amostras de dois locais, misturas de *M. exigua* e *M. paranaensis* foram detectadas; em outra amostra ocorreram populações mistas de *M. exigua* e *M. incognita*. Os fenótipos de esterase e os marcadores moleculares SCAR foram eficientes na identificação de espécies de *Meloidogyne* spp., que parasitam o cafeeiro. Esse foi o primeiro relato de *M. izarcoensis* ocorrendo em cafeeiros no Brasil, e a sua distribuição parece restrita. Entretanto, mais estudos são necessários para precisar a distribuição de *M. izarcoensis* no Triângulo Mineiro.

046 - Quantificação pela técnica de real-time PCR do baculovírus SfMNPV produzido em cultivo de células de inseto utilizando biorreatores

Giovana Curcio Guimarães¹, Marcio Martinello Sanches², Marlinda Lobo de Souza², Karina Klafke³, Aldo Tonso³, Ana Lis Rangel dos Santos¹, William Sihler²

¹Centro Universitário de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia;

³Universidade de São Paulo

Uma das principais dificuldades enfrentadas pela agricultura brasileira é o controle de insetos-praga. A lagarta do cartucho-do-milho (*Spodoptera frugiperda*) é uma espécie polífaga que ataca dezenas de culturas economicamente importantes em vários países. No Brasil, ela é considerada a principal praga na cultura do milho. Com o intuito de diminuir a aplicação de inseticidas químicos, um grupo de vírus de inseto denominado baculovírus tem sido empregado como agente de controle de lepidópteros-praga. O vírus *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus* (SfMNPV) tem sido utilizado para este fim, porém atualmente sua produção é realizada somente pela sua multiplicação no inseto hospedeiro (in vivo). Para o desenvolvimento das técnicas de produção em cultivos celulares (in vitro) em biorreatores, é fundamental uma quantificação acurada da produção viral. O objetivo deste trabalho foi testar a técnica de PCR quantitativo em tempo real (qPCR) em amostras provenientes de infecção de células Sf9 com o baculovírus SfMNPV, em biorreatores, com valores diferentes de Multiplicidade de Infecção (MOI). As infecções foram feitas utilizando-se dois tipos de equipamentos: (1) biorreator padrão STR (Stirred Tank Reactor) com aspersão de gás (BioFlo 110) e (2) um sistema bubble free (BioStat B), equipado com uma membrana de silicone permeável a gás para a transferência de oxigênio. As amostras foram coletadas em diferentes dias após infecção. As células foram sedimentadas, lisadas com SDS 1% e submetidas a extração de DNA com kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen). O DNA obtido das passagens virais foi analisado por qPCR usando o sistema Sybr green, com kit Platinum Sybr Green qPCR Supermix-UDG (Invitrogen) com primers desenhados para gene Sf32 de SfMNPV. Os resultados demonstraram sucesso na quantificação viral através desta metodologia, evidenciando o aumento na quantidade de DNA ao longo do tempo concomitantemente ao aumento de partículas virais (poliedros).

047 - Recuperação da coleção de cogumelos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia a longo prazo

Gabriel Rapôso Ciarlini¹, Gabriel Malta Sampaio², Vera Lucia Perussi Polez³, Arailde Fontes Urben³

¹UNIP; ²Centro Universitário de Brasília; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O Banco de Germoplasma de cogumelo para uso humano, criado em 1998, contém uma coleção de 573 macromicetos (entre diferentes espécies e linhagens fúngicas), obtidos de coletas e de outras coleções nacionais e estrangeiras. É de suma importância a preservação e recuperação desses cogumelos. Eles apresentam fontes de proteínas, vitaminas, minerais, fibras e carboidratos, com baixo teor de lipídeos. O objetivo deste trabalho foi de avaliar a recuperação de diversas espécies de cogumelos e usar novas técnicas de preservação a longo prazo. O experimento foi realizado no Laboratório de Cogumelos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Os fungos utilizados foram obtidos da coleção de cogumelos, datados dos anos de 2005 a 2006. As placas analisadas estavam impróprias para utilização devido estarem ressecadas. Técnicas de recuperação foram usadas na tentativa de restaurar as cepas desnutridas e desidratadas. Durante o processo de recuperação dos isolados foram utilizados grãos de sorgo ou trigo, previamente cozidos em autoclave durante 20 minutos a 121°C e então levados para secar ao livre, sem realizar a lavagem do material. Após esse processo, os grãos foram acondicionados em tubos Falcon e esterilizados durante 1:30hs, a 121°C de temperatura. Em uma capela de fluxo laminar foram transferidos 180µL de água destilada, previamente esterilizada, para a placa de Petri contendo a colônia fúngica desejada, com o uso de um pipetador automático. A placa foi agitada suavemente, a fim de hidratar o micélio e realizar a suspensão dos esporos na água destilada. Com o pipetador, foi retirado uma fração de 30µL do líquido resultante, transferindo-o para o tubo Falcon contendo os grãos. O procedimento foi realizado em triplicatas. Os tubos Falcon foram incubados à 23-24°C durante 7-14 dias e posteriormente armazenados em sala fria a 5°C. Na avaliação dos resultados verificou-se que seis diferentes espécies de cogumelos apresentaram crescimento vegetativo vigoroso, denso e cotonoso com o uso dessa nova técnica de preservação.

048 - Screening de nanopartículas de prata sintetizadas a partir de resíduos agroindustriais para aplicações antimicrobianas

Thalita Fonseca de Araujo¹, Luciano Paulino Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A síntese verde de nanopartículas metálicas (NPMs) tem ganhado cada vez mais atenção, por ser uma abordagem que utiliza extratos de recursos biológicos para sintetizar NPMs ao invés de utilizar químicos possivelmente tóxicos para o meio ambiente. Dentre os diferentes metais, o uso da prata em função das suas propriedades antimicrobianas é relatado há centenas de anos, sendo que as nanopartículas de prata (AgNPs) têm ação contra uma gama de bactérias. Sendo assim, este estudo teve como objetivo analisar AgNPs sintetizadas com diversos resíduos agroindustriais com relação às suas prováveis atividades antimicrobianas contra bactérias. Para tanto, foram produzidos extratos aquosos de 20 resíduos agroindustriais, em que estes foram fragmentados e fervidos durante 2 min. Após, a solução aquosa extraída foi filtrada e o filtrado foi utilizado como agente redutor de íons prata e estabilizante de AgNPs, sendo que este foi testado em duas concentrações diferentes (1 e 16 mg/mL). Então, foi adicionado nitrato de prata (AgNO₃) para concentração final de 1 mM aos extratos e estes foram acondicionados em banho-maria para reação de formação. Para os testes concentração inibitória mínima foram utilizadas as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, que foram cultivadas em meio líquido Luria-Bertani. As AgNPs, os controles de extrato, de íon metálico e controles negativos e positivos foram adicionados a placas de 96 poços em triplicatas nas concentrações de 256, 128, 64, 32, 16 e 8 µM. Então, as bactérias tiveram a sua densidade óptica corrigida para 0,05 e foram aplicadas nas microplacas, que foram incubadas em estufa bacteriológica por 72 h. Foi observado que a maioria dos resíduos de frutas testados foram eficazes agentes para produção de AgNPs, excetuando um destes. Ademais, as AgNPs produzidas com os extratos a 1 mg/mL foram mais eficazes em sua ação antimicrobiana, quando comparadas às partículas produzidas com extrato a 16 mg/mL. Em conclusão, foram produzidas AgNPs de forma eco-amigável e de custo baixo que são agentes eficazes contra bactérias.

049 - Seleção de fontes de resistência em *Oryza* spp. a *Meloidogyne* spp.

Raycenne Rosa Leite¹, Vanessa da Silva Mattos², Jório Saraiva Mendonça², Juvenil Enrique Cares¹, Regina Dechechi Gomes Carneiro²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Levantamentos feitos no sul do Brasil detectaram *Meloidogyne graminicola* e *M. oryzae* (= *Meloidogyne* sp.1), e outras três espécies de perfil de esterase atípico: *Meloidogyne* sp.0, *Meloidogyne* sp.2 e *Meloidogyne* sp.3. O manejo eficiente de espécies de *Meloidogyne* pode ser realizado pela rotação com culturas não hospedeiras ou resistência genética. Em *Oryza sativa*, foram observados níveis altos de suscetibilidade a *M. graminicola*, enquanto que para as espécies *O. glaberrima* e *O. longistaminata* detectou-se apenas resistência moderada. O objetivo deste trabalho foi avaliar a reação de resistência ou suscetibilidade, em seis espécies de arroz, a duas espécies crípticas de *Meloidogyne*, detectadas em plantios de arroz no sul do Brasil (*Meloidogyne* sp.0 e *Meloidogyne* sp.2). Os experimentos foram conduzidos paralelamente em casa de vegetação e repetidos em tempos diferentes. Foram utilizadas quatro espécies selvagens de arroz (*O. glumaepatula*, *O. grandiglumis*, *O. longistaminata* e *O. alta*), além do arroz africano *O. glaberrima* e do asiático *O. sativa* (controle). Plantas de arroz foram inoculadas com 5.000 ovos de cada nematoide, em delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 8 repetições e avaliadas após 90 dias. As espécies *O. glumaepatula*, *O. alta* e *O. glaberrima*, se comportaram como altamente resistente nos dois ensaios, tanto para *Meloidogyne* sp.0 quanto para *Meloidogyne* sp.2, apresentando FR<1. *Oryza grandiglumis* permitiu reprodução dos nematoides, embora se apresente como moderadamente resistente (FR1:3,33 e FR2: 2,01 para *Meloidogyne* sp.0 e FR1:3,14 e FR2: 1,62 para *Meloidogyne* sp.2). *Oryza longistaminata* foi a espécie selvagem que mais permitiu a multiplicação dos nematoides (FR1:15,95 e FR2: 6,48 para *Meloidogyne* sp.0 e FR1:6,77 e FR2: 5,73 para *Meloidogyne* sp.2). Ambos os nematoides obtiveram alta reprodução em *O. sativa* nos dois ensaios, fato que comprova essa planta como boa hospedeira para essas duas espécies de nematoides das galhas. A espécie *O. glumaepatula* apresentou alta resistência a *M. graminicola* em estudos anteriores e disposta como promissora no melhoramento genético, por pertencer ao mesmo grupo genômico que *O. sativa*, AA.

050 - Seleção de linhagens de *Trichoderma* promotoras de crescimento do tomateiro

Sheila Freitas De Almeida¹, Ana Luiza Bezerra Cardoso², Bruna Elisa G. D. Luccas¹, Gustavo Henrique Silva Peixoto¹, Jansen Rodrigo Pereira Santos³, Irene Martins⁴, Sueli Corrêa Marques De Mello⁴

¹Universidade de Brasília; ²União Pioneira de Integração Social; ³Universidade Federal de Santa Maria; ⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Fungos do gênero *Trichoderma* spp. tem demonstrado, como característica intraespecífica, habilidade para promover o crescimento de plantas. O objetivo desta pesquisa foi testar a influência de sete linhagens pertencentes à coleção do CENARGEN (CEN162, CEN287, CEN288, CEN289, CEN290, CEN1153 e CEN1399) e três comerciais (UFT 201, SF 04 e ESALQ 1306), formuladas ou originadas de cultivos monospóricos, sob o desenvolvimento de plantas de tomateiro 'Santa Clara'. As sementes foram submetidas à assepsia seguida de microbiorização na concentração de 1×10^6 mL⁻¹ /0,2 g de sementes. Cinco sementes foram semeadas em vasos contendo 500 gramas de substrato (solo esterilizado Embrapa + Bioplant®) na proporção 1:1, previamente tratado com 10 ml de suspensão/vaso à concentração de $1,43 \times 10^6$ esporos/mL. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado com oito repetições. Trinta e sete dias após a germinação, uma planta de cada vaso foi avaliada quanto à altura e peso seco de parte aérea, comprimento radicular e peso fresco de raízes. As médias foram comparadas pelo teste de Scott knott ($p < 0,05$). Não houve influência da aplicação de *Trichoderma* sobre peso seco de parte aérea e comprimento radicular, em comparação com a testemunha. No entanto, a maioria das linhagens testadas promoveu incrementos significativos na altura das plantas. Também, observou-se o aumento de peso fresco de raízes com as linhagens CEN162, CEN1153, CEN1399, ESALQ 1306 (monospórica) e SF 04 (formulado). Portanto, os resultados mostram a capacidade das linhagens de *Trichoderma* como promotoras de crescimento em tomateiro e ressalta a importância da pesquisa na identificação de bioestimulantes eficazes, a serem desenvolvidos e disponibilizados no mercado futuro.

051 - Síntese verde e atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata produzidas utilizando extratos de plantas euro-asiáticas

Ivonaldo Reis Santos¹, Angela Mehta², Luciano Paulino da Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Uma alternativa mais segura, baseada nos conceitos da Química Verde, para a produção de nanopartículas metálicas é a utilização de extratos de plantas, onde são utilizados reagentes menos nocivos e de fontes renováveis. Esta abordagem apresenta vantagens como biocompatibilidade, estabilidade, sustentabilidade, rapidez e custo efetivo. Nesse contexto, o presente estudo teve por objetivo a síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando extratos de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), neem (*Azadirachta indica*) e noni (*Morinda citrifolia*) como agentes redutores e estabilizantes, bem como sua caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana contra o fitopatógeno *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. As reações de síntese de AgNPs foram realizadas com os extratos aquosos de folhas de repolho, cultivadas na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Folhas de neem também foram utilizadas para as sínteses de AgNPs, coletadas no inverno em locais distintos do Distrito Federal (Brasília e Sobradinho); e folhas de noni coletadas no inverno em Sobradinho. As reações de síntese foram realizadas utilizando, 10, 15, 20, 25 e 30 mg/mL de materiais biológicos frescos utilizados na preparação dos extratos. Após formadas, as AgNPs apresentaram grande variação nos diâmetros hidrodinâmicos (DHs) e nos índices de polidispersividade (Pdl) observados em decorrência da concentração do extrato. Para as AgNPs formadas utilizando extrato de repolho os DHs variaram de 2136,0 – 3218,0 nm e Pdl 0,481 – 0,709. Nas sínteses utilizando folhas de neem coletadas em Brasília e Sobradinho os DHs variam entre 890,1 – 2958 e 168,3 – 1513 nm, e apresentaram valores de Pdl 0,506 – 0,780 e 0,371 – 0,717, respectivamente. Na síntese utilizando folhas de noni os DHs variam entre 724,0 – 1163 nm, e Pdl moderados (0,40 – 0,54). Potencial Zeta de superfície dessas AgNPs chegou a cerca de -23,7 mV. As amostras de AgNPs obtidas dos extratos de folhas de repolho, neem e noni serão submetidas a testes biológicos possibilitando a sua aplicação no controle de *Xanthomonas* em brassica.

052 - Transmissão de cowpea mild mottle virus por sementes de feijoeiro comum em diferentes cultivares

Gustavo Pereira Felix¹, Bruna Pinheiro de Lima¹, Andreza Henrique Vidal¹, Dione Mendes Teixeira Alves-Freitas¹, Ana Luiza Machado Lacerda¹, Marina Minari Rocha de Carvalho¹, Mario Alfredo De Passos Saraiva², Patricia Valle Pinheiro³, Cristiano Lacorte², Josias Correa de Faria⁴, Simone da Graça Ribeiro²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ³Cornell University; ⁴University of Wisconsin

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) é um importante alimento no Brasil e é afetado por vários vírus, como o *Cowpea mild mottle virus* - CPMMV (gênero *Carlavirus*, família *Betaflexiviridae*). O CPMMV, vírus 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, por meio da visualização dos sintomas e ELISA como métodos de avaliação. Neste trabalho, utilizamos as técnicas de RT-PCR e Southern-Blot para analisar a transmissão de CPMMV por sementes de feijoeiro. Folhas de feijoeiros das cultivares BRS FC 401 RMD e Pérola foram inoculadas mecanicamente com CPMMV. A confirmação da infecção por CPMMV se deu via técnica de RT-PCR. As sementes das plantas inoculadas foram coletadas, plantadas e cultivadas em câmara de crescimento protegidas de insetos. O RNA total foi extraído de folhas jovens 30 dias após a inoculação. O RNA foi quantificado, e tratado com DNase. O cDNA foi preparado usando oligodT e primers randômicos com transcriptase reversa SuperScript III. O gene Actina 11 foi utilizado para verificação de qualidade do cDNA via técnica de PCR. Transmissão de CPMMV por sementes foi detectada em 15,79% (9/20) e 8,7% (3/23) das plantas das cultivares BRS FC RMD 401 e Pérola, respectivamente, quando avaliadas por técnica de PCR utilizando de primers específicos para CPMMV, seguido de Southern-Blot utilizando sonda específica para CPMMV marcada com 32P. Resultados mostram que o isolado do CPMMV brasileiro é transmitido por sementes das cultivares de feijoeiro BRS FC 401 RMD e Pérola.

053 - *Trichoderma*, um promotor de crescimento de raízes de tomateiro e de populações de *Meloidogyne enterolobii*

Sheila Freitas de Almeida¹, Ana Luiza Bezerra Cardoso², Bruna Elisa G. D. Luccas¹, Jansen Rodrigo Pereira Santos³, Carlos Eduardo Estevanato dos Santos¹, Regina Dechechi Gomes Carneiro⁴, Sueli Corrêa Marques de Mello⁴

¹Universidade de Brasília; ²União Pioneira de Integração Social; ³Universidade Federal de Santa Maria; ⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Meloidogyne enterolobii é um patógeno emergente no Brasil, considerado altamente destrutivo ao tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.). Ainda são escassos resultados de pesquisa envolvendo *Trichoderma* no controle desse nematoide. O objetivo deste trabalho foi selecionar linhagens de *Trichoderma* que promovam crescimento de raízes de tomateiro e reduzam populações de *M. enterolobii*. Plantas de tomateiro 'Santa Clara' com 13 dias de idade foram transplantadas para vasos contendo solo tratado com suspensão de conídios de diferentes linhagens de *Trichoderma*, à concentração de 1,43x10⁶ conídios/mL (10 ml/vaso). Após seis dias foi realizada a inoculação de 5000 ovos de *M. enterolobii* na planta. Testaram-se oito linhagens pertencentes à coleção CENARGEN e três comerciais (Trichoplus, Trichodermil e Quality) formuladas ou originadas de cultivos monospóricos. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado com 8 repetições. Após três meses foram avaliados: peso fresco das raízes, índice de galhas, índice de massas de ovos, total de ovos, número de ovos/grama de raiz e fator de reprodução (FR). As médias foram comparadas pelo teste de Scott knott ($p<0,05$) e a correlação entre os parâmetros analisada pela correlação de Pearson ($p<0,05$). A aplicação de CEN288, CEN289, CEN290, CEN316, CEN1153, CEN1399, SF 04 monospórico e formulado (Quality), ESALQ 1306 monospórico e formulado (Trichodermil) aumentou significativamente o peso fresco de raízes quando em comparação com a testemunha. Todos esses, exceto CEN316, também promoveram aumento significativo do FR quando comparado com a testemunha inoculada com nematoides. O FR foi correlacionado de forma positiva e significativa com o peso fresco de raízes, índice de galhas, índice de massas de ovos, ovos/ gramas de raiz e total de ovos. Quase todas as linhagens promoveram o desenvolvimento das raízes, mas nenhuma delas reduziu significativamente a população do nematoide. Esses resultados, mesmo que ainda preliminares, podem ser preocupantes uma vez que já existem produtos no comércio, registrados para o controle de nematoides e usados em condições de campo.

054 - Triagem de isolados de *Trichoderma* spp. para o biocontrole de *Fusarium crassistipitatum*, agente etiológico da podridão vermelha da raiz da soja

Gustavo Henrique Silva Peixoto¹, Lincon Rafael da Silva¹, Paulo Henrique Pereira Costa Muniz², Ana Beatriz Zacaroni³, Sueli Corrêa Marques de Mello³

¹Universidade de Brasília; ²Universidade Estadual de Goiás; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O gênero *Fusarium*, causador da podridão vermelha da raiz da soja, é capaz de afetar a planta em todos os estádios fenológicos. A ocorrência da doença tem se tornado um fator limitante para a produção brasileira, pois não há tratamento eficiente para infestações. Assim, o controle biológico vem cada vez mais ocupando espaço no cenário agrícola, a exemplo do uso de *Trichoderma*, com aplicações no controle de doenças e na promoção do crescimento de plantas. Essa técnica apresenta-se como alternativa sustentável, pois os bioagentes contribuem fortemente para redução do uso de fungicidas químicos. O objetivo deste trabalho foi, através do método de pareamento de culturas, verificar a capacidade antagonista de diferentes linhagens de *Trichoderma* spp. contra *F. crassistipitatum*. Foram utilizadas 46 linhagens da Coleção de Fungos para Controle de Fitopatógenos e Plantas Daninhas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e um isolado de *F. crassistipitatum* (CMS24) da Coleção de Microrganismos da Embrapa Soja. Foi utilizada a técnica de pareamento de culturas em placas de Petri (100 mm). Estas foram acondicionadas em câmara BOD, à temperatura de 28°C, sendo que o patógeno foi depositado na superfície do meio 72 horas antes do agente de biocontrole. Utilizou-se delineamento estatístico inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento (linhagem de *Trichoderma*). As avaliações foram realizadas com base nos índices de inibição do patógeno, obtidos por meio de medições do crescimento das colônias do mesmo, exposto ao bioagente. Com o auxílio do software estatístico Sisvar 5.6, foi realizada a análise de variância dos dados obtidos e, as médias, comparadas pelo Teste de Tukey. Considerando-se os dois experimentos conduzidos, as linhagens de *Trichoderma* com maior percentual de inibição do crescimento micelial de *F. crassistipitatum* foram CEN1532 (52,67 e 44,11%) e CEN1533 (48,68 e 42,24%), enquanto as médias gerais de inibição foram de 24,30 e 24,04%, respectivamente para o primeiro e o segundo experimento. Assim, confirma-se o potencial das duas linhagens mencionadas, para posteriores ensaios.

055 - Uso de RNA de interferência (iRNA) para controle de *Meloidogyne incognita* em sistemas-modelo

Leticia Dias de Freitas¹, Jose Dijair Antonino de Souza Junior², Robert Neil Gerard Miller¹, Priscila Grynberg³, Emanuel Felipe Medeiros Abreu³, Ana Claudia Guerra De Araujo³, Ana Cristina M. Brasileiro³, Patricia Messenberg Guimaraes³

¹Universidade de Brasília; ²Universidade federal Rural de Pernambuco; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Meloidogyne incognita é um fitonematoide polífago que provoca sérios danos a várias culturas de interesse econômico. Identificar moléculas produzidas por este patógeno durante interação com o hospedeiro, como efetores de virulência, possibilita a adoção de estratégias efetivas de controle. A análise *in silico* do transcrito de diferentes fases de evolução de *M. incognita* (J2, J3, J4, fêmea e ovos) em tomateiro revelou genes altamente expressos durante o estabelecimento da infecção e reprodução do nematoide, incluindo genes candidatos a efetores do patógeno. Para validação destes candidatos, 17 sequências gênicas de *M. incognita* foram selecionadas *in silico* e analisadas quanto a sua expressão por RT-qPCR em diferentes fases infectivas de *M. incognita* em tabaco. Todas as sequências gênicas do fitoparasita analisadas apresentaram padrões de expressão similares em RT-qPCR (raízes de tabaco) e *in silico* (raízes de tomateiro), e foram classificadas de acordo com estágio de maior expressão, como em estágios iniciais (J2, J3 e J4) e/ou estágios tardios (fêmea jovem), indicando a existência de sequências essenciais para infecção/estabelecimento do nematoide na planta, independente do hospedeiro. Visando a produção de dsRNA destas sequências in planta para silenciamento das mesmas no nematoide via RNA de interferência (iRNA), as mesmas foram clonadas em vetor binário (pKB) sob o comando do promotor UceS8.3 para obtenção de plantas transgênicas de tabaco e *Arabidopsis thaliana* via *Agrobacterium tumefaciens*. Até o momento, 10 eventos de plantas transgênicas de tabaco expressando dsRNA de 4 sequências-alvo e 39 eventos de *A. thaliana* de 2 sequências gênicas foram obtidos, os quais serão avaliados quanto ao efeito fenotípico do silenciamento na primeira e segunda geração (T1/T2) das plantas, pela quantificação do número de galhas/ovos de *M. incognita* extraídos em cada evento transgênico em relação ao controle não transformado. Os dados de expressão gênica dos candidatos a efetores aqui descritas indicam serem estes potenciais alvos para estudos de silenciamento gênico “host-delivered” via RNA interferente.

056 - Vermicompostagem utilizando diferentes resíduos orgânicos associados a substrato de cogumelo e nanossistemas sustentáveis

Davi Peterson Spindola Dunk Rocha¹, Vera Lucia Perussi Polez², Arailde Fontes Urben², Luciano Paulino da Silva²

¹Centro Universitário de Desenvolvimento do Centro Oeste; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A minhocultura ou vermicompostagem consiste em um processo de aproveitamento de resíduos orgânicos pela criação de minhocas com o intuito de produzir húmus, um excelente adubo para atividade agrícola, sobretudo para agricultura familiar. De fato, o uso do húmus é particularmente importante para produção de alimentos orgânicos e tendo em vista a preocupação atual com a utilização racional dos recursos naturais que vem sendo progressivamente exauridos. Esta estratégia tem sido muito utilizada para obtenção do solo orgânico, pois agrega valor aos produtos acarretando em benefícios para consumidores e produtores na medida em que oferece alimentos orgânicos, com melhor qualidade nutricional, medicinal e lucratividade. Dessa forma, o presente estudo pretende utilizar a tecnologia Biovessel para a produção de compostados à base de 12 diferentes resíduos agroindustriais e domésticos aos quais serão futuramente incorporados nos nanomateriais obtidos por rotas de síntese verde. O experimento piloto está sendo realizado em composteiras portáteis do tipo Biovessel, formadas por recipiente plástico com tampa de madeira cortiça que acomoda até cerca de 2 kg de matéria orgânica. No momento estão sendo testados separadamente 12 resíduos agroindustriais/domésticos orgânicos em cada recipiente (cascas de frutas, verduras e legumes), junto a uma mistura definida de substrato de plantas, substrato de cogumelo comestível/medicinal e matéria seca de uma forrageira que contribuirão com a decomposição no sentido de torná-la adequada à ocupação posterior com minhocas, mantendo umidade alta para que favoreça ainda mais a decomposição em ambiente controlado indoor. Os materiais se encontram na fase inicial do processo de compostagem. Posteriormente, as minhocas serão adicionadas às composteiras e dar-se-á andamento à segunda fase do processo de produção de húmus. Finalmente, alguns tipos de nanomateriais serão incorporados ao compostado para enriquecer os substratos com micronutrientes (nanofertilizantes à base de carbon dots) ou controlar proliferação de microrganismos indesejáveis (fungos ou bactérias), visando a aplicação destes produtos em hortas urbanas e assim controlando e minimizando as pragas em cultivos hortícolas.

VEGETAL

057 - Algodão geneticamente modificado utilizando tecnologia RNAi aplicado ao controle de *Meloidogyne incognita*: prova de conceito

Paolo Lucas Rodrigues Silva¹, Maria Eugênia Lisei-de-Sá^{2,3}, Regina M. S. Amorim², Renêida A. G. Mendes², Leonardo Lima Pepino Macedo², Isabela Tristan Lourenço-Tessutti², Maria Cristina M. Silva², Rafael Galbieri⁴, João Pedro Abreu Sousa¹, Maria Fátima Grossi de Sá^{1,2}

¹Universidade Católica de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ³EPAMIG; ⁴Instituto Mato-Grossense de Algodão - IMAmT

O algodão (*Gossypium hirsutum*) é uma das commodities mais importantes do mundo e está entre as dez maiores fontes de riqueza do agronegócio brasileiro. No entanto, sua produtividade é constantemente ameaçada por fatores bióticos e abióticos. Os nematoides parasitas de plantas (PPN) são um dos patógenos mais prejudiciais, representando perdas globais de aproximadamente US\$ 100 bi/ano. O nematoide formador de galhas, *Meloidogyne incognita*, é considerado um dos patógenos vegetais mais importantes. Cada vez mais, as ferramentas biotecnológicas têm contribuído para superar esses entraves através do desenvolvimento de plantas tolerantes ou resistentes. Com base nas limitações dos métodos de controle atuais, a tecnologia de RNA interferente (RNAi) foi explorada com sucesso em diferentes espécies de plantas para obter resistência contra diferentes patógenos. Isso ocorre através do fornecimento de dsRNAs para silenciar os genes alvo *M. incognita*, consequentemente, obter resistência. O objetivo deste estudo foi transformar e caracterizar plantas de algodão com dsRNAs por meio da piramidação de três regiões gênicas (Mi-cpl-1, Mi-ICI e Mi-fs) potencialmente envolvidas no desenvolvimento e processamento de mRNA de *M. incognita*. Os embriões de algodão foram bombardeados com esta construção gênica e vários eventos T0 contendo as sequências de dsRNA foram confirmados por análises de PCR e RT-PCR. O número de cópias do transgene nestas plantas, determinado por análise qPCR, variou de 1 a 3. As plantas transgênicas da geração T1 foram desafiadas contra o nematoide e o índice de galhas (IG) foi comparado entre as plantas controle resistentes e suscetíveis. Os dados indicaram que cinco progênies de dois eventos de transformação independentes apresentaram redução de 70 a 92% do IG, quando comparadas com o controle suscetível. O mesmo desempenho foi observado em 37% das progênies da geração T2. Este projeto pretende contribuir para o manejo de nematoides e a redução de agrotóxicos em lavouras de algodão, resultando em maior competitividade do agronegócio brasileiro, além de contribuir para o menor impacto ambiental.

058 - Análise da expressão de genes de *Arachis* spp. responsivos ao estresse por luz ultravioleta

Leonardo Pedro De Alcantara Barreto¹, Andressa da Cunha Quintanda Martins², Thaís Nicolini de Oliveira², Ana Cristina M. Brasileiro², Patricia Messenberg Guimarães²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Espécies silvestres de *Arachis* constituem uma rica fonte para prospecção de genes de resistência a pragas e tolerância a estresses abióticos. Estudos do transcrito dessas espécies submetidas a diferentes estresses possibilitaram a identificação de genes candidatos à resistência a nematóides das galhas e à seca. Com o objetivo de realizar um estudo prospectivo de genes candidatos para resistência a patógenos, plantas pertencendo a três espécies do gênero *Arachis* (*Arachis hypogaea*, *A. duranensis* e *A. stenosperma*) foram crescidas por um mês em câmara de crescimento e separadas em dois grupos para cada espécie: controle e estressado. O grupo controle foi exposto por 5 horas à luz fluorescente e o grupo estressado à luz ultravioleta (UV). O RNA total da parte aérea das plantas foi extraído por meio de um protocolo adaptado que utiliza maceração e incubação em tampão CTAB (brometo de cetil-trimetilamônio) e posterior precipitação em cloreto de lítio (LiCl) 3M. Após extração, o RNA total foi quantificado e utilizado como molde para a síntese de cDNA. Os níveis de expressão de cinco genes candidatos da família NBS-LRR foram então analisados nesse material por meio da técnica de RT-qPCR. Essas análises vão permitir a identificação de genes da família NBS-LRR responsivos ao estresse oxidativo induzido por luz UV e contribuir para o melhor entendimento do papel dessa família gênica na resistência a estresses bióticos em espécies silvestres e cultivada de *Arachis* spp.

059 - Análise da expressão gênica de genes do tipo miraculina do cafeeiro em resposta ao estresse de plantas

Leonardo De Amorim Vidal¹, Priscila Grynberg², Anne-Sophie Petitot³, Ana Paula Zotta Mota², Roberto Coiti Togawa², Diana Fernandez³, Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ³Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier-France

Meloidogyne incognita, root-knot nematode (RKN), é um dos patógenos mais prejudiciais à agricultura mundial e devastadores em cafezais. Em trabalhos anteriores, foi observado que genes homólogos à Miraculina foram superexpressos em raízes de cafeeiro de genótipo resistente entre 5 e 6 dias após a infecção por RKN. Foram sequenciadas amostras de RNA, extraídas de raízes, por Illumina HiSeq 4000, gerando mais de 800 milhões de reads de 2x100 de bases. Foram identificados 14 genes da superfamília de inibidores de proteinases tipo Kunitz, similares à Miraculina, apresentando superexpressão. A evidência, até o momento, é de que a miraculina está fortemente ligada à resposta imunológica da planta ao RKN, pois a CoMir foi superexpressa em resposta à infecção por bicho mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*). Este estudo mostra a análise de expressão de genes tipo Miraculina por qPCR em tempo real em raízes de cafeeiro, e a correlação dessa expressão com estresses bióticos na resposta a estresses da planta. Foi feito o alinhamento das sequências de genes referentes à Miraculina utilizando o software Geneious 8® para selecionar as sequências que continham o domínio conservado característico da família gênica. A partir do alinhamento, foi desenhada uma árvore filogenética utilizando também sequências de referência. Após selecionar as sequências com os domínios conservados, foram desenhados primers para cada sequência, discriminando os genótipos resistente (R) e suscetível (S), visando verificar a diferença de expressão entre os dois genótipos. Foi utilizado o programa LinReg para a análise dos resultados da qPCR. Os dados indicam que há uma diferença significativa de expressão relativa entre R e S. Esses genes podem ser importantes atores na resposta imunológica da planta, podendo ser potencialmente utilizados em abordagens de desenvolvimento de controle de nematoides e pragas.

060 - Atividade antibacteriana de nanopartículas de prata produzidas e otimizadas por síntese verde em escala semipiloto

Julia Moreira Pupe¹, Cínthia Caetano Bonatto², Luciano Paulino da Silva¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ²Tecsinapse

A síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs) em escala semipiloto foi anteriormente investigada, e as condições de temperatura, concentração de reagentes, tempo de reação, aeração e agitação de reator em batelada foram otimizadas. Neste sentido, réplicas da reação de síntese de AgNPs sob condições ótimas em escala semipiloto (1 L) foram realizadas, em ensaios independentes. As AgNPs foram caracterizadas quanto às propriedades físico-químicas, à reprodutibilidade, à estabilidade e ao potencial antibacteriano. Para isso, as reações de síntese foram monitoradas espectrofotometricamente para avaliação da formação e propriedades ópticas; e o tamanho, a dispersividade e o potencial Zeta de superfície foram medidos pelas técnicas de espalhamento dinâmico de luz (DLS) e mobilidade eletroforética, respectivamente. A atividade antibacteriana foi avaliada pelo ensaio de concentração inibitória mínima (CIM) das AgNPs e controles em relação ao crescimento das bactérias Gram negativa *Escherichia coli* e Gram positiva *Staphylococcus aureus* após 24, 48 e 72 h de exposição in vitro. As concentrações analisadas das AgNPs e controles foram 8, 16, 32, 64, 128 e 256 µM, sendo que cada concentração foi avaliada em triplicatas experimentais. Além disso, foram realizados testes de crescimento bacteriano em meio Luria-Bertani sólido suplementado com AgNPs em concentração final de 256 µM. Os resultados obtidos mostraram que as réplicas de síntese AgNPs apresentaram características físico-químicas similares, o que indica reprodutibilidade do processo reacional. Ademais, as AgNPs mostraram-se estáveis a variações de temperatura, pH e radiação UV. A CIM para as réplicas foi, em 72 h, de 128 µM para *E. coli* e 256 µM para *S. aureus*, além de não ter havido crescimento bacteriano em meio sólido suplementado com AgNPs a 256 µM, após 24 h. Dessa forma, foi possível concluir que as condições ótimas de síntese em escala de semipiloto produziram AgNPs com características físico-químicas desejadas e alto potencial antibacteriano, além de serem estáveis e o bioprocesso ser reprodutível em escala semipiloto.

061 - Aumento de biomassa e tolerância à seca de *Glycine max* l. via edição de genoma do gene GmAip10

Naiara Cordeiro¹, Carolina Vianna Morgante², Fabricio M. B. Arraes³, Bruno Paes de Melo⁴, Isabela T. Lourenço-Tessutti², Cíntia Marques Coelho⁵, Elibio Leopoldo Rech Filho², Maria Fátima Grossi de Sá²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ³Universidade Federal do Rio Grande do Sul; ⁴Universidade federal de Viçosa; ⁵Tecsinapse

Devido à alta demanda de alimento para suprir as necessidades da população mundial, grandes esforços estão sendo empregados para desenvolver cultivares de interesse agrônomo que produzam em altos níveis mesmo em condições adversas, tais como a seca. Sendo assim, a Biotecnologia desempenha um importante papel desde à prospecção de novos genes até a sua utilização em cultivares. Dentre os possíveis ativos biotecnológicos descritos em inúmeros estudos, destaca-se o gene AIP10 que está envolvido no controle do ciclo celular, integrando vias de sinalização do desenvolvimento vegetal ao controle da replicação e transcrição. Para a solução de problemas do setor produtivo, surgiu a iniciativa de se realizar a prova de conceito em soja transgênica com níveis de expressão reduzidos do gene GmAip10, por meio do emprego da técnica de edição genômica, via sistema CRISPR, para a obtenção de plantas apresentando aumento de biomassa, bem como o número de sementes e tolerância ao déficit hídrico. Para tanto, foram desenvolvidas as construções gênicas para a edição e nocaute do gene GmAip10 em soja. Como parte da estratégia, foi necessário realizar um estudo prévio *in silico* do possível ortólogo do gene AIP10 de soja. Após estas análises, foi possível constatar que soja possui duas cópias do gene AIP10 em seu genoma. Sendo assim, foram desenhadas três construções visando o nocaute de ambas as cópias: duas contendo um sgRNA diferente cada, que podem reconhecer ambos os loci; e a terceira com os dois sgRNAs combinados também visando a edição simultânea dos dois genes. As plantas foram transformadas via Agrolística (combinação das técnicas de transformação via *Agrobacterium tumefaciens* e Biolística). Os eventos transformados foram selecionados em meio de cultura contendo o herbicida Imazapyr e posteriormente por PCR. Foram obtidos pelo menos cinco eventos independentes de transformação na geração T0, para cada uma das construções e, em seguida, foi realizado o avanço de geração onde hoje se encontram na geração T2.

062- Avaliação do desempenho de sensores eletroquímicos de carbono vítreo e nanotubos de carbono com nanopartículas de ouro na determinação de ácido tânico

Vitor Akira Arake Shiratori¹, Caroline Matos Ribeiro¹, Clarissa Silva Pires de Castro², Gabriella Magarelli²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O ácido tânico (1,2,3,4,6-pentagalactil-o-glicose) é um composto fenólico da classe dos taninos hidrolisáveis encontrados em vegetais, que possui propriedades antioxidantes e anticancerígenas. Dados da literatura revelam que os taninos são metabólitos secundários que apresentam alta relação com a resistência das plantas ao ataque de herbívoros e fitopatógenos. Assim, o desenvolvimento de métodos de detecção e determinação de taninos, que sejam sensíveis, rápidos e que possam ser adaptados ao campo é fundamental para pesquisas envolvendo o manejo integrado de pragas e o melhoramento de plantas. Neste trabalho, foram desenvolvidos dois métodos eletroquímicos utilizando-se eletrodos de carbono vítreo (GC) e eletrodos impressos de nanotubos de carbono com nanopartículas de ouro (CNT-AuNP) para a determinação de ácido tânico por Voltametria de Pulso Diferencial. As análises voltamétricas foram realizadas em tampão fosfato pH = 3,0; amplitude de pulso = 50 mV e velocidade de varredura = 50 mVs⁻¹. Nestas condições, picos de corrente anódica foram observados nos voltamogramas em potenciais de 0,2 V (para GC e CNT-AuNP). A curva analítica obtida para o método voltamétrico com GC apresentou faixa linear entre 0,5 – 3,5 ($\times 10^{-7}$ mol L⁻¹), sensibilidade = 2,8 e R² = 0,9925. Para o método voltamétrico com CNT-AuNP, a curva analítica apresentou faixa linear entre 0,1 – 1,0 ($\times 10^{-6}$ mol L⁻¹), com sensibilidade = 0,8 e R² = 0,9905. A precisão intra-dia foi avaliada para ambos os eletrodos, em três níveis de concentração de ácido tânico e foram encontrados desvios padrão relativos (DPR) de 4 – 10 % (para GC) e 3-10% (para CNT-AuNP). Os resultados mostraram que a precisão foi parecida em ambos os métodos, e que apesar do método com CNT-AuNP ser menos sensível, o que não era esperado devido a sua superfície nanoestruturada, responde linearmente numa faixa mais ampla de concentrações de ácido tânico. Em etapas futuras, pretende-se analisar extratos vegetais contendo taninos utilizando-se os métodos desenvolvidos.

063 - Calogênege em unha-de-gato (*Uncaria guianensis*) com uso de diferentes auxinas

Thauan Martins Lelis¹, Paula Monteiro da Silva², Inaê Mariê de Araújo da Silva-Cardoso¹, Jonny Everson Scherwinski Pereira³

¹Universidade de Brasília; ²Universidade do Distrito Federal; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A unha de gato (*Uncaria guianensis*) é uma planta trepadeira da família Rubiaceae com grande potencial medicinal, em função disso acaba por sofrer consequências da exploração sem controle. Uma possibilidade para atender a demanda crescente da espécie e utilizá-la de maneira racional é se utilizar das técnicas *in vitro*, seja para a multiplicação clonal ou exploração dos metabólitos secundários, a partir da cultura de calos. Assim, objetivou-se determinar a melhor combinação de reguladores de crescimento para indução de calos de *U. guianensis* a partir de explantes foliares. Para tal, foram utilizados como explantes segmentos foliares com cerca de 1 cm², oriundos de plantas cultivadas *in vitro*. Os segmentos foram inoculados em meio de MS suplementado com 30 g/L de sacarose, 0,25 g/L de caseína hidrolisada e combinações de 6,78 µM e 13,57 µM de Picloram e 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), com ou sem 6 µM de metatopolina, além do controle (ausência de regulador). Foram inoculados seis explantes por placa e cinco repetições para cada tratamento. De modo geral, após sete dias, observou-se formação de calos em todos os tratamentos com reguladores de crescimento e ausência de formação de calos no tratamento controle. Os meios com ausência de metatopolina tiveram uma média de 94% de formação de calos, enquanto com presença de metatopolina houve uma média de 36% de calos. Na presença de metatopolina e 2,4-D, verificou-se a formação de calos geralmente compactos, com maior potencial organogênico. Já em meio suplementado somente com 2,4-D, observou-se uma predominância de calos mucilaginosos, com baixo ou nenhum potencial organogênico. Em função do percentual de formação de calos e da qualidade dos mesmos, recomenda-se o uso de 2,4-D para a indução de calos em *U. guianensis*.

064 - Caracterização *in planta* da função biológica de um gene candidato envolvido na resistência ao nematoide das galhas.

Matheus Nascimento de Aguiar¹, Bruna Medeiros Pereira², Thaís Nicolini de Oliveira², Andressa da Cunha Quintanda Martins², Ana Paula Zotta Mota², Mario Alfredo De Passos Saraiva², Patricia Messenberg Guimarães², Ana Cristina M. Brasileiro²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Fitopatógenos constituem um dos principais fatores de perda de produtividade em culturas de importância para o agronegócio brasileiro, com perdas de até 30% em soja, milho e algodão. O controle dessas pragas é em grande parte baseado no uso de agroquímicos que além de onerosos, são altamente tóxicos ao meio ambiente e ao homem. O uso de variedades resistentes contendo genes de resistência isolados de plantas parcialmente resistentes é uma das formas mais eficiente e durável para o controle dessas pragas. Plantas possuem um sofisticado sistema de resposta de defesa a patógenos em multicamadas que inclui desde barreiras físicas locais e armas químicas, até a sinalização sistêmica entre células e morte celular programada que limita a invasão e o crescimento de patógenos. Um dos principais arsenais do sistema imunológico das plantas é constituído por genes de resistência. Nesse estudo, objetivou-se a caracterização *in planta* da função biológica do gene candidato (AsR1), isolado de *Arachis stenosperma*, que está potencialmente envolvido no processo de resistência ao nematoide das galhas, *Meloidogyne* spp., em espécies silvestres de *Arachis*. Para tanto, plantas transgênicas de *Arabidopsis thaliana*, em geração T1, superexpressando o gene AsR1 foram obtidas e posteriormente inoculadas com *Meloidogyne incognita*. Análises fenotípicas, realizadas 60 dias após a inoculação, mostram uma redução significativa tanto no número de galhas por grama de raiz inoculada (média de redução de 51,3%) como no número de fêmeas por grama de raiz inoculada (média 68,4%). Esses resultados indicam que a superexpressão de AsR1 tem efeito positivo na redução dos sintomas da infecção causada pelo nematoide formador de galhas *M. incognita*.

065 - Caracterização eletroquímica de nanopartículas de prata sintetizadas utilizando extrato aquoso de folhas em escala semipiloto

Julia Moreira Pupe¹, Gabriella Magarelli¹, Cínthia Caetano Bonatto², Luciano Paulino da Silva¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ²Tecsinapse

A síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs) consiste fundamentalmente na utilização de recursos biológicos para a redução de íons prata (Ag⁺) em prata metálica (Ag⁰). As condições de síntese, como temperatura, tempo de reação, aeração, agitação e concentração de reagentes interferem no processo de redução dos íons e de produção de AgNPs, e nas propriedades físico-químicas e biológicas das AgNPs. Assim, o objetivo deste estudo foi utilizar a técnica eletroquímica de voltametria para investigar a proporção de conversão de Ag⁺ em Ag⁰ (Ag⁺/Ag⁰) dos meios reacionais oriundos da produção de AgNPs em diferentes condições de agitação e aeração em reator, e comparar tal proporção com as características ópticas e atividades biológicas das AgNPs. Para tal análise, foram utilizados 17 ensaios de síntese de AgNPs produzidas em escala semipiloto em reator batelada, e 500 µL de cada ensaio foram centrifugados por 30 min a 16873 g e 4°C. Nos ensaios de voltametria utilizou-se uma célula voltamétrica composta por três eletrodos: carbono vítreo (trabalho), prata/cloreto de prata (referência) e platina (auxiliar). Assim, 10 µL do sobrenadante foram adicionados a 10 mL de eletrólito (KNO₃/EDTA) e os voltamogramas foram obtidos aplicando-se um potencial de deposição de -0,4 V por 120 s, e posterior varredura anódica de 0 a 0,5 V. A concentração de Ag⁺ foi determinada por meio de adição de 5-10 µL de padrão de Ag⁺ a 10 ppm sobre a amostra. Os resultados obtidos indicaram que, aproximadamente, 75% dos íons Ag⁺ foram transformados em Ag⁰ para a maioria dos ensaios de síntese de AgNPs. Isso pode indicar que as rotas e condições de síntese ainda devem ser otimizadas em relação ao tempo de reação ou concentração de reagentes, ou ajustes nas condições de agitação e aeração. As relações entre Ag⁺/Ag⁰ e as características ópticas das AgNPs ainda serão avaliadas, assim como as possíveis relações existentes entre Ag⁺/Ag⁰ e a atividade bacteriana das AgNPs.

066 - Caracterização molecular de plantas geneticamente modificadas resistentes ao bicudo-do-algodoeiro

Bruno Torres dos Santos¹, Leonardo Lima Pepino Macedo², Maria Fátima Grossi de Sá²

¹Universidade Católica de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A cadeia produtiva do algodão é responsável pela criação de milhares de empregos no Brasil. Como em todo sistema de monocultura, o algodão é suscetível a diversas pragas, sendo o *Anthonomus grandis*, o principal inseto-praga da cotonicultura brasileira. Para o controle desse inseto é necessário grandes quantidades de aplicações de inseticidas. Portanto existe uma demanda nacional para o desenvolvimento de estratégias que visem o controle eficiente deste inseto que devasta os campos de algodão. Alternativas biotecnológicas estão em desenvolvimento a fim de gerar novos ativos entomotóxicos. O desenvolvimento de plantas expressando toxinas Bt contra o bicudo se mostra um caminho viável para o controle deste inseto-praga, já que comercialmente não há nenhum evento de algodão GM eficiente contra o bicudo. Além da superexpressão de toxinas Cry, ressaltam-se os estudos da aplicação do silenciamento de genes essenciais do bicudo por meio do RNAi, esta técnica permite a supressão de proteínas essenciais com alta eficácia e especificidade culminando em um fenótipo letal. Os ensaios foram realizados com plantas de algodão GM possuindo construções que são responsáveis por expressarem dsRNA para os genes da quitina sintase 2 (AgraCHS2), além de expressar a entomotoxina e a Cry10Aa. 86 plantas de algodão GM foram colocadas para ensaio na casa de vegetação em condições ambiente. Foi colocada uma fêmea de *A. grandis* por planta, sendo elas posicionadas no caule do algodão. Após um período de adaptação, os botões florais das plantas foram analisados em busca de oviposições. Os botões florais ovipositados eram marcados com etiquetas e cobertos com sacos de náilon. Os botões florais abortados pelas plantas foram coletados, medidos e armazenados. Os botões florais foram mantidos no saco de náilon durante um mês, tempo do médio do desenvolvimento do bicudo, ao aguardo da emergência. As plantas as quais possuíram taxas acima de 50% de mortalidade do Bicudo foram selecionadas para a realização da autofecundação que visa a geração e seleção dos melhores eventos de algodão GM.

067 - Cogumelos como fonte alternativa para o controle sustentável de *Meloidogyne incognita*.

Ana Flávia Oliveira Rodrigues¹, Carla Becker Soll², Arailde Fontes Urben², Marlinda Lobo De Souza², William Sihler², Clenilson Martins Rodrigues³, Thales Lima Rocha² e Vera Lucia Perussi Polez²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ³Embrapa Agroenergia

O nematoide das galhas, *Meloidogyne incognita*, é um importante fitoparasita que pode causar prejuízos econômicos significativos para diversas culturas agrícolas. Atualmente, a estratégia de controle mais utilizada é aplicação de agroquímicos que em sua maioria possuem alta toxicidade para o ser humano, animais e meio ambiente. O objetivo do trabalho foi prospectar e caracterizar extratos de cogumelos para o controle de *M. incognita*. Neste sentido, foram selecionadas dez (10) espécies de cogumelos (C1 a C10) adquiridas no Banco de Cogumelos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Os micélios foram cultivados via fermentação líquida em condições controladas (substrato, temperatura e pH). Os extratos aquosos foram obtidos tanto do micélio (extrato aquoso de micélio, EAM-C1 a 10) quanto do exsudato (extrato aquoso do exsudato, EAE-C1 a 10). Os bioensaios in vitro foram realizados contra juvenis de segundo estágio (J2) de *M. incognita* utilizando os extratos EAM-C1 a 10 e EAE-C1 a 10 (2mg/ml). Os extratos EAM-C1 e EAM-C2 foram selecionados por apresentarem ação nematotóxica significativa e alta produtividade em cultivo submerso e foram posteriormente caracterizados por: i. termoestabilidade (amostras tratadas a 50°C durante 12 horas e testadas contra J2 de *M. incognita*); ii. fitotoxicidade (germinação de sementes e desenvolvimento vegetal em casa de vegetação); iii. citotoxicidade (células de inseto, linhagem IPLB SF 21, e ensaio de viabilidade celular via MTT {brometo[3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5- difenil tetrazolium]}). Os extratos apresentaram ação nematotóxica nos bioensaios conduzidos in vitro contra J2 de *M. incognita* onde: i. EAM-C1 a 10 obtiveram mortalidade superior a 95%, ii. EAE-C1 a 10 apresentaram mortalidade variando entre 11,42 a 100%. O extrato miceliar EAM-C1 apresentou atividade nematotóxica de 100%, termoestabilidade, baixa citotoxicidade e sem fitotoxicidade e EAM-C2 apresentou atividade nematotóxica 100%, baixa termoestabilidade, alta citotoxicidade e sem fitotoxicidade. Dessa forma, o uso de cogumelos como fonte de compostos nematotóxicos pode ser uma estratégia de controle (tecnologia verde) para ser usada em conjunto no manejo integrado de pragas.

068 - Combinação de reguladores de crescimento para aprimoramento do meio de cultura para a micropropagação de unha-de-gato (*Uncaria guianensis*)

Paula Monteiro da Silva¹, Thauan Martins Lelis², Inaê Mariê de Araújo da Silva-Cardoso², Jonny Everson Scherwinski Pereira³

¹UDF; ²Universidade de Brasília; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A *Uncaria guianensis* (Unha-de-gato) é uma planta trepadeira que vem sendo explorada em função do seu alto potencial medicinal anti-inflamatório e imunoestimulante. Um dos problemas enfrentados por essa espécie é a exploração predatória. Para atender a demanda crescente e de forma sustentável, a propagação por gemas laterais in vitro, surge como uma alternativa para possibilitar a reprodução e clonagem de genótipos superiores, com homogeneidade e curto intervalo de tempo. Nesse contexto, objetivou-se aprimorar o meio de cultura de *U. guianensis* a partir de diferentes combinações de reguladores de crescimento. Para tal, foram utilizados 10 explantes por tratamento caracterizados por gemas laterais provenientes de sementes germinadas in vitro. As microestacas foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio de MS com metade dos sais, suplementado com 30 g/L de sacarose, 0,25 g/L de caseína hidrolisada, 2,3 g/L de Phytigel e combinações de 1 mg/L e 0,5 mg/L de ácido giberélico (AG3) e 1 mg/L e 2 mg/L de 6-Benzilaminopurina (BAP), além do tratamento controle (ausência de regulador). Observou-se que a adição de 1 mg de AG3 ao meio de cultura comprometeu o desenvolvimento das gemas, fato não verificado em meio suplementado com 0,5 mg/L. Já a utilização de BAP proporcionou aumento do número de gemas laterais, sendo mais efetivo na concentração de 1 mg/L combinado com 0,5 mg/L de AG3. Verificou-se também que em todos os tratamentos suplementados com reguladores de crescimento houve formação de calos na base das gemas laterais em cultivo. Conclui-se, que, de modo geral, a utilização de BAP (1mg/L) proporciona os melhores resultados para multiplicação de unha-de-gato.

069 - Compostos defensivos produzidos pelas glândulas metatorácicas dos percevejos *Glyphepomis spinosa* e *Dichelops melacanthus*

Bruna Sartório de Castro¹, Miguel Borges², Raul Alberto Laumann², Maria Carolina Blassioli Moraes²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

No Brasil, as perdas econômicas devido à herbívoros ainda são muito grandes, sendo aproximadamente 10% na cultura do arroz e podendo atingir até 20% na soja, mesmo com o uso de agrotóxicos para o controle das pragas. Assim, é necessário o desenvolvimento de métodos mais eficientes, sustentáveis e de baixo custo para o manejo e controle destas pragas. Os percevejos produzem uma série de compostos, conhecidos como defensivos, que são produzidos pelas glândulas metatorácicas e armazenados em reservatórios de cor alaranjada. Pouco se sabe sobre a função desses compostos, alguns estudos mostraram que atraem inimigos naturais e também agem como feromônio de alarme. O objetivo deste estudo foi extrair, quantificar e identificar os compostos defensivos dos percevejos *Dichelops melacanthus* e *Glyphepomis spinosa*. Para isso, foram conduzidas aerações em câmara de vidro com 50 machos e 50 fêmeas de cada espécie, e os voláteis foram coletados diariamente em 100 mg de adsorvente Porapak Q. Os voláteis foram eluídos dos adsorventes com 500 µL de hexano e concentrados a 100 µL sob fluxo de nitrogênio. Posteriormente foram analisados por CG-DIC e CC-EM. A identificação de cada componente foi realizada através da injeção de padrões sintéticos, e a quantificação dos compostos foi realizada pela técnica de padrão interno. A análise química mostrou que os adultos das duas espécies (machos e fêmeas) produzem compostos defensivos em comum como: (E)-2-hexenal, (E)-2-octenal, octanal, nonanal, tridecano e acetato de (E)-2-octenila, mas em proporções diferentes. Os adultos de *G. spinosa* produzem compostos que não foram identificados no *D. melacanthus* como: undecano, dodecano, tetradecano e pentadecano. Para confirmar se estes compostos são volatilizados pelos insetos ou liberados da vagem usada como alimento na aeração está sendo conduzido a extração dos compostos diretamente da glândula dos insetos. Adicionalmente, estudos serão conduzidos para avaliar se estes compostos têm ação na comunicação intra e interespecífica.

070 - Crosstalk entre stress biótico e abiótico em *Arachis* silvestre

Ana Paula Zotta Mota¹, Bruna Vidigal, Ana Claudia Guerra de Araujo¹, Maria Fátima Grossi de Sá¹, Ana Cristina M. Brasileiro¹, Patricia Messenberg Guimaraes¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Na natureza, plantas são continuamente submetidas à diversos estresses que ocorrem de forma simultânea como patógenos, seca, calor e salinidade. No entanto, até o momento, a maioria dos estudos estão concentrados nas respostas das plantas a estresses isolados. Estudos recentes demonstraram que as respostas de defesa de plantas a estresses bióticos e abióticos combinados são distintas daquelas estimuladas por cada estresse separadamente. Os nematoides-das-galhas (RKN) e a seca são responsáveis por grandes perdas na agricultura em regiões tropicais, mas os mecanismos de defesa de plantas a ambos estresses simultaneamente ainda não foram estudados. Neste trabalho, a resposta transcricional de uma espécie silvestre de *Arachis* (*A.stenosperma*) ao RKN, a seca e a estes estresses combinados, foi analisada utilizando-se sequenciamento Illumina HiSeq. Raízes de *A. stenosperma* submetidas à seca produziram o maior número de genes exclusivos diferencialmente expressos (DEGs), seguidos por tratamentos combinados de estresse e infecção por nematoides. Os genes identificados em comum entre os três tratamentos incluíram aqueles associados às vias hormonais do Etileno (ET) e Ácido Jasmônico (JA), enquanto os genes exclusivos para o tratamento combinado do estresse foram principalmente associados ao ácido abscísico (ABA). A anotação funcional indicou que as respostas a estresses bióticos e abióticos foram especializadas, sem termos GO (Ontologia Gênica) enriquecidos em comum, com apenas um fator de transcrição ERF (fator responsivo ao etileno) identificado em comum em todos os tratamentos. O perfil de expressão desses DEGs em vias metabólicas de hormônios de defesa de plantas destacam a prevalência de ABA como o principal fator regulador das respostas de estresse, interagindo com os ácidos jasmônico, salicílico e etileno para promover uma resposta de defesa combinada contra a seca e a infecção pelo nematóide.

071 - Cultivo de árvore nativa do cerrado (*Plathymenia reticulata*) em solução nutritiva para indução de estresse com alumínio

Gustavo Barbosa Cobalchini Santos¹, Rhaila da Silva Rodrigues Viana¹, Juliana Dantas de Almeida², Leila Maria Gomes Barros²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O Cerrado brasileiro possui solos com características não favoráveis à agricultura, como por exemplo, o alto teor de Alumínio (Al) solúvel, que é tóxico para a grande maioria das plantas cultivadas. Entretanto, as plantas do Cerrado apresentam tolerância ao Al pelo acúmulo do metal em compartimentos celulares de tecidos foliares, sem prejudicar o seu desenvolvimento, ou por exclusão do Al da parte aérea do vegetal por meio da exsudação de ácidos orgânicos por suas raízes, que quela o alumínio da rizosfera e, consequentemente, retira-o da solução do solo. A espécie *Plathymenia reticulata* é uma árvore nativa do Cerrado que tolera o Al pelo mecanismo de exclusão e foi escolhida como modelo de estudo. O presente trabalho tem como objetivo a obtenção de plantas de *P. reticulata* cultivadas em sistema hidropônico e a aplicação de estresse com Al. Para tanto, sementes de plantas nativas de área de Cerrado Sentido Restrito, sem atividade antrópica, foram desinfestadas utilizando-se o fungicida Benlate e hipoclorito de sódio. Em seguida as sementes foram colocadas para germinar em placas de Petri contendo papel filtro umedecido com água estéril e mantidas em sala de cultura com temperatura e foto período constantes. As plântulas obtidas foram transferidas para sistema hidropônico com aeração e a solução trocada a cada dois dias. Após 10 dias de cultivo, metade das plantas foi submetida ao estresse com Al pela adição na solução nutritiva de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ na concentração final de $150 \mu\text{M}$ e a outra metade permaneceu em meio sem Al. Nas nossas condições experimentais 7 dias após a semeadura aproximadamente 40% das sementes germinaram e desenvolveram-se na solução nutritiva. As plantas obtidas por meio do protocolo aqui estabelecido e a solução usada no cultivo serão utilizadas para prospecção de genes e metabólitos, respectivamente, envolvidos com a tolerância ao Al.

072 - Desenvolvimento de insumos alimentares e síntese de nanossistemas à base de biopigmentos de resíduos vegetais

Victoria Baggi de Mendonça Lauria¹, Luciano Paulino da Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A cor é considerada um dos atributos sensoriais mais importantes e afeta diretamente o consumo de um produto, visto que é empregada como critério de julgamento pelo consumidor. Em virtude dessa influência, a indústria alimentícia faz uso frequente de corantes artificiais a fim de preservar e/ou intensificar a cor inicial dos alimentos. Todavia, os malefícios causados à saúde e os impactos ambientais gerados pelos corantes artificiais propiciaram o aumento no uso de pigmentos naturais, pelo setor industrial. No entanto, a instabilidade desses compostos dificulta os seus usos, havendo a necessidade do emprego de estratégias que possibilitem uma maior proteção e estabilidade. Dessa forma, o presente projeto tem como objetivo principal desenvolver sistemas nanoestruturados, por estratégias de química verde, mediante a utilização de biopigmentos extraídos a partir de resíduos alimentares. Dessa forma, avaliando-os quanto à aplicabilidade para a produção de novos insumos alimentares. Foram realizadas extrações hidroalcoólicas a partir das cascas de abóbora, beterraba e resíduos de folhas de couve. Os biopigmentos obtidos apresentaram cores variadas e foram caracterizados pelo modelo matemático de cor RGB (red, green, blue). Em seguida, foram desenvolvidos lipossomas e micelas pelo método de hidratação de filme com os biopigmentos obtidos. As características físico-químicas dos nanossistemas foram determinadas mediante análise do índice de polidispersividade (PDI) e potencial Zeta, por meio das metodologias de espalhamento de luz dinâmico e mobilidade eletroforética, respectivamente. Foram observados nanossistemas heterogêneos e com alta estabilidade coloidal. As nanoestruturas apresentaram diâmetros hidrodinâmicos que variaram entre 160 a 400 nm. Isto posto, esferas alimentares foram produzidas mediante técnica de gelificação iônica, fazendo uso de polissacarídeos aniônicos naturais na presença de íons de cálcio, visando à elaboração de produtos com novas propriedades organolépticas e adequados, futuramente, para o consumo humano.

073 - Desenvolvimento de sistemas nanoparticulados para o manejo de pragas e doenças do tomateiro

Leticia Santana de Oliveira¹, Thais Ribeiro Santiago¹, Luciano Paulino da Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O tomate é uma das principais hortaliças presentes na mesa do brasileiro. Entretanto, a sua produção em zonas tropicais sofre grandes perdas devido à ocorrência de dezenas de pragas. Mesmo sendo uma cultura que apresenta alto custo de produção e potencial risco ao produtor, sua elevada rentabilidade incentiva a sua produção durante todas as épocas do ano. Atualmente, a oferta de insumos, incluindo cultivares híbridos e defensivos agrícolas, é insuficiente e os produtores enfrentam a carência de opções de controle para o manejo eficiente destas epidemias. A situação é particularmente crítica para algumas pragas, como por exemplo, o nematóide *Pratylenchus brachiurus*. Assim, a nanotecnologia pode vir a ser uma ferramenta adicional no controle de pragas, podendo produzir atividade antimicrobiana ou servir para várias funções a outros agentes ou moléculas pesticidas, sendo uma alternativa eco-amigável. O foco do presente estudo envolve o desenvolvimento e aplicação de nanopartículas de prata, cobre, magnésio e zinco no controle de *Pratylenchus brachiurus*, responsável por intensos prejuízos no campo. A síntese de nanopartículas será realizada variando-se as concentrações de extrato vegetal e cada condição será testada em triplicata e a metodologia de espalhamento de luz dinâmico (DLS) será utilizada para determinar o diâmetro hidrodinâmico (DH) das partículas e distribuição das populações de tamanho das partículas pelo índice de polidispersividade (Pdl), e a mobilidade eletroforética para determinar o potencial Zeta. Posteriormente, serão realizadas avaliações *in vitro* para verificar possíveis efeitos nematicidas ou nematostáticos. Até o momento, foram realizadas reações de síntese de nanopartículas de prata, sendo que houve formação das partículas de maneira dependente da concentração de extrato.

074 - Desenvolvimento e avaliação de desempenho de hidrogeis bifuncionais para uso agrícola

Lívia Cristina de Souza Viol¹, Leandro Gai Anversa², Vera Lucia Perussi Polez¹, Thales Lima Rocha¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ²Carbom Brasil Fertilizantes LTDA

A produção agrícola mundial é fortemente influenciada tanto pela irrigação do solo quanto no controle de pragas. Com relação a estes organismos, os fitonematoides se destacam por causarem prejuízos anuais (estimados em milhões de dólares) a diversas culturas de interesse econômico, como o algodão, o café, o feijão, o milho, a soja entre outros. Juntamente com estes desafios encontra-se a necessidade do uso de tecnologias multifuncionais que estejam enquadradas no conceito de bioeconomia, como é o caso do uso reduzido de água e de agroquímicos sintéticos. Neste sentido, a utilização de hidrogeis na agricultura tem sido uma estratégia em ascensão devido às suas características de condicionadores do solo, que pode, por exemplo, contribuir para o aumento da capacidade de retenção de água, o que reduz a frequência de irrigação, bem como atuar como carreadores de insumos agrícolas, tais como adubos e no controle de pragas. Desde modo, este estudo objetiva desenvolver hidrogeis bifuncionais e avaliar sua capacidade retentora de água bem como sua ação para o controle de fitonematoides e o desenvolvimento vegetal. Para isto, primeiramente, será feita uma otimização na síntese de hidrogel contendo extratos vegetais nematotóxicos e adubo Acrescent® (pertencente à Carbom Brasil Fertilizantes) mediante avaliação das concentrações dos constituintes. Posteriormente, será avaliado o desempenho do hidrogel desenvolvido quanto à sua capacidade retentora de água no solo, sua ação no controle do fitonematoide *Meloidogyne incognita*, sua influência na taxa de germinação de sementes e no desenvolvimento de plântulas. Assim, o hidrogel desenvolvido poderá contribuir tanto para o aumento da produção agrícola quanto na redução de custos, uma vez que o referido sistema funcional permite utilizar quantidades menores de água além de controlar fitonematoides por meio do uso de extratos naturais e favorecer o desenvolvimento das plantas.

075 - Detecção de fitoplasmas do grupo 16SrIII associados a plantas de batata doce [*Ipomea batatas* (L.) lam.] no Distrito Federal

Sabrina Martins de Souza¹, Jéssika Veridiano Dutra², Isis C. S. Oliveira³, Fernanda Rausch Fernandes⁴, Alexandre Furtado Silveira Mello⁴, Bárbara Eckstein⁴

¹Universidade Paulista; ²Centro Universitário de Brasília; ³Universidade de Brasília;

⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A batata doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] é um alimento importante no Brasil, devido ao seu fácil cultivo aceitação pelos consumidores. Embora seja uma cultura de fácil produção, a batata doce pode ser acometida por doenças causadas por diferentes fitopatógenos, incluindo os fitoplasmas. Os fitoplasmas são bactérias habitantes do floema das plantas, nas quais podem ocasionar diversos sintomas e são transmitidas por insetos do tipo cigarrinha. Foram encontradas no Distrito Federal plantas de batata doce com sintomas típicos de infecção por fitoplasmas, com sintomas de superbrotamento, redução do tamanho da planta e das folhas. Amostras dessas plantas foram coletadas para extração de DNA e posterior análise quanto à presença de fitoplasmas através da técnica da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Utilizando-se iniciadores universais específicos para fitoplasmas (P1/P7 e F2n/R2) foram obtidos fragmentos de tamanho esperado em 37,5 % das amostras. A análise computacional da sequência dos fragmentos amplificados confirmou a presença de fitoplasmas em uma das amostras, nas demais amostras, as sequências obtidas revelaram a amplificação de fragmentos de cloroplastos de batata doce, portanto, houve falsos positivos. Utilizando a sequência do fitoplasma encontrado, foi possível fazer análises comparativas com outros fitoplasmas. Foi constatado que o fitoplasma encontrado pertence ao grupo 16SrIII, e que este está mais próximo filogeneticamente de fitoplasmas do subgrupo 16SrIII-U, já existentes no Brasil, mas pela primeira vez associado com plantas de batata doce. Como fitoplasmas foram encontrados somente em uma planta, outros estudos serão realizados para verificar se os fitoplasmas estão associados aos sintomas observados no Distrito Federal.

076 - Edição de genes via CRISPR-Cas9 em sistema *hairy root* para avaliação de genes alvos para obtenção de plantas de soja com baixo teor de fitato

Jéssica Carrijo¹, Peter LaFayette², Francisco Aragão³, Wayne Parrott², Giovanni R Vianna³

¹Universidade de Brasília; ²Universidade da Georgia; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Fitato (InsP6) é um forte quelante de cátions importantes para a nutrição, sendo considerado um fator antinutricional. Este é abundante em sementes de soja uma vez que participa de vários processos regulatórios, entretanto, uma linhagem de soja com baixo teor de fitato é desejada pelo sistema produtivo. Esse estudo tem sido conduzido para o desenvolvimento de uma linhagem de soja low-phytate utilizando o sistema CRISPR Cas9. Inicialmente é aconselhável verificar se o sistema de expressão/deleção está funcionando adequadamente. Isso inclui avaliar alvos, e genes candidatos, além da enzima mais adequada para a edição, SpCas9 ou Cpf1. Para essa verificação foi utilizada a técnica de hairy root. Genes candidatos foram escolhidos e seus alvos identificados baseado nos seus target/off-target scores >0,6. Vetores foram construídos em duas configurações diferentes para comparar a eficiência do sistema convencional, com promotores regulando cada componente, versus um sistema simplificado com um único promotor regulando todos os componentes. Os RNAs guias foram sintetizados e clonados nos vetores. O vetor básico codifica para a enzima Cas9 de *Streptococcus pyogenes* ou para Cpf1 de *Moraxela bovoculi* sob a regulação do promotor GmUbi3. Também contém o gene repórter GFP para auxiliar na detecção das raízes transgênicas. Sementes de soja variedade “Jack” foram germinadas e cotilédones foram preparados e inoculados com *Agrobacterium rhizogenes* K599 previamente transformados com cada vetor. Os cotilédones foram co-cultivados por quatro dias e transferidos para meio de crescimento com antibiótico (Timentin 500mg/L). DNA foi extraído das raízes positivas para GFP. Um fragmento gênico contendo a possível região editada foi obtido por PCR. A eficiência de edição foi avaliada pelos programas TIDE e Synthego. Os resultados mostraram que os alvos escolhidos foram eficientes na edição dos genes candidatos. O Cassete de expressão do CRISPR Cas9 foi então transferido para um vetor adequado para a obtenção de soja com baixo teor de fitato via sistema biobalístico. As plantas geradas serão avaliadas quanto ao nível de fitato presente nas sementes.

077 - Espectro de resistência do gene Mi-1 a várias espécies de *Meloidogyne* detectadas no Brasil.

Márcia Gabriel¹, Stela Maris Kulczynski¹, Marlove Fátima Brião Muniz¹, Regina Dechechi Gomes Carneiro²

¹Universidade Federal de Santa Maria; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O gene Mi confere resistência às três espécies mais importantes de nematoides das galhas (NG), *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*. Entretanto, há pouca ou nenhuma informação sobre o efeito desse gene, em relação a outras espécies do gênero *Meloidogyne*, com ocorrência em áreas de produção de hortaliças no Brasil. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar o espectro de resistência do gene Mi a *Meloidogyne spp.* detectadas no Brasil. Para tal, foram inoculadas as cultivares de tomateiro 'Santa Clara' (suscetível) e 'Débora' (resistente), que diferem apenas quanto à presença do gene Mi, com quinze espécies de *Meloidogyne*. Essas foram coletadas em diferentes culturas e regiões do Brasil. As mudas de tomateiro foram inoculadas no estágio de três a quatro pares de folhas, com 5.000 ovos por planta. As avaliações foram realizadas aos 90 dias após a inoculação e o fator de reprodução do nematoide (FR) foi calculado. De acordo com o critério utilizado a cv. 'Debora' classificou-se como suscetível (S) a *M. enterolobii* e *M. hapla* e resistentes (R) às demais espécies estudadas: *M. morocciensis*, *M. ethiopica*, *M. inornata*, *M. luci*, *M. konaensis*, *M. paranaensis*, *M. izarcoensis*, *M. hispanica*, *M. petuniae* e *M. exigua*, além das três principais espécies de NG listadas acima. Dessa maneira, o espectro de resistência do gene Mi abrange a maior parte das espécies de NG presentes no Brasil, sendo um método de controle altamente eficiente e desejável dentro das estratégias de manejo integrado recomendadas.

078 - Estabelecimento de uma coleção de plasmídeos e bactérias para transformação genética de plantas

Leonardo Pedro De Alcantara Barreto¹, Andressa da Cunha Quintanda Martins², Thaís Nicolini de Oliveira², Patricia Messenberg Guimarães², Ana Cristina M. Brasileiro²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Vetores plasmidiais são sequências de DNA circular com capacidade autorreplicativa e são ferramentas imprescindíveis para trabalhos em engenharia genética. Por isto, necessários para nossas funções diárias no laboratório. Esses vetores possuem genes que codificam proteínas capazes de conferir, ao organismo transformado, resistência a um agente de seleção. Também é comum que possuam um gene repórter, que possibilita a fácil visualização de um indivíduo ou conjunto de indivíduos transformados. Os vetores plasmídias estão divididos em duas principais categorias: de expressão e de clonagem. Os vetores de expressão são aqueles que têm por principal finalidade a expressão de proteínas em um organismo heterólogo. Os vetores de clonagem são utilizados para a clonagem e engenharias de fragmentos de DNA e, por este motivo, possuem vários sítios de restrição únicos em sua sequência. Visando organizar de forma eficiente estas ferramentas de trabalho, foi construída uma coleção de vetores plasmidiais e bactérias em uso no laboratório de Interação Planta-Patógeno (LPP-III) da Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia. Para tanto, várias etapas foram desenvolvidas e que envolveram a introdução e multiplicação dos vetores em linhagens engenheiradas de *Escherichia coli* (DH106), análise de transformantes por meio da técnica de PCR, purificação, quantificação e avaliação em gel dos vetores isolados. O projeto foi concluído com o devido armazenamento destes vetores, bem como dos estoques em glicerol das colônias bacterianas transformadas com esses vetores. Até o presente momento, 30 plasmídeos foram organizados e catalogados, e se distribuem em vetores binários para expressão em plantas (séries pCAMBIA, pPZP e pCas9) e de clonagem (séries pClone e pGEM-T easy). Esta coleção estará em constante atualização à medida que mais vetores forem sendo adicionados. Usufruir do material organizado na coleção poupará tempo de trabalho a toda a equipe do laboratório, auxiliando nas atuais e futuras pesquisas.

079 - Expressão de genes de defesa em grão de bico após aplicação de extrato de *Rhizobium tropici*

Lucas Jose De Sousa¹, Ivonaldo Reis Santos¹, Luiz Eduardo Bassay Blum¹, Manuel Megias Guijo², Fabio B. Reis Junior³ e Angela Mehta³

¹Universidade de Brasília; ²Universidad de Sevilla; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O manejo de fungos dos complexos de espécies do gênero *Fusarium* que causam murchas vasculares, amarelecimento e podridão das raízes em diversas plantas tem sido difícil, o que leva ao uso de fungicidas químicos. Nesse sentido, a indução de genes de defesa da planta utilizando biomoléculas pode ser uma medida promissora, pois não exibe ação tóxica e desencadeia uma série de alterações bioquímicas e físicas, como por exemplo a produção de proteínas relacionadas à patogênese (PR), que desempenham atividade antimicrobiana. O objetivo do presente estudo foi avaliar a expressão diferencial de genes de defesa em plantas de grão de bico (*Cicer arietinum* L.) submetidas ao tratamento com extrato de *Rhizobium tropici* (ERT). Raízes de grão de bico cv. Cícero foram coletadas 24 e 48h após tratamento com ERT e comparadas ao controle (plantas não tratadas). Posteriormente, as amostras foram utilizadas para a purificação de RNA total, seguido do tratamento com DNase para a síntese do cDNA. Os resultados obtidos mostraram que em 24h os genes que codificam as proteínas Lipoxigenase, Dioxigenase, Catalase, Peroxidase e Fenilalanina amônia-liase tiveram a expressão regulada positivamente quando comparados ao controle. Em 48h a expressão dos genes que codificam as proteínas Lipoxigenase, Peroxidase foi maior estatisticamente quando comparada ao tempo de 24h, enquanto os demais genes mantiveram a expressão. Entretanto, β -1,3-Glucanase e Proteínas-quinases ativadas por mitógenos (MAPKs) não apresentaram diferença estatística nos dois tempos avaliados quando comparados ao controle. Estes resultados demonstram que o ERT foi eficiente na indução da maioria dos genes de defesa avaliados. Outros experimentos serão realizados para verificar o potencial do extrato na redução da murcha de *Fusarium* em grão de bico.

080 - Expressão diferencial de genes em clone de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) resistente ao fungo *Moniliophythora perniciosa*.

Loeni Ludke Falcão^{1,2}, Priscila Grynberg¹, Roberto Coiti Togawa¹, Marcos Mota do Carmo Costa¹, Orzenil Bonfim Silva-Junior¹, Paulo Sérgio Beviláqua de Albuquerque³, Rafael Moises Alves¹, Joséilde Oliveira Silva Werneck¹, Marcelo Brigido², Lucilia Helena Marcellino¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ²Universidade de Brasília; ³Ceplac/Pa

O cupuaçuzeiro é uma planta da biodiversidade brasileira e uma cultura importante para a economia agrícola da região Norte do Brasil. Essa cultura é prejudicada pelo ataque do fungo *M. perniciosa*, causador da doença vassoura-de-bruxa (VB). A obtenção de cultivares resistentes, que aliem alta produtividade e qualidade, é um desafio para a cultura. O conhecimento da genética molecular de cupuaçuzeiro poderia acelerar a geração destes cultivares. O objetivo desse trabalho foi avaliar a expressão gênica relacionada ao processo de resistência à VB em cupuaçuzeiro. Para tal, foi avaliado o transcrito de gemas apicais de cupuaçuzeiro resistente (clone 174) e de suscetível (clone 1074), não inoculados e inoculados com *M. perniciosa*, 24 e 48 horas após infecção (hai). O RNAseq foi realizado em plataforma Illumina. As sequências foram mapeadas no genoma de cacau. Os genes diferencialmente expressos (DEGS) nas condições contrastantes utilizadas foram determinados pelo programa NOISeq. A expressão diferencial de alguns genes foi mensurada por qPCR para validar as análises *in silico*. Os DEGS foram avaliados via enriquecimento de termos GO (Gene Ontology) que foram anotados através dos domínios PFAM (base de dados com coleção de família de proteínas). O número de DEGS detectados aumentou de 24 para 48 horas, sendo 139 e 190 às 24 hai para 337 e 272 às 48 hai, respectivamente para resistente e suscetível. Dados iniciais gerados por qPCR confirmam as avaliações *in silico*. Os resultados da análise de enriquecimento de termos GO mostram poucos termos enriquecidos em 24 hai no clone suscetível e nenhum no resistente. Já para 48 hai, o número de termos enriquecidos foi maior. De maneira geral, os termos foram diferentes entre os clones. Somente três termos apresentam resultado semelhante. O enriquecimento de termos com genes negativamente regulados foi identificado apenas no clone resistente, como por exemplo, resposta a auxina. Estas análises contribuirão para maior compreensão do mecanismo de tolerância à VB em *T. grandiflorum*.

081 - Extratos bioativos de sementes de *Poaceae* aplicados ao controle do fitonematoide *Meloidogyne incognita*

Paulo De Moraes Ferreira¹, Thales Lima Rocha² e Vera Lucia Perussi Polez²

¹Universidade do Distrito Federal; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O nematoide das galhas radiculares *Meloidogyne incognita* é responsável pela vasta redução da produtividade e da qualidade dos produtos agrícolas. Atualmente, o controle deste fitopatógeno está centrado no uso de nematicidas sintéticos, os quais causam graves problemas à saúde humana, animal e ao meio ambiente. Nesse sentido, sementes, representam um arsenal de compostos biocidas. Este trabalho teve como objetivo a obtenção de extratos crus aquosos (ECAs) nematotóxicos a partir de sementes de gramíneas, assim como a caracterização dos mais efetivos quanto a termoestabilidade, citotoxicidade, fitotoxicidade e especificidade em relação a organismos não alvo. Para tanto, os gêneros *Paspalum* (20 espécies e 3 acessos) e *Brachiaria* (14 espécies e 3 acessos) pertencentes ao banco de germoplasma da Embrapa foram utilizados. A obtenção de juvenis de segundo estágio J2 de *M. incognita* seguiu a metodologia de Hussey e Barker. Os resultados dos bioensaios de viabilidade utilizando extratos crus aquosos de sementes de *Paspalum* e *Brachiaria* para as concentrações de (100, 300, 500 e 750µg/ mL-1) paralisaram acima de 95% dos J2 de *M. incognita*, após 48 horas de exposição. No bioensaio de recuperação ficou demonstrado que para a concentração de 100 µg.mL-1 foi observada uma atividade nematostática de 95% contra 50% para a concentração 300µg.mL-1, nas concentrações de 500 e 750µg.mL-1 foi constatado uma atividade nematicida com 95% dos J2 de fitonematoides mortos, após 48 horas de exposição. No teste de termoestabilidade foram escolhidos os extratos de *Paspalum* designados como (BGP 375, BGP 123 e BGP 308) e de *Brachiaria* (BDI 17, BHC 11 e BBP 11) mais efetivos contra os J2 de fitonematoides. Em relação ao bioensaio de viabilidade utilizando os extratos supracitados foi notado que todos foram capazes de paralisar acima de 95% dos J2, após 48 horas de exposição. Durante a realização dos experimentos descritos acima, foi observada a ausência de toxicidade para rotíferos (*Bideloidea* sp. e *Keratella* sp.) para todas as concentrações utilizadas.

082 - Identificação e quantificação de ésteres voláteis presentes na cultivar de pimenta habanero BRS Nandaia (*Capsicum chinense*).

Paula Almeida Silva¹, Maria Carolina Blassioli Moraes², Márcio Wandré Moraes de Oliveira², Sabrina Isabel C de Carvalho³, Claudia Silva da Costa Ribeiro³, Francisco Jose Becker Reifschneider⁴, Raul Alberto Laumann², Renato Soares⁵, Miguel Borges²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ³Embrapa Hortaliças; ⁴Embrapa Sede; ⁵Universidade Estadual Paulista

Além da pungência, as pimentas são atrativos culinários por causa do seu sabor, aroma e cor. O aroma vem dos componentes voláteis do fruto que, na sua maioria, são ésteres. O objetivo deste trabalho foi o de identificar os compostos voláteis da cultivar de pimenta Habanero BRS Nandaia e avaliar o período de maior produção destes após o corte dos frutos. Os voláteis de frutos de BRS Nandaia foram coletados pela técnica de aeração. Para isto, frutos maduros (~40 gramas) foram cortados em rodela, e imediatamente colocados em câmaras de vidro (N=4). Os voláteis foram coletados em 100 mg de um adsorvente porapak Q, em dois períodos consecutivos: de 0-2 e 2-16 horas. Os voláteis adsorvidos no polímero foram eluídos com 1000 µL de éter etílico e concentrado sob fluxo de nitrogênio para 500 µL. Os extratos da aeração foram analisados por CG-DIC e CG-EM. A quantificação foi realizada através do método do padrão interno. Para auxiliar na identificação dos ésteres, o extrato bruto contendo os voláteis da pimenta BRS Nandaia foi submetido à hidrólise básica. Na fase orgânica da hidrólise foram obtidos os álcoois e na aquosa os sais dos ácidos carboxílicos. Foram identificados 44 compostos: 6 sesquiterpenos, 3 hidrocarbonetos e 35 ésteres. A hidrólise do extrato contendo os voláteis mostrou a presença de dois ácidos: o ácido 3-metilbutanóico e o 2-metilbutanóico, e o álcool majoritário 4-metil-1-pentanol, seguido por menores quantidades dos álcoois heptanol, hexanol e octanol e (3Z)-hexen-1-ol. Os ésteres presentes em Nandaia são todos formados desses álcoois e ácidos, sendo majoritários os compostos 2 e 3-metilbutanoato de 4-metilpentila. A análise quantitativa mostrou que a maior parte dos voláteis totais é liberada nas duas primeiras horas de aeração. Não houve diferença significativa na quantidade de voláteis totais liberadas nos períodos de 0-2 e 2-16 h ($c_2 = 0,696$, $p = 0.406$, Kruskal Wallis). A influência destes ésteres na percepção do odor de pimenta está em avaliação utilizando-se a técnica GC-Nose.

083 - Influência de compostos voláteis de milho induzidos por herbivoria na defesa de plantas coespecíficas

Izabela Nunes do Nascimento¹, Maria Carolina Blassioli Moraes², Miguel Borges², Raul Alberto Laumann², Mirian Fernandes Furtado Michereff², Walter Esfrain Pereira¹

¹Universidade Federal da Paraíba; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Voláteis de plantas induzidos por herbivoria (VPIHs) podem ser utilizados em diferentes estratégias para proteção de plantas contra herbívoros como, por exemplo, o uso em liberadores para atrair inimigos naturais ou induzir a defesa de plantas. O objetivo desse estudo foi avaliar se VPIHs aplicados sinteticamente influenciam a defesa de plantas de milho. Para isto a produção de compostos voláteis de plantas de milho (genótipo Sintetico Spodoptera) foi avaliada quando expostas aos seguintes VPIHs: indol, (E)-2-acetato de hexenila, (Z)-3-acetato de hexenila, (RS)-linalol, DMNT e (E)- β -farneseno. Plantas sadias foram expostas a estes voláteis por 24h. Em seguida estas foram submetidas ou não à herbivoria do percevejo *Dichelops melacanthus*. Plantas que não receberam os compostos, também foram tratadas ou não com percevejos, como controle. Os voláteis das plantas submetidas aos tratamentos foram coletados pela técnica de aeração nos períodos de 0-48, 0-72 e 0-96h após o início da herbivoria. Os extratos de aeração contendo os voláteis emitidos pelas plantas foram analisados por CG-FID e CG-MS para identificar e quantificar os compostos presentes nas amostras, estes dados foram submetidos a análise de componentes principais. A produção de voláteis de plantas sadias agrupou com as plantas não tratadas em todos os horários avaliados. As plantas com herbivoria e tratadas com os compostos e submetidas a herbivoria se separaram em dois agrupamentos diferentes quando foram expostas aos compostos indol e (RS)-linalol. Os resultados obtidos até o momento mostram que os compostos indol e linalol aplicados sinteticamente alteram a produção de voláteis das plantas submetidas ao estresse de herbivoria, o que indica uma possível ativação do estado de alerta das plantas. Bioensaios comportamentais com plantas expostas aos VPIHs e sequencialmente à herbivoria estão em execução para avaliar se as diferenças observadas na produção de voláteis estão relacionadas com a defesa das plantas.

084 - Influência de compostos voláteis de milho induzidos por herbivoria na defesa direta de plantas coespecíficas

Izabela Nunes do Nascimento¹, Maria Carolina Blassioli Moraes², Miguel Borges², Raul Alberto Laumann², Mirian Fernandes Furtado Michereff², Walter Esfrain Pereira¹

¹Universidade Federal da Paraíba; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Os benzoxazinoides são metabólitos secundários comuns em plantas da família Poaceae que atuam na defesa das plantas, influenciando negativamente vários herbívoros. Para avaliar o efeito de compostos voláteis de plantas induzidos por herbivoria (VPIHs) na defesa direta, a produção dos benzoxazinoides em plantas de milho, com e sem herbivoria do percevejo *Dichelops melacanthus*, foi avaliada. Os VPIHs selecionados foram: indol, (E)-2-acetato de hexenila, (Z)-3-acetato de hexenila, linalol, DMNT e (E)- β -farneseno. Plantas sadias foram expostas ou não aos compostos por 24 h. Após esse período, as plantas ficaram em repouso por uma hora. Em seguida, estas receberam ou não fêmeas do *D. melacanthus* e, após 96h de herbivoria, foram submetidas a uma extração líquido-líquido. Os extratos obtidos foram analisados por HPLC com detector UV e por CL acoplada a espectrometria de massas. Para avaliar se as plantas submetidas aos voláteis tiveram sua defesa direta ativada, plantas expostas ou não a VPIHs foram oferecidas como alimento para o *D. melacanthus*. Os seguintes parâmetros foram medidos: fertilidade, fecundidade e sobrevivência de *D. melacanthus*. Plantas que receberam os compostos (E)-2-hexenil acetato, (E)- β -farneseno e DMNT apresentaram supressão de aproximadamente 50% na produção dos benzoxazinoides totais, quando comparadas com plantas que não receberam os VPIHs. Insetos alimentados em plantas tratadas com tais compostos, bem como com indol, linalol e (Z)-3-acetato de hexenila, tiveram a longevidade e a fertilidade reduzidas, comparados aos insetos alimentados com as plantas controle. A alteração na quantidade de benzoxazinoides totais não influenciou no desenvolvimento biológico do *D. melacanthus*. Não sabemos ainda quais os fatores envolvidos no mecanismo de defesa entre o *D. melacanthus* e o milho como hospedeiro. Neste caso, provavelmente devido a outros fatores, tenha ocorrido alguma alteração que prejudicou a alimentação do inseto em plantas tratadas com os VPIHs. Estudos posteriores serão necessários para elucidar essa hipótese.

085 - Novos acessos de *Amaranthaceae* no acervo da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – *Amaranthus*

Deborah Feliciano Pires¹, Beatriz Meira Matos¹, Juliano Gomes Pádua², Marcelo Fragomeni Simon², João Sávio de Oliveira Pais², Eloisa Aparecida Belleza Ferreira²

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília – Campus Planaltina;

²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Amaranthus é um gênero da família *Amaranthaceae* com mais de 100 espécies que compreendem plantas ornamentais, forrageiras, infestantes de culturas e produtoras de grãos com alta qualidade nutricional. Na alimentação humana, fornece em torno de 15% de proteína de alta qualidade. Esse pseudocereal tem sido cultivado na América por milhares de anos e ganha cada vez mais destaque no âmbito da segurança alimentar devido à alta produtividade e na ampliação da oferta de alimentos nutritivos e dietas restritivas ao glúten. Atendendo à necessidade de aumentar a variabilidade genética conservada na Embrapa, foram importados 167 acessos de sete espécies de *Amaranthus* (*A. albus*, *A. asplundii*, *A. caudatus*, *A. fimbriatus*, *A. hybridus*, *A. tuberculatus*, *A. wrightii*) provenientes de 16 países, no âmbito do projeto “Conservação de coleções vegetais em médio e longo prazo”. O presente estudo teve como objetivos: avaliar a porcentagem de emergência de plântulas (EP) de *Amaranthus*; agregar informações aos acessos de germoplasma, por meio da coleta e incorporação de testemunhas ao acervo do Herbário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CEN); e gerar imagens para o banco de dados de recursos genéticos da Embrapa (ALELO). As sementes foram submetidas aos procedimentos quarentenários usuais (inspeção, amostragem, plantio em casa de vegetação e avaliações fitossanitárias). Foram plantadas 20 sementes de cada um dos 167 acessos e a EP foi acompanhada por três meses. A taxa média de EP foi de 45% (DP 18,7%) e a máxima de 90%. Em apenas três acessos (1,8%) a EP não foi observada. As amostras germinadas foram cultivadas em casa de vegetação, onde foram fotografadas, coletadas e herborizadas durante a fase de floração. As exsiccatas foram depositadas no Herbário CEN e as fotos foram disponibilizadas no ALELO. Após liberação de quarentena o germoplasma importado, na forma de sementes, foi encaminhado ao banco genético. Esse trabalho contribuiu para o enriquecimento e agregação de informações ao germoplasma introduzido no Banco Genético da Embrapa.

086 - Novos acessos de Amaranthaceae no acervo da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – *Chenopodium*

Deborah Feliciano Pires¹, Beatriz Meira Matos¹, Juliano Gomes Pádua², Marcelo Fragomeni Simon², Eloisa Aparecida Belleza Ferreira²

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília – Campus Planaltina;

²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Chenopodium é um gênero botânico da família Amaranthaceae com mais de 150 espécies que compreendem plantas ornamentais, infestantes de culturas agrícolas, de uso fitoterápico e alimentar. Na alimentação humana, o grão do pseudocereal Quinoa (*Chenopodium quinoa*) fornece proteína de alto valor biológico que se assemelha à caseína. Nesse contexto, atendendo à necessidade de aumentar a variabilidade genética conservada na Embrapa, foram importados 96 acessos de 15 espécies de *Chenopodium* (*C. album*, *C. atrovirens*, *C. berlandieri*, *C. desiccatum*, *C. formosanum*, *C. fremontii*, *C. hians*, *C. incanum*, *C. leptophyllum*, *C. neomexicanum*, *C. nevadense*, *C. pratericola*, *C. standleyanum*, *C. strictum*, *C. watsonii*), provenientes de dois países, no âmbito do projeto “Conservação de coleções vegetais em médio e longo prazo”. Esse estudo avaliou a porcentagem de emergência de plântulas (EP) de *Chenopodium* e agregou informações aos acessos de germoplasma, por meio da coleta e incorporação de testemunhas ao acervo do Herbário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CEN); e geração de imagens para o banco de dados de recursos genéticos da Embrapa (ALELO). As sementes foram submetidas aos procedimentos quarentenários usuais (inspeção, amostragem, plantio em casa de vegetação e avaliações fitossanitárias). Foram plantadas 20 sementes de cada um dos 96 acessos e a EP foi acompanhada por três meses. A taxa média de EP foi de 14,6% (DP 8,6%) e máxima de 25%. Em 43 acessos (45%) não foi observada a EP. As amostras germinadas foram cultivadas em casa de vegetação, onde foram fotografadas, coletadas e herborizadas durante a fase de floração. As exsiccatas foram depositadas no Herbário CEN e as fotos foram disponibilizadas no ALELO. Após liberação de quarentena o germoplasma importado na forma de sementes foi encaminhado ao banco genético. Esse trabalho contribuiu para o enriquecimento e agregação de informações sobre recursos genéticos em Bancos de Germoplasma da Embrapa.

087 - O papel dos fatores de transcrição da superfamília NAC de soja em resposta a estresses múltiplos e morte celular programada em plantas

Luanna Pinheiro de Albuquerque Freitas Bezerra¹, Bruno Paes de Melo², Maria Fátima Grossi de Sá³, Elizabeth Pacheco Batista Fontes²

¹Universidade Católica de Brasília; ²Universidade Federal de Viçosa; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A superfamília NAC compreende uma família de fatores de transcrição (FT) distribuídos em diversas espécies de plantas. Em soja, ela é composta por 180 membros, subdivididos em 15 subfamílias. Os FTs NAC estão envolvidos no controle da morfofisiologia vegetal, respostas a estresses e progressão da morte celular programada (MCP). Análises de variação global da expressão gênica em soja sob déficit hídrico e em senescência identificaram dois genes, cujo perfil de expressão é contrastante, revelando-se alvos interessantes para o entendimento das funções dos FTs NAC de soja em resposta a múltiplos estresses e progressão da MCP. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo caracterizar funcionalmente os genes GmNAC065 e GmNAC085. Para compreender suas funções nas respostas a diferentes estresses, plântulas de soja foram submetidas a estresses múltiplos, e o perfil de expressão dos genes monitorado por qPCR. Linhagens de *A. thaliana* superexpressando os genes foram obtidas e expostas aos mesmos tratamentos, com a finalidade de entender a relação dos genes com os mecanismos de resposta ao estresse, monitorando-se a expressão de diversos genes marcadores. Para correlacioná-los à progressão da MCP, os FTs foram transientemente expressos em folhas de *N. benthamiana*, além de serem caracterizados bioquimicamente nas linhagens transgênicas de *A. thaliana*. Nossos resultados demonstram que os FTs exibem um perfil de expressão complexo e respondem com diferentes cinéticas e extensões de resposta aos estresses em soja. Quando superexpressos em *A. thaliana*, desencadeiam diferentes respostas, promovendo a regulação diferencial da expressão de genes marcadores, além de genes de enzimas envolvidas com o metabolismo oxidativo. A expressão dos FTs em *N. benthamiana* resulta em senescência foliar com diferentes extensões, confirmada pela perda de clorofila, peroxidação lipídica e acúmulo de peróxido de hidrogênio. Coletivamente, esses dados reforçaram que os genes NAC exibem plasticidade funcional ao participarem de vias integradas de resposta a estresses e MCP, colocando a superfamília NAC como um alvo promissor para a prospecção de cultivares superiores.

088 - Obtenção de plantas de soja com redução de fitato utilizando RNAi

Nathalia Aline Monteiro Torres¹, Jéssica Carrijo¹, Francisco Aragão², Giovanni R Vianna²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O ácido fítico ou fitato é a principal forma de armazenamento de fósforo pelas plantas. É considerado um forte quelante, ligando-se a cátions como ferro, zinco, magnésio e cálcio, que são minerais essenciais e de grande valor nutricional na dieta dos seres vivos, porém, é considerado um fator antinutricional por diminuir a disponibilidade dos mesmos. Este é sintetizado por uma via metabólica complexa que desempenha papéis importantes em diferentes processos de regulação da planta. Este trabalho tem por objetivo diminuir a concentração de fitato presente nas sementes. Para essa finalidade foram escolhidos dois genes, IPK1 e IPK2, localizados ao final da via de síntese. Baseado na sequência disponível no site Phytozome, uma sequência de 300 pares de bases foi escolhida e amplificada do DNA genômico de soja, por meio de uma PCR utilizando primers específicos que inseriram enzimas de restrição nas extremidades como fonte para clonagem em vetores específicos para utilização pela técnica de RNA interferente. A partir da sequência obtida, foram construídos os vetores contendo o cassete do RNAi, onde a mesma sequência está presente no sentido forward e reverse separados por um intron PDK. O vetor contém o gene marcador ahas que confere resistência ao herbicida imazapir, e o gene repórter gus para auxiliar na detecção das plantas transgênicas. As plantas transgênicas de soja foram geradas pelo método biobalístico. Ao final de todo o processo obteve-se quatro linhagens transgênicas positivas para silenciamento do gene IPK2, que foram confirmadas pelo ensaio do GUS e por PCR. Essas plantas foram transferidas para casa de vegetação até a obtenção de sementes. Um ensaio inicial de quantificação de fitato foi realizado para padronização do método. Não foi observada diferença no nível de fitato entre as plantas obtidas com as obtidas anteriormente pelo silenciamento do gene MIPS. Para uma melhor conclusão sobre a redução do ácido fítico será necessário obter novas linhagens de plantas de soja com silenciamento do gene IPK2 e IPK1.

089 - Obtenção de RNA de bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) para transcritômica e silenciamento gênico

Leonardo De Amorim Vidal¹, Juliana Dantas de Almeida², Eduardo Romano de Campos Pinto², Adriano Delly Veiga³, Diana Fernandez⁴, Oliveira Guerreiro Filho⁵, Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ³Centro de Café Alcides Carvalho, Instituto Agrônomo de Campinas (IAC); ⁴Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier-France; ⁵Embrapa Cerrados

O Brasil é o maior produtor de café do mundo, com uma produção de aproximadamente 48,99 milhões de sacas (60 kg) na safra 2018/2019 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 altos níveis de infestação pode causar até 100% de desfolha e queda de até 72% de produtividade. Considerando-se a dificuldade em localizar 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 haver referências de extração do transcrito da praga na literatura. Foram realizadas em laboratório coletas de ovos, larvas recém eclodidas, larvas em alimentação, pupas e adultos, para extração do RNA. Obtivemos material suficiente dos insetos para proceder à extração de RNAs das fases de larva, pupa e adultos. O resultado, em duplicata, da extração de RNA total da fase adulta indica que o protocolo para eclosão e extração do RNA foi estabelecido com sucesso, pois obtivemos a quantidade necessária para o sequenciamento (mínimo de 10 µg), e quando verificados em NanoDrop, as amostras apresentaram boa inflexão na curva. O estudo da expressão gênica do inseto permitirá maior conhecimento de suas características para a criação de estratégias de controle desta praga nas lavouras cafeeiras do país.

090 - Patogenicidade de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 ao tomateiro e seu reisolamento

Carlos Eduardo Estevanato dos Santos¹, Lincon Rafael da Silva¹, Irene Martins², Sueli Corrêa Marques de Mello²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A murcha causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 3 em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), amplamente distribuída no mundo, é um fator que limita a exploração da cultura. No intuito de iniciar um programa de controle biológico da doença com o uso de fungos antagonistas do gênero *Trichoderma*, procedeu-se à avaliação da virulência de três isolados do patógeno, utilizando a técnica de inoculação por imersão das raízes nuas de plântulas de tomate em suspensão de conídios. Plantas 'Santa Cruz Kada' foram obtidas a partir do plantio de sementes previamente desinfestadas em bandeja de isopor contendo substrato, enquanto os isolados do patógeno foram cultivados em arroz parboilizado. Aos 15 dias de cultivo, foram preparadas as suspensões de esporos para a inoculação, onde as plântulas tiveram suas raízes imersas por cinco minutos e, então, plantadas em vasos contendo 2,5Kg de terra adubada. Em seguida, aplicaram-se 10mL da suspensão diretamente no solo, na região da raiz. Aos 36 dias após a inoculação, quando os sintomas expressavam-se de forma acentuada, foram realizadas as avaliações da severidade da doença, com o auxílio de escala de notas. Também foram obtidas medições do comprimento de raízes e de parte aérea, bem como peso seco de raízes. O isolado CEN 1456 destacou-se em produção de danos às plantas, sendo consequentemente escolhido para uso em experimentos para o controle biológico da murcha-de-fusário em tomateiro. Concomitantemente aos procedimentos para a avaliação da patogenicidade dos isolados de *Fusarium*, os agentes patogênicos utilizados nesse trabalho foram reisolados a partir de estruturas das plantas doentes.

091 - Potencial nematotóxico de extratos vegetais obtidos de diferentes acessos de uma espécie de Solanaceae para o controle de *Meloidogyne incognita*

Paula Darliny Silva Ferreira¹, Juvenil Enrique Cares¹, Adriana Andrade Ferreira², Daniel Nogoceke Sifuentes², Sueli Corrêa Marques De Mello², Alicia Simalie Ombredane¹, Graziella Anselmo Joanitti¹ e Thales Lima Rocha²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Os fitonematoides das galhas são bastante prejudiciais para a agricultura, afetando culturas de grande relevância econômica, promovendo alterações no sistema radicular que impedem a absorção adequada dos nutrientes, sendo *Meloidogyne incognita* a espécie de maior destaque. Algumas estratégias são empregadas para o controle deste fitopatógeno, sendo a utilização de químicos sintéticos um dos métodos mais explorados, apesar de serem extremamente nocivos ao meio ambiente e à saúde humana. Dessa maneira há uma tendência mundial na busca por estratégias de controle eficazes e ambientalmente seguras. Diante dessa premissa, o objetivo deste trabalho está centrado em prospectar extratos vegetais exibindo atividade nematocida e/ou nematostática no controle de *M. incognita*. Extratos crus aquosos (ECAs) de diferentes acessos (11, 48, 52, 78) de uma espécie de planta pertencente à família Solanaceae foram obtidos e avaliados quanto a atividade nematotóxica sobre J2 de *M. incognita*. Os ECAs testados provenientes de sementes na concentração de 1 mg/ml demonstraram alto poder nematotóxico após 48 horas de exposição, exceto para o ECA do acesso 11. O ECA de sementes do acesso 48 teve a maior atividade nematocida, apresentando 100% de mortalidade de J2 após ensaio de recuperação. Foi constatada também, uma alta atividade dos extratos de sementes dos acessos 52 e 78. Os ECAs de sementes dos acessos 48, 52 e 78 foram selecionados para a realização de bioensaio in vitro utilizando diferentes concentrações: 100, 300, 500 e 1000 µg/ml, sendo também submetidos a outros testes para aferir a estabilidade térmica da ação desses ECAs, atividade nematotóxica sobre outras espécies de *Meloidogyne*, fitotoxicidade (sobre a germinação de Soja), toxicidade (sobre hemácias bovinas), fibroblastos e células de insetos, atividade sobre organismos não-alvos (como; fungos e bactérias benéficas do solo), e avaliação do fator de reprodução. Esses resultados demonstram que os ECAs, figuram como excelentes fontes de biomoléculas promissoras para o controle de *M. incognita*.

092 - Primeiro marcador cromossomo-específico para genótipos de *Arachis* obtido a partir do gene que codifica a expansina-like b (*AdEXLB8*)

Eliza Fabricio De Melo Bellard do Nascimento¹, Patricia Messenberg Guimarães², Ana Cristina M. Brasileiro², Mario Alfredo De Passos Saraiva², Ana Claudia Guerra de Araujo²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A citogenética molecular permite mapear em cromossomos sequências gênicas, mesmo quando em cópia-única pela técnica de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH). Nesse contexto, o transcriptoma de espécies silvestres de *Arachis* foi explorado para a seleção de genes a serem mapeados citogeneticamente, tais como as expansinas, envolvidas na plasticidade da parede celular em resposta a diferentes processos. Estudos anteriores demonstraram que espécies silvestres de *Arachis* submetidas ao déficit hídrico e infecção pelo nematoide das galhas (RKN) *Meloidogyne arenaria* apresentaram uma regulação positiva do gene que codifica a Expansina-like B (*EXLB*) em resposta a esses estresses. Apesar da contribuição da expansina no ajuste osmótico celular já ter sido descrita, o mecanismo pelo qual a superexpressão de *AdEXLB8*, uma *EXLB* isolada de *A. duranensis* aumentar a resistência ao RKN ainda não foi determinado. Buscando estabelecer um marcador cromossomo-específico e expandir o conhecimento sobre esse gene, foi realizado o mapeamento de um segmento genômico contendo a sequência gênica de *AdEXLB8*, em cinco genótipos diploides e alotetraploides de *Arachis*. Nos cinco genótipos, as análises indicaram a ocorrência de um locus de hibridização localizado na região distal do braço longo do par de cromossomo A5, para os genótipos com genoma/subgenoma A e, B5 apenas para *A. ipaensis* (genoma B). Nenhum sinal de hibridização foi detectado nos cromossomos B5 dos alotetraploides. Além da relevância para novas análises evolutivas do gene, esses resultados corroboram sua localização previamente determinada *in silico* para o genoma A de *A. duranensis*, genoma B de *A. ipaensis* e subgenoma A de *A. hypogaea*. A ausência de hibridização nos cromossomos B5 dos alotetraploides sugere a ocorrência de reorganização estrutural desse segmento, ou mesmo do cromossomo, após a alotetraploidização, impedindo sua detecção. Importante ressaltar que, pela primeira vez foi estabelecido um marcador cromossomo-específico a partir da sequência de um gene cópia única. O estabelecimento dessa ferramenta auxiliará nos estudos para a melhor compreensão do genoma de *Arachis*.

093 - Procedimento para criopreservação de sementes de *Pitaya hylocereus undatus* (Britton & Rose)

Águeda Gonçalves Tavares¹, Rosângela Caldas Mundim², Antonieta Nassif Salomão², Izulmé Rita Imaculada Santos²

¹Centro Universitário de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A pitaya, Cactaceae, é uma frutífera com polpa rica em vitamina C, antioxidante que fortalece o sistema imunológico contra radicais livres. O objetivo desse trabalho foi estabelecer um procedimento de criopreservação para sementes de pitaya. Essa técnica consiste no congelamento em nitrogênio líquido (NL, - 196°C) para a conservação em longo prazo de germoplasma vegetal. Sementes foram extraídas dos frutos com polpa branca (PB) e vermelha (PV), lavadas com água e detergente e secas sobre a bancada do laboratório (temperatura ambiente, 25 ± 2°C). Em seguida, foi feita a determinação dos teores de água das sementes pelo método da estufa (103°C, ± 18 horas), que foi 9,05% (PB) e 10,3% (PV). A seguir, preparou-se duas amostras de cada tipo de semente, uma para o teste de germinação inicial (controle, NL-) e outra para o congelamento (NL+). Para o teste inicial as sementes (4 x 20) foram semeadas em meio de cultura MS (10 ml em tubos de ensaio 25 x 150 mm) e papel mata-borrão umedecido com água esterilizada e mantidas em sala de crescimento (25 ± 2°C, 12 horas de luz). O congelamento foi por mergulho de criotubos contendo as sementes (4 x 20) no NL. O descongelamento à temperatura ambiente (25 ± 2°C), por 4 horas, e em seguida as sementes foram semeadas meio de cultura MS e papel mata-borrão e mantidas nas condições descritas acima. Os percentuais de germinação sobre papel foram maiores para sementes criopreservadas (NL+) ou não (NL-) e a análise dos resultados indicou que essa diferença é estatisticamente significativa. Sementes obtidas de frutos com PV apresentaram germinação superior à observada para frutos com PB nos dois substratos testados. Após a criopreservação, o maior percentual de germinação (45%) foi das sementes de frutos com PV semeadas sobre papel. Os percentuais de germinação obtidos foram baixos, sugerindo que sejam necessários tratamentos adicionais para melhorar esses resultados e para que o procedimento de criopreservação seja mais eficiente.

094 - Produção de hidrogéis à base de polímeros naturais contendo nanopartículas de prata sintetizadas utilizando *Mentha*

Heloíse Maitê Nunes Seabra¹, Júlia Moreira Pupe¹, Luciano Paulino da Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Hidrogéis advindos de biopolímeros naturais como quitosana, gelatina, carboximetilcelulose e alginato apresentam vantagens como biocompatibilidade e biodegradabilidade. O estudo envolveu a produção de hidrogéis formados por misturas de biopolímeros aos quais foram acrescentadas AgNPs sintetizadas com extratos aquosos de plantas do gênero *Mentha*, potenciais candidatas para fornecer compostos biorredutores e formar AgNPs com propriedades antimicrobianas. Visa-se então, a produção de hidrogéis antimicrobianos biodegradáveis. Para misturas binárias foram tabelados valores ótimos de concentrações e aplicou-se a média entre eles para selecionar a concentração de uso. Para misturas de três biopolímeros utilizou-se um diagrama ternário. A gelatina foi aquecida em banho-maria a 35°C, os demais biopolímeros foram dissolvidos em temperatura ambiente e agitação magnética para formação dos hidrogéis. Primeiramente, acondicionou-se os hidrogéis em incubadora com controle de temperatura (25°C) e monitoramento de umidade relativa, e armazenados a 4°C em seringas de 10 mL. Analisou-se a printabilidade manual dos hidrogéis extrusando palavras e desenhos com seringas de 10 mL em superfície plana e elevando-a a 90° para verificação de estabilidade. Observou-se que a printabilidade dos hidrogéis permitiram a formação de palavras por extrusão de maneira uniforme. Nestes hidrogéis foram adicionadas AgNPs produzidas por rota de síntese verde utilizando extrato aquoso de acessos do gênero *Mentha* que anteriormente demonstrou atividade antibacteriana em teste de concentração inibitória mínima. Por fim, com meio sólido contendo os microrganismos realizou-se o teste de atividade antimicrobiana dos hidrogéis contendo AgNPs e hidrogéis controle formulados com AgNO₃. Ao observar nas placas por até 72 h constatou-se que não houve formação de halo de inibição característico ao redor de hidrogéis contendo AgNPs e assim foi observada atividade antimicrobiana dos hidrogéis por contato direto, ou seja, abaixo do local aonde estes foram depositados nas placas contendo os microrganismos. A utilização de AgNPs em hidrogéis pode ser considerada uma abordagem promissora no que tange à sua assepsia, principalmente para animais e pacientes com queimaduras, aonde infecções constituem causa de morbidade em todo o mundo.

095 - Produção de lipossomas à base de plantas medicinais com propriedades anti-inflamatórias e antibacterianas

Tatiane de Melo Pereira¹, Cínthia Caetano Bonatto², Luciano Paulino Silva³

¹Universidade de Brasília; ²Tecsinapse; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Existem inúmeros extratos de plantas medicinais que já são comprovadamente anti-inflamatórios, porém, a grande dificuldade da utilização de extratos aquosos no uso tópico é a presença de camada lipofílica na pele que dificulta a penetração dessas moléculas. Lipossomas, com sua afinidade anfipática, possibilitam ultrapassar essa barreira e entregar ativos em concentrações maiores do que o ativo livre. Dessa forma, esse trabalho visa nanoestruturar extratos aquosos com potencial anti-inflamatório em lipossomas para futura incorporação em hidrogel para que possam ser empregados em curativos ativos. Para isso, 11 espécies de plantas com potenciais terapêuticos foram selecionadas e para uma veiculação mais eficaz dos seus extratos aquosos, os mesmos foram nanoestruturados em lipossomas produzidos com fosfolipídeos oriundos destas mesmas plantas. As plantas foram coletadas no Jardim Botânico de Brasília (JBB) e no horto medicinal da Embrapa. A extração de fosfolipídeos foi realizada conforme a patente WO2016119030A1 e os fosfolipídeos foram ressuspensos em água ultrapura ou extrato aquoso das plantas a 0,1 mg/mL para cada espécie. A caracterização dos lipossomas foi realizada por espalhamento de luz dinâmico, potencial Zeta e microscopia de força atômica (MFA). Com duas plantas, não foi possível a obtenção de lipossomas. Adicionalmente, para a maioria das espécies não houve variação do diâmetro hidrodinâmico em número dos lipossomas, cerca de 70 nm, que continham água ultrapura para aqueles com extrato aquoso das plantas. Todos os lipossomas apresentaram potencial Zeta negativo. Já nas avaliações por MFA, percebeu-se que há variação no tamanho (meia altura) dos lipossomos, sendo menores os que continham apenas água ultrapura. Testes anti-inflamatórios e antibacterianos serão realizados com as 9 nanoformulações produzidas, seguidos de testes para obtenção de um curativo ativo à base de hidrogel + lipossomos. Estas abordagens serão necessárias no intuito de ao final da pesquisa obter pelo menos um curativo ativo com ação anti-inflamatória e antibacteriana os quais serão avaliados quanto à eficácia in vitro e in vivo.

096 - Produção de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando bactérias e leveduras probióticas e investigação da atividade antimicrobiana

Heloíse Maitê Nunes Seabra¹, Luciano Paulino da Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Potenciais candidatos para produção de AgNPs são os probióticos, microrganismos vivos e seus metabólitos reconhecidos pela riqueza de efeitos benéficos à saúde. Kombucha e Kefir, bebidas probióticas advindas do consórcio entre leveduras e bactérias responsáveis por fermentar soluções aquosas adoçadas (Kefir) ou chás adoçados (Kombuchá). Entre os principais compostos que consistem no caldo fermentado estão o ácido acético, ácido glucônico, ácido lático e ácido glucurônico. Assim, no presente estudo propôs-se a produzir AgNPs a partir de caldo fermentado de leveduras e bactérias probióticas, e investigar sua possível atividade antimicrobiana com potencial uso em aplicações terapêuticas antibacterianas. O estudo foi realizado com duas colônias de Kombucha (brasileira e alemã) e uma de Kefir. Para Kombuchá, a fermentação foi preparada adicionando 50g/L de sacarose em água tipo III e adicionou-se 10 g/L de chá verde (*Camellia sinensis*) obtido por decoção. Realizou-se o inóculo das bactérias e leveduras no meio filtrado à temperatura ambiente e adicionou-se 10% de caldo fermentado preparado previamente, sendo que esta mistura foi incubada por 8 dias. Na fermentação do Kefir, adicionou-se 30 g/L de açúcar mascavo em água tipo III e posteriormente adicionou-se a colônia, sendo que a incubação ocorreu por 48 h. Para a produção de AgNPs realizou-se uma diluição seriada com água tipo I para obter 4 diferentes concentrações de caldo fermentado e em cada uma adicionou-se uma solução de AgNO₃ para uma concentração final de 1 mM. Como controle realizou-se a síntese com meios de cultura não fermentados. As reações de síntese foram realizadas em banho-maria por 2,5 h a 75°C. Observou-se uma coloração mais escura nas soluções com maior concentração de caldo fermentado e mais clara nas soluções de menor concentração para ambos os probióticos, indicando formação de AgNPs. No teste de concentração inibitória mínima, AgNPs advindas do Kombuchá inibiram crescimento de bactéria Gram-negativa em concentrações de 128 e 256 µM. Pretende-se concluir o ensaio biológico com bactérias Gram-negativas e Gram-positivas para as AgNPs produzidas.

097 - Quanto tempo as plantas permanecem em observação fitossanitária em casa de vegetação da estação quarentenária de germoplasma vegetal da Embrapa?

Beatriz Meira Matos¹, Deborah Feliciano Pires¹, João Sávio de Oliveira Pais², Helouise Montandon de Carvalho Rocha², Norton Porto Benito², Eloisa Aparecida Belleza Ferreira²

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília – Campus Planaltina;

²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Estimativas da FAO indicam perdas de 20 a 40% da produção agrícola global causada por pragas, com prejuízos de cerca de US\$ 290 bilhões. As estratégias de proteção fitossanitária têm, portanto, crescente importância para a segurança alimentar da humanidade. Nesse escopo, o intercâmbio de germoplasma tem como desafio ampliar a base genética movimentando espécies vegetais pelo mundo, sem transferir pragas a elas associadas. Desde 1977, a Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia tem como mandato impedir a introdução e a exportação de pragas, em alinhamento com a Convenção Internacional de Proteção de Vegetais. O objetivo desse trabalho foi estimar o tempo médio do plantio ao término das análises fitossanitárias (descarte/envio ao cliente) do germoplasma, em remessas recebidas de fevereiro de 2011 a outubro de 2019. Todas as plantas, partes de plantas, ou sementes, foram submetidas aos procedimentos quarentenários usuais (plantio em casas de vegetação, inspeção, amostragem, avaliações fitossanitárias). Em aproximadamente nove anos, foram plantados 89 gêneros em 674 eventos de plantio (65% grãos, 9% forrageiras, 5% perenes, 21% outras). Remessas de milho representaram 35% do total, seguido por soja (13%), trigo (10%) e arroz (4%). Foram sementes OGM: 81%, 77%, e 63% das plantas de soja, milho e algodão, respectivamente. O tempo médio entre plantio e término das análises foi de 114 dias. Plantas anuais (especialmente grãos) ficam em média 78 dias plantadas em quarentena, enquanto as perenes em média 328 dias (CV = 47,2; máximo 788 e mínimo 123). Forrageiras se comportam de modo intermediário (média = 134 dias). As culturas anuais necessitam de um menor período nas casas de vegetação, refletindo em menor tempo de quarentena, enquanto as culturas perenes necessitam de maior tempo nas casas de vegetação para a conclusão das análises fitossanitárias. Esse fator interfere diretamente nos custos de manutenção do material em casa de vegetação, assim como na maior vulnerabilidade e perda do mesmo.

098 - Síntese verde de nanopartículas de prata com acessos de *Vigna* para aplicações biológicas in vitro

Karoline de Britto Rocildes Abreu¹, Luciano Paulino Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A nanotecnologia verde oferece aplicações sustentáveis para diversos setores produtivos. A crescente busca por alternativas para produção em larga escala e com menor risco de contaminação desencadeou um aumento nas pesquisas por rotas verdes para síntese de nanopartículas. Neste sentido, o gênero *Vigna*, tem sido pouco estudado sob o ponto de vista nanotecnológico. Tendo em vista esse fato, o presente estudo visa sintetizar comparativamente nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando extratos aquosos de diversas espécies do gênero *Vigna* obtidas a partir de plântulas provenientes de testes de germinação pela equipe do Laboratório de Sementes. As AgNPs foram sintetizadas com nitrato de prata (AgNO₃), como fonte de íons metálicos. Foi realizada uma decocção com plântulas e as reações ocorreram em tubo de ensaio entre 2,5 mL do decocto e 2,5 mL de uma solução aquosa de AgNO₃ (2 mM). Os tubos foram colocados em banho-maria e a cada 30 min foram coletados 100 µL da suspensão para leitura de absorbância a 405 nm, até completar um ciclo de 2h30min. Posteriormente, as AgNPs foram caracterizadas por espalhamento de luz dinâmico (DLS) com o objetivo de determinar os tamanhos (diâmetro hidrodinâmico) e mobilidade eletroforética com o intuito de determinar os potenciais Zeta. As AgNPs tiveram absorbâncias máximas bastante variadas, indicativas de taxa de formação ou tamanho/formas diferentes. Na análise dos resultados observou-se que o Pdl variou de 0,185 a 0,669 com média de $0,384 \pm 0,024$ enquanto o potencial Zeta esteve entre -31,6 e -12,5 mV, com média de $-21,35 \pm 2,59$ mV e o diâmetro hidrodinâmico entre 81,26 e 825,3 nm, com média de $134,8 \pm 17,87$ nm. Por meio dos ensaios de síntese já realizados foi observado que existe uma grande variabilidade quanto ao potencial de síntese e características das AgNPs produzidas entre os diferentes acessos de *Vigna*. Em seguida, serão realizados ensaios de concentração inibitória mínima e aplicada a técnica de disco-difusão contra o fitopatógeno *Xanthomonas campestris* para verificar a possível ação antibacteriana dessas AgNPs.

099 - Síntese verde e caracterização de nanopartículas de prata utilizando extratos aquosos de cucurbitáceas para datiloscopia

Ana Júlia Lima Barbosa¹, Júlia Moreira Pupe¹, Luciano Paulino da Silva²

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A papiloscopia forense compreende a identificação humana por meio de impressões digitais. Essas impressões, quando latentes, necessitam do auxílio de agentes reveladores para detecção. Assim, as nanopartículas têm sido exploradas como alternativa promissora para revelação de impressões digitais latentes (IDLs), por apresentarem maior sensibilidade e seletividade. Dessa maneira, este estudo objetivou sintetizar nanopartículas de prata (AgNPs) por rota verde utilizando extratos aquosos de cucurbitáceas, que tiveram suas plântulas pesadas e levadas à fervura durante 5 min, com adição de água ultrapura em volume correspondente à massa determinada até a concentração de 100 mg/mL. Os extratos produzidos com 100 diferentes acessos de plantas foram adicionados às soluções aquosas de nitrato de prata para concentração final de 1 mM visando à síntese de AgNPs. Após a produção, as suspensões de AgNPs apresentaram diferenças na coloração, de modo que quanto mais escura a suspensão, maior o indício da formação de AgNPs no meio reacional. Após a síntese, as AgNPs foram caracterizadas quanto ao diâmetro hidrodinâmico (Z-average), índice de polidispersividade (Pdl) e potencial Zeta em equipamento de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e mobilidade eletroforética. Três medições foram realizadas em modo automático para determinação do Z-average e Pdl, e modo manual para potencial Zeta, sendo que os valores obtidos variaram entre 146,8 e 1288,0 nm; 0,186 e 0,742 e; -37,9 e -23,0 mV, respectivamente. Em seguida, essas suspensões coloidais foram investigadas quanto à aplicabilidade para revelação de IDLs. O volume total de cada suspensão coloidal foi adicionado em placas de Petri e fragmentos de papel alumínio contendo IDLs coletadas a partir de voluntário foram colocados em contato com as AgNPs, armazenados em incubadora durante 24 h, a 25°C e 85% de U.R. A capacidade de detecção e identificação das IDLs foi determinada por três avaliadores independentes, que consideraram 60% das suspensões coloidais com desenvolvimento evidente ou muito evidente para revelação das IDLs, possibilitando o futuro desenvolvimento de nanomaterial sustentável para aplicações forenses.

100 - Superexpressão do gene *AdEXLB8* para a resistência a nematoide e tolerância à seca em algodão

Milena Zorante de Alecrim¹, Carolina Vianna Morgante², Maria Eugênia Lisei-De-Sá^{3,4}, Patricia Messenberg Guimarães⁴, Ana Cristina M. Brasileiro⁴ e Maria Fátima Grossi De Sá⁴

¹Universidade Católica de Brasília; ²Embrapa Semiárido; ³EPAMIG; ⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Culturas estão expostas continuamente a estresses múltiplos e simultâneos que limitam a produtividade agrícola. O desenvolvimento de cultivares mais adaptadas aos diferentes tipos de estresses abióticos e bióticos é de importância estratégica para atender às atuais pressões para uma maior produtividade do sistema agrícola. O gene *AdEXLB8* de *Arachis duranensis* codifica uma Expansina like-B pertencente a uma família de proteínas extracelulares responsáveis pelo relaxamento e extensão da parede celular. Estudos preliminares indicam que este gene é induzido em plantas sob déficit hídrico e sua superexpressão em raízes de soja e amendoim reduz a infecção por nematoides do gênero *Meloidogyne spp.* O objetivo deste trabalho é a validação da função biológica de *AdEXLB* como prova de conceito em uma cultura-alvo. Plantas de algodão foram transformadas pelo método de biolística para a superexpressão de *AdEXPLB8* sob regulação do promotor constitutivo UceA1.7 de algodão. Foram obtidos 12 eventos independentes de transformação na geração T0, selecionados pela capacidade de crescimento em meio seletivo contendo o herbicida Imazapyr e pela amplificação por PCR de uma região do gene *AdEXPLB8*. Para a avaliação da resistência a *Meloidogyne incognita*, plantas da geração T1 tiveram suas raízes infectadas com 4.200 juvenis em estágio 2. Após 90 dias foi realizada a avaliação do número de galhas por meio de uma escala de notas. Plantas superexpressando *AdEXPLB8* apresentaram redução de galhas na ordem de 60 %, quando comparadas ao genótipo suscetível não transgênico (NT). Estas mesmas plantas foram avaliadas quanto à tolerância à seca em um ensaio do tipo dry down utilizando discos foliares. Foram identificadas três plantas, oriundas de um mesmo evento transgênico T0, com capacidade de retardar a perda de água foliar nas primeiras horas de exposição à dessecação, em comparação a plantas NT. Esses resultados evidenciam o potencial da superexpressão de *AdEXP8* para a tolerância a estresses múltiplos e simultâneos. Avaliações complementares mais detalhadas estão previstas para plantas na geração T2.

101 - Transformação de tomate micro-tom com genes de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) associados à resistência a doenças

Isabella Lima de Mesquita¹, Michelly Da Silva Neves², Leila Maria Gomes Barros³, Loeni Ludke Falcão^{1,3}, Juliana Dantas de Almeida³, Lucilia Helena Marcellino³, Joseilde Oliveira Silva Werneck³

¹Universidade de Brasília; ²UPIS; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) é uma fruteira nativa da Amazônia com enorme potencial econômico devido às múltiplas utilidades de seus frutos, como a produção de sucos, sorvetes, licores, doces e cosméticos. Contudo, esta cultura é afetada pela vassoura-de-bruxa, doença causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, responsável por grande redução na produção. A análise do transcriptoma de cupuaçuzeiro permitiu identificar alguns genes do tipo PR (Pathogenesis-related) que podem estar relacionados com a resistência a *M. perniciosa* e outros fungos. O objetivo deste trabalho foi transformar tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) cv Micro-Tom-Rg1 (MT) com genes PR de cupuaçuzeiro para avaliação de função dos mesmos. Vetores binários, baseados em pBI121, contendo os genes TgPRA, TgPRb e TgPRc foram transferidos para *Agrobacterium tumefaciens* GV3101. Em seguida, os clones foram usados para transformar MT, por meio de co-cultivo com explantes foliares. Fragmentos de plantas regeneradas, resistentes à canamicina, foram analisados por ensaio histoquímico de GUS (β -glucuronidase) para confirmação da transformação. As plantas T0 foram cultivadas em casa de vegetação até a produção de frutos. O DNA genômico extraído destas plantas foi usado para realização de PCR e Southern blot. Plantas da geração T1 de MT-PRA e MT-PRb foram analisadas por teste de GUS. Como resultado da transformação de MT, foram obtidos 12 eventos T0 de MT-PRA, 14 de MT-PRb, 2 de MT-PRc e 4 de MT-pBI121 (controle). Análises histoquímicas de GUS, PCR e Southern blot das plantas T0 comprovaram a transformação com os genes PR. Com o cultivo das sementes destas plantas, foram obtidas 104 plantas descendentes (T1) de MT-PRA e 72 de MT-PRb. Ensaios de GUS confirmaram que a maioria dos descendentes continha o transgene. O cultivo das plantas T1 de MT-PRc foi iniciado. Metodologias de bioensaios de MT-PR contra fungos fitopatogênicos estão sendo desenvolvidas. Em breve, plantas homozigotas para os genes inseridos serão avaliadas quanto à resistência a doenças fúngicas de interesse para as culturas de cupuaçu e tomate e quanto à tolerância a estresse hídrico.

102 - Uso do RNA de interferência para a validação funcional de genes de parasitismo do fitonematoide *Meloidogyne incognita*

Valdeir Junio Vaz Moreira¹, Maria Eugênia Lisei-de-Sá², Maria Fátima Grossi de Sá¹, Leonardo Lima Pepino Macedo¹, Marcos Fernando Basso¹, Priscila Grynberg¹, Carolina Vianna Morgante¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ²EPAMIG

Atualmente, várias práticas de manejo são utilizadas para o controle do fitonematoide *Meloidogyne incognita*. No entanto, devido à ineficiência e aos riscos do uso de agroquímicos, além da quebra de resistência de cultivares tolerantes, novas estratégias biotecnológicas são necessárias, sendo o uso do RNA de interferência a mais utilizada diante do seu potencial. Com o objetivo de promover o silenciamento de genes de parasitismo envolvidos no estabelecimento em raízes, foram obtidas linhagens transgênicas de *Arabidopsis thaliana* e *Nicotiana tabacum* expressando dsRNAs para os potenciais efetores Minc03328, Minc07825, Minc11166, Minc12639 e Minc16803. Os cassetes de transformação foram desenhados para expressar dois tipos de dsRNAs, linear (nuHP) e estruturado (nuVir) para os genes Minc03328 e Minc16803, enquanto que para os genes Minc07825, Minc11166 e Minc12639 foi utilizada apenas a versão estruturada. As análises de expressão mostraram que esses genes foram significativamente mais expressos momentos iniciais do estabelecimento de *M. incognita* em raízes de *N. tabacum*. Neste estudo foram avaliadas linhagens transgênicas de *A. thaliana* expressando dsRNAs contra os genes Minc03328 e Minc16803, enquanto os demais ainda permanecem a serem desafiados. O número de galhas e massa de ovos foram reduzidos em 81% e 93% no evento transgênico At-nuHP-Minc03328, enquanto os eventos At-nuVir-Minc03328 a redução foi de 56% e 65%, respectivamente. Por outro lado, o ensaio do silenciamento do gene Minc16803 demonstrou uma redução de 76% e 87% para linhagens At-nuHP-Minc16803, enquanto a versão estruturada demonstrou uma diminuição de 56% e 71% para esses mesmos parâmetros avaliados. Embora os resultados tenham demonstrado que a versão linear promove uma redução de todos parâmetros, comparado ao estruturado, ambas versões promoveram um atraso significativo no ciclo de desenvolvimento do nematoide em relação ao controle experimental. Coletivamente, os dados sugerem que ambos os genes podem estar envolvidos no desenvolvimento do sítio de alimentação, afetando consequentemente a reprodução, e que o uso da versão dsRNA-nuHP pode ser aplicado para geração de culturas geneticamente modificadas resistentes a este fitoparasita.

103 - Utilização de sensores eletroquímicos na determinação de catequina em extratos vegetais destinados à síntese verde de nanopartículas de prata

Caroline Matos Ribeiro¹, Vitor Akira Arake Shiratori¹, Julia Moreira Pupe¹, Clarissa Silva Pires de Castro², Luciano Paulino da Silva², Gabriella Magarelli²

¹Universidade de Brasília; ²UPIS; ³Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A catequina é um composto polifenólico pertencente à classe dos flavonoides, encontrado em uma diversidade de plantas, e que possui propriedades biológicas importantes como ação antioxidante e antimicrobiana. No campo da nanobiotecnologia, extratos vegetais podem ser utilizados para a síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs), nos quais compostos fenólicos presentes nos extratos, tais como a catequina, podem atuar na redução da prata iônica presente no meio reacional. Desta forma, o desenvolvimento de métodos sensíveis e de baixo custo é de extrema importância para a determinação destes compostos em alimentos e plantas. Neste trabalho, foram desenvolvidos métodos eletroquímicos utilizando-se eletrodos de carbono vítreo (GC) e grafeno (GPH) para a determinação de catequina em extratos vegetais utilizados pelo laboratório de nanobiotecnologia (LNANO) na síntese de AgNPs. As análises voltamétricas foram realizadas em tampão fosfato pH = 3,0 (para GC) e 5,0 (para GPH); amplitude de pulso = 50 mV e velocidade de varredura = 50 mVs⁻¹. Nestas condições, picos de corrente anódica foram observados nos voltamogramas em potenciais de 0,41V (para GC) e em 0,03V (para GPH). A curva analítica obtida para o método voltamétrico com GC apresentou faixa linear entre 0,5 – 4,5 ($\times 10^{-7}$ mol L⁻¹), sensibilidade = 8,4 e R² = 0,9967. Para o método voltamétrico com GPH, foram observadas duas faixas lineares: a primeira entre 1,1 – 5,5 ($\times 10^{-7}$ mol L⁻¹), com sensibilidade = 19,0 e R² = 0,9971 e a segunda faixa entre 5,5 – 11 ($\times 10^{-7}$ mol L⁻¹), com sensibilidade = 11 e R² = 0,9978. Os extratos aquosos foram analisados utilizando-se o eletrodo de carbono vítreo e as concentrações encontradas de catequina foram da ordem de $2,1 \pm 0,1$ mg L⁻¹. Tais resultados mostraram que os métodos voltamétricos foram sensíveis e seletivos para a determinação da catequina. O eletrodo de grafeno apresentou uma faixa linear mais ampla, no entanto, seu custo foi maior. Uma alternativa seria fabricá-los no próprio laboratório.

104 - Validação de genes alvos para o controle do inseto praga broca do café, via rnai e nanotecnologia

Lukas Brayan Gomes de Andrade¹, Daniel David Noriega¹, Leonardo Lima Pepino Macedo², Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire², Isabela Tristan Lourenço Tessutti², Maria Fátima Grossi de Sá², Maria C. M. Silva²

¹Universidade Católica de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

A Broca do Café (*Hypothenemus hampei*) é o principal inseto praga do cafeeiro, promovendo perdas substanciais estimadas em torno de US\$ 500 milhões/ano. Sendo o controle do inseto por meios naturais ou químicos ineficiente, torna-se necessário o uso de estratégias alternativas, como a aplicação da técnica de silenciamento gênico por RNA interferente, afetando o desenvolvimento e ou sobrevivência do inseto. Desta forma, o objetivo deste estudo foi analisar o efeito do silenciamento de genes alvo para controle do *H. hampei*, via RNAi e nanotecnologia. Para o desenho e síntese in vitro dos dsRNAs foram escolhidos fragmentos de nucleotídeos, de regiões não conservadas próximas da 3' UTR, codificando para dois genes: relacionados a metamorfose (G1) e mortalidade (G2). Os fragmentos dos genes G1 (241bp) e G2 (111bp), amplificados com iniciadores, contendo a sequência para a enzima T7 polimerase, foram clonados no vetor pGEM-T easy (Promega) para o sequenciamento e confirmação das sequências. Para a realização da síntese in vitro dos dsRNAs foi utilizado o produto da PCR (2 µg) e seguido o protocolo descrito no Kit MegaScript T7 (Thermo Fisher Scientific). Os dsRNAs sintéticos (50 a 100 ng/µL) foram nanoencapsulados usando quitosana (2 mg/mL) e aplicados nos bioensaios. Para cada réplica, nos tratamentos controle (Tris 10mM) e amostras (nanopartículas de dsRNAs), foram utilizados 30 insetos (estágios entre L2 e pré pupa). Após imersão na solução contendo as nanopartículas (30 segundos), os insetos foram depositados em dieta artificial e o bioensaio monitorado, por 10 dias. Embora não tenha sido visualizado fenótipos relacionados ao efeito do silenciamento gênico, os insetos adultos foram coletados, o RNA total foi extraído e a redução da expressão gênica foi determinada por qRT-PCR. Os resultados indicaram a necessidade de otimizar as concentrações aplicadas de dsRNAs para que a estratégia possa ser testada por uso tópico, via pulverização das nanopartículas de dsRNAs diretamente nos grãos de café, para avaliação in vivo.

105 - Validação de genes de referência de microRNAs para análise da expressão gênica na interação *Musa acuminata* – *Pseudocercospora musae*

Erica Cristina Silva Rego¹, Tatiana David Miranda Pinheiro¹, Fernando Fonseca¹, Gabriel Costa Alves¹, Roberto Togawa², Priscila Grynberg², Robert Neil Gerard Miller¹

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Pseudocercospora musae é o agente causal da Sigatoka-amarela, e se destaca como uma das principais doenças fúngicas de banana (*Musa acuminata*). Um gene de referência apropriado deve possuir expressão estável em todas as amostras e em diferentes condições experimentais. Existem poucos exemplos na literatura que mostram a validação de miRNAs como genes de referência para RT-qPCR, sendo que os normalizadores mais utilizados são os genes ribossomais como snoRNPs e snRNPs. No caso de *Musa*, não existe qualquer referência quanto à validação de genes normalizadores para validar a expressão de miRNAs, desta forma existe uma necessidade para a realização deste trabalho. O objetivo dessa pesquisa foi caracterizar o papel dos miRNAs presentes na interação *M. acuminata* – *P. musae* que exerçam possíveis papéis na defesa da planta frente à infecção. Para analisar os processos celulares envolvidos na resposta de defesa do hospedeiro, a PCR quantitativa em tempo real (qPCR) é uma técnica analítica de confiança para quantificação da expressão gênica. Para obter dados com maior precisão é necessária a validação da estabilidade da expressão de genes de referência para que possam ser utilizados como normalizadores da expressão dos genes alvo. Nesse trabalho, o RNA total foi extraído a partir de tecidos foliares de genótipos contrastantes de *M. acuminata* Calcutta 4 (resistente) e Cavendish Grande Naine (suscetível), ambos sujeitos a infecção por *P. musae*. Após a construção de bibliotecas de RNA, amostras foram sequenciadas utilizando a tecnologia Illumina HiSeq 2500. Os miRNAs foram preditos utilizando os programas Mireap e ShortStack, com um total de 155 miRNAs conservados encontrados, pertencentes a 29 famílias e com 21 candidatos a novos miRNAs. Avaliou-se a estabilidade de nove potenciais microRNAs candidatos a genes de referência. A estabilidade da expressão foi determinada com os algoritmos NormFinder, BestKeeper e geNorm. A caracterização dos miRNAs de *M. acuminata* e seu papel na modulação da expressão gênica fornecem recursos para o desenvolvimento de métodos eficientes de controle de Sigatoka amarela.

106 - Validação *in planta* de genes efetores visando a resistência de *Meloidogyne incognita* via RNAi

João Pedro Abreu Sousa¹, Paolo Lucas Rodrigues Silva¹, Isabela T. Lourenço-Tessutti², Maria E. Lisei-de-Sá³, Leonardo L. P. Macedo², Valdeir Junio Vaz Moreira², Maria C. M. Silva², Maria Fatima Grossi-de-Sá²

¹Universidade Católica de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ³EPAMIG

A agricultura representa um dos principais suportes econômicos do Brasil, correspondendo a um terço do Produto Interno Bruto (PIB). Entretanto, diversos fatores abióticos e bióticos geram prejuízos às cadeias produtivas agrícolas. Dentre os fatores bióticos, pode-se destacar os nematoides, que causam uma perda econômica que ultrapassa \$100 bilhões de dólares anualmente. Nesse cenário, o nematoide *Meloidogyne incognita* é responsável por prejuízos em diversas culturas de interesse agrônomo. Os atuais meios de controle são insuficientes para um controle eficiente do nematoide, portanto, a procura por métodos mais efetivos, seguros e duráveis faz-se necessária. A tecnologia de RNA interferente (RNAi) tem sido amplamente empregada em estudos de genômica funcional e na identificação de possíveis alvos para posterior desenvolvimento de novas estratégias de controle. Diversos genes candidatos de proteínas efetoras envolvidas no parasitismo de *M. incognita* têm sido identificados por vários grupos de pesquisa. Sendo assim, o objetivo desse trabalho é expressar dsRNAs de cinco potenciais efetores para reduzir o nível de infecção e/ou reprodução dos nematoides nas plantas por silenciamento gênico via RNAi. Dessa forma, plantas de *Nicotiana tabacum* foram transformadas via *Agrobacterium tumefaciens* com um vetor binário para expressão de dsRNA in planta. Os eventos transformados foram selecionados em meio de cultura contendo Canamicina (50 µg/L) e confirmados por PCR após a aclimação em casa de vegetação. Sendo que, em média, obteve-se três plantas transgênicas para cada construção na primeira fase de transformação. As plantas foram submetidas a autofecundação e obteve-se sementes T1 que estão sendo selecionadas com glufosinato de amônio 120 mg/L. Posteriormente, as plantas sobreviventes a seleção, serão confirmadas por PCR e estas serão desafiadas contra o *M. incognita* para verificação do nível de resistência. Os dados obtidos neste trabalho, juntamente com outros que usam RNAi para avaliar o silenciamento de genes de nematoides, poderão auxiliar o entendimento da função desses potenciais genes efetores na interação planta-nematoide.



*Recursos Genéticos e
Biotecnologia*

