



XXV  
Encontro do  
Talento Estudantil

Anais  
**2020**

**Embrapa**

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

***XXV Encontro do Talento Estudantil da  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia***

*Eudes de Arruda Carvalho  
Priscila Grynberg  
Adilson Amaral Werneck  
Naiara Milagres Augusto da Silva  
Fernanda Alvares da Silva  
Comissão Organizadora*

**Embrapa**  
*Brasília, DF  
2021*

**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  
*Wagner Alexandre Lucena*

Secretária-Executiva  
*Ana Flávia do N. Dias Côrtes*

Membros  
*Bruno Machado Teles Walter; Daniela Aguiar de Souza; Eudes de Arruda Carvalho; Marcos Aparecido Gimenes; Solange Carvalho Barrios Roveri Jose; Márcio Martinello Sanches; Sérgio Eutáquio de Noronha*

Supervisão editorial  
*Comissão Organizadora*

Revisão de texto  
*Comissão Organizadora*

Normalização bibliográfica  
*Ana Flávia do N. Dias Côrtes*

Tratamento das ilustrações  
*Adilson Werneck*

Projeto gráfico da coleção  
*Adilson Werneck*

Editoração eletrônica  
*Adilson Werneck*

Ilustração da capa  
*Adilson Werneck*

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

**Todos os direitos reservados.**

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

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

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

---

Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (25 : 2020 : Brasília, DF). **Anais:** resumos dos trabalhos / XXV Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 07-10 dezembro 2020, Brasília, DF / Comissão Organizadora, Eudes de Arruda Carvalho et al. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2021. 101 p.

(Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 374).

1. Recursos genéticos. 2. Biotecnologia. 3. Controle biológico. I. Carvalho, Eudes de Arruda. II. Grynberg, Priscila. III. Côrtes, IV. Werneck, Adilson Amaral. V. Silva, Naiara Milagres da. VI. Silva, Fernanda Alvares da. VII. Título: XXV Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CDD 577.1

## **Comissão Organizadora**

Eudes de Arruda Carvalho  
Priscila Grynberg  
Adilson Amaral Werneck  
Naiara Milagres Augusto da Silva  
Fernanda Alvares da Silva

## **Editores Científicos**

Angela Mehta  
Bárbara Eckstein  
Glaucia Salles Cortopassi Buso  
Joseílde Oliveira S Werneck  
Kenny Bonfim de Arruda Carvalho  
Margot Dode  
Maria Carolina Blassioli Moraes  
Marisa Toniolo Pozzobon  
Naiara Milagres  
Norton Polo Benito  
Patrícia Ianella  
Ricardo Alamino Figueiredo  
Rosa de Belém das N.Alves  
Tallyrand Moreira Jorcelino

## Apresentação

Em 2020, mesmo com a pandemia do COVID-19, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realizou o XXV Encontro do Talento Estudantil, como parte das comemorações do 46º aniversário da Unidade. O evento foi realizado de forma virtual, permitindo a participação de organizadores, avaliadores, orientadores e alunos, de forma segura e bastante interativa.

O Encontro do Talento Estudantil, que visa incentivar, aprimorar e valorizar a produção científica de estudantes de graduação e pós-graduação que realizam pesquisas com animais, vegetais e microrganismos. A apresentação dos trabalhos pelos alunos, além de permitir o debate científico, contribui para a formação e preparação dos mesmos para a carreira científica.

O XXV Encontro teve a participação de inúmeros pesquisadores, com a apresentação de 76 trabalhos, tendo sido selecionados pela comissão de avaliação, os três melhores nas categorias graduação e pós-graduação, nas áreas vegetal, animal e microrganismos., totalizando 18 premiados. Neste ano também aconteceu um concurso de fotografias científicas, tendo os alunos sido agraciados pelas melhores fotografias de microrganismo, vegetal e animal.

Homenagem especial para o Dr. Afonso Celso Candeira Valois, idealizador do evento e aos Colegas que durante 24 anos se responsabilizaram pela realização do Encontro do Talento Estudantil. Aos colegas Dr. João Batista Tavares e Zilda Maria de Araújo Ribeiro, que se aposentaram neste ano, nossos agradecimentos.

Nossos parabéns a todos os participantes que apresentaram seus trabalhos, aos orientadores que estimularam a participação dos alunos, aos colegas organizadores e aos profissionais que dedicaram seu tempo para avaliarem e selecionarem os melhores trabalhos.

Maria Cléria Valadares Inglis  
*Chefe-Geral*  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

# Sumário

## Vertene Microrganismo

Desenvolvimento de nanoantibióticos: veiculação de antibióticos em nanoestruturas e avaliação dos efeitos antibacterianos in vitro .....	11
Análise de grupos ortólogos e de ilhas de patogenicidade para diferenciar molecularmente <i>B. cereus</i> , <i>B. athracis</i> e <i>B. thuringiensis</i> .....	12
Caracterização morfológica e bioquímica de espécies do gênero <i>Bacillus</i> e correlatos .....	13
Produção de corpos de oclusão do <i>Baculovirus chinnpv</i> usando diferentes densidades de larvas de <i>Chrysodeixis includens</i> e condições de armazenamento .....	14
A superexpressão do gene <i>AdEXLB8</i> aumenta a tolerância à infecção pelo fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	15
Identificação de duas novas estirpes de <i>Bacillus</i> spp. tóxicas a insetos de importância agrícola .....	16
Análise da diversidade de genes com atividade entomocida de estirpes de <i>Bacillus thuringiensis</i> por PCR em tempo real .....	17
Desenvolvimento de tecnologia de co-infecção de múltiplos baculovirus para controle de lepidopteros-praga da soja e milho .....	18
Prospecção de isolados de <i>Trichoderma</i> para o biocontrole de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>Sclerotium rolfsii</i> na cultura do algodão .....	19
Caracterização molecular do lettuce chlorosis virus infectando espécies de <i>Passiflora</i> no bag “flor da paixão” ... ..	20
Estratégias biotecnológicas para o controle de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> em <i>Brassica oleracea</i> var <i>Capitata</i> .....	21
Toxicidade de <i>cryM</i> contra insetos da ordem <i>Lepdoptera</i> : uma alternativa a resistência em campo .....	22
Primeiro relato de virose associada a sintomas de vermelhão na cultura do morango em área de produção comercial no Distrito Federal .....	23
Caracterização filogenética de diferentes populações de <i>Meloidogyne izalcoensis</i> , nova espécie parasita do cafeeiro no brasil .....	24

## Vertene Animal

Fluxogramas para registro e validação de produtos nanobiotecnológicos .....	26
Produção de hidrogéis nanocompósitos para bioimpressão tridimensional (3D) e produção de miméticos de tecidos de mamíferos .....	27
Descelularização de coração de frangos para uso na composição de uma biotinta para bioimpressão 3D .....	28
Nanossistemas para veiculação de maturógenos à base de subprodutos cárneos: avaliação do processamento e da funcionalidade de bioativos tecido-específicos .....	29
Comparação de seis métodos de extração de DNA para genotipagem com painéis de SNP de baixa densidade ... ..	30

Marcadores bioquímicos para prenhez no meio de cultivo de embriões bovinos produzidos in vitro .....	31
Análise do líquido da blastocle por espectrometria de massa tipo eletrospray como potencial ferramenta para a seleção de embriões bovinos .....	32
A fonte de proteína no meio de maturação in vitro afeta a expressão de genes nas células do cumulus .....	33
Caracterização do desenvolvimento larval e das genitálias masculina e feminina do bicho mineiro do café, <i>Leucoptera coffeella</i> (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae) .....	34
Efeitos sazonal e da raça doadora na expressão gênica em ovócitos bovinos .....	35
Ocorrência de <i>Drosophila suzukii</i> no Distrito Federal, brasil: comunicação atualizada, 2019/2020 .....	36
Taxa de recuperação de estruturas após a transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) realizada em diferentes momentos após a retirada de implante de progesterona (p4) .....	37
Efeito do número de ovócitos utilizados na transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) na maturação nuclear .....	38
Bicho mineiro ( <i>Leucoptera coffeella</i> ): uma revisão abrangente sobre o inseto e perspectivas para o manejo e controle da praga .....	39
Diagnóstico de gestação precoce em ovinos .....	40
Análise da estruturação genética de indivíduos de <i>Oreochromis niloticus</i> em peixarias do Distrito Federal .....	41
Análise da variabilidade genética do banco de germoplasma de bovino crioulo lageano .....	42
Aumento da temperatura ao longo do dia afeta a atividade de forrageamento de <i>Melipona quadrifasciata</i> em ambiente natural .....	43
Validação de um painel de SNPS de baixa densidade para avaliação da estruturação genética do camarão cinza ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) .....	44
Influência da transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) no folículo pré-ovulatório .....	45
Efeito do tempo de confinamento e dos materiais de cobertura usados em casas de vegetação sobre o comportamento de forrageamento de duas espécies de abelhas sem ferrão .....	46
Influência da baixa incidência de luz ultravioleta e elevadas temperaturas no comportamento de <i>Frieseomelitta varia</i> .....	47
Influência da baixa incidência de luz ultravioleta no comportamento de escolha de <i>Scaptotrigona postica</i> e <i>Melipona quadrifasciata</i> .....	48
Áreas de vegetação natural favorece a riqueza de abelhas em cultivos orgânicos de tomate .....	49
Influência do aumento da temperatura e horário do dia no forrageamento de pólen nas espécies de abelha <i>Scaptotrigona postica</i> (Latreille, 1807) e <i>Frieseomelitta varia</i> (Lepeletier, 1836) .....	50
Comportamento da abelha <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier, 1836 (mandaçaia) em arenas experimentais com diferentes materiais de cobertura .....	51
Estudo de ecologia química de <i>Sternochetus mangiferae</i> – respostas de fêmeas em <i>Olfatometria</i> de dupla escolha para extrato de aeração contendo voláteis dos machos coespecíficos .....	52
Coleção entomológica da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: situação atual do acervo em 2020 .....	53
Avaliação da adaptação da <i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier, 1836 à polinização de tomateiro em casa de vegetação .....	54
Análise dos perfis proteicos do bicho-mineiro do cafeeiro ( <i>Leucoptera coffeella</i> ) .....	55

## Vertene Vegetal

Produção de nanopartículas de prata utilizando extrato aquoso de <i>Araucaria angustifolia</i> .....	57
Fluxogramas regulatórios para o desenvolvimento de nanoproductos para uso humano e agrícola .....	58
Nanossistemas para entrega de bioativos visando ao controle de pragas da cultura cafeeira .....	59
Extração verde de biopigmentos de resíduos vegetais e suas aplicações no desenvolvimento de insumos alimentares .....	60
Síntese verde e avaliação da atividade antibacteriana <i>in vitro</i> de nanopartículas de prata utilizando recursos genéticos vegetais provenientes de bancos ativos de germoplasma .....	61
Produção de lipossomas à base de plantas medicinais .....	62
Determinação voltamétrica de compostos fenólicos totais em plantas de algodão submetidas à herbivoria .....	63
Desenvolvimento de variedade brasileira de algodão GM para resistência ao ataque do <i>Bicudo</i> do algodoeiro .....	64
Identificação e validação de genes de suscetibilidade à brusone em arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.) utilizando TIGS e CRISPR/Cas9 .....	65
Localização citogenética de marcadores cromossomo-específicos em genótipos de <i>Arachis</i> .....	66
Expressão diferencial de genes envolvidos na suscetibilidade de <i>Brassica oleracea</i> var. capitata à <i>Xanthomonas campestris</i> pv .....	67
Desenvolvimento de nanossistemas de liberação modulada por bioimpressão para uso tópico .....	68
Adsorvente de carvão de macaúba como alternativa para a captura de compostos voláteis .....	69
Edição dos genes <i>ipk1</i> e <i>ipk2</i> via CRISPR/Cas9 para obtenção de plantas de soja com baixo teor de ácido fítico nas sementes .....	70
Desenvolvimento de linhagens GM de soja visando resistência a nematoides e tolerância ao estresse hídrico .....	71
Compostos voláteis e não voláteis de <i>Crotalaria spectabilis</i> e interação com <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	72
Implicância de genes tipo miraculina na resposta do cafeeiro ao nematoide da galha <i>Meloidogyne incognita</i> .....	73
Implementação de protocolos para extração de DNA vegetal de alta qualidade para o banco de DNA da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia .....	74
Caracterização funcional do gene endochitinase de <i>Arachis duranensis</i> na resposta à infecção pelo fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	75
Caracterização in planta da função biológica de um gene candidato envolvido na resistência ao nematoide das galhas .....	76
Plantas de caupi resistentes a <i>M. incognita</i> ativam o metabolismo de carboidratos e mecanismos de reparo durante a infecção .....	77
Perfil de embebição e germinação de sementes de vinte espécies nativas do cerrado com foco para o melhoramento na semeadura direta .....	78
<i>Meloidogyne incognita</i> : importância dos ovos no ciclo de vida e alvo de controle do fitoparasita .....	79
Análise de plantas com a atrofia letal da coroa do coqueiro (alcc) quanto à presença de fitoplasmas .....	80
Transformação de tomateiro Micro-Tom para a expressão de peptídeo antimicrobiano derivado de proteína de cacau .....	81
Desenvolvimento de bioensaio com <i>Verticillium dahliae</i> em folha destacada de tomate Micro-Tom transgênico visando avaliação funcional do peptídeo PAMa .....	82

Silenciamento gênico via RNA Interferente (RNAi) visando o aumento de biomassa e tolerância à seca em soja .....	83
Avaliação de <i>Arabidopsis thaliana</i> superexpressando genes que codificam uma endoquitinase e UDP-arabinopiranosase mutase envolvidos na resistência à <i>Xanthomonas campestris</i> pv .....	84
Processos analisados e fungos identificados na estação quarentenária da Embrapa, de 2018 a 2020 .....	85
Evidências de mitovirus em acessos de <i>Passiflora</i> spp como elementos endogenizados de RNA-não-retroviral ..	86
Novas abordagens para o uso do RNA de interferência objetivando o controle de nematoides parasitas de plantas .....	87
Extratos bioativos de plantas da família poaceae para o controle de <i>Meloidogyne</i> incógnita .....	88



||| Vertente

# Microorganismo

# DESENVOLVIMENTO DE NANOANTIBIÓTICOS: VEICULAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS EM NANOES- TRUTURAS E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIBACTERIANOS *in vitro*

Camila Letícia Ferreira

Luciano Paulino Silva

A descoberta de antibióticos visando ao uso clínico no tratamento de infecções bacterianas em humanos e animais pode ser considerada a maior inovação médica do século XX. Entretanto, nas últimas décadas diversos problemas têm levado a uma crise dos antibióticos. Os principais desafios apontados envolvem o surgimento de resistência, a alta toxicidade das moléculas que apresentam potencial antimicrobiano e a dificuldade de encontrar novas moléculas promissoras; causando a diminuição do interesse da indústria farmacêutica pelo segmento. A necessidade de desenvolver estratégias para evadir à resistência bacteriana, melhorar a biodisponibilidade e diminuir efeitos adversos tornaram imprescindível lançar mão de alternativas que se beneficiem de moléculas já conhecidas. Dessa forma, o presente estudo visa desenvolver formulações baseadas em sistemas nanoestruturados contendo antibióticos convencionais para o aprimoramento das atividades e características dessas moléculas. Quatro antibióticos diferentes foram selecionados para veiculação em formulações à base de niossomas, estruturas semelhantes a lipossomas, e que permitem a veiculação e entrega de fármacos hidrofílicos e lipofílicos. A metodologia de hidratação de filme foi escolhida para formação dos nanocarreadores, nesse caso, diferentemente dos lipossomas, surfactantes não iônicos foram utilizados na preparação ao invés de fosfolípídeos, tornando assim o processo economicamente mais viável. A ampicilina foi a primeira a ser testada, um antibiótico beta-lactâmico pouco solúvel em água. Após a análise por espalhamento de luz dinâmico (DLS), os resultados de diâmetro hidrodinâmico indicaram o encapsulamento das moléculas antibióticas devido ao aumento do tamanho médio quando comparado ao de niossomas vazios. Assim, um aprimoramento na solubilidade do fármaco é esperado com os resultados alcançados. Os próximos passos envolverão avaliar a eficiência de encapsulamento e realizar testes antimicrobianos em linhagens de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Além disso, uma formulação utilizando gel de Pluronic F-127® deverá ser utilizada para aprisionar os niossomas, no intuito de estabelecer adesividade e aumentar a difusão dos antibióticos. Finalmente, são esperadas formulações de nanoantibióticos com características variadas e potencialmente aprimoradas em relação àquelas de antibióticos livres.

# ANÁLISE DE GRUPOS ORTÓLOGOS E DE ILHAS DE PATOGENICIDADE PARA DIFERENCIAR MOLECULARMENTE *B. cereus*, *B. anthracis* E *B. thuringiensis*

---

Thifany Vilela Purcena

Roberto Coiti Togawa

Rose Gomes Monnerat

Paulo Roberto Martins Queiroz

Priscila Grynberg

O grupo *Bacillus cereus* sensu lato compreende ao menos doze espécies de grande importância econômica, médica e de biodefesa como *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. Estas três espécies são muito parecidas geneticamente entre si, dificultando a classificação baseado em métodos moleculares. Assim, através da análise de grupos ortólogos com sequências proteicas cromossomais e plasmidiais usando o programa OrthoFinder, produzimos uma árvore filogenética com 30 genomas disponíveis no NCBI e 14 genomas de cepas de *B. thuringiensis* do banco de dados interno da Embrapa, além de uma espécie *outgroup*. Um total de 268.898 proteínas foram incluídas nas análises, sendo que 98,9% foram classificadas em algum dos 11.839 ortogrupos gerados. Os *core genes* (pan-genoma) estão presentes em 1.705 ortogrupos. A análise filogenética separou, em termos gerais, *B. anthracis* das demais, ainda que as três espécies se misturem entre si em maior ou menor grau. Algumas exceções foram observadas, como as cepas HD571, HD682 e HD1011 de *B. thuringiensis*, que apresentam apenas traços de genes de toxinas Cry e ficaram no meio de algumas cepas de *B. anthracis*. Cepas de *B. thuringiensis* com ação bio-inseticidas de lepidópteros ficaram separadas daquelas que atuam em coleópteros. A busca de ilhas de patogenicidade foi feita com o programa web IslandViewer V4. Os dados mostraram que *B. anthracis* é a espécie que apresenta, em média, o menor número e *B. thuringiensis*, o maior número de ilhas de patogenicidade por genoma (19 e 33 respectivamente). *B. cereus* apresentou o maior número de genes de esporulação por ilha, enquanto *B. thuringiensis* tem o maior número de genes de toxinas. Este trabalho mostrou que através da classificação em grupos ortólogos e análise de ilhas de patogenicidade é possível melhorar a classificação destas três espécies baseado em dados moleculares.

# CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Bacillus* E CORRELATOS

Gabriela Teodoro Rocha

Sandro Coelho Linhares Montalvão

Ester Yoshie Yoshino Da Silva

Paulo Roberto Martins Queiroz

Marcelo Rodrigues Berçot

Rose Gomes Monnerat

A identificação precisa e correta de bactérias pertencentes ao gênero *Bacillus* e correlatos, aos quais possuem alto potencial biotecnológico no setor agrícola, é realizada, em sua maioria, por métodos e equipamentos sofisticados, como análises moleculares e espectrometria de massa, que demandam de alto custo de investimento, tornando-as inacessíveis ao produtor rural. Assim, os métodos de identificação por caracterização bioquímica e/ou por técnicas dependentes de cultivos, como análises morfológicas das colônias e observações microscópicas tornam-se ferramentas de identificação práticas e simplificadas, de baixo custo e fácil interpretação. O objetivo deste trabalho foi caracterizar bactérias de referência, pertencentes ao gênero *Bacillus* e espécies de gêneros correlacionados, por métodos morfológicos e bioquímicos simplificados. A caracterização morfológica baseou-se nos aspectos das colônias, bem como na citomorfologia das espécies, por microscopia ótica e de varredura. Para caracterização bioquímica, foi realizado o teste de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão, avaliando o perfil de resistência e susceptibilidade das estirpes. Também foi realizado a caracterização das cepas pela extração de proteínas intracelulares, objetivando o perfil proteico das mesmas. Nos resultados, características como forma, cor e consistência das colônias, além do tipo de esporo e produção de cristais proteicos foram determinantes para a caracterização morfológica dessas espécies. O antibiograma revelou alta resistência a antibióticos do grupo  $\beta$ -lactâmicos, em espécies do grupo *Bacillus cereus* s.l. No grupo *Bacillus subtilis* s.l. houve ampla suscetibilidade aos antimicrobianos, principalmente nas cepas de *B. amyloliquefaciens*. Contudo, *B. atropheus* obteve resistência única a rifampicina, sendo considerado parâmetro de identificação. O perfil proteico proporcionou padrões específicos para algumas espécies, principalmente pelas bandas de 140 kDa para *B. thuringiensis*, 120 kDa para *Lysinibacillus sphaericus*, e 115 kDa para *Brevibacillus laterosporus*. Em fim, ressalta-se que estas técnicas são passivas de erro, devido a semelhança morfológica entre algumas espécies e subespécies do mesmo gênero. Contudo, as caracterizações morfológicas e bioquímicas proporcionam uma identificação simples e de fácil interpretação, considerando principalmente as observações microscópicas e a análise do perfil proteico.

# PRODUÇÃO DE CORPOS DE OCLUSÃO DO BACULOVÍRUS chinNPV USANDO DIFERENTES DENSIDADES DE LARVAS DE *Chrysodeixis includens* E CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

---

Thainá Berbert Gelelete

Marcio Martinello Sanches

Marlinda Lobo De Souza

Os vírus da família Baculoviridae tem sido utilizado com sucesso como biopesticida, visando o controle biológico de insetos-praga, principalmente pertencentes à ordem Lepidoptera. Vários isolados de *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) são atualmente usados para controlar a larva falsa-medideira (*C. includens*) a qual é uma praga importante para muitas culturas, notadamente a soja. Pesquisas anteriores demonstraram a eficácia do isolado ChinNPV-Buritis em condições de campo, e os melhores parâmetros para sua produção *in vivo*. No entanto, é necessário otimizar as condições para aumentar sua produção. Para testar se uma maior densidade de larvas agrupadas poderia influenciar a produção de poliedros, bem como a temperatura de armazenamento após a morte das larvas, foram realizados dois bioensaios, um com larvas de terceiro ínstar e outro com larvas de quarto ínstar. As larvas foram inoculadas com  $5 \times 10^6$  corpos de oclusão (OBs) / ml e mantidas a 26 ° C durante 7 dias. O experimento foi realizado em esquema fatorial, consistindo em 2 densidades diferentes (10 larvas / copo de 300ml e 40 larvas / copo de 1,5L) e 3 diferentes temperaturas de armazenamento durante 9 dias (4° C, 15° C e -20° C). A concentração de OBs nas larvas foi determinada em câmara de Neubauer por microscópio óptico. As análises estatísticas foram realizadas no programa R usando ANOVA bidirecional. Não foi observada diferença significativa na produção de OBs / larva ( $p < 0,05$ ) para larvas crescendo em diferentes densidades tanto no terceiro como no quarto ínstar. No entanto, a produção de OBs / larva foi maior para o armazenamento a 4°C nas larvas de quarto ínstar, embora nenhuma diferença tenha sido observada em larvas de terceiro ínstar entre as diferentes condições de armazenamento. Os resultados indicaram a viabilidade de produção massal *in vivo* utilizando um grande número de larvas de *C. includens* agrupadas.

Apoio Financeiro: EMBRAPA

# A SUPEREXPRESSION DO GENE *ADEXLB8* AUMENTA A TOLERÂNCIA À INFECÇÃO PELO FUNGO *Sclerotinia sclerotiorum*

Deziany Da Silva Ferreira

Patricia Messenberg Guimarães

Ana Mota

Cristiano Lacorte

Robert Neil Gerard Miller

Ana Cristina M. Brasileiro

Expansinas são proteínas de parede celular que participam nas respostas das plantas a diferentes tipos de estresses bióticos e abióticos. A superfamília das expansinas é dividida em quatro subfamílias:  $\alpha$ -expansina (EXPA),  $\beta$ -expansina (EXPB), expansina-like A (EXLA) e expansina-like B (EXLB). A função biológica dos membros da subfamília EXLB, uma das menores e menos estudadas, ainda não foi determinada. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da superexpressão de *AdEXLB8* em plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*), durante sua interação com o patógeno necrotrófico *Sclerotinia sclerotiorum*. Para o ensaio, o isolado de *S. sclerotiorum* (BRM 29673), gentilmente cedido pela Embrapa Arroz e Feijão (Santo Antônio de Goiás, GO, Brasil), foi cultivado em meio ágar batata dextrose (PDA) a 25 °C por 72 horas. O bioensaio de folha destacada foi realizado usando dois tampões de ágar micelial (5 mm de diâmetro) cortados da borda da colônia em crescimento e aplicados à superfície adaxial da folha totalmente expandida destacada de seis linhagens de tabaco superexpressando *AdEXLB8* (OEs) e do controle não transgênico (WT). Duas folhas destacadas por planta (10 plantas por genótipo) foram inoculadas, onde cada tampão micelial representa um inóculo padronizado em termos de quantidade e agressividade. As folhas destacadas foram mantidas em placas contendo papel de filtro úmido a 22 °C por 72 horas no escuro. O progresso da lesão fúngica nas folhas foi fotografado a cada 12 horas após a inoculação (HAI) (0HAI a 72HAI) e as imagens, utilizadas para contagem do número de pixels no software Photoshop (versão CC; sistemas Adobe). A média entre a área de cada folha em relação à área da lesão foi calculada e testada estatisticamente pelo teste t. Os resultados demonstraram que a 48 HAI, a área lesionada nas folhas transgênicas foi significativamente ( $p < 0.05$ ) reduzida entre 28 e 62% em relação às folhas WT, indicando que a superexpressão de *AdEXLB8* aumenta a tolerância ao fungo causador do mofo branco, *S. sclerotiorum*.

# IDENTIFICAÇÃO DE DUAS NOVAS ESTIRPES DE *Bacillus* spp. TÓXICAS A INSETOS DE IMPORTÂNCIA AGRÍCOLA

---

Antonia Débora Camila De Lima Ferreira

Paulo Roberto Martins Queiroz

Priscila Grynberg

Roberto Coiti Togawa

Thifany Vilela Purcena

Carlos Henrique De Brito

José Ednilson Miranda

Ester Yoshie Yoshino Da Silva

Janaína Hirbs Bezerra Da Silva Xavier

Rose Gomes Monnerat

O ataque de insetos-pragas é um dos fatores que mais comprometem o rendimento e a qualidade das culturas em campo e, por isso, diferentes tecnologias vêm sendo exploradas para reduzir os danos provocados, como o controle microbiano através de bactérias do gênero *Bacillus*. O objetivo desta pesquisa foi caracterizar dois novos isolados de *Bacillus* sp. (S2728 e S2744) com atividade inseticida para *Spodoptera frugiperda*, *Chrysodeixis includens* e *Anthonomus grandis*. As estirpes foram caracterizadas quanto a toxicidade, por meio de bioensaios; quanto a morfologia, através da microscopia eletrônica de varredura (MEV); pelo perfil proteico, por SDS-PAGE; pela presença de genes através da reação em cadeia da polimerase (PCR) e pelo sequenciamento do genoma via sistema NovaSeq. Os bioensaios revelaram que as estirpes provocaram mortalidade superior a 90% em todas as espécies testadas, apresentaram cristais redondos de tamanho inferior a 1µm e perfil proteico com polipeptídeos variando de 10 a 140 kDa, sugerindo se tratar de duas estirpes de *Bacillus thuringiensis* (Bt), no entanto, a análise de genes clássicos para Bt, via PCR, não geraram amplificação para os genes cry. As amostras foram sequenciadas e comparadas com outras sequências de diferentes espécies de *Bacillus*. A análise dessas sequências permitiu concluir que as estirpes S2728 e S2744 fazem parte do complexo *Bacillus cereus* lato sensu, sem expressar com exatidão qual a sua espécie, pois as análises *in silico* dos genes clássicos de *B. thuringiensis* e *B. cereus* strictu sensu não foram positivas. Por outro lado, a análise das sequências por BLASTn das ORFs mostrou a presença de um gene responsável por codificar uma proteína do grupo das Proteínas Indutoras de Necrose e Etileno (NEP Like Proteins - NLP), dando indícios da atividade dessas proteínas através de um mecanismo de ação totalmente novo. Além do mais, este estudo também contribuiu para o enriquecimento da Coleção de Bactérias de Invertebrados, acrescentando dois importantes recursos que poderão ser explorados para controle de pragas-chave da agricultura brasileira.

# ANÁLISE DA DIVERSIDADE DE GENES COM ATIVIDADE ENTOMOCIDA DE ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* POR PCR EM TEMPO REAL

Marcelo Rodrigues Berçot

Paulo Roberto Martins Queiroz

Gabriela Teodoro Rocha

Ester Yoshie Yoshino Da Silva

Rose Gomes Monnerat

A qPCR é capaz de monitorar a reação enquanto ela progride e os dados são coletados ao longo da PCR ao invés de serem analisados somente no final da reação. Tendo em vista a importância da caracterização das estirpes de *Bacillus thuringiensis*, tanto para desenvolvimento de novos bioinseticidas ou eventos transgênicos, quanto para prospecção de novos genes cry, cyt, vip e sip com potencial entomocida e identificação de novos genes nas estirpes de *Bacillus thuringiensis*, esse trabalho visa desenvolver um sistema de identificação de genes baseado em reações de qPCR. Desenvolver um sistema de caracterização de genes com potencial entomocida de estirpes de *Bacillus thuringiensis* para caracterizar molecularmente estirpes da Coleção de Bactérias de Invertebrados da Embrapa Recursos Genéticos com possível uso para controle biológico, aumentando a confiabilidade da caracterização das estirpes, e assim melhor compreender o mecanismo de distribuição e diversidade dos genes. As estirpes selecionadas pertencem à Coleção de Bactérias de Invertebrados que foram agrupadas de maneira randômica. Os primers para qPCR foram desenhados utilizando-se o Primer Quest Tool (IDT) e suas características analisadas pelo Sequence Manipulation Suite. Os DNAs foram extraídos utilizando-se kit Magazorb (Promega). Todos os iniciadores desenhados foram testados e validados, obtendo-se a curva padrão para cada ensaio e os valores de eficiência, *threshold* e  $R^2$ . Foram analisadas mais de 200 estirpes da coleção pelos ensaios de qPCR. As estirpes de *Bacillus thuringiensis* isoladas de diferentes habitats e locais geográficos diferem na diversidade e ocorrência de genes cry, e há uma certa relação entre a expressão de algumas toxinas. Entender como as toxinas podem ser influenciadas pela região é de interesse tecnológico uma vez que estirpes poderiam ser isoladas de regiões específicas de acordo com interesse da indústria. Conhecer o conteúdo genético da coleção é de extrema importância pois viabiliza o desenvolvimento de novos bioinseticidas ou eventos transgênicos.

# DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIA DE CO-INFECÇÃO DE MÚLTIPLOS BACULOVIRUS PARA CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS-PRAGA DA SOJA E MILHO.

---

Giovana Curcio Guimarães

William Sihler

Marlinda Lobo De Souza

Marilia Santos Silva

Marcio Martinello Sanches

A agricultura brasileira tem enfrentado dificuldades quando o assunto está relacionado ao controle de pragas. Tem-se relatado que duas espécies de Lepidoptera, a *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis*, constituem as principais pragas que atacam as culturas do milho e da soja, respectivamente. Novas alternativas para minimizar o uso de inseticidas químicos tornam-se necessárias para o controle de pragas na agricultura. Entre tais alternativas estão os agentes biológicos, que são formas mais seguras e econômicas de controle. O presente trabalho visou desenvolver tecnologias de produção *in vitro* de baculovirus das duas importantes pragas, *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* com ênfase na co-occlusão das partículas virais, AgMNPV e SfMNPV. Foram realizadas diversas etapas como a purificação de poliedros, extração de DNA a partir de poliedros e células infectadas, análise por PCR em tempo real (qPCR), padronização da reação, validação da reação, co-infecção *in vitro* de SfMNPV e AgMNPV, bioensaios para comprovação de co-infecção e bioensaio para análise de virulência do vírus co-ocluído. A co-infecção das linhagens celulares foi bem sucedida utilizando-se diferentes proporções de cada vírus. O primeiro bioensaio apresentou baixa mortalidade de larva *S. frugiperda*, enquanto para *A. gemmatalis* a mortalidade foi em torno de 50%. De acordo com a quantificação feita por qPCR ocorreu a co-infecção, resultando em poliedros co-ocluídos presentes em ambas as larvas. Devido à baixa mortalidade observada no bioensaio de virulência com *S. frugiperda*, os ensaios *in vitro* foram repetidos utilizando-se como inoculo os vírus obtidos diretamente a partir de hemolinfa de larvas. No entanto, os bioensaios com *S. frugiperda* resultaram novamente em baixa mortalidade, e não foi detectado em nenhuma larva a presença do vírus AgMNPV, posto isso a co-occlusão viral não ocorreu. Desta forma novos estudos deverão ser realizados para investigar o motivo da baixa mortalidade em *S. frugiperda*.

# PROSPECÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* PARA O BIOCONTROLE DE *Sclerotinia* *sclerotiorum* E *Sclerotium rolfsii* NA CULTURA DO ALGODÃO

Ana Luiza Bezerra Cardoso

Ana Beatriz Zacaroni

Sueli Corrêa Marques De Mello

O algodoeiro é uma cultura de grande importância econômica nacional e mundial que necessita de elevado uso de defensivos agrícolas para controle de pragas e doenças. Dentre os patógenos fúngicos, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* constituem sérios problemas na cultura. Objetivando encontrar opções de controle, realizou-se screening de 60 isolados de *Trichoderma*, mantidos na Coleção de Agentes de Controle Biológico e Plantas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, quanto ao antagonismo aos patógenos. Foram realizados dois experimentos *in vitro* e um *in vivo*, com três repetições por tratamento, por patógeno. *In vitro*, utilizou-se a técnica de pareamento de culturas em placas de Petri. As avaliações foram realizadas por medição do raio das colônias dos patógenos e calculado os percentuais de inibição. Os dados foram submetidos à análise de variância, e tiveram as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. *In vivo*, os mesmos 60 isolados de *Trichoderma* foram avaliados quanto à capacidade de suprimir os patógenos. Para tanto, copos descartáveis contendo 50 mL de vermiculita previamente umedecida receberam 100 mL de vermiculita seca contendo 0,5 g de inóculo de *S. sclerotiorum*, produzido em arroz. Após 24h, cada copo recebeu 10 mL de suspensão de *Trichoderma* cuja concentração foi ajustada para  $1 \times 10^8$  conídios/mL e, após 24h, foram semeadas quatro sementes de algodão. Testemunhas consistiram em copos contendo apenas vermiculita; vermiculita + arroz e; vermiculita + inóculo. Foram realizadas seis avaliações, calculados o índice de velocidade de emergência e a porcentagem de plântulas vivas, ao final do experimento. Os dados foram transformados pela raiz quadrada de  $x + 0,5$ , submetidos à análise de variância e, tiveram as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Foram selecionados 11 isolados de *Trichoderma* para cada patógeno, sendo 7 comuns aos patógenos. Os isolados selecionados pertencem a cinco espécies conhecidas (*T. lentiforme*, *T. asperelloides*, *T. koningiopsis*, *T. afroharzianum*, *T. rifaaii*) e uma espécie nova (sp. nov. 3).

# CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO LETTUCE CHLOROSIS VIRUS INFECTANDO ESPÉCIES DE *Passiflora* NO BAG “FLOR DA PAIXÃO”

---

Gustavo Pereira Felix

Andreza Henrique Vidal

Emanuel Felipe Medeiros Abreu

Isadora Nogueira

Dione Mendes Teixeira Alves-Freitas

Fabio Gelape Faleiro

Rafaela S. Fontenele

José Ricardo Peixoto

Cristiano Lacorte

Raul Castro Carriello Rosa

Onildo Nunes De Jesus

Renato De Oliveira Resende

Arvind Varsani

Simone Da Graça Ribeiro

O maracujá, planta do gênero *Passiflora*, pertencente à família Passifloraceae, possui grande importância comercial no Brasil, principalmente na produção de sucos e consumo in natura. Diversas doenças de etiologia viral têm sido descritas em espécies de maracujazeiros no país, podendo causar mosaico, cloroses e deformações foliares, produção de frutos “empedrados”, morte precoce das plantas, entre outros severos sintomas que fizeram a vida útil dos pomares, que antes era de até 6 anos, diminuir para apenas um ano. A Embrapa Cerrados conta com um banco de germoplasma de espécies de *Passiflora* que são utilizadas em programas de melhoramento para introgressão de características de interesse agrônomo. Os acessos de *Passiflora* spp do BAG Flor da Paixão apresentam sintomas típicos de infecção viral. Para a identificação dos possíveis vírus presentes nessas plantas, foi realizado um sequenciamento de dsRNA obtido das amostras dessas espécies. Utilizando técnicas de bioinformática para a análise dos dados do sequenciamento, foi constatada a presença de diversos vírus de diferentes famílias. Cinco dos contigs obtidos apresentaram alta identidade com o RNA1 e RNA2 do lettuce chlorosis virus (LCV). Foram feitas análises de caracterização molecular para ambos os RNAs e foram constatadas identidades acima de 97,4% entre as sequências dos clones das amostras do BAG Flor da Paixão (*P. auriculata* e *P. alata*) e as sequências de outros isolados de LCV depositados no banco de dados do NCBI, indicando que esses acessos estão infectados pelo LCV. Esse é o primeiro relato de LCV em espécies de *Passiflora* no mundo.



# ESTRATÉGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA O CONTROLE DE *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* EM *Brassica oleracea* var. *Capitata*

Ivonaldo Reis Santos

Daiane Gonzaga Ribeiro

Ana Carolina Rabelo Lima

Thuanny Borba Rios

Mariana Rocha Maximiano

Fabio B. Reis Junior

Manuel Megias Guijo

Luciano Paulino Silva

Angela Mehta

O uso de biomoléculas é uma das estratégias que vem sendo bastante utilizada no controle de pragas visando reduzir a utilização de pesticidas tóxicos para a saúde e para o meio ambiente. Neste contexto, o presente estudo propõe avaliar a expressão de genes envolvidos na defesa da planta por qRT-PCR, induzidos por metabólitos concentrados extraídos de *R. tropici* (CM-RT) e nanoencapsular os CM-RT para potencializar a indução de resistência à *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) em brássica. Para este estudo as expressões de 8 genes (FAD, DLP, ODD, SRP2, PIDRP8, SAP, ARP e CP450) relacionados à defesa foram analisadas. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação e aos 21 dias após a semeadura foram pulverizadas com solução de CM-RT a 1% nas folhas ou na raiz. As partes aérea e radicular foram coletadas no dia 0 (condição controle), 24 e 48 h após o tratamento (hat) e submetidas à extração de RNA para análise por qRT-PCR. Plantas de brássica suscetíveis à Xcc foram também tratadas com CM-RT a 0,5% e 1% nanoestruturados e, 24 h após o tratamento, inoculadas com Xcc e monitoradas para acompanhamento dos sintomas. Os resultados mostraram que o CM-RT aplicado nas folhas revelou um efeito protetor mais duradouro e sistêmico na planta. Os resultados obtidos neste estudo enfatizam o potencial biotecnológico do uso de metabólitos de *R. tropici* atuando como um elicitador de respostas de defesa ativas em plantas. Desta forma, o desenvolvimento de nanopartículas a base de quitosana contendo CM-RT, para investigar o possível efeito em um modelo experimental (in vivo), contribui significativamente para o controle da podridão negra das brássicas, podendo também ser aplicado para o controle de doenças que ocorrem em outras culturas de importância econômica, contribuindo assim para um planeta mais sustentável.

# TOXICIDADE DE CRYM CONTRA INSETOS DA ORDEM LEPDOPTERA: UMA ALTERNATIVA A RESISTÊNCIA EM CAMPO

---

Marcel Tomazette

Rose Gomes Monnerat

Janaina Hirbs Bezerra da Silva Xavier

Paulo Roberto Martins Queiroz

Antônia Débora Camila de Lima Ferreira

A aplicação de inseticidas químicos é o método mais empregado para o controle de Lepidópteros pragas, porém já são relatados casos de evolução de resistência. Com intuito de reduzir aplicações de inseticidas sintéticos, alternativas têm surgido para o manejo fitossanitário desse inseto. A utilização de inimigos naturais como organismos entomopatogênicos apresenta um enorme potencial, pois podem ser utilizados nas fases iniciais de desenvolvimento da praga, diminuindo os danos às lavouras. *Bacillus thuringiensis* é uma bactéria que produz uma extensa gama de proteínas inseticidas contra a larva de diversas ordens de insetos, as mais conhecidas são as proteínas Cry. Os produtos baseados nesta espécie se tornam cada vez mais populares e mais comercializados como biopesticida, e já existem relatos de resistência também às proteínas de *B. thuringiensis*. O objetivo do trabalho foi testar a proteína CryM no controle de lepidópteros praga como alternativa ao aumento da resistência dessas espécies a proteínas Cry utilizadas em culturas transgênicas. Esse trabalho utilizou proteínas Cry isoladas de *B. thuringiensis* contra três espécies de Lepidópteros: *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera frugiperda* e *Chrysodeixis includens*. As proteínas utilizadas foram: Cry1Ac e Cry1F, que são as principais proteínas empregadas nas culturas Bt e a proteína CryM. Em bioensaio contra os insetos alvos CryM demonstrou o número de CL50 abaixo de 10ng/cm<sup>2</sup>, sendo equivalente ou inferior a CL50 das proteínas já amplamente utilizadas, o que nos levou a candidatá-la como uma excelente alternativa as proteínas convencionais.

# PRIMEIRO RELATO DE VIROSE ASSOCIADA A SINTOMAS DE VERMELHÃO NA CULTURA DO MORANGO EM ÁREA DE PRODUÇÃO COMERCIAL NO DISTRITO FEDERAL

Tallyrand Moreira Jorcelino

Marília Santos Silva

Marcio Martinello Sanches

Ayslan Barbosa Moreno

Rita De Cássia Pereira Carvalho

Wânia Dos Santos Neves

No morangueiro (*Fragaria spp.*), angiosperma dicotiledônia pertencente à família Rosaceae, aspectos fitossanitários tem relevância econômica pela suscetibilidade da cultura a doenças causadas por vírus que podem limitar a produção. O estudo busca relatar a primeira ocorrência de Beet western yellows virus em folhas sintomáticas de morangueiro cultivado na região administrativa Brazlândia-DF. Inicialmente, a hipótese da pesquisa foi de que sintomas foliares de vermelhão, encrespamento, mosqueado, clorose marginal foliar, faixa das nervuras na cultura do morango estão associados com etiologia viral. Como metodologia, realizou-se levantamento de vírus candidatos em amostras de folhas sintomáticas em condições de campos de cultivo comercial da safra 2019, e adotou-se a detecção por teste sorológico (ELISA) e inoculação mecânica em círculo de hospedeiras vegetais alternativas, a saber: *Datura stramonium* (Solanaceae), *Beta vulgaris* spp. (Amaranthaceae), *Chenopodium quinoa* (Amaranthaceae), *Nicotiana benthamiana* (Solanaceae), *Solanum lycopersicum* (Solanaceae). Os vírus candidatos avaliados por ELISA com antissoros comercialmente disponíveis e relato de ocorrência em morangueiro no mundo foram: Arabis mosaic nepovirus (ArMV), Beet western yellows polerovirus (BWYV), Potato leafroll polerovirus (PLRV), Strawberry mild yellow edge potexvirus (SMYEV), Tomato bushy stunt tombusvirus (TBSV), Tobacco streak ilarvirus (TSV), Tomato ringspot nepovirus (ToRSV). Os resultados do estudo indicam que BWYV, presente em amostra de morangueiro com sintomas de vermelhão, pode estar envolvido na etiologia da referida doença. Em adição, na etapa de caracterização de plantas hospedeiras alternativas, há evidências de transmissão mecânica de BWYV para *Datura stramonium*, a qual apresentou sintomas de manchas necróticas típicas da presença de BWYV. Detecção inequívoca de BWYV nas amostras deve ser feita a partir de amplificação por PCR e sequenciamento gênico.

Agradecimento: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal (Emater-DF)

# CARACTERIZAÇÃO FILOGENÉTICA DE DIFERENTES POPULAÇÕES DE *Meloidogyne izarcoensis*, NOVA ESPÉCIE PARASITA DO CAFEIEIRO NO BRASIL

---

Marcilene Fernandes Almeida Dos Santos

Vanessa Da Silva Mattos

Daniela Aguiar De Souza

Yuri Medeiros Maia

Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro

*Meloidogyne izarcoensis* foi descrito a partir de uma população proveniente de El Salvador. A espécie causa, no cafeeiro, pequenas galhas com massas de ovos externas e severa destruição radicular. Essa espécie foi detectada em raízes de cafeeiro na África e, recentemente, em cafeeiros no Brasil, no Triângulo Mineiro. O objetivo do estudo foi caracterizar filogeneticamente cinco populações de *M. izarcoensis* provenientes de diferentes localidades do mundo, por meio da avaliação das regiões mitocondrial (COII), Hsp90, além de duas regiões distintas do DNA ribossomal (D2D3 e ITS). Todas as populações foram identificadas pelo fenótipo de esterase (Est I4) e marcadores SCAR espécie específicos. No primeiro estudo, observou-se uma baixa variabilidade genética nas duas regiões, mitocondrial e Hsp90. Filogeneticamente, todas as populações de *M. izarcoensis* provenientes das diferentes localidades (El Salvador, Quênia, Tanzânia, Vietnã e Brasil) se agruparam com 90% e 69% de bootstrap, indicando que esses marcadores são altamente conservados para a espécie. Além disso, ambos os marcadores apresentaram discriminação das principais espécies de *Meloidogyne* do cafeeiro, incluindo *M. exigua*, *M. paranaensis*, *M. incognita*, *M. arabicida* e *M. lopezi*. Em controvérsia, nas análises filogenéticas obtidas das regiões D2D3 do gene 28S e intergênica ITS1-5.8S-ITS2 do rDNA, além das populações de *M. izarcoensis* não terem se agrupado, não houve distinção interespecífica de *Meloidogyne spp.* que ocorrem parasitando o cafeeiro, demonstrando uma limitação filogenética desses marcadores.



||| Vertente

**Animal**

# FLUXOGRAMAS PARA REGISTRO E VALIDAÇÃO DE PRODUTOS NANOBIOtecnOLÓGICOS

---

Nathália Cristinah Lima Evangelista

Andressa Rodrigues Vargas Da Silva

Luciano Paulino Silva

O desenvolvimento de novos produtos aliados à nanotecnologia tem sido amplamente discutido nos últimos anos. Apesar de já aprovado pela Comissão de Constituição e Justiça (CCJ), o Marco Legal da Nanotecnologia enquanto Projeto de Lei permanece em análise desde 2019, deixando pesquisadores em universidades, centros de pesquisa e indústrias distantes de incentivos governamentais. Apesar da ausência de normas específicas, produtos nanotecnológicos são lançados no mercado, seguindo as legislações vigentes de produtos similares, submetidos às agências reguladoras existentes no país. Nesse contexto, foi desenvolvido um guia com informações para registro e validação de produtos nanobiotecnológicos, baseado nas legislações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Para tal, foram elaborados fluxogramas relacionados ao registro e testes necessários para o desenvolvimento e validação de produtos nanobiotecnológicos de uso humano, veterinário e agrícola, conforme legislações do MAPA e da ANVISA. Os dados a respeito dos aspectos legais dos produtos nanotecnológicos foram analisados para os seguintes fatores: registro, teste, produto de uso humano, veterinário ou agrícola. A pesquisa foi realizada com a ferramenta de busca do Google, utilizando as palavras-chave: “instrução normativa”, “portaria” ou “lei” seguido pelo nome do produto de interesse (i.e., cosmético) e da agência reguladora (ANVISA ou MAPA). Nesse plano de atividades foram agrupados em um guia os fluxogramas para os seguintes produtos: nanofármacos, nanocosméticos, nanoagrotóxicos, nanobactericida, nanovermífugo, nanovacina, nanosaneante, nanotêxtil, nanoformulação de inoculante e nanoformulação de agentes de controle biológico. Atualmente, os produtos submetidos às agências reguladoras no Brasil devem estar de acordo com exigências técnicas correspondentes às tecnologias empregadas, as quais não envolvem a nanotecnologia. Portanto, os fluxogramas gerados neste, e em outro plano de atividades complementar, compreende uma solução de curto-prazo para acessar informações visando ao registro de produtos nanotecnológicos, enquanto o Marco Legal da Nanotecnologia não acompanha o avanço técnico-científico. O principal desafio é idealizar normas específicas que possam abranger a caracterização de diferentes produtos nanotecnológicos, conforme legislação vigente.

# PRODUÇÃO DE HIDROGÉIS NANOCOMPÓSITOS PARA BIOIMPRESSÃO TRIDIMENSIONAL (3D) E PRODUÇÃO DE MIMÉTICOS DE TECIDOS DE MAMÍFEROS

Thalita Fonseca De Araujo

Luciano Paulino Da Silva

As metodologias existentes para testes de triagem de substâncias utilizam, comumente, culturas de células bidimensionais que não reconstituem a complexidade de tecidos tridimensionais (3D). Todavia, a utilização da bioimpressão 3D surge como uma forma de transpor tais limitações e, conjuntamente com a introdução de nanomateriais, pode oferecer novas propriedades aos hidrogéis para bioimpressão 3D. Por exemplo, nanopartículas de prata (AgNPs) possuem comprovada atividade antimicrobiana, além de poderem ser funcionalizadas com ácido ascórbico, conhecido agente antioxidante e apresentar bifuncionalidade. Nanopartículas de sílica (SiNPs) representam outro tipo de nanomaterial que pode servir como reforço estrutural em hidrogéis com baixa capacidade mecânica. Por fim, estudos demonstram que carbon-dots (C-Dots) podem aumentar a viabilidade celular em processos de bioimpressão 3D. Portanto, este trabalho objetiva produzir hidrogéis para bioimpressão 3D com adição de AgNPs funcionalizadas com ácido ascórbico, SiNPs, e C-Dots para produção de bioimpressos utilizando células de mamífero para triagem de compostos. Serão produzidas AgNPs por rota de síntese verde, e estas serão funcionalizadas com ácido ascórbico e testadas quanto às suas atividades antimicrobiana e antioxidante. Em relação aos C-Dots, serão produzidos testando diferentes metodologias para avaliação da taxa de rendimento de cada uma. Já para a síntese de SiNPs, casca de arroz será utilizada como agente precursor e passará por diversos processamentos. Para a produção dos hidrogéis, serão combinadas carboximetilcelulose, gelatina e quitosana em diferentes concentrações e proporções. Posteriormente, serão realizados testes de extrusão manual e em bioimpressora 3D para a escolha de uma mistura. Em seguida, os nanomateriais serão adicionados e serão realizados ensaios de inibição de crescimento bacteriano na presença de bioimpressos. Por fim, serão produzidos bioimpressos incorporando células de mamífero e avaliados quanto à sua viabilidade celular pelos testes 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina, resazurina e azul de tripan. Como resultado, é esperada a produção de hidrogéis celularizados de mamíferos utilizando hidrogéis com nanomateriais que possam servir como materiais para triagem dos efeitos biológicos de substâncias incluindo agroquímicos, fármacos e cosméticos.

# DESCELULARIZAÇÃO DE CORAÇÃO DE FRANGOS PARA USO NA COMPOSIÇÃO DE UMA BIOTINTA PARA BIOIMPRESSÃO 3D

---

Gabriela Mendes Da Rocha Vaz

Luciano Paulino Da Silva

Bioimpressão 3D de órgãos é considerada como uma tecnologia promissora do século XXI, aproximando o que outrora era visto como ficção à realidade. Com essa técnica, emprega-se biomateriais e nanomateriais para criar um ambiente adequado para a manutenção da viabilidade celular e que permita a produção de estruturas macroscópicas idealmente no tamanho de órgãos. Materiais que se apresentam como promissores na literatura são as matrizes descelularizadas. Dessa forma, o objetivo deste estudo consiste em combinar diferentes biomateriais a matrizes descelularizadas a fim de compor uma biotinta para utilização em bioimpressoras de extrusão. Corações de frangos foram adquiridos em comércio local, e seccionados em pequenos fragmentos com cerca de 25 mm<sup>2</sup>. Em seguida, foram incubados em solução aquosa a 1% de dodecilsulfato de sódio (SDS) durante 7 dias (4 trocas de solução, 1 vez ao dia durante os 3 primeiros dias e 1 troca no penúltimo dia) e em solução aquosa contendo 5 mM de EDTA e 20 mM de Tris por mais 1 dia. Essas matrizes serão avaliadas quanto à eventual presença de células por avaliação histológica e a possível presença de DNA será quantificada para validação e confirmação do processo em relação à descelularização. Essas matrizes descelularizadas serão posteriormente homogeneizadas mecanicamente em ultraturrax a baixa rotação sob refrigeração e combinadas com diferentes proporções de biomateriais poliméricos como: carboximetilcelulose, ágar, alginato de sódio, entre outros. Posteriormente, cada uma dessas misturas será acondicionada em seringas luer lock, as quais serão acopladas em bioimpressora 3D biotintas serão avaliadas em relação a diferentes parâmetros. Por fim, células serão incorporadas nessas misturas a fim de avaliar viabilidade celular. Espera-se que com essa composição de biotinta seja possível tornar mais acessível uma nova biotinta que garanta a viabilidade celular, assim como forneça a sinalização celular necessária com a presença de proteínas da matriz descelularizada (maturógenos) e que a posição espacial adequada (arquitetura estrutural) seja obtida com a utilização da técnica de bioimpressão 3D.

# NANOSSISTEMAS PARA VEICULAÇÃO DE MATURÓGENOS À BASE DE SUBPRODUTOS CÁRNEOS: AVALIAÇÃO DO PROCESSAMENTO E DA FUNCIONALIDADE DE BIOATIVOS TECIDO-ESPECÍFICOS

Melina Marques Sousa

Luciano Paulino Da Silva

Nanossistemas contendo bioativos naturais, como os maturógenos de origem animal, podem ser empregados como pool de nutrientes e fatores de crescimento para diferenciação celular e estudo da interação célula/substrato em microambientes biomiméticos. Contudo, a aplicação de pools de moléculas específicas provenientes de diversos tecidos animais com o objetivo de biofabricação tecidual ainda é pouca avaliada, sobretudo, mediante a nanoestruturação dos extratos bioativos. Sendo assim, o estudo avaliará estratégias para obtenção de maturógenos cárneos a partir dos métodos de extração proteica de amostras de coração, fígado, lobos pulmonares, rins e baço (subprodutos de abate bovino e suíno); e veiculação desses extratos em nanossistemas biopoliméricos a serem incorporados em hidrogéis estruturados juntamente com tipos celulares específicos. Os subprodutos cárneos frescos serão obtidos de matadouro frigorífico e utilizados para extração proteica em triplicatas. Para obtenção dos extratos, os subprodutos serão pesados, resfriados a 7°C, moídos e homogeneizados 1:10 (m:v) em tampão fosfato de sódio. Os homogenatos obtidos passarão por agitação magnética e centrifugação para remoção de debris celulares. Em seguida, os sobrenadantes serão dialisados, congelados (-80°C) e liofilizados. A avaliação da solubilidade proteica desses concentrados em diversos pHs e temperaturas utilizará experimento delineado inteiramente casualizado (DIC) com 2 repetições. O método do reagente de Bradford determinará a concentração proteica final dos extratos, assim como o rendimento de cada processo extrativo. Após o processamento, os maturógenos serão incorporados em nanossistemas preparados por geleificação iônica, nanoprecipitação ou coacervação conforme as características de cada extrato proteico animal e empregando biopolímeros como quitosana e gelatina. A caracterização físico-química das nanoestruturas será por espalhamento de luz dinâmico (diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade) e mobilidade eletroforética (potencial Zeta). Adicionalmente, a eficiência de encapsulamento dos maturógenos será avaliada pelo método de Bradford a partir de ultrafiltrados em membranas de exclusão molecular. Com os nanossistemas a serem obtidos será possível posteriormente a realização de ensaios funcionais in vitro quanto à maturação de biomiméticos à base de hidrogéis.

# COMPARAÇÃO DE SEIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA PARA GENOTIPAGEM COM PAINÉIS DE SNP DE BAIXA DENSIDADE

---

Aline A Campelo

Nayelle Meyre Lisboa Silva

Alexandre Rodrigues Caetano

Patrícia Ianella

Existem diferentes métodos de extração de DNA de tecidos, cada um com suas particularidades, no que se refere à reagentes utilizados, quantidade e qualidade do DNA genômico obtido e complexidade. Os métodos mais utilizados são os Kits Comerciais, porém, esses métodos resultam em quantidade restrita de DNA e são onerosos. A plataforma de genotipagem Fluidigm, a qual é utilizada no laboratório de genética animal, pode operar utilizando DNA com certa quantidade de impurezas, ou seja, o DNA genômico não precisa estar em excelente qualidade. Portanto, este projeto, buscou testar diferentes métodos de extração que resultem em DNA com rendimento e qualidade satisfatórios para análises subsequentes de genotipagem de marcadores de base única (SNP) na plataforma Fluidigm, com a melhor relação custo-benefício, e melhor desempenho possível. Para isso, nadadeiras de 8 espécimes de tambaqui tiveram seu DNA extraído com os seguintes métodos: Kit de extração Dneasy Blood & Tissue (Quiagen), CTAB modificado, Protocolo de Extração Salina, Mini Kit de extração rápida (Applied Biosystem) e Boiling Prep (fervura) com e sem proteinase K (PK). A performance dos métodos testados foi analisada a partir da eficiência de amplificação em PCR, quantificação do DNA obtido e custo e tempo de extração por amostra. Para quantificar a eficiência a cada método, uma escala com os critérios mencionados foi feita, onde o método com melhor desempenho recebeu nota máxima 1, e assim, proporcionalmente, os outros, receberam suas notas. Os resultados mostraram que os métodos Salino, Mini Kit e CTAB tiveram excelentes pontuações na escala de notas, porém, a maior nota foi a do método de Boiling Prep com PK. Conclui-se que, dentre todos os métodos analisados, o Boiling Prep com PK é o melhor para genotipagem de amostras na plataforma fluidigm, pois, além de ter custo e tempo de extração baixos em relação aos outros métodos, entrega o DNA com quantidade e qualidade suficiente para uso nessa plataforma. Portanto, é o melhor para o laboratório de genética animal da Embrapa Cernargen.

# MARCADORES BIOQUÍMICOS PARA PRENHEZ NO MEIO DE CULTIVO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO

Gabriela De Oliveira Fernandes

Andrei Antonioni Guedes Fidelis

Taynan Stonoga Kawamoto

Ligiane Leme

Mauricio Franco

Margot Alves Nunes Dode

Embora a produção in vitro (PIV) de embrião esteja bem estabelecida, as taxas de prenhez ainda permanecem baixas. Isso se deve principalmente a qualidade inferior dos embriões PIV associada a ineficiente seleção daqueles a serem transferidos. Assim, a busca por marcadores de viabilidade embrionária é necessária. O objetivo deste estudo foi identificar biomarcadores no meio de cultivo para identificar embriões com capacidade de estabelecer prenhez. Para isso, os embriões produzidos in vitro no dia cinco do desenvolvimento embrionário foram transferidos para gotas individuais, onde permaneceram as últimas 48 horas de cultivo. No final do cultivo, o meio foi coletado e armazenado individualmente, e os embriões (n = 85) foram transferidos para receptoras sincronizadas. Após o diagnóstico de gestação, os meios foram separados em meio do cultivo dos embriões que geraram (n = 31) ou não geraram prenhez (n = 54). Os perfis metabólicos dos meios foram analisados por espectrometria de massa com ionização tipo eletrospray (ESI-MS) e compostos específicos como piruvato, lactato e glutamato foram quantificados por fluorimetria. O perfil espectrométrico mostrou uma maior intensidade de sinal nos meios de cultivo de embriões que geraram prenhez comparado ao grupo não prenhe e aos que perderam a prenhez. Os íons 156,13 m/z; 444,33 m/z e 305,97 m/z podem ser considerados biomarcadores comparando o grupo prenhe com o não prenhe. Na quantificação fluorimétrica foi observado uma maior concentração de piruvato (p = 0,0174) e menor de lactato (p = 0,042) no meio de cultivo de blastocistos expandidos que geraram prenhez comparado ao não prenhe. A concentração de glutamato no meio de cultivo de blastocistos iniciais foi maior no grupo prenhe do que no não prenhe (p = 0,0299). A análise ROC mostrou que o piruvato no meio de cultivo de blastocistos expandidos pode prever a prenhez com 90,9% de sensibilidade e 75% de especificidade. Em conclusão, foram identificados biomarcadores no meio de cultivo que permitem selecionar para a transferência os embriões bovinos com maior potencial de prenhez.

# ANÁLISE DO LÍQUIDO DA BLASTOCELE POR ESPECTROMETRIA DE MASSA TIPO ELETROSPRAY COMO POTENCIAL FERRAMENTA PARA A SELEÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS

---

Gabriela De Oliveira Fernandes

Otávio Augusto Costa De Faria

Daniel Nogoceke Sifuentes

Mauricio Franco

Margot Alves Nunes Dode

O objetivo deste estudo foi analisar o perfil metabólico do líquido da blastocela (LB) obtido de embriões bovinos produzidos in vivo e in vitro. Foram utilizados blastocistos expandidos no dia 7 do desenvolvimento embrionário in vivo e in vitro. O LB foi coletado de 20 embriões de cada grupo com o auxílio de um micromanipulador e foi analisado sob condições de infusão direta, utilizando um espectrômetro de massa micrOTOF-Q® com ionização em eletrospray, operando no modo positivo e 50 - 650 m/z a faixa de massa analisada. A espectrometria de massa mostrou uma diferença nos perfis de massa/carga (m/z) e intensidade de sinal entre o LB de embriões produzidos in vivo e in vitro. Esses diferentes perfis foram muito consistentes entre as amostras de cada grupo, reforçando a ideia de que os fluidos embrionários in vivo e in vitro seguem um padrão característico e podem ser diferenciados e utilizados para identificar embriões de diferentes origens. O PLS-DA identificou os principais íons com VIP score > 1,55. Estes resultados constituem um painel de íons capaz de diferenciar os LB dos grupos. Os íons 453,15 m/z, 437,18 m/z e 398,06 m/z podem ser considerados biomarcadores da origem embrionária com 100% de sensibilidade e especificidade. Embora não tenha sido possível identificar a identidade molecular dos íons diferenciais, os perfis espectrométricos detectados fornecem uma característica fenotípica consistente e, portanto, capaz de diferenciar embriões produzidos in vitro dos in vivo, consistindo em um parâmetro de seleção embrionária. Esses resultados mostraram, pela primeira vez, uma diferença evidente entre os perfis metabólicos do LB de embriões bovinos produzidos in vivo e in vitro, utilizando a técnica de espectrometria de massa com ionização eletrospray (ESI-MS).

# A FONTE DE PROTEÍNA NO MEIO DE MATURAÇÃO IN VITRO AFETA A EXPRESSÃO DE GENES NAS CÉLULAS DO CUMULUS

Nayara Ribeiro Kussano

Ligiane Leme

Margot Alves Nunes Dode

Um dos fatores responsáveis pela falta de reprodutibilidade dos resultados em estudos que visam identificar marcadores de competência ovocitária em células do cumulus (CCs) é o sistema de maturação utilizado. Dentro do sistema um componente ao qual não tem sido dada muita atenção é a fonte proteica (FP) utilizada durante a maturação in vitro (MIV). Objetivou-se, avaliar se a FP durante a MIV afeta o perfil de expressão dos genes GPC4, VCAN, GHR, PTGS2 e ALCAM nas CCs usando RT-qPCR. Uma biópsia de CC foi removida antes e depois da MIV na presença de SFB ou BSA. Após a biópsia, os complexo-cumulus-ovócitos (CCOs) foram fecundados in vitro e cultivados até o dia 8 de desenvolvimento (D8). No D8 a taxa de blastocisto foi avaliada e de acordo com o resultado as CCs foram agrupadas em: CCs de CCOs imaturos, CCs de CCOs que resultam ou não em embriões. A análise da expressão gênica mostrou que a FP mudou os perfis de expressão dos genes VCAN, GHR, PTGS2 e ALCAM durante a maturação ( $P < 0,05$ ). No entanto, quando a expressão dos genes foi comparada entre os grupos de CCs imaturas e maturadas, nenhum dos genes foi diferencialmente expresso em CCs que resultaram ou não em embriões ( $P > 0,05$ ). O gene GHR foi expresso de forma diferente ( $P < 0,05$ ) em CCs imaturas, mas apenas quando SFB foi usado na MIV, sendo este o único gene que pode ser considerado um marcador de competência ovocitária. Em conclusão, a FP durante a MIV influencia a expressão gênica em CCs e deve ser considerado quando os marcadores de qualidade ovocitária são estudados.

# CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO LARVAL E DAS GENITÁLIAS MASCULINA E FEMININA DO BICHO MINEIRO DO CAFÉ, *Leucoptera coffeella* (Guérin-mèneville & Perrottet) (*Lepidoptera*: Lyonetiidae)

---

Isabela De Oliveira Motta

Juliana Dantas De Almeida

Leonardo De Amorim Vidal

João Victor Félix Bílio

José Roberto Pujol Luz

Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire

O bicho mineiro do cafeeiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet), é uma praga-chave nos países produtores de café. Durante o seu desenvolvimento, as larvas se alimentam do parênquima paliçádico das folhas formando minas. Dessa forma, diminuem a área fotossintética da planta e, conseqüentemente, afetam a produção do cafeeiro. Apesar do sério dano causado, não há informações pregressas a respeito dos instares larvais e nem da genitália dos adultos, conhecimentos que podem ser importantes para métodos de controle da praga. Este trabalho apresentou as medidas da cápsula cefálica e, pela primeira vez, o detalhamento morfológico dos quatro instares larvais, e a morfologia das genitálias de machos e fêmeas. A média da cápsula cefálica do 1º instar foi  $0,14 \pm 0,03$  mm, 2º instar  $0,25 \pm 0,04$  mm, 3º instar  $0,32 \pm 0,03$  mm e 4º instar  $0,42 \pm 0,03$  mm (Média  $\pm$  DP). As características larvais analisadas foram cerdas primárias, falsas pernas, colchetes das falsas pernas e linha ecdisial da cápsula cefálica. As estruturas encontradas da genitália masculina foram bulbo ejaculatório, coremata, valva, anelo, gnatho e edeago, e na genitália feminina foram ovipositor, esclerito e corpo da bursa.

# EFEITOS SAZONAL E DA RAÇA DOADORA NA EXPRESSÃO GÊNICA EM OVÓCITOS BOVINOS

Ligiane Leme

Izabelle Pereira De Lacerda

Otávio Augusto Costa De Faria

Andrei Antonioni Guedes Fidelis

Mauricio Franco

Felipe Lopes Ruas

José Carvalho

Margot Alves Nunes Dode

A produção in vitro de embriões (PIVE) é uma importante biotecnologia para o melhoramento genético da pecuária para o gado leiteiro. No entanto, diferenças entre a fisiologia reprodutiva de *Bos taurus* e *Bos indicus* e em sua capacidade de responder a diferentes situações de estresse podem afetar os resultados de PIVE quando doadoras de raças diferentes são usadas. O objetivo deste estudo foi quantificar a abundância relativa de mRNA de genes relacionados ao estresse térmico (HSPA5), estresse oxidativo (SOD2), metabolismo da glicose (SLC2A3) e apoptose (CASP3 e FOSL1) em ovócitos de doadoras da raça Gir (n = 10), Holandês (n = 7) e ½ Holandês-Gir (n = 12) nas estações de verão e inverno. Ao final das duas temporadas, cada doadora foi submetida a 4 sessões consecutivas de aspiração folicular em um intervalo de 72 horas. Após a aspiração, os complexos cumulus-ovócitos (COCs) foram selecionados, desnudados e somente os ovócitos foram utilizados para a expressão gênica. A análise foi realizada por PCR em tempo real, usando GAPDH e ACTB como genes constitutivos. Os efeitos estação do ano e raça doadora sobre a abundância relativa dos genes foram testados por ANOVA, e comparados pelo teste de Tukey. O inverno causou uma redução ( $P < 0,05$ ) na média de obtenção de COCs totais em Zebu ( $7,5 \pm 0,7$  vs.  $5,9 \pm 0,9$ ) e mestiços ( $17,8 \pm 3,4$  vs.  $11,2 \pm 0,5$ ), enquanto o verão foi prejudicial ( $P < 0,05$ ) para doadoras Taurinas ( $2,7 \pm 0,9$  vs.  $4,2 \pm 1,9$ ). A estação do ano não influenciou a expressão dos genes avaliados em nenhum dos grupos raciais. No entanto, os genes HSPA5 e SLC2A3 apresentaram maior expressão ( $P < 0,05$ ) em ovócitos da raça Holandesa em comparação com ovócitos de doadoras ½ Holandês-Gir. Conclui-se que a raça da doadora, mas não a estação do ano, afeta a expressão de genes relacionados ao estresse térmico (HSPA5) e metabolismo de glicose (SLC2A3) em ovócitos de doadoras Holandesas e ½ Holandês-Gir.

# OCORRÊNCIA DE *Drosophila suzukii* NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL: COMUNICAÇÃO ATUALIZADA, 2019/2020

Iraene Gonçalves Castro Braga

Renata Santos De Mendonça

José Ricardo Peixoto

Jane Ribeiro Dos Santos

Ianne Lara Oliveira Meireles

Marcelo Lopes Da Silva

*Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera, Drosophilidae), conhecida como drosófila-da-asa-manchada, é uma espécie exótica no Brasil, originária do sudeste da Ásia. Foi relatada no país em 2013, em Capão do Leão, Rio Grande do Sul e em reservas biológicas de Santa Catarina. Em 2014, sua ocorrência foi notificada em uma área de reserva no Distrito Federal. É uma espécie polífaga, com incidência em morango, entre outros frutos de casca fina. Os danos de *D. suzukii* decorrem da alimentação das larvas no interior dos frutos sadios e da inserção do ovipositor que abre portas à entrada de infestações secundárias por outros organismos. No Sul do país tem causado prejuízos às lavouras de pequenos frutos. As informações sobre a dispersão e manejo desse inseto são ainda escassas no Brasil. Este trabalho teve como objetivo de monitorar *D. suzukii* no DF e entorno. Para a captura dos exemplares foram utilizadas armadilhas contendo o vinagre de maçã como atraente alimentar. As coletas foram realizadas por um período de 18 meses (maio/2019 a outubro/2020) em Brasília (Estação Experimental de Biologia EEB/IB/UnB & Asa Sul), Vargem Bonita (Park Way SMPW Q Fazendinha & Fazenda Água Limpa, FAL-UnB), Guará II (Colônia Agrícola Bernardo Sayão), Brazlândia (Chácara Guarujá & Centro), São Sebastião (Morro da Cruz & São José) e em Luziânia (Goiás). As amostras foram inspecionadas no Laboratório de Entomologia da Embrapa Cenargen. As populações foram identificadas com base nos caracteres morfológicos consultando-se a literatura pertinente. Os resultados confirmaram a presença de *D. suzukii* em áreas cultivadas de Brasília, Vargem Bonita, Brazlândia (DF) e Luziânia (Goiás). Observou-se que o número de *D. suzukii* nas armadilhas em 2019 (12) foi menor do que o coletado em 2020 (110). O primeiro registro em Goiás revela a expansão da área de *D. suzukii*. A presença em Brazlândia, região com a maior produção de morangos do Distrito Federal e do Centro Oeste, constitui um alerta em virtude dos danos e prejuízos aos produtores.

# TAXA DE RECUPERAÇÃO DE ESTRUTURAS APÓS A TRANSFERÊNCIA INTRAFOLICULAR DE OVÓCITOS IMATUROS (TIFOI) REALIZADA EM DIFERENTES MOMENTOS APÓS A RETIRADA DE IMPLANTE DE PROGESTERONA (P4)

Luzia Renata Oliveira Dias

Otávio Augusto Costa De Faria

João Henrique Moreira Viana

Margot Alves Nunes Dode

A transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) é uma nova alternativa para a produção de embriões, mas apresenta baixa taxa de recuperação embrionária. Objetivou-se avaliar se o momento em que a TIFOI é realizada em relação a remoção do implante de progesterona (P4) afeta a taxa de recuperação e qualidade embrionária. Para isso, utilizou-se vacas ovuladoras previamente sincronizadas que receberam um implante de P4 no dia zero (D0). No D8 o implante foi removido e após 24 (TIFOI D9), 36 (TIFOI D9,5) e 52 (TIFOI D10) horas da remoção, a TIFOI foi realizada. A inseminação artificial (IA) e indução da ovulação foram realizadas 52 h após a remoção de P4. Foram utilizados 1525 ovócitos obtidos de ovários de abatedouro, e injetados em grupos de 25 a 30 ovócitos/folículo/ovuladora. Oito dias após a IA realizou-se a lavagem uterina para a recuperação embrionária e avaliação das taxas de recuperação embrionária e de estruturas. Os blastocistos expandidos foram submetidos à coloração diferencial para avaliação da qualidade embrionária, considerando embriões de boa qualidade àqueles que apresentaram a proporção de massa celular interna (MCI)/Total de células de 20 a 40%. Os dados de recuperação foram analisados pelo teste Chi-quadrado e os de qualidade pelo ProcFreq do SAS e exato de Fisher ( $P < 0,05$ ). A recuperação total e verdadeira de estruturas no D8 foi maior no grupo TIFOI D9,5 (44,8% e 41,4%) do que nos demais tratamentos TIFOI D9 (32,6% e 29,6%) e TIFOI D10 (26% e 22,7%) ( $P < 0,05$ ). A taxa de recuperação embrionária total foi maior no grupo TIFOI D9,5 (7,2%) com relação ao grupo TIFOI D9 (3,9%) ( $P < 0,05$ ). Todos os grupos apresentaram embriões de boa qualidade com MCI/Total de 31,6% (Controle) 34,8% (TIFOI D9), 38,6% (TIFOI D9,5) e 38,3% (TIFOI D10). Conclui-se que o momento em que a TIFOI é realizada após a retirada do implante de P4 interfere na taxa de recuperação de estruturas, mas não na qualidade embrionária.

Apoio: Embrapa; Capes e UnB.

# EFEITO DO NÚMERO DE OVÓCITOS UTILIZADOS NA TRANSFERÊNCIA INTRAFOLICULAR DE OVÓCITOS IMATUROS (TIFOI) NA MATURAÇÃO NUCLEAR

Bruno De Oliveira Pereira  
Otávio Augusto Costa De Faria  
Felippe Manoel Costa Caixeta  
Andrei Antonioni Guedes Fidelis  
Margot Alves Nunes Dode

A quantidade de ovócitos injetados no folículo pode influenciar o ambiente folicular e afetar a eficiência da TIFOI. Esse estudo objetivou avaliar se o número de ovócitos usados na TIFOI, comprometeria a maturação nuclear em bovinos. Novilhas Nelore foram sincronizadas com dispositivo de progesterona (P4) associado à aplicação de benzoato de estradiol (2mg; i.m.), no primeiro dia zero (D0). No D8, a P4 foi removida e 0,5 mg de Cloprostenol foi aplicado (i.m). Vinte e quatro horas após (D9), a ovulação foi induzida com 25µg de acetato de gonadorelina (GnRH), sendo a TIFOI realizada seis horas após. Ovócitos foram obtidos de ovários de abatedouro, sendo parte deles maturados in vitro (MIV), e os demais distribuídos nos diferentes grupos: TIFOI10: injeção de 10 ovócitos (n = 11), TIFOI25: injeção de 25 ovócitos (n = 5) e TIFOI50: injeção de 50 ovócitos (n = 6). Vinte e duas horas após a TIFOI, os ovócitos injetados foram recuperados por aspiração folicular e os ovócitos MIV removidos do cultivo. Os complexos cumulus oophorus (CCOs) recuperados foram desnudados e fixados e corados com lacmoide 45%, e foram avaliados em microscopia de contraste de fase. Foram classificados de acordo com o estágio nuclear em: vesícula germinativa (VG), metáfase I (MI), anáfase I (AI), telófase I (TI), metáfase II (MII) e anormal. Os resultados foram comparados pelo teste Qui-quadrado ( $P>0,05$ ). Antes da maturação, todos os ovócitos estavam no estágio VG (n = 94). Após 22 horas de maturação, a a porcentagem de ovócitos que atingiram MII foi semelhante ( $P>0,05$ ) entre os grupos, sendo, 78,6%, 74,6%, 71,4%, 76,4% para MIV, TIFOI10, TIFOI25 e TIFOI50 respectivamente. Além disso, também não houve diferenças ( $P> 0,05$ ) entre os tratamentos quanto à porcentagem de ovócitos degenerados (MIV = 5,7%; TIFOI10 = 5,1%; TIFOI25 = 0%; TIFOI50 = 7,3%). Pode-se concluir que, número (10, 25, 50) de CCOs injetados no folículo pré-ovulatório não afetou a maturação nuclear sendo que a maioria dos ovócitos atingiu o estágio MII.

# BICHO MINEIRO (*Leucoptera coffeella*): UMA REVISÃO ABRANGENTE SOBRE O INSETO E PERSPECTIVAS PARA O MANEJO E CONTROLE DA PRAGA

João Victor Félix Bílio

Juliana Dantas De Almeida

Leonardo De Amorim Vidal

Isabela De Oliveira Motta

Júlia M. Pupe

Adriano Delly Veiga

Carlos Carvalho

Rogério B. Lopes

Norton Porto Benito

Thales Lima Rocha

Luciano Paulino Da Silva

José Roberto Pujol Luz

Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire

*Leucoptera coffella* é o nome científico do bicho mineiro do cafeeiro (BMC). Essa mariposa é uma das maiores pragas do cafeeiro e seu agente causador de danos é a larva. Durante os estádios imaturos, a larva se alimenta no mesofilo, causando necrose, perda de capacidade fotossintetizante e desfolha. O café é produzido em mais de 60 países por 25 milhões de produtores, em sua grande maioria de pequeno porte e em países emergentes. O café é uma bebida mundialmente apreciada por um número cada vez maior de consumidores. Esse mercado em ascensão demanda técnicas modernas de manejo que permitam aumentar a produção e ao mesmo tempo proteger o ambiente, além de gerar produtos de alta qualidade e livres de pesticida. O BMC acarreta perdas entre 30-70% da produção, comprometendo também qualidade e a produção dos grãos e causando impacto negativo na cadeia produtiva do café. O controle por pesticidas sintéticos é necessário, mas apresenta desvantagens como a seleção de populações resistentes do inseto, efeitos nocivos no ambiente e na saúde humana. Assim, existe grande demanda para o desenvolvimento de estratégias de manejo integrado de pragas. Neste trabalho, foi elaborado uma revisão sobre a origem, história e ocorrência do BMC, bem como dos métodos de controle para soluções sustentáveis de controle do BMC.

# DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO PRECOCE EM OVINOS

---

Antonio Gabriel Macedo Santos

Lucas Macedo Santos

Gabriela Cordeiro Brilhante

Alexandre Floriani Ramos

Bianca Damiani Marques Silva

Buscando aumentar a eficiência dos rebanhos, através de estratégias de IATF, TETF e aperfeiçoamento no diagnóstico de gestação (DG) a ultrassonografia com doppler colorido (UDC) vem como uma ferramenta auxiliar, pois consegue avaliar o aspecto vascular e hemodinâmico de tecidos. O corpo lúteo (CL) é uma das estruturas com maior taxa de fluxo sanguíneo do organismo, sendo essa reduzida pelo processo de luteólise, podendo estimar sua funcionalidade pela técnica de UDC. Objetivou-se validar a técnica de DG precoce e avaliar sua acurácia aos 17 dias após cobertura. Utilizando-se 54 ovelhas e 7 carneiros da raça Santa Inês, com idade 2-5 anos aptos à reprodução, ambos criados em pastos de brachiaria spp. com sal mineral e água ad libitum. As fêmeas foram submetidas a protocolo de sincronização de estro com dispositivo intravaginal de P4 por 7 dias, aplicação de 300 UI de eCG e 0,275 mg de PGF2a IM na retirada do dispositivo, realizando monta natural no período de 28-56 horas após a retirada dos dispositivos. As avaliações foram realizadas com UDC utilizando transdutor linear para avaliar grau de vascularização (GV) dos CLs, sendo esses classificados em GV1 (0-25% de vascularização), GV2 (26-50%), GV3 (51-75%) e GV4 (76-100%), nos dias D13, D15, D17, D19, D21 após a monta natural. A estimativa gestacional foi realizada de acordo ao GV, sendo 2,5 = prenhe e <2,5 vazias, confirmando-os com DG D30. Foi realizada análise estatística pela curva ROC ( $P < 0,05$ ). Devido à existência da irrigação lútea fisiológica durante o diestro, as avaliações de D13 e D15 tiveram acurácia de 63% e 67%, respectivamente. No D17 elevou-se o nível de acurácia para próximo a 90%, isso devido manutenção da irrigação nos animais prenhes e redução da mesma por luteólise nas vazias, mantendo resultados semelhantes em D19 e D21. Conclui-se que a avaliação da irrigação do CL com UDC em D17 é uma ferramenta eficiente para DG, com resultados de acurácia próximo a 90%.

# ANÁLISE DA ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA DE INDIVÍDUOS DE *Oreochromis niloticus* EM PEIXARIAS DO DISTRITO FEDERAL

Noeliton Teixeira De Araújo Júnior

Nayelle Meyre Lisboa Silva

Patrícia Ianella

Alexandre Rodrigues Caetano

A Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é originária do continente africano e foi introduzida no Brasil na década de 1970. A produção de Tilápia corresponde a mais da metade de toda produção nacional de peixes (323,7mil toneladas em 2019). Grande parte do germoplasma utilizado em pisciculturas comerciais foi importado recentemente de outros países onde a espécie também é produzida comercialmente, na Ásia, América do Norte e Europa, onde programas de melhoramento estão bem estruturados já há algum tempo. Este estudo teve como objetivo realizar uma análise inicial da estrutura genética de Tilápias comercializadas em diferentes peixarias do Distrito Federal, utilizando metodologias contemporâneas de análise genética, visando o desenvolvimento de uma ferramenta para análise e gestão genética de reprodutores. Amostras de 96 tilápias foram coletadas em 7 peixarias no DF. As amostras de DNA foram genotipadas com 48 marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphism) com uma Plataforma EP1 da Fluidigm. O controle de qualidade dos dados gerados foi realizado removendo as amostras e marcadores com call rate abaixo de 80%. Estatísticas F foram obtidas com os programas GenAlEx e Arlequin, e estimativas de parentesco foram obtidas com o programa Coancestry. Análises de estrutura populacional foram realizadas com os programas Structure e CLUMPAK. Um total de 90 amostras e 48 marcadores passou as análises de qualidade. As estimativas de Fst entre os sete locais de amostragem variou entre 0,001 e 0,097 (Fst geral = 0,037), indicando baixa diferenciação genética. As estimativas de Fis para cada local variou entre -0,099 e 0,051 (Fis geral = -0,030), indicando alto nível de heterozigozidade para as populações. As estimativas de parentesco obtidas mostram uma alta relação de parentesco entre os indivíduos dos 7 locais de amostragem, o que foi também corroborado com as análises de estruturação genética (melhor K=2). Os resultados sugerem que mesmo as amostras sendo provenientes de pisciculturas de diferentes estados, aparentemente os alevinos foram obtidos do mesmo fornecedor.

# ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DO BANCO DE GERMOPLASMA DE BOVINO CRIOULO LAGEANO

Daiza Orth

Patrícia Ianella

Alexandre Floriani Ramos

Samuel Rezende Paiva

Alexandre Rodrigues Caetano

A raça de bovino Crioulo Lageano é uma importante raça naturalizada da região dos Campos de Cima da Serra no Rio Grande do Sul e do Planalto Catarinense, com um plantel médio de 3.000, animais distribuídos entre 27 criadores. A exploração da raça proporciona vantagens produtivas, principalmente em cruzamentos com outras raças, como consequência de suas características de adaptabilidade a ambientes produtivos de baixo input resultantes de vários séculos de seleção natural. O objetivo desse estudo foi analisar a diversidade genética de amostras da raça Crioulo Lageano de diferentes produtores, e compará-las com as amostras de germoplasma conservadas no Banco Brasileiro de Germoplasma Animal (BBGA). Setenta e oito amostras (25 do BBGA e 48 de reprodutores de três diferentes fazendas) foram genotipadas com o chip BovineSNP50 ou GGP150k Neogen. Os dados foram analisados no software SNP & Variation Suite v8.x (Golden Helix, Inc.), Admixture 1.2 e Clumpak. As análises iniciais de controle de qualidade removeram amostras duplicadas e com *call rate* < 0.90, e marcadores não mapeados, com *call rates* < 0.95, MAF < 0.05 e em desequilíbrio de ligação, totalizando um grupo amostral de 67 animais e 31.816 SNPs. Os resultados das análises de *Fst* não apresentaram diferenciação entre os grupos analisados, o que indica que as amostras conservadas no BBGA são representativas da variabilidade genética observada nas populações amostradas desta raça. No entanto, as análises de estruturação de população (PCA e Structure) indicaram uma subestruturação entre os grupos analisados. Tais resultados indicam que embora o germoplasma conservado da raça de bovinos Crioulo Lageano no BBGA não difira significativamente das amostras de reprodutores analisadas, o processo de enriquecimento do banco deve considerar esta subestruturação. Conclui-se que as análises de estrutura de população realizadas se mostraram eficientes para detectar subestruturações nesta raça e úteis para orientar o enriquecimento do BBGA, demonstrando também a importância da caracterização genética como uma ferramenta para conservação e manejo de rebanhos.

# AUMENTO DA TEMPERATURA AO LONGO DO DIA AFETA A ATIVIDADE DE FORRAGEAMENTO DE *Melipona quadrifasciata* EM AMBIENTE NATURAL

Raíssa Silva Costa

Davi De Lacerda Ramos

Henrique Cardoso Da Silva

Eneas Rocha

Lucas Borges Macedo

Michelle Cogitskei

Eliana M. G. Fontes

Carmen Silvia Soares Pires

Daniel Antunes Daldegan

As abelhas são insetos capazes de regular sua temperatura interna, por meio da perda e troca de calor, para garantia da postura e desenvolvimento de funções dentro da colônia. A atividade das abelhas forrageiras em busca de recurso é essencial para a manutenção das colônias e pode ser influenciada por fatores abióticos, tais como umidade, luminosidade e temperatura. A temperatura, por sua vez, é apontada como o principal fator ambiental para determinar a atividade de voo e forrageamento nestes insetos. O presente estudo visou avaliar como as variações de temperatura e o período do dia afetam o comportamento de forrageamento (i.e. entrada no ninho com pólen) de abelhas da espécie *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia). As observações foram realizadas no Meliponário da Embrapa Cenargen – Brasília/DF, em seis ninhos, de 6:00 às 17:00 horas. Cada ninho era observado de hora em hora por cinco minutos e durante esse intervalo o número de indivíduos executando os seguintes comportamentos era registrado: saída e saída com lixo, entrada e entrada com pólen. Os valores de temperatura foram obtidos por meio de sensores data logger HOBO ProV2, instalados no centro do meliponário. A análise do efeito da temperatura e horário sobre o comportamento de entrada com pólen foi feita aplicando um modelo linear generalizado (distribuição quasipoisson), por meio do programa estatístico R Studio. Os resultados mostraram que a temperatura ( $p < 0,001$ ) e horário ( $p < 0,001$ ) estão negativamente relacionados com a intensidade do forrageamento. O maior número de indivíduos entrando com pólen foi observado de 6h às 8h, quando a temperatura variou entre 18°C e 22°C. De maneira inversamente proporcional, ambas as variáveis explicam significativamente o período de maior atividade de coleta de pólen. Este estudo mostrou que, no Distrito Federal, o comportamento de forrageamento da mandaçaia é similar ao observado em outras regiões do país, sendo mais frequente em condições de temperaturas mais amenas e no início do dia.

# VALIDAÇÃO DE UM PAINEL DE SNPs DE BAIXA DENSIDADE PARA AVALIAÇÃO DA ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA DO CAMARÃO CINZA (*Litopenaeus vannamei*)

---

Nayelle Meyre Lisboa Silva

Patrícia Ianella

Michel Eduardo Beleza Yamagishi

João Luís Rocha

Ana Karina Teixeira

Flávio Galvão Farias

Ana Carolina Guerrelhas

Alexandre Rodrigues Caetano

O camarão cinza (*Litopenaeus vannamei*) é a espécie de penaeideo mais cultivada em todo o mundo, com produção mundial de 4,1 milhões de toneladas em 2016. O objetivo deste estudo foi validar um painel com 96 marcadores SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) para avaliar a variabilidade e estruturação genética em populações de camarão cinza de um núcleo de melhoramento genético e em amostras de camarão coletadas em lojas de varejo. Para isso, 137 amostras de três linhagens selecionadas (LSA, LSB e LSC) oriundas de um produtor de larvas e 191 amostras de sete lojas de varejo (DF1, DF2, DF3, DF4, DF5, DF6 e PB) foram genotipadas com 96 SNPs em uma plataforma Fluidigm. Os dados resultantes da genotipagem foram analisados com SVS Golden Helix, STRUCTURE 2.3.4 e Clumpak. As análises de componentes principais (PCA) e a estruturação populacional avaliada com STRUCTURE separaram as amostras de lojas de varejo em um cluster que diverge das amostras das linhagens LSA, LSB e LSC. O maior valor de K foi detectado quando um modelo assumindo duas populações foi estabelecido. As estimativas de  $F_{st}$  variaram de 0,010 (DF1- DF5) a 0,105 (LSB-DF2). A média geral de Heterozigosidade Observada ( $H_o$ ) foi de 0,392 e a maior diferença observada entre  $H_o$  e Heterozigosidade Esperada ( $H_e$ ) foi de 0,039 (DF5). A média estimada de Fis foi de 0,037. Esses resultados indicaram alta variabilidade genética no germoplasma analisado e estruturação populacional entre as linhagens do produtor de larvas e as populações das lojas de varejo. Isso sugere que as populações são oriundas de programas de melhoramento genético que controlam o acasalamento entre parentes e que as amostras dos varejistas não são oriundas do produtor de larvas abordado nesse estudo. Além disso, todas as populações das lojas de varejo aparentam ter origem de um mesmo produtor. Pode-se concluir, com esses resultados, que o painel validado fornece informações satisfatórias em análises de variação genética e estruturação populacional do camarão cinza.

# INFLUÊNCIA DA TRANSFERÊNCIA INTRAFOLICULAR DE OVÓCITOS IMATUROS (TIFOI) NO FOLÍCULO PRÉ-OVULATÓRIO

Otávio Augusto Costa De Faria

Bruno De Oliveira Pereira

Andrei Antonioni Guedes Fidelis

Margot Alves Nunes Dode

A Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) surge como uma nova alternativa para produzir embriões bovinos. Assim como no início da produção in vitro de embriões (PIVE), a TIFOI possui alguns fatores limitantes, inerentes a técnica, que diminuem sua eficiência. Dentre elas, a baixa recuperação de estruturas injetadas dentro do folículo da Ovuladora. Sendo assim, esse estudo teve como objetivo avaliar se a injeção afeta a ovulação das Ovuladoras. Para isso, aferiu-se o tempo da ovulação e o tamanho do folículo próximo a ovulação. Novilhas Nelore foram sincronizadas com dispositivo de progesterona (P4) associado à aplicação de benzoato de estradiol (2mg; i.m.), no primeiro dia (D0). No D8, a P4 foi removida e 0,5 mg de Cloprostenol foi aplicado (i.m). Vinte e quatro horas após (D9), a ovulação foi induzida com 25µg de acetato de gonadorelina (GnRH). Seis horas após a indução, os animais foram divididos em três grupos: Controle, Injeção e TIFOI. Os animais do grupo controle não foram submetidos a nenhum tratamento; o Injeção, recebeu até 60µl de Líquido Folicular (LF) no folículo dominante (pré-sincronizado); e o TIFOI, até 60µl de LF mais 25 ovócitos imaturos. Todos os animais foram avaliados, através da ultrassonografia, até o momento da ovulação. Os resultados foram analisados pela ANOVA ( $P>0,05$ ). A injeção provocada no folículo dominante pela TIFOI não afeta o período de ovulação ( $P>0,05$ ), média de 30 horas, em todos os grupos. Contudo, quando comparado com o grupo Controle, observou-se um menor diâmetro do folículo pré-ovulatório dos animais que receberam até 60µl de LF mais ovócitos imaturos ( $P<0,05$ ), ( $8,7\text{mm} \pm 1,2$  e  $10,7\text{mm} \pm 1,7$ , respectivamente). Possivelmente, uma menor recuperação de estruturas e embriões, na TIFOI, deve-se a maior diminuição do folículo pré-ovulatório próximo à ovulação.

# EFEITO DO TEMPO DE CONFINAMENTO E DOS MATERIAIS DE COBERTURA USADOS EM CASAS DE VEGETAÇÃO SOBRE O COMPORTAMENTO DE FORRAGEAMENTO DE DUAS ESPÉCIES DE ABELHAS SEM FERRÃO

---

Davi De Lacerda Ramos

Raíssa Silva Costa

Raul Alberto Laumann

Eliana M. G. Fontes

Rafaela Pontes Brandão

Darah Duarte Lima

Luan Santos Souza

Edison Ryoiti Sujii

Carmen Silvia Soares Pires

O Brasil tem uma enorme diversidade de abelhas sem ferrão, que são importantes polinizadores em sistemas naturais e agrícolas. O avanço no conhecimento da biologia e manejo destas espécies tem possibilitado seu uso como polinizadores em casas de vegetação. Contudo, o uso de materiais plásticos que revestem estas casas podem gerar condições ambientais desfavoráveis para o forrageamento destas abelhas. Neste trabalho avaliou-se como quatro diferentes materiais plásticos usados na cobertura de estufas agrícolas, e o período de confinamento afetam o comportamento de forrageamento de *Scaptotrigona postica* e *Frieseomellita varia*. A observação do comportamento foi feita em cinco arenas de 5,3m<sup>2</sup>, confeccionadas em ferro e madeira, com uma das paredes e teto revestidas de vidro (controle) ou de filmes plásticos com luz ultravioleta (UV) variando entre 0-90%. As condições internas de temperatura das arenas foram mantidas entre 26-29°C com o uso de ar condicionado. Em cada arena, foram colocados vasos com plantas de manjeriço floridas. Caixas contendo ninhos das abelhas foram instaladas do lado de fora das arenas e conectadas com o interior através de um tubo de madeira. Foi observado o forrageamento das abelhas de cinco ninhos de cada espécie por dez dias. As observações ocorreram entre 9:00 e 17:00 horas. Os resultados mostraram que os diferentes materiais de cobertura, o período de confinamento ou ainda a interação entre estas variáveis influenciaram o comportamento de forrageamento das espécies avaliadas. Para a *S. postica*, o efeito dos materiais de cobertura sobre o forrageamento teve influência do tempo de confinamento. Já *F. varia* não foi afetada pelos materiais de cobertura, tendo elevada probabilidade de forrageio em todos os tratamentos, com exceção do tratamento 5, plástico com menor transmitância de UV. De forma geral, estes resultados mostram que os materiais de cobertura usados em estufas podem afetar o sucesso de polinização por abelhas sem ferrão, e que este efeito é variável entre as espécies testadas e os materiais disponíveis atualmente no mercado.

# INFLUÊNCIA DA BAIXA INCIDÊNCIA DE LUZ ULTRAVIOLETA E ELEVADAS TEMPERATURAS NO COMPORTAMENTO DE *Frieseomelitta varia*

Lucas Borges Macedo

Davi De Lacerda Ramos

Raíssa Silva Costa

Eneas Rocha

Henrique Cardoso Da Silva

Michelle Cogitskei

Eliana M. G. Fontes

Carmen Silvia Soares Pires

Raul Alberto Laumann

Em casas-de-vegetação, algumas culturas podem se beneficiar da polinização por abelhas, para isto é necessário selecionar espécies adaptadas aos ambientes confinados com altas temperaturas. Este estudo objetivou avaliar o efeito do aumento da temperatura no comportamento da abelha sem ferrão *Frieseomelitta varia*. O comportamento desta espécie foi avaliado através de um experimento de escolha usando arenas em forma de Y, com entradas de luz somente nas extremidades dos braços, pintadas internamente de preto. As extremidades foram revestidas por materiais normalmente usados em coberturas de casas-de-vegetação: vidro, vidro com película, ou plástico. Para registrar a variação da temperatura entre os diferentes tratamentos, foram instalados dois termo higrômetros em cada um dos braços. Os tratamentos utilizados foram o vidro (controle), com maior transmitância na faixa do UV (filtra ca. 40%), o vidro com película e o plástico, que possuem baixa transmitância UV (filtram 93% e 99% respectivamente). Observou-se, independentemente, 100 abelhas no primeiro horário (7:50 às 8:40horas), 50 no segundo horário (9:00 às 10:00horas), e 50 no terceiro horário (10:00 às 11:00horas) para os diferentes tratamentos dispostos em experimentos de escolha: vidro x vidro com película (VPE), vidro x plástico (VPL) e vidro com película x plástico (PEPL). O experimento foi realizado em espaço aberto com luz natural. Uma calibração inicial era feita antes dos experimentos, observando a escolha aleatória de abelhas contendo o material controle nas extremidades. Visando garantir que as condições de luminosidade e temperatura nos dois braços fossem as mais homogêneas possíveis, reduzindo a influência de variáveis na escolha das abelhas. Os resultados mostraram que a proporção de escolha das abelhas nos três horários foi significativamente maior para o tratamento com menor filtro UV (vidro). Quanto ao experimento que pareava materiais com baixa transmitância de UV (PEPL), não foi observada preferência pelas abelhas. Aparentemente, as abelhas dessa espécie são influenciadas pela maior incidência de luz UV, não sendo afetadas pelo aumento de temperatura que ocorreu no interior das arenas.

# INFLUÊNCIA DA BAIXA INCIDÊNCIA DE LUZ ULTRAVIOLETA NO COMPORTAMENTO DE ESCOLHA DE *Scaptotrigona postica* E *Melipona quadrifasciata*

---

Henrique Cardoso Da Silva

Davi De Lacerda Ramos

Lucas Borges Macedo

Raíssa Silva Costa

Eneas Rocha

Michelle Cogitskei

Raul Alberto Laumann

Eliana M. G. Fontes

Carmen Silvia Soares Pires

O uso de abelhas sem ferrão como polinizadores de cultivos em casas de vegetação é uma alternativa promissora. Entretanto, a efetividade da polinização por estas abelhas pode ser comprometida pelas condições ambientais visto que os materiais plásticos de revestimento reduzem a luminosidade na faixa do ultravioleta (UV), utilizada na visão e orientação das abelhas. Este estudo avaliou o efeito da redução na transmitância na faixa da luz UV por diferentes materiais no comportamento de escolha de duas espécies de abelhas sem ferrão: *Scaptotrigona postica* e *Melipona quadrifasciata*. Foram utilizadas arenas de dupla escolha no formato de Y, totalmente fechadas, com entradas de luz somente nas extremidades finais dos braços e pintadas internamente de preto, a fim de limitar a reflectância da luz no aparato. Os insetos foram introduzidos individualmente por um orifício na parte superior da arena e a escolha por um dos braços era registrada por observação direta. Para cada espécie, 100 abelhas foram observadas de forma independente nas seguintes combinações de tratamentos: vidro x vidro, vidro x vidro com película (VPE), vidro x plástico (VPL) e vidro com película x plástico (PEPL). Entre os tratamentos, o vidro (controle) possui filtro de luz UV de cerca de 40%, enquanto o vidro com película e o plástico filtram 93% e 99%, respectivamente. O experimento foi realizado em espaço aberto, durante a manhã, com luz natural incidindo igualmente nas arenas. A escolha das abelhas em cada experimento foi analisada com teste qui-quadrado no programa R. A escolha das abelhas nas arenas foi significativamente maior no tratamento com maior transmitância de UV (vidro) quando contrastados com o plástico ou vidro com película, independente da espécie ( $p < 0.05$ ). Analisando os materiais com baixa transmitância (PEPL), as abelhas não mostraram preferência por nenhum dos materiais. Estes resultados indicam que a luz UV é determinante no comportamento das abelhas, sendo um importante fator ambiental a ser considerado em situações de uso e manejo em ambientes confinados.

# ÁREAS DE VEGETAÇÃO NATURAL FAVORECE A RIQUEZA DE ABELHAS EM CULTIVOS ORGÂNICOS DE TOMATE

Rafaela Mendes Assunção

Luan Santos Souza

Eneas Rocha

Pedro Henrique Brum Togni

Carmen Silvia Soares Pires

O serviço ecossistêmico de polinização favorece a produção de alimentos e contribui para a rentabilidade agrícola. Cerca de 76% das plantas cultivadas ou silvestres dependem em graus variados da polinização biótica para a produção. Em agroecossistemas, a polinização é fornecida principalmente por abelhas silvestres. Contudo, a simplificação da paisagem pode ter impactos negativos na população de abelhas porque reduz a disponibilidade de alimentos e locais para nidificação. O objetivo desse estudo foi entender como a vegetação natural, avaliada em diferentes escalas espaciais, influencia a riqueza de abelhas em cultivos de tomate orgânico. A coleta ativa de abelhas foi realizada em seis propriedades do Distrito Federal, entre os anos de 2019 e 2020, totalizando 30 horas de esforço de coleta. A composição da paisagem foi avaliada usando a porcentagem da cobertura florestal e campestre naturais do bioma cerrado em diferentes escalas espaciais (delimitando buffers de 0.5, 1, 2 e 3 km de raio ao redor dos cultivos). A cobertura florestal foi caracterizada como vegetação natural com dossel de densidade variável, distribuída sobre uma camada arbustiva-herbácea contínua. A cobertura campestre foi definida como vegetação natural com predomínio de estrato herbáceo. Para avaliar o efeito da composição da paisagem sobre a riqueza de abelhas foi realizada uma regressão linear múltipla. Foram coletados 680 indivíduos, distribuídos em nove gêneros. *Exomalopsis* (137) foi o gênero mais abundante, seguido por *Bombus* (58), *Pseudaugochlora* (25) e *Augochloropsis* (13). Independente da escala espacial, a composição da paisagem influenciou a riqueza de abelhas nas áreas produtoras de tomate ( $R^2=0.67$ ,  $p<0.001$ ). A riqueza de gêneros aumentou com a porcentagem de cobertura florestal. Por outro lado, a porcentagem de cobertura campestre não afetou a riqueza ( $p=0.487$ ). Isso demonstra que a conservação da vegetação natural pode beneficiar a produção agrícola por meio da conservação da biodiversidade de abelhas. Portanto, a conservação dos polinizadores do tomateiro orgânico pode depender de estratégias de manejo que vão além dos limites da propriedade.

# INFLUÊNCIA DO AUMENTO DA TEMPERATURA E HORÁRIO DO DIA NO FORRAGEAMENTO DE PÓLEN NAS ESPÉCIES DE ABELHA *Scaptotrigona* *postica* (Latreille, 1807) E *Frieseomelitta varia* (Lepeletier, 1836)

---

Daniel Antunes Daldegan

Davi De Lacerda Ramos

Raíssa Silva Costa

Michelle Cogitskei

Paula De Fátima Pontes Brandão

Henrique Cardoso Da Silva

Lucas Borges Macedo

Eneas Rocha

Eliana M. G. Fontes

Carmen Silvia Soares Pires

As abelhas, por sua característica heterotérmica, comum à classe Insecta, dependem de fatores ambientais favoráveis para realizar suas atividades, como o forrageio. Entender seus comportamentos diante das diferentes variáveis temporais permite a elaboração de melhores práticas de seus usos em consórcios com agricultáveis. A escolha por abelhas sem ferrão apresenta vantagem devido ao baixo risco de manejo. Este estudo avaliou a influência da temperatura local, umidade e horário do dia na atividade de forrageamento de *S. postica* e *F. varia*. As observações foram realizadas ao longo de dez dias no mês de outubro de 2020, entre os horários de 6:00 a 18:00 horas. Em cada horário de observação, seis ninhos de cada espécie foram monitorados por cinco minutos, registrando o comportamento de retorno ao ninho com pólen. Este comportamento era identificado quando era possível ver indivíduos carregando pólen em sua corbícula. Foram registrados dados de temperatura e umidade a cada meia hora por meio da instalação de datalogs nos locais onde os ninhos estão localizados. Os resultados mostraram que ambas espécies foram negativamente afetadas pelo horário de observação, apresentando uma redução do comportamento de retorno ao ninho com pólen ao longo do dia ( $p < 0.05$ ). Já a espécie *F. varia* foi também afetada positivamente pela temperatura ( $p < 0.001$ ), retornando mais vezes ao ninho com pólen em temperaturas mais elevadas (entre 22 e 27°C). De forma geral, estes resultados indicam que a atividade de forrageamento destas duas espécies de abelhas sem ferrão variam ao longo do dia, e que o fator climatológico determinante neste comportamento, no caso de *F. varia*, foi a temperatura. Futuros estudos avaliando a influência de seu uso na produção agrícola são necessários.

# COMPORTAMENTO DA ABELHA *Melipona quadrifasciata* LEPELETIER, 1836 (MANDAÇAIA) EM ARENAS EXPERIMENTAIS COM DIFERENTES MATERIAIS DE COBERTURA

Rafaela Pontes Brandão

Davi De Lacerda Ramos

Darah Duarte Lima

Luan Santos Souza

Raíssa Silva Costa

Carmen Silvia Soares Pires

Eliana M. G. Fontes

As abelhas sociais são as mais conhecidas e estudadas, pois, são muito utilizadas comercialmente. Avaliamos o comportamento diário das abelhas mandaçaia, confinadas em arenas. O objetivo foi avaliar como diferentes materiais usados comercialmente em casas de vegetação influenciam o comportamento de voo e forrageamento dessa espécie. O experimento foi realizado na Embrapa Recursos Genético e Biotecnologia – DF, no período de 25/03/2019 a 28/01/2020. As atividades diárias das abelhas foram registradas entre 9h e 16h, durante 10 dias, com cinco repetições. Avaliamos cinco comportamentos: entrando no ninho; saindo do ninho; abelha na flor; coletando recurso e entrando após forrageamento. O registro foi qualitativo: ausência (0) ou presença (1) de pelo menos um indivíduo executando o comportamento, sendo, ao final, dado uma nota que variou de 0 (mínimo) e 18 (máximo). Diariamente, era registrada a quantidade de mortos. Utilizamos arenas de 5,3 m<sup>3</sup> (2,40m de comprimento X 1,20m de largura X 1,89m de altura) confeccionadas em ferro e madeira, desmontáveis. Cinco materiais foram avaliados: vidro 4mm (T1, controle), plástico 0.15 HK difusor de luz (T2), Agrolord ultra transparente (T3), transparente FES (T4), Suncover Av blue (T5), todos com diferentes transmitâncias na faixa do ultravioleta (320-400nm): 90-92%; 24,8-65%; 40,3-49%; 45-58% e <10%, respectivamente. Os dados meteorológicos (temperatura e umidade) e irradiância na faixa do ultravioleta foram registrados com um termohigrômetro (Hobo Pro<sup>®</sup> v2) e Radiômetro (L.N.Emv/cm<sup>2</sup>). Foram instalados aparelhos de ar condicionado nas arenas. A radiação ultravioleta no interior das arenas não variou significativamente entre os tratamentos, com exceção do tratamento T5, que teve as menores medidas de UV: 0,010±0,006 mv/cm<sup>2</sup>. Analisou-se o total de comportamentos entre cada intervalo observado. Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos (Anova: p=0,912.). Não houve diferenças significativas entre as mortalidades (Anova: p=0,263). Os resultados sugerem que a irradiância de luz na faixa do UV dos diferentes materiais de cobertura testados não foi um fator limitante para o desempenho dos comportamentos de voo e forrageamento.

# ESTUDO DE ECOLOGIA QUÍMICA DE *Sternochetus mangiferae* – RESPOSTAS DE FÊMEAS EM OLFATOMETRIA DE DUPLA ESCOLHA PARA EXTRATO DE AERAÇÃO CONTENDO VOLÁTEIS DOS MACHOS COESPECÍFICOS

Vitória Soares De Souza Costa

Maria Carolina Blassioli Moraes

Raul Alberto Laumann

Mirian Fernandes Furtado Michereff

Miguel Borges

Paula Almeida Silva

Michely Aquino

*Sternochetus mangiferae* (Coleoptera: Curculionidae) é uma das principais pragas da cultura da mangueira, presente em pomares de diversos países, e recentemente foi relatada no Brasil, no estado do Rio de Janeiro (Silva e Ricalde, 2017). Ainda não existem métodos eficientes para o monitoramento e controle desta praga. Atualmente o que se recomenda são a limpeza dos pomares e o uso de agrotóxicos. Alguns inseticidas como o carbaril (0,1 ou 0,2%) com número de registro 158603, apresentam boa eficiência no controle. O uso de semioquímicos pode ser uma ferramenta viável ao manejo de *S. mangiferae* nos pomares do país. O objetivo deste trabalho é verificar se *S. mangiferae* produz feromônio sexual, e se este tem potencial para ser aplicado no monitoramento ou controle da espécie. Foram conduzidas a coleta de voláteis usando a técnica de aeração de vinte machos (n=12) ou 20 fêmeas (n=12). Para avaliar se nos extratos de aeração poderia ter algum composto com atividade para os insetos, estes foram utilizados em bioensaios comportamentais de olfatometria de dupla escolha. Os extratos de aeração foram concentrados para que cada 10 dos mesmos correspondessem a um (1) indivíduo equivalente. A resposta em olfatometria de dupla escolha de 30 fêmeas de *S. Mangifeare* foi avaliada a dois conjuntos de extratos diferentes, contendo compostos produzidos pelos machos em diferentes períodos (julho a setembro de 2020, e outubro e novembro de 2020). O primeiro conjunto de extrato testado os resultados obtidos até o momento não mostraram respostas das fêmeas ( $X^2=0.07$ ,  $df=1$ ,  $p=.0.781$ ). Estudos estão sendo conduzidos com o segundo conjunto de extrato, além de extratos de areação com odores de frutos e inflorescência.

# COLEÇÃO ENTOMOLÓGICA DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA: SITUAÇÃO ATUAL DO ACERVO EM 2020

Paula De Fátima Pontes Brandão

Carmem Silva Soares Pires

Eliana Maria Gouveia Fontes

Daniel Daldegan

Os insetos são animais fundamentais para a manutenção dos ecossistemas, são responsáveis por serviços ecológicos imprescindíveis para o equilíbrio do ambiente como a polinização e controle biológico. Dada a enorme abundância e riqueza da classe Insecta é fundamental o trabalho de sistematização e organização do grupo. A identificação dos espécimes nas coleções deve seguir certas regras e devem conter as seguintes informações taxonômicas: Ordem, Família, Gênero e Espécie, além das informações sobre local de coleta, data e nome do coletor, portanto a coleção entomológica localizada no Laboratório de Ecologia e Biossegurança (LEB) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia está sendo preparada para atender todos os requisitos de uma coleção entomológica. Essa coleção, possui inúmeras ordens da classe Insecta, provenientes de projetos importantes como exemplo o projeto Rede de Pesquisa sobre Polinizadores dos Algodoeiros no Brasil. A coleção entomológica abriga um acervo de 17 ordens de insetos, totalizando 30.400 indivíduos em via seca, sendo elas; *Blattodea*, *Collembola*, *Coleoptera*, *Dermatoptera*, *Diptera*, *Hymenoptera*, *Hemiptera*, *Lepdoptera*, *Mantodea*, *Megaloptera*, *Neuroptera*, *Odonatha*, *Orthoptera*, *Plecoptera*, *Pscoptera*, *Thysanoptera*, *Trichoptera*, com destaque em *Hymenoptera* que apresenta a maior quantidade de indivíduos, em sua maioria, das famílias Apidae e Formicidae constando 19.629 indivíduos. Os exemplares são identificados ao menor nível taxonômico. As abelhas (família Apidae), formam o grupo que está melhor representado dentre as ordens existentes na coleção, com 10.523 espécimes pertencentes a 52 gêneros e 95 espécies diferentes. Em 2020, apesar das restrições devido à pandemia do Covid19, coletas estão sendo realizadas e estimamos que a coleção de abelhas será enriquecida. Grande parte do material depositado na coleção do LEB foi coletada no Distrito Federal e em núcleos rurais do entorno, podendo ser considerada uma coleção representativa da diversidade de insetos do Cerrado local, com um acervo da fauna de abelhas polinizadoras que possuem extrema importância econômica e social; possui também uma diversidade de fitófagos comumente encontrados nas culturas agrícolas, sendo, de importância agrícola no controle biológico de pragas.

# AVALIAÇÃO DA ADAPTAÇÃO DA *Melipona quadrifasciata* LEPELETIER, 1836 À POLINIZAÇÃO DE TOMATEIRO EM CASA DE VEGETAÇÃO

---

Darah Duarte Lima

Davi De Lacerda Ramos

Rafaela Pontes Brandão

Raíssa Silva Costa

Eliana M. G. Fontes

Carmen Silvia Soares Pires

As abelhas sem ferrão são abundantes no Brasil e polinizam diversas flores. No tomateiro, essas abelhas promovem a polinização através da vibração das anteras da flor. *Melipona quadrifasciata* (Mandaçaia) é um exemplo de abelha que tem a capacidade de polinizar tomate com êxito. Sabendo disso, o intuito deste trabalho foi avaliar o comportamento de forrageio e adaptação da mandaçaia em casa de vegetação sob diferentes cultivos de tomate. As observações ocorreram em agosto de 2019 em uma casa de vegetação na fazenda Malunga, DF. Dois ninhos saudáveis foram selecionados para as observações. Os comportamentos avaliados foram saída e entrada no ninho, retorno ao ninho com pólen, visita às flores de tomate e número de abelhas mortas. Essas observações duraram 8 dias e foram feitas de 09:00 às 17:00 horas. As variedades de tomate avaliadas foram a italiano e a sweet grape. Como resultados, verificou-se que a atividade de saída e entrada dos ninhos foi observada desde o primeiro dia de observação. A visitação às flores, contudo, só foi registrada a partir do terceiro dia, embora tenha se tornado mais frequente no quinto dia. O comportamento de retorno com pólen iniciou a partir do sexto dia e foi mais frequente (77%) quando comparado ao retorno do ninho sem pólen. Ambas as variedades foram visitadas e tiveram pólen coletado. Os comportamentos de saída e entrada no ninho e visita às flores foram mais frequentes das 09:00 às 10:00 horas. Não foi encontrada nenhuma abelha morta durante as observações. Ao analisar os resultados, é possível inferir que a mandaçaia se adaptou ao ambiente confinado ao longo dos dias, podendo ser uma potencial polinizadora para as variedades de tomate sweet grape e italiano em cultivos feitos em casas de vegetação, visto que foi observado que elas visitaram e coletaram pólen das flores dos tomateiros.

# ANÁLISE DOS PERFIS PROTEICOS DO BICHO-MINEIRO DO CAFEEIRO (*Leucoptera coffeella*)

Pollyana Da Nóbrega Mendes

Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire

Natalia Florêncio Martins

Angela Mehta

O Brasil é o principal produtor e exportador de café no mundo. Por sua grande importância econômica o estudo e o combate às pragas que afetam esta cultura são muito relevantes. Uma das principais pragas do café é o bicho-mineiro do cafeeiro (BMC) *Leucoptera coffeella*. A fêmea deste inseto deposita seus ovos exclusivamente nas folhas de café, onde as larvas eclodem e se alimentam. O dano causado reduz a superfície fotossintética e desfolha, o que reduz a produtividade do cafeeiro em até 70% na produção, ou mesmo a morte da planta se a infestação não for controlada. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo a identificação de proteínas nos diferentes estágios de desenvolvimento da larva, visando identificar alvos de inibidores químicos para o desenvolvimento de ativos biotecnológicos no controle do BMC. Foram coletados indivíduos em diferentes fases de desenvolvimento do inseto (L1, L2, L3, L4, Pupa e Adulto). Com auxílio de pinças e lupa, os insetos foram transferidos para tubos de microcentrífuga imediatamente congelados em nitrogênio líquido e posteriormente armazenados à -80°C. Amostras contendo aproximadamente 0,1 g de material foram maceradas e extraídas com fenol. As proteínas foram precipitadas em acetato de amônio 0.1 M em metanol e lavadas com acetona 80%. Os pellets foram armazenados a -20°C. Quatro amostras foram analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamida para verificar o perfil das proteínas nos estágios L1, L2, Pupa e adulto. Os resultados revelaram proteínas diferencialmente abundantes em cada estágio. As amostras serão em seguida analisadas por espectrometria de massa para a identificação das proteínas. As proteínas selecionadas serão utilizadas em estratégias moleculares de controle específico da praga.

Apoio: Embrapa, Embrapa Café, FUNAPE



||| Vertente

Vegetal

# PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO EXTRATO AQUOSO DE *Araucaria angustifolia*

Lucio De Assis Araujo Neto

Luciano Paulino Da Silva

A síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando extratos aquosos de plantas é denominada de rota de síntese verde. Essa tecnologia possui diversas aplicações na agronomia, biomedicina e, ao mesmo tempo, empregando abordagens sustentáveis. As gimnospermas ainda não apresentam grande presença dentre os acessos botânicos utilizados para tal finalidade. Portanto, o objetivo deste trabalho foi utilizar o extrato aquoso das folhas de *Araucaria angustifolia* para sintetizar AgNPs. As folhas de araucária foram coletadas no Jardim Botânico de Curitiba e liofilizadas, durante dois dias, na Central Analítica da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Para o preparo do extrato aquoso, estas foram pesadas e, posteriormente, colocadas em água ultrapura, em ebulição por 2 minutos. Prontamente, a solução foi filtrada com papel filtro e utilizada como agente redutor dos íons prata. Uma solução de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) de 1 mM foi preparada e o extrato com concentrações de 0,25; 0,5 e 1 mg/mL foi adicionado a este. Posteriormente, as soluções foram incubadas em banho-maria a, 75°C e à temperatura ambiente, visando à produção de AgNPs. Concomitantemente, foram realizadas inspeções em espectrofotômetro UV-Vis, em 450 nm, em intervalos de 30 min, durante 2,5 h, para observar a formação de AgNPs. O tamanho, homogeneidade e carga superficial das AgNPs foram caracterizadas pelas técnicas de espectroscopia de fotocorrelação e de mobilidade eletroforética. A formação das AgNPs ocorreu em todas as concentrações, exceto em 0,25 mg/mL à temperatura ambiente. O tamanho das AgNPs ficou entre 10 e 100 nm para aquelas sintetizadas a 75°C, e de 50 a 200 nm para aquelas à temperatura ambiente. Todas as amostras apresentaram polidispersividade considerada moderada e potencial Zeta indicando instabilidade incipiente. Com isso, a utilização de extrato aquoso de araucária se torna uma alternativa para a síntese por rota verde de AgNPs. Ainda há a necessidade de investigar o potencial redutor de íons prata desse extrato em outras temperaturas, bem como analisar a potencial ação antimicrobiana das AgNPs produzidas.

# FLUXOGRAMAS REGULATÓRIOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE NANOPRODUTOS PARA USO HUMANO E AGRÍCOLA

---

Andressa Rodrigues Vargas Da Silva

Nathália Cristinah Lima Evangelista

Luciano Paulino Da Silva

O uso de nanotecnologia é cada vez mais comum no desenvolvimento de novos produtos, buscando um aumento em sua eficiência, segurança e competitividade. Embora o marco regulatório já tenha sido aprovado pela Comissão de Constituição e Justiça (CCJ), ainda não há uma legislação vigente para produtos nanotecnológicos. Mesmo sem uma norma específica, esses produtos já são comercializados normalmente, seguindo as normas gerais de produtos similares. O objetivo desse estudo foi elaborar fluxogramas descritivos sobre os aspectos regulatórios de produtos nanotecnológicos de uso humano, veterinário e agrícola, com base nas legislações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Foi utilizada a ferramenta de busca do Google para a realização das pesquisas, utilizando as palavras-chave: “Instrução Normativa”, “Portaria”, “Resolução da Diretoria Colegiada” ou “Lei” seguido pelo nome do produto de interesse (i.e., vacina) e da agência reguladora (ANVISA ou MAPA). Assim foram criados fluxogramas regulatórios sobre os seguintes produtos: nanofertilizantes, nanoingredientes de alimentos, embalagem ativa com nanocomponentes, nanorração, nanossuplemento, nanoformulação à base de extrato vegetal, kit para diagnóstico baseado em nanocomponentes, implantes à base de biofabricados 3D e curativos oclusivos com nanomateriais. Os resultados obtidos foram agrupados com aqueles desenvolvidos em outros plano de atividades para permitir o desenvolvimento de um guia que leva em consideração exigências técnicas presentes na legislação brasileira para cada tipo de produto, mesmo que não diretamente relacionadas ao uso de nanotecnologia, visto que o Marco Legal da Nanotecnologia atualmente está em tramitação na Comissão de Ciência e Tecnologia e com ele podem haver exigências adicionais, sobretudo no quesito nanosseguurança. Neste cenário, foi preciso buscar na legislação normas generalizadas para cada categoria, que tornassem possível a inclusão e caracterização de produtos nanotecnológicos que se mostraram adequadas para esta finalidade.

# NANOSSISTEMAS PARA ENTREGA DE BIOATIVOS VISANDO AO CONTROLE DE PRAGAS DA CULTURA CAFEIEIRA

---

Júlia Moreira Pupe

Luciano Paulino Da Silva

O uso de nanotecnologias verdes na agricultura para o controle de pragas de plantas é uma abordagem sustentável que está em consonância com diversos “Objetivos do Desenvolvimento Sustentável”. Diferentes nanomateriais podem ser utilizados como nanopesticidas com potencial de controle pragas que prejudicam a cultura cafeeira, como o bicho mineiro (*Leucoptera coffeella*). Logo, o objetivo deste trabalho, ainda em fase de levantamento bibliográfico, é elaborar protocolos otimizados para produção de nanossistemas, por abordagens ecoamigáveis, que sejam seguros e eficazes para entrega de bioativos para controlar *L. coffeella*. Primeiramente, realizou-se uma revisão de literatura relacionada à aplicação de nanotecnologia na agricultura. Em seguida, propõem-se protocolos para a produção de nanopartículas biopoliméricas (NPBPs), nanoemulsões (NEs), nanopartículas metálicas (NPMs) e carbon-dots (CDs). A revisão de literatura, baseada em 150 artigos revelou aplicações de nanossistemas na agricultura como pesticidas, fertilizantes e sensores; mas inédita em relação à cultura cafeeira. Com essas informações, os protocolos de produção de NPBPs, NEs, NPMs e CDs foram elaborados e compilados em uma base de informações. NPBPs serão sintetizadas a partir do método de gelificação iônica utilizando quitosana e extratos vegetais e/ou óleos essenciais com propriedades biocidas. As NEs serão sintetizadas por emulsificação com óleos essenciais com atividade inseticida. As NPMs serão produzidas por redução de prata iônica utilizando nitrato de prata e quitosana. Os CDs serão produzidos por carbonização hidrotermal de quitosana. Posteriormente, os nanomateriais produzidos serão caracterizados quanto aos diâmetros hidrodinâmicos e potenciais Zeta de superfície por espalhamento de luz dinâmico e mobilidade eletroforética, respectivamente. Essas caracterizações são fundamentais para seleção daqueles mais adequados para superar a barreira biológica (lâmina foliar) relacionada ao controle dessa praga. Além disso, planejamentos fatoriais serão utilizados para auxiliar na otimização da produção de nanomateriais em escala laboratorial com as características físicoquímicas mais adequadas à aplicação. Dessa forma, espera-se alcançar a produção simples e sustentável de nanossistemas ecoamigáveis que apresentem alto potencial inseticida contra *L. coffeella*.

# EXTRAÇÃO VERDE DE BIOPIGMENTOS DE RESÍDUOS VEGETAIS E SUAS APLICAÇÕES NO DESENVOLVIMENTO DE INSUMOS ALIMENTARES

---

Victoria Baggi De Mendonça Lauria

Luciano Paulino Da Silva

A aceitação de um alimento pelo ser humano está diretamente relacionada à sua cor, em virtude de esta ser o primeiro atributo sensorial posto em julgamento. Por essa razão, a indústria alimentícia faz uso crescente de corantes artificiais em seus produtos. Todavia, devido às mudanças recentes nos hábitos alimentares da população, bem como sua maior conscientização em relação aos malefícios que tais compostos podem causar à saúde, pesquisas para a extração e utilização de pigmentos naturais estão sendo desenvolvidas. Nesse contexto, o emprego de resíduos alimentares mostra-se promissor, pois são recursos comumente desprezados e encontram-se em abundância. Dessa forma, o presente projeto visa extrair, eco amigavelmente, biopigmentos a partir de resíduos vegetais, avaliando-os quanto à aplicabilidade para a produção de insumos alimentares. Foram realizadas extrações considerando as variáveis: tipo de solvente extrator (água ultrapura, etanol 25% e 96%); e concentração de biomassa do resíduo (g) por volume de solvente (mL). Cascas de abóbora cabotiá, abóbora moranga, batata-doce, beterraba, cenoura e chuchu, bem como folhas externas de repolho roxo e talos de couve foram os resíduos selecionados para tal estudo. As características colorimétricas dos extratos obtidos foram determinadas mediante análise no software ImageJ. Folhas externas de repolho roxo e cascas de abóbora moranga, abóbora cabotiá e beterraba foram os melhores resíduos para a obtenção de biopigmentos atrativos, utilizando o método extrativo proposto. O solvente etanol 96% foi o mais adequado para a extração de biopigmentos verde e amarelo, oriundos das cascas de abóboras cabotiá e moranga, respectivamente. Já o etanol 25% e a água ultrapura foram os melhores solventes para a extração dos biopigmentos violeta e vermelho, oriundos das folhas de repolho roxo e cascas de beterraba, respectivamente. Por fim, a concentração de massa do resíduo foi diretamente proporcional à intensidade da cor dos biopigmentos. A partir desses resultados, um questionário será aplicado junto à população para avaliar a aceitação/preferência dos biopigmentos. Ademais, esferas alimentares com novas propriedades organolépticas serão produzidas.

# SÍNTESE VERDE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA IN VITRO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS PROVENIENTES DE BANCOS ATIVOS DE GERMOPLASMA

Bruna Teixeira Da Costa Barreto

Luciano Paulino Da Silva

As síntese de nanopartículas (NPs) envolve aplicações em diversas áreas, desde agricultura à medicina, sendo realizada com vários materiais, incluindo íons metálicos como a prata (Ag). Alternativamente às rotas químicas e físicas convencionais, é possível obter nanopartículas de prata (AgNPs) através de rotas de síntese verde (biológica), nas quais a produção dessas NPs se dá utilizando-se plantas, microrganismos, fungos ou algas. As AgNPs são atrativas tecnologicamente devido à atividade antibacteriana inerente a esses nanomateriais, visto que a prata possui ação inibitória sobre diversos microrganismos e a síntese verde possibilita o uso sustentável de recursos biológicos, além de permitir a produção de grandes volumes de produto com estruturas mais homogêneas. Portanto, no presente projeto serão sintetizadas AgNPs utilizando extratos aquosos de plântulas e suas atividades antibacterianas in vitro serão avaliadas. Serão empregados pelo menos 500 acessos de espécies disponíveis nos bancos ativos de germoplasma (BAGs) vegetal de caupi, arroz, cucurbitáceas e cebola da Embrapa. Extratos aquosos obtidos de plântulas oriundas de testes de germinação de sementes reagirão com solução de AgNO<sub>3</sub> para formar AgNPs. Extratos produzidos também serão analisados quanto ao perfil fitoquímico por testes qualitativos em relação à presença de taninos, saponinas, flavonoides, antraquinonas e antocianos. Para caracterização das AgNPs produzidas, será empregado espalhamento de luz dinâmico (DLS) para determinação do diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersividade (PDI) das amostras. Serão realizadas análises de mobilidade eletroforética para medir o potencial Zeta das AgNPs e leitura em espectrofotômetro para obter-se as curvas de máxima absorvância. Por fim, para verificação de possível ação antimicrobiana das AgNPs, serão realizados testes de concentração inibitória mínima (CIM), que será considerada a menor concentração em que não houver crescimento bacteriano visível. Para isso, serão utilizadas bactérias Gram negativa *Escherichia coli* e Gram positiva *Staphylococcus aureus* e serão realizados ensaios com controle de antibiótico. Assim, espera-se que, com uma mesma rota de síntese, as propriedades fisicoquímicas e atividades antibacterianas das AgNPs possam ser moduladas variando acessos de uma mesma espécie vegetal.

# PRODUÇÃO DE LIPOSSOMAS À BASE DE PLANTAS MEDICINAIS

---

Tatiane De Melo Pereira

Cíntia Caetano Bonatto

Luciano Paulino Silva

Lipossomas são vesículas concêntricas que têm característica anfipática. Existem várias metodologias que demonstram a produção de lipossomas, mas nenhuma utilizando 100% de fonte vegetal. Dessa forma, esse trabalho visa produzir lipossomas utilizando apenas de plantas medicinais. Para isso, foram verificadas na literatura algumas metodologias de síntese de lipossomas e escolhida aquela que mais se adequaria ao uso no laboratório. O processo escolhido foi adaptado a partir da patente WO2016119030A1. Aplicando a mesma metodologia originalmente empregada em material de origem animal, em fontes vegetais, não se conseguiu a formação de nanoestruturas. Verificou-se que na mesma camada de extração dos fosfolipídios estava se extraíndo a clorofila, assim antes de iniciar a metodologia escolhida, as folhas passavam por um pré-tratamento com um solvente por 48 h. A quantificação de clorofila total extraída de cada espécie foi realizada por leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 645 nm e 633 nm, em 11 intervalos de tempo diferentes. Após esse tratamento foram realizadas extrações dos fosfolipídios e produção de lipossomas, que continham água (vazio) ou extrato. As nanoestruturas foram caracterizadas quanto ao diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (Pdl) e potencial Zeta (PZ). A menor concentração de clorofila total extraída foi de 81,04 g/L e a maior foi de 375,30 g/L. Lipossomas suspensos em água apresentaram DH abaixo de 100 nm e as estruturas continham extratos variaram de tamanhos nanométricos ( $11,8 \pm 2,66$  nm) a submicrométricos ( $576,00 \pm 52,68$  nm). Os Pdl dos lipossomas em água foram menores do que quando formados com extratos, mas em alguns casos sem diferença significativa ( $P < 0,05$ ). Avaliando o PZ, foi possível notar que maioria das nanoestruturas apresentou um PZ maior em módulo quando formados com extratos. Essas avaliações de DH, Pdl e PZ demonstram a viabilidade em produzir lipossomas a partir de fontes 100% vegetais, desde que haja um pré-tratamento para extração de pigmentos, e que o uso desses extratos tornou essas nanoestruturas em geral mais estáveis coloidalmente.

# DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM PLANTAS DE ALGODÃO SUBMETIDAS À HERBIVORIA

---

Juliana Katalinic Said Dutra

Gabriella Magarelli

Rafaela Gonçalves Da Silva

Bruna Mendes Diniz Tripode

Lúcia Vieira Hoffmann

Clarissa Silva Pires De Castro

Oriundos do metabolismo secundário das plantas, os compostos fenólicos constitutivos ou induzidos por herbívoros são fundamentais para o sistema de defesa das plantas. O objetivo do trabalho foi determinar a concentração de compostos fenólicos totais nas variedades de algodão, *Gossypium hirsutum* (BRS 372) e *Gossypium barbadense* (AMZ), submetidas e não submetidas ao ataque da lagarta *Spodoptera cosmioides* W. (*Lepidoptera*: Noctuidae) utilizando a Voltametria e o eletrodo de carbono vítreo. Para cada variedade foram analisadas 14 amostras de folhas de 7 plantas controle e 14 amostras de folhas de 7 plantas infestadas com lagartas após 60 dias do plantio, sendo realizada a coleta das folhas infestadas após 1 dia (F1) e após 3 dias (F2) de infestação. Preparou-se os extratos das folhas por extração metanoica (50%) de 0,1 g das folhas liofilizadas e colocadas em ultrassom por 20 min. As amostras foram analisadas em tampão fosfato pH 3,0 e usou-se o ácido 3,4-dihidroxibenzóico como padrão de quantificação. Após análise estatística dos dados (teste de Shapiro Wilk e Tukey ( $\alpha = 0,05$ ), verificou-se que a variedade BRS 372 não infestada (F1) ( $2,72 \pm 0,85$  mg.g<sup>-1</sup>) apresentou média de concentração de compostos fenólicos totais constitutivos estatisticamente maior que a variedade AMZ não infestada (F1) ( $0,962 \pm 0,533$  mg.g<sup>-1</sup>). Para a variedade AMZ (F1 e F2), não houve diferença estatística entre as médias de concentrações de compostos fenólicos nas folhas infestadas e não infestadas. Para a variedade BRS 372, a concentração de compostos fenólicos totais nas folhas não infestadas (F1) foi estatisticamente maior do que nas folhas infestadas (F1 e F2). Como conclusão pode-se dizer que a Voltametria se mostrou eficiente para a análise de compostos fenólicos totais em algodão. A variedade BRS 372 apresentou maior concentração de compostos fenólicos totais constitutivos, sugerindo características mais promissoras em resposta a infestação de pragas. Para ambas as variedades estudadas não foi observado efeito de indução de compostos fenólicos após ataque da lagarta.

Apoio: Embrapa e UnB

# DESENVOLVIMENTO DE VARIEDADE BRASILEIRA DE ALGODÃO GM PARA RESISTÊNCIA AO ATAQUE DO BICUDO DO ALGODOEIRO

---

Glênia Nunes De Mello

Thuanne Pires Ribeiro

Marcos Fernando Basso

Maria Fátima Grossi De Sá

A cultura do algodão (*Gossypium hirsutum* L.) está presente em todas as regiões brasileiras, sendo considerada uma das culturas anuais de maior importância em diversos países. Um dos principais desafios da produção de algodão é o ataque de insetos praga, dentre eles, o da ordem Coleóptera, *Anthonomus grandis*, conhecido como bicudo-do-algodoeiro. Uma importante ferramenta para diminuição do uso inseticidas é a utilização da biotecnologia através da adoção de plantas geneticamente modificadas. Este trabalho tem como objetivo obter plantas de algodão geneticamente modificadas que possuam resistência ao bicudo do algodoeiro. Plantas de algodão do cultivar BRS 372 foram transformadas utilizando um cassete de transformação contendo os gene cry10Aa e dsRNA sob o controle do promotor tecido específico FS1. Foram bombardeados 4.800 embriões e destes obtidos 128 plantas PCR positivos e posterior análise da expressão da proteína por ELISA. As plântulas foram então aclimatadas em sacos com vermiculita e mantidas em casa de vegetação. As análises de expressão de proteína realizadas em botões florais demonstraram variação nos níveis de expressão da toxina Cry10Aa entre 5,0 e 16,0 µg/g, sendo assim, os indivíduos que apresentaram expressão acima de 14 µg/g foram transferidos para bioensaio, no qual realizou-se a soltura de fêmeas já fertilizadas. Foi observada a oviposição nos botões florais e as taxas de emergência, sendo que a taxa de não emergência apresentou variação entre 50 e 60% nos diferentes eventos de transformação na geração T1. Os resultados obtidos a partir das plantas de algodão GM representam uma promissora alternativa para o combate a essa praga que afeta a cultura do algodoeiro.

# IDENTIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DE GENES DE SUSCETIBILIDADE À BRUSONE EM ARROZ (*Oryza sativa* L.) UTILIZANDO TIGS E CRISPR/CAS9

---

Fabiano Touzdjian Pinheiro Kohlrausch Távora

Osmundo Brilhante De Oliveira Neto

Raquel Mello

Mariana Castro

Marcelo Valle De Sousa

Wagner Fontes

Octavio Luiz Franco

Angela Mehta

Rosangela Bevitori

Christophe Périn

Anne-Cecile Meunier

Aurore Vernet

O arroz (*Oryza sativa* L.) está entre as culturas alimentares mais importantes em todo o mundo e constitui a principal fonte de calorias diárias para metade da população mundial. No entanto, um dos estresses bióticos que mais afetam a expansão da produção dessa cultura é a infecção por *Pyricularia oryzae* (anamorfo *Magnaporthe oryzae*), um fungo hemibiotrófico responsável pela doença brusone do arroz. O método atualmente mais empregado no controle da brusone é o uso de variedades resistentes que abrigam um ou vários genes de resistência. No entanto, a resistência mediada por genes-R conseguida através de um processo longo e laborioso via melhoramento genético convencional, é frequentemente quebrada poucos anos após seu uso comercial, devido, em parte, ao alto grau de variabilidade genética do fungo *M. oryzae*. Com o objetivo de identificar e validar fatores associados à suscetibilidade do arroz, os quais representam uma fonte relevante e alternativa para uma resistência mais resoluta à brusone, realizamos inicialmente uma análise proteômica comparativa entre duas linhagens semi-isogênicas de arroz, apresentando fenótipos resistente e suscetível durante interação com o fungo *M. oryzae*. Os perfis do proteoma foram notavelmente diferentes durante a fase inicial da infecção (12 horas pós-inoculação), revelando um conjunto proeminente de proteínas diferencialmente aumentadas na interação compatível. Em seguida, potenciais candidatos tiveram sua expressão gênica avaliada via qPCR e seus papéis no desencadeamento da suscetibilidade à brusone foi validado funcionalmente com o emprego da tecnologia antissenso para silenciamento gênico in planta (do inglês, Transient-Induced Gene Silencing - TIGS), o qual resultou em notável redução dos sintomas foliares da doença na interação compatível quando comparado ao grupo controle. Por fim, esses genes foram nocauteados via CRISPR/Cas9. Os resultados obtidos abrem caminho para a obtenção de cultivares de arroz com resistência mais ampla e duradoura à brusone.

# LOCALIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE MARCADORES CROMOSSOMO-ESPECÍFICOS EM GENÓTIPOS DE *Arachis*

Eliza Bellard Do Nascimento

Patricia Messenberg Guimarães

Ana Cristina M. Brasileiro

Ana Mota

Ana Claudia Guerra De Araujo

A identificação de marcadores cromossomo-específicos ainda é um grande desafio para a genômica estrutural de espécies do gênero *Arachis*. A citogenômica permite mapear sequências gênicas em cromossomos, mesmo quando em cópia-única, utilizando a técnica de hibridização in situ por fluorescência (FISH). Genes identificados a partir da análise do transcrito de espécies silvestres de *Arachis* submetidas a diferentes estresses, biótico e abiótico foram explorados para o mapeamento citogenético. Entre eles está o gene que codifica uma Expansina-like B de *A. duranensis* (AdEXLB8) relacionada à resposta a múltiplos estresses; genes do tipo NRL, associados à resistência ao nematoides das galhas em *A. stenosperma* e *A. duranensis*, e um gene de interesse (GI) pertencente à família das Estilbenos Sintases de *A. duranensis*, envolvido na defesa de plantas. Um segmento genômico de 7.559 pb contendo a sequência gênica AdEXLB8 (1.585 pb) e as sequências codantes dos genes NRL e GI, isoladas e clonadas em vetores binários, foram utilizadas como sondas para as hibridizações nos genótipos de *Arachis*. As análises confirmaram as localizações previstas in silico para as sequências selecionadas. O segmento genômico contendo a sequência de AdEXLB8 foi detectado em um único sítio, nos cromossomos A5 de *A. duranensis*, *A. stenosperma*, *A. hypogaea* e do alotetraploide induzido, IpaDur2. Um único sítio de hibridização também foi observado em B5 de *A. ipaënsis*, porém não detectado em B5 de *A. hypogaea* e IpaDur2. As sondas referentes aos genes NRLs e GI, hibridizadas apenas em *A. duranensis*, apresentaram sítios nos cromossomos A1, A6 e A4, onde eram previstas a localização de sequências repetitivas das respectivas famílias gênicas. A ausência de hibridização da sonda AdEXLB8 nos cromossomos B5 dos alotetraploides sugere a reorganização estrutural desse segmento genômico após a alotetraploidização, impedindo a detecção in situ. Esses resultados enriquecem de forma inédita os cariótipos de *Arachis*, principalmente de espécies com genoma/subgenoma A, com o estabelecimento de marcadores cromossomo-específicos de origem gênica, fortalecendo o curso da citogenômica em *Arachis*.

# EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE GENES ENVOLVIDOS NA SUSCETIBILIDADE DE *Brassica oleracea* var. *capitata* À *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

---

Eduardo Andrade Franco Severo

Ivonaldo Reis Santos

Cristiane Dos Santos

Angela Mehta

As brássicas compreendem culturas de grande importância econômica, sendo o repolho (*Brassica oleracea*) uma das mais importantes no mercado de hortaliças. A cultura do repolho é rentável e mostra-se como uma excelente opção para a obtenção de lucro em curto prazo. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc), responsável pela doença da podridão negra, afeta todas as crucíferas cultivadas para alimentação, especiarias e usadas como plantas ornamentais, causando grandes prejuízos na qualidade e produção. As formas de controle da podridão negra mais comuns são o uso de sementes saudáveis, controle biológico, rotatividade de cultura e principalmente o uso de plantas resistentes, que tem se mostrado a forma de controle mais eficiente. Entretanto, as fontes de indução de resistência disponíveis são bastante limitadas. Nesse contexto, este trabalho tem por objetivo avaliar a expressão de genes envolvidos na suscetibilidade de brássica a *X. campestris* e selecionar possíveis candidatos a silenciamento gênico utilizando a estratégia ASO (oligonucleotídeo antissenso). Para este estudo 20 candidatos a genes de suscetibilidade em brássica foram selecionados a partir de uma extensiva busca na literatura. A partir disso, plantas de *Brassica oleracea* var. *capitata*, suscetível à Xcc, foram cultivadas em casa de vegetação e aos 45 dias foram inoculadas com Xcc ou com solução salina (condição controle). Posteriormente, as folhas foram coletadas 24 horas após a inoculação e submetidas a extração de RNA total para a análise relativa da expressão gênica por qRT-PCR. A partir desse estudo, espera-se obter uma melhor compreensão acerca da expressão dos genes envolvidos na suscetibilidade em *B. oleracea*, necessária para a realização do silenciamento gênico por meio de ASO.

# DESENVOLVIMENTO DE NANOSISTEMAS DE LIBERAÇÃO MODULADA POR BIOIMPRESSÃO PARA USO TÓPICO

Karoline De Britto Rocildes Abreu

Luciano Paulino Silva

A incansável busca por novas tecnologias na indústria farmacêutica estimula o desafio de tornar a inovação cada vez mais acessível e com eficácia suficiente para que substitua as precedentes. A crescente demanda por tratamentos personalizados e baseados na necessidade de cada ser vivo culminou em diversas descobertas para o mercado farmacêutico, e uma das que tem tido maior destaque nos últimos anos é a aplicação das técnicas de manufatura aditiva, em particular a impressão tridimensional (3D). Tendo em vista essa temática, o presente estudo tem como objetivo desenvolver sistemas de liberação sustentada de princípios ativos para aplicações tópicas pela síntese e caracterização de nanopartículas biopoliméricas como insumos em processos de bioimpressão para aplicação farmacêutica por liberação sustentada. Para a viabilidade do projeto serão sintetizadas nanopartículas biopoliméricas a partir da incorporação do antibiótico de uso tópico retapamulina à quitosana, polímero escolhido para a produção das nanopartículas. O processo de formação das nanopartículas de quitosana será monitorado por espalhamento de luz dinâmico para determinação do diâmetro hidrodinâmico (Z-average) e índice de polidispersividade (Pdl); assim como por mobilidade eletroforética para determinação do potencial Zeta de superfície. Para a obtenção do hidrogel, no qual as nanopartículas serão incorporadas, será utilizado alginato de sódio com diferentes composições, associado a carboximetilcelulose e/ou agarose. As nanopartículas de quitosana serão incorporadas ao hidrogel e, posteriormente, para a realização dos testes in vitro, serão utilizadas células de Franz, em que serão realizados testes de permeação e liberação. Como resultado do projeto, espera-se obter uma nanoformulação farmacêutica para uso tópico impressa em 3D, em que haja compatibilidade do princípio ativo com a composição do hidrogel, a partir dos ensaios de caracterização. Deve-se obter, ao final, uma formulação estável, capaz de ter um prazo de validade prolongado, com cinética de liberação prolongada e viável para experimentação in vitro e, posteriormente, para aplicações in vivo na medicina humana e veterinária.

# ADSORVENTE DE CARVÃO DE MACAÚBA COMO ALTERNATIVA PARA A CAPTURA DE COMPOSTOS VOLÁTEIS

Paula Almeida Silva

Maria Carolina Blassioli Moraes

Miguel Borges

Raul Alberto Laumann

Simone Palma Favaro

Adsorvente é uma superfície sólida com alta relação superfície/volume capaz de adsorver em sua estrutura moléculas líquidas ou gasosas. Os adsorventes comerciais utilizados para captura de moléculas são altamente eficientes, mas tem alto custo. Uma possibilidade de baixo custo é o uso de carvão ativado. A palmeira macaúba (*Acrocomia aculeata*), fonte promissora para produção sustentável de óleos vegetais, oferece biomassas em grandes quantidades, como o endocarpo. Este coproduto de alto teor lignocelulósico pode ser transformado em carvão vegetal. O objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade de adsorção e dessorção do carvão de macaúba obtido por gaseificação. Para isto foram preparados liberadores contendo o limoneno em seis diferentes concentrações. Esses liberadores foram colocados dentro de câmeras de aeração e os voláteis liberados coletados nos adsorventes, 100 mg de porapak Q e em 100 mg carvão de macaúba (80-100 mesh) por 24 horas. Em um segundo experimento foi avaliada a adsorção e dessorção do feromônio sexual produzido pelos machos de *Euschistus heros*. Para isto 10 ou 50 machos de *E. heros* foram colocados em câmeras de aeração e os voláteis liberados pelos insetos coletados por 48 horas. Os adsorventes foram eluídos com 1 mL de n-hexano, concentrados para 500 µL, e analisados por CG-DIC e CG-EM. A quantificação dos compostos foi realizada através do método do padrão externo. Ao comparar a quantidade de limoneno recuperada dos adsorventes de macaúba e porapak Q, não foi observada diferença significativa dentro da mesma concentração. 1mg/mL ( $p=0,57$ ), 0,1 mg/mL ( $p=0,76$ ), 0,01 mg/mL ( $p=0,24$ ), 0,001 mg/mL ( $p=0,22$ ), 0,0001 mg/mL ( $p=0,60$ ). No experimento com os percevejos não houve diferença significativa na quantidade de feromônio capturada pelos adsorventes no primeiro dia de coleta ( $p=0,34$ ) e segundo dia de coleta ( $p=0,72$ ), mostrando repetibilidade ao longo dos dias. Os resultados mostram que o carvão vegetal tem a mesma capacidade de adsorção e dessorção do que adsorvente comercial, sendo uma alternativa de bioproduto para estudo de semioquímicos.

# EDIÇÃO DOS GENES *IPK1* E *IPK2* VIA CRISPR/ CAS9 PARA OBTENÇÃO DE PLANTAS DE SOJA COM BAIXO TEOR DE ÁCIDO FÍTICO NAS SEMENTES

---

Jéssica Carrijo De Souza

Peter Lafayette

Julio Carlyle Macedo Rodrigues

Francisco Aragão

Wayne Parrott

Giovanni R Vianna\_

Fitato (InsP6) é um forte quelante de cátions importantes para a nutrição pois dificulta a absorção de minerais, e por isso, é 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 ácido fítico é uma demanda do setor produtivo/alimentício. Esse estudo tem sido conduzido objetivando o desenvolvimento de uma linhagem de soja lpa ('low phytic acid') utilizando o sistema CRISPR/Cas9. Dois genes candidatos *IPK1* e *IPK2*, foram selecionado e três alvos foram identificados, baseando-se nos on-target-scores >0,6. O cassete base codifica a enzima Cas9 de *Streptococcus pyoneges* sob a regulação do promotor GmUbi3, e cada RNA-guia regulado pelo promotor U3 de *Medicago truncaluta*. Em um estudo anterior utilizando a técnica de 'hairy root' foi demonstrado a eficiência dos sistemas CRISPR na edição dos referidos genes. Os cassetes de expressão CRISPR/Cas9 para os dois genes foram transferidos para vetores de transformação via biobalística. Esses vetores, além do cassete CRISPR ainda contém o gene marcador AHAS mutado de *Arabidopsis thaliana*, que confere resistência ao herbicida 'Imazapyr'. As plantas T0 geradas e potencialmente transformadas foram identificadas pela presença da SpCas9 por PCR e/ou análises dos fragmentos sequenciados, referentes a região ao redor dos targets, pelo programa Synthego (probabilidade Inserção/deleção). Cinco linhagens de soja (T1) de cada gene que se destacaram individualmente (% de edição), foram germinadas. Um ensaio inicial para quantificação de ácido fítico, fósforo livre, e fósforo total foi realizado utilizando o kit 'Megazyme phytic acid', com quatro progênie T2. Após as análises, os dados demostraram um indicativo de uma possível plantas lpa. Para as progênies analisadas que sofreram nocaute no gene *IPK1* ou *IPK2* foram observados os seguintes resultados: Pequena redução na concentração final de ácido fítico, aumento ou diminuição na presença de fósforo livre e/ou diminuição de fósforo. Entretanto novas análises estão sendo relizadas para um maior entendimento do processo e maior acurácia dos resultados obtidos.

# DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS GM DE SOJA VISANDO RESISTÊNCIA A NEMATOIDES E TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO

---

Nathaly Tacki Maass Ribeiro

Bruna Medeiros Pereira

Lucas De Albuquerque Zotta Lopes

Ana Cristina M. Brasileiro

Patricia Messenberg Guimarães

Emanuel Felipe Medeiros Abreu

A soja (*Glycine max*) é uma das commodities mais importantes do mundo. O Brasil é o segundo maior produtor, contribuindo com 95 milhões de toneladas. Somente a soja corresponde a aproximadamente 48% do total de grãos produzidos no país. Com o surgimento da biotecnologia, o melhoramento genético da soja e o desenvolvimento de novas cultivares vem se diversificando no que se refere a introdução de novas características para diferentes finalidades. Contudo, essa cultura possui inúmeras pragas e doenças responsáveis por prejuízos consideráveis nos cultivos. Os nematoides das galhas (RKNs), destacam-se por causar perdas de milhões de dólares anuais em todo o mundo. Além disso, a cultura de soja apresenta outros fatores limitantes como os causados por estresses abióticos – destaque para a seca, geadas, condições químicas dos solos, entre outros. O objetivo desse trabalho foi o desenvolvimento de linhagens geneticamente modificadas de soja para conferir resistência a nematoides e tolerância a estresse abiótico. A técnica de transformação utilizada foi via *Agrobacterium tumefaciens* associada a regeneração por organogênese indireta e sistema de seleção (gene vs. agente seletivo) BAR e glufosinato de amônia (GA), respectivamente; além do sistema de seleção – AHAS vs. Imazapyr. Para o sistema de seleção com GA, foi realizado uma curva de seleção com diferentes concentrações (0; 1; 2; 3; 4; 6 e 8 mg/L) em que se observou as concentrações entre 3 e 4 mg/L como ideais para seleção de brotos transgênicos. No sistema AHAS as condições definidas variam entre 750 a 600 nM de imazapyr. Nesse trabalho, foram realizadas sete coculturas, sendo que duas apresentaram 100% de contaminação, e somente a partir de uma foi possível regenerar duas plântulas com desenvolvimento de raiz, mas sem êxito na fase de aclimação. Os resultados alcançados nesses estudos evidenciam a necessidade de mais ajustes no estabelecimento do protocolo de transformação genética de soja.

Apoio: CNPQ, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

# COMPOSTOS VOLÁTEIS E NÃO VOLÁTEIS DE *Crotalaria spectabilis* E INTERAÇÃO COM *Spodoptera frugiperda*

Bruna Sartório De Castro

Miguel Borges

Raul Alberto Laumann

Mirian Fernandes Furtado Michereff

Maria Carolina Blassioli Moraes

*Crotalaria spectabilis* é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae, e empregada na agricultura como adubo verde. Estudos prévios mostraram que essa planta possui uma química abrangente, com a presença de flavonóides e compostos tóxicos como os alcalóides pirrolizidínicos. Porém existe pouca informação na literatura que relacione a química dessa planta com as interações ecológicas em sistema agrícolas. Sendo assim, os objetivos deste estudo foram avaliar o perfil de compostos não voláteis da semente, da parte aérea e da parte radicular, e os voláteis da parte aérea de *C. spectabilis*. Os compostos voláteis emitidos por *C. spectabilis* com sete semanas após a germinação foram coletados de plantas saudias (n=6) e plantas com injúria de herbivoria de três lagartas do 2º instar de *Spodoptera frugiperda* (n=6), através da técnica de aeração, durante 24 horas usando adsorvente Porapak Q. Os voláteis foram eluídos dos adsorventes com n-hexano e concentrados sob fluxo de nitrogênio. Os extratos de aeração foram analisados por cromatografia gasosa (CG-DIC e CG-EM). Os compostos não voláteis foram obtidos através da extração em etanol/água das folhas (n=10), raízes (n=10) (plantas com sete semanas após a germinação) e 50 g de sementes, por 24 horas após a moagem. Os extratos obtidos foram filtrados, centrifugados e posteriormente analisados por cromatografia líquida de alta resolução (CLAE e CL-EM). As análises químicas dos extratos de aeração por CG-DIC mostraram que as plantas com injúria de lagartas de *S. frugiperda* apresentaram um perfil cromatográfico diferente comparado ao das plantas saudias, indicando que *S. frugiperda* se alimenta de *C. spectabilis*, e esta é capaz de responder a essa injúria. A análise por CLAE dos extratos das folhas, raízes e sementes mostrou que há diferença no perfil cromatográfico tanto qualitativo como quantitativo. Estudos estão sendo conduzidos para a identificação química dos compostos voláteis e não voláteis e da influência destes compostos sobre *S. frugiperda*.

# IMPLICÂNCIA DE GENES TIPO MIRACULINA NA RESPOSTA DO CAFEIRO AO NEMATOIDE DA GALHA *Meloidogyne incognita*

---

Leonardo De Amorim Vidal

Priscila Grynberg

Anne-Sophie Petitot

Roberto Coiti Togawa

Diana Fernandez

Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire

As variedades comerciais de café, *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, são muito afetadas por nematoides da galha (root-knot nematode - RKN), do gênero *Meloidogyne*. A espécie *M. incognita*, é uma das mais agressivas, causando grande prejuízo à cafeicultura. Em trabalho prévio, observamos que um gene homólogo à miraculina foi superexpresso em raízes de cafeeiro do acesso de *C. arabica* UFV408, identificado pelo grupo como resistente ao *M. incognita*, em 5 e 6 dias após a infecção. A miraculina faz parte da superfamília de inibidores de proteinases tipo Kunitz. Estes genes são interessantes pois são relatadas evidências do envolvimento da miraculina na resposta imunológica de plantas a estresses bióticos. Fizemos então o transcrito de raízes do *C. arabica* UFV408 por Illumina, onde foi observada superexpressão de 14 genes tipo miraculina. As sequências desses genes foram alinhadas no Geneious 8®, buscando as sequências que continham o domínio da família Kunitz. Foram então desenhados primers para cada sequência conservada, discriminando os genótipos resistentes (R) e suscetíveis (S) buscando por PCR tempo real a diferença de expressão dos genes nesses dois genótipos. O programa LinRegPCR, utilizado para análise dos dados de expressão por qPCR, evidenciou uma diferença de expressão entre os genótipos S e R, mostrando uma relação da regulação gênica com o fenótipo. O sequenciamento dos produtos de qPCR confirmou que os genes amplificados são realmente os esperados. Este estudo demonstra a importância da família gênica das miraculinas no sistema imunológico do cafeeiro em resposta a RKN, podendo servir de base para o desenvolvimento de ativos para o controle deste patógeno.

# IMPLEMENTAÇÃO DE PROTOCOLOS PARA EXTRAÇÃO DE DNA VEGETAL DE ALTA QUALIDADE PARA O BANCO DE DNA DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA

---

Bianca De Sousa Alcântara

Wellington Bruno Dos Santos Alves

Lorena Ramos Da Mata

Marilia De Castro Rodrigues Pappas

Bancos de DNA surgiram como coleções com grande potencial para a caracterização e utilização da biodiversidade possibilitando o desenvolvimento de estudos genéticos com diversos fins sem precisar dispor do germoplasma em si. Sua exploração pode se tornar mais efetiva com a garantia de qualidade do material genético armazenado e sua caracterização genética. A integridade desse material a longo prazo e a execução de técnicas de genotipagem podem ser prejudicadas por baixa qualidade e pureza do DNA. Esse é um problema, especialmente, para espécies com tecidos ricos em metabólitos secundários e polissacarídeos. Como forma de permitir avanços na caracterização genética do Banco de DNA da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, esse trabalho objetivou fornecer amostras de DNA genômico de alta qualidade para genotipagem e armazenamento de longo prazo, conservadas em freezer - 80º C, possibilitando a realização de estudos futuros. Foram utilizadas 192 amostras, de cada uma de 19 espécies provenientes de bancos ativos de germoplasma e da coleção de Base da Embrapa. Outro desafio ao trabalho com espécies vegetais é a grande variação na composição do material vegetal, inviabilizando o uso de uma estratégia única para todas as espécies e/ou tecidos. Utilizando o clássico protocolo de Doyle & Doyle (1990) com tampão a base de CTAB, foi obtido DNA puro, conforme observado por espectrofotometria, principalmente, para as espécies cujo material vegetal usado foi juvenil com tecidos mais tenros e sem compostos secundários. Para obtenção de DNA puro a partir de amostras mais desafiadoras, foi necessária a adição de uma etapa inicial ao protocolo com uma pré-lavagem do tecido macerado com tampão contendo sorbitol, que visa remover esse excesso de polissacarídeos antes da lise celular. Essa adaptação foi necessária para espécies cujas amostras de material vegetal disponíveis foram folhas adultas e para plântulas em apenas tecidos de folhas cotiledonares, caracterizadas pela riqueza em polissacarídeos, estavam disponíveis.

# CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DO GENE ENDOCHITINASE DE *Arachis duranensis* NA RESPOSTA À INFECÇÃO PELO FUNGO *Sclerotinia sclerotiorum*

Renan Miguel Dos Anjos

Pedro Souza Berbert

Deziany Da Silva Ferreira

Andressa Da Cunha Quintanda Martins

Ana Cristina M. Brasileiro

Patricia Messenberg Guimarães

A agricultura moderna conta com significativos avanços relacionados à produção, tecnologia e sustentabilidade. No entanto, uma parte considerável dos custos da agricultura atual é atribuída ao controle de estresses bióticos e abióticos que limitam a produtividade. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da superexpressão do gene AdECHI em plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) e avaliar a sua capacidade de induzir resistência ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. Sabe-se que engenharia genética é uma grande aliada na obtenção de plantas tolerantes a estresses bióticos e abióticos. Entre as diferentes abordagens, a análise transcriptômica possibilita entender a regulação molecular de plantas em resposta a diversas condições ambientais e elucidar os mecanismos biológicos que contribuem para resistência nas espécies selvagens. Dentro deste contexto, *Arachis duranensis*, parente silvestre do amendoim cultivado, apresenta uma alta diversidade genética e constitui uma excelente fonte de genes de resistência a estresses bióticos e abióticos. Dentre os genes de *A. duranensis* que apresentam regulação positiva quando submetidos a estresses diversos, o gene que codifica para uma Endoquitinase (AdECHI) se mostra um candidato bastante promissor para transformação genética visando o aumento da tolerância a ataques causados por fungos patogênicos. A sequência codante de AdECHI foi clonada no cassete de expressão vetor pPZP sob controle do promotor constitutivo Actina, transferido para a linhagem de *Agrobacterium tumefaciens* EHA 105 e utilizado para transformação de plantas de tabaco. Plantas geneticamente modificadas foram obtidas pela seleção in vitro com glifosinato de amônio e análises por PCR utilizando primers específicos de AdECHI confirmaram a presença do transgene nas plantas regeneradas. Os resultados de PCR confirmaram a expressão de AdECHI em cinco eventos de tabaco. Para avaliar os efeitos da superexpressão de AdECHI na resistência a doenças causadas por fungos, folhas destacadas de eventos foram inoculadas com *S. sclerotiorum*. Análises preliminares demonstraram que a área lesionada por *S. sclerotiorum* nas linhagens transgênicas foi reduzida em até 35% em relação às plantas não-transgênicas.

# CARACTERIZAÇÃO IN PLANTA DA FUNÇÃO BIOLÓGICA DE UM GENE CANDIDATO ENVOLVIDO NA RESISTÊNCIA AO NEMATOIDE DAS GALHAS

---

Matheus Nascimento De Aguiar

Bruna Medeiros Pereira

Thais Nicolini Oliveira

Andressa Da Cunha Quintanda Martins

Ana Mota

Mario Alfredo De Passos Saraiva

Patricia Messenberg Guimarães

Ana Cristina M. Brasileiro

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 por vezes são bastante onerosos. O uso de variedades contendo genes de resistência 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 até a sinalização sistêmica entre células e morte celular programada que limita a invasão e o crescimento de patógenos, sendo os genes de resistência um dos principais arsenais desse sistema imunológico das plantas é constituído por. Nesse estudo, objetivou-se a caracterização in planta da função biológica do gene candidato (AsR1), isolado de *Arachis stenosperma*, que foi previamente identificado como envolvido no processo de resistência ao nematoide das galhas, *Meloidogyne* spp. Para tanto, quatro linhagens transgênicas de *Arabidopsis thaliana*, em geração T2, superexpressando o gene AsR1 foram obtidas e posteriormente 10 plantas de cada linhagem, assim como do controle não-transgênico, foram inoculadas com *Meloidogyne incognita*. Sessenta dias após a inoculação, plantas transgênicas em geração T1 mostram uma redução significativa tanto no número de galhas por grama de raiz inoculada (média 51,3%) como no número de fêmeas por grama de raiz inoculada (média 68,4%) quando comparadas ao controle não-transgênico. A análise das mesmas linhagens em geração T2, também apresentou redução significativa no número de galhas por grama de raiz inoculada (média de redução de 52,8%). 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*.

# PLANTAS DE CAUPI RESISTENTES A *M. incognita* ATIVAM O METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E MECANISMOS DE REPARO DURANTE A INFECÇÃO

Daiane Gonzaga Ribeiro

Fabrcio Barbosa Monteiro Arraes

Ana Mota

Maria Eugênia Lisei De Sa

Maria Fátima Grossi De Sá

Octavio Luiz Franco

Angela Mehta

O feijão-caupi (*Vigna unguiculate* L. Walp) é uma leguminosa de grande importância econômica e tem sido amplamente cultivada, principalmente em regiões semi-áridas, pois apresenta capacidade de adaptar-se a baixo regime pluviométrico. Embora o caupi seja considerado uma cultura adaptada a diferentes ambientes, sua produtividade ainda é limitada e uma das principais causas é a infestação por nematóides. Uma das alternativas mais eficientes para o controle desse patógeno é o uso de variedades resistentes. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo identificar genes e proteínas envolvidos na resistência a nematóides por meio de análise transcriptômica. Foram utilizadas plantas do genótipo CE31 resistente ao nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.). As raízes foram coletadas em triplicata biológica doze dias após a inoculação com *Meloidogyne incognita* e o RNA total foi extraído. A construção e sequenciamento das bibliotecas de cDNA foram realizados em um sistema de sequenciamento Hi-Seq 2000. Na análise de expressão gênica, os genes foram considerados diferencialmente expressos (DEGs) quando seus níveis de expressão apresentaram uma diferença em relação ao controle de quatro vezes ( $\text{Log}_2 \text{FC} > 2.0$  ou  $< -2.0$ ), com  $p = 0,05$ . A anotação funcional foi realizada através da busca por similaridade de sequência usando BLAST contra o banco de dados do Phytozome. Para realizar a busca de domínio de proteínas, foi utilizado o banco de dados Pfam. A análise fisiológica revelou uma redução significativa das taxas de transpiração (E), condutância estomática (gs) e fotossíntese (An) nas plantas inoculadas com o nematóides quando comparadas ao controle. Na análise transcriptômica, a maioria dos DEGs identificados estão aumentados nas plantas inoculadas quando comparado ao controle. Dentre os DEGs identificados, podemos destacar principalmente genes envolvidos no metabolismo de carboidratos, reguladores de crescimento e reparo de DNA, com um aumento considerável na expressão. Plantas do genótipo CE 31, mesmo sob condições de estresse, parecem manter os processos essenciais para sua sobrevivência, além de ativar processos de reparo para evitar danos estruturais ao material genético.

# PERFIL DE EMBEBIÇÃO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE VINTE ESPÉCIES NATIVAS DO CERRADO COM FOCO PARA O MELHORAMENTO NA SEMEADURA DIRETA

---

Pedro Dias Laumann

Daniel Luis Mascia Vieira

Dulce Alves

Semear as sementes diretamente no campo, em contraposição ao plantio de mudas, tem se mostrado um método eficaz e eficiente de recomposição da vegetação nativa. Porém, há muita variação entre espécies no sucesso de estabelecimento em campo. Um dos aspectos funcionais da semente que poderia explicar a emergência e o sucesso do estabelecimento das espécies na semeadura é a taxa de embebição, que esta relacionada com a velocidade de germinação. O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de embebição de espécies de árvores nativas do Cerrado e correlacionar com os aspectos da germinação e com o sucesso de se estabelecerem por semeadura direta em campo. Foram avaliadas 20 espécies de sete famílias (25 sementes de cada espécie em 4 repetições) em experimentos de embebição. Foram elaboradas curvas de embebição pesando as sementes em intervalos de 1 hora durante as primeiras 12 h e posteriormente em intervalos de de 24 horas até que nenhuma semente germinasse em duas pesagens consecutivas. As variáveis medidas foram peso inicial da semente, de tempo médio de germinação, sincronia de germinação e embebição, e porcentagem de absorção de água. Os dados de emergência em campo foram obtidos de experimentos de semeadura direta. Foi observada uma grande variabilidade dos parâmetros avaliados entre as espécies, Todas as espécies mostraram germinação >70%. 55% das espécies tiveram tempo médio de germinação (TMG) menor de 96 horas, 2 espécies tiveram TMG entre 90 e 150 horas e 7 espécies tiveram TMG acima de 168 horas. A quantidade de água absorvida pela embebição foi maior que o peso da semente para 17, das 20 espécies. A única variável que teve correlação significativa ( $p < 0,05$ ) com a emergência em campo foi o peso inicial da semente. Os resultados permitiram identificar dois grupos de espécies, um grupo com germinação mais rápida e com menor requerimento de água e outro com germinação mais lenta e com maior necessidade de água.

# ***Meloidogyne incognita*: IMPORTÂNCIA DOS OVOS NO CICLO DE VIDA E ALVO DE CONTROLE DO FITOPARASITA**

Rejane Valeriano Da Silva

Thales Lima Rocha

Vera Lucia Perussi Polez

Dentre as inúmeras espécies de fitonematoides existentes, aqueles pertencentes ao gênero *Meloidogyne* representam um dos mais graves problemas para a agricultura, pois são responsáveis por uma significativa redução na produtividade da maioria das espécies cultivadas. Dentro do gênero *Meloidogyne*, a espécie *Meloidogyne incognita* assume posição de destaque para a agricultura brasileira, uma vez que está amplamente disseminada no país e parasita uma enorme gama de espécies vegetais, inclusive as espécies de maior interesse econômico. O manejo desse fitoparasita é dificultado pois as fêmeas colocam os ovos em uma matriz glicoproteica que os protege de condições edafoclimáticas adversas, e também porque o nematoide pode entrar em estado de dormência no ovo em situações desfavoráveis à eclosão, contribuindo para a persistência do patógeno no solo. Desse modo, a interrupção do desenvolvimento do parasita ainda no ovo se mostra uma alternativa eficaz para a redução da sua densidade populacional. O uso de nematicidas sintéticos ainda é bastante empregado na tentativa de controlar esse patógeno, porém, a alta toxicidade desses produtos tem gerado discussão quanto a sua utilização. A busca por medidas alternativas de controle em substituição aos nematicidas convencionais é uma preocupação mundial, justificando pesquisas com substâncias naturais por serem eficientes e ecologicamente corretos. Tendo por base essas informações, o objetivo do trabalho será a investigação da atividade de extratos de coprodutos vegetais sobre a eclosão de ovos de *M. incognita*. Para tanto, serão realizados testes *in vitro* e em casa de vegetação, adotando como metodologia: (i) obtenção de ovos de *M. incognita*; (ii) preparação de extratos a partir de coprodutos vegetais; (iii) realização de bioensaios *in vitro* para a seleção dos materiais ovicidas e por fim, a (iv) avaliação do desempenho dos extratos pré-selecionados nos bioensaios *in vitro* e em casa de vegetação. Espera-se ao final da realização das atividades do projeto, a obtenção de pelo menos um material capaz de impedir a eclosão de J2, ou seja, exibindo atividade ovicida.

# ANÁLISE DE PLANTAS COM A ATROFIA LETAL DA COROA DO COQUEIRO (ALCC) QUANTO À PRESENÇA DE FITOPLASMAS

---

Luana Torres Scarabuci

Barbara Eckstein

Dulce R. N. Warwick\_

A Atrofia Letal da Coroa do Coqueiro (ALCC) é uma doença emergente no Brasil que tem afetado a cultura de palmeiras em diversos estados brasileiros. Possui sintomas semelhantes àqueles do Amarelecimento Letal, causado por bactérias do grupo dos fitoplasmas. Devido a tais similaridades, o objetivo da pesquisa foi investigar a presença de fitoplasmas em palmeiras com sintomas de ALCC. Este agente causal de doenças não é cultivável, dessa forma, foram utilizados métodos moleculares para verificar a presença do DNA de tais bactérias em plantas doentes. No presente estudo foram analisadas 118 amostras de palmeiras de diversos estados do Brasil. Em PCR aninhado, os primers P1/P7 foram aplicados na primeira PCR e, em seguida, aninhou-se ao produto destas amostras o par de primers U3/U5. Destas amostras analisadas, 27,1% são da Bahia; 25,4% do Pará; 20,3% da Paraíba; 10,1% de Pernambuco; 10,1% de Rondônia; e 6,7% são de origem desconhecida. Não houveram resultados consistentes da presença de fitoplasmas nas 118 amostras analisadas. As mesmas amostras já haviam sido analisadas utilizando-se os iniciadores P1/P7 seguidos de F2n/R2 quando também não foi possível amplificar fitoplasmas. Considera-se que ainda são necessários esforços para confirmar que a doença não possui nenhuma associação com esses microrganismos, porém se estiverem relacionados, fica evidente que os métodos tradicionais de análise precisarão ser revistos para o caso em questão.

Apoio: Embrapa - Recursos Genéticos e Biotecnologia

# TRANSFORMAÇÃO DE TOMATEIRO MICRO-TOM PARA A EXPRESSÃO DE PEPTÍDEO ANTIMICROBIANO DERIVADO DE PROTEÍNA DE CACAU

---

Loeni Lüdke Falcão

João Arthur Vieira Sulzbacher Rabello

Joseilde Oliveira Silva Werneck

Lucilia Helena Marcellino

A transformação de plantas para a inserção de genes que expressam peptídeos antimicrobianos capazes de conferir resistência a fitopatógenos é uma tecnologia que se mostra promissora. O peptídeo antimicrobiano PAMa, encriptado em uma osmotina de cacau, se mostrou capaz de inibir a germinação de esporos e o crescimento do micélio de alguns fungos fitopatogênicos in vitro. Com o objetivo de avaliar a atividade antifúngica de PAMa in planta, explantes de tomateiro Micro-Tom-Rg1 foram transformados com duas diferentes construções: 1 - contendo o gene PAMa sob o controle do promotor de actina de *Arabidopsis thaliana* (ACT2); 2 - com o PAMa fusionado a um domínio de ligação à quitina (CBD - chitin binding domain), também sob o controle do promotor ACT2. As construções contêm ainda os genes de seleção nptII (resistência à canamicina) e o gene repórter gus. As plantas foram transformadas via *Agrobacterium tumefaciens* estirpe GV3101. A caracterização das plantas foi feita por ensaio histoquímico de GUS, PCR para os genes PAMa e gus, Southern blot e bioensaios com *Verticillium dahliae* raça 2. Os ensaios histoquímicos de GUS identificaram cinco plantas com a construção 1 e duas plantas com a construção 2. As análises de PCR identificaram sete plantas transformadas com a construção 1 e uma com a construção 2. Southern blot comprovou a inserção do PAMa em quatro plantas analisadas. Assim, após as análises moleculares, foi confirmada a obtenção de sete plantas transformadas com PAMa e uma planta com a fusão PAMa-CBD. Bioensaios preliminares com *V. dahliae* mostraram sintomas diferentes para as diversas plantas testadas. Entretanto, a associação dos sintomas com a presença do peptídeo está sendo avaliada. Experimentos com transcriptase reversa estão sendo conduzidos para verificar a expressão de PAMa nas plantas obtidas. A obtenção destas plantas permitirá avaliar a atividade antifúngica do PAMa em planta e se a associação ao domínio CDB pode aumentar esta atividade.

# DESENVOLVIMENTO DE BIOENSAIO COM *Verticillium dahliae* EM FOLHA DESTACADA DE TOMATE MICRO-TOM TRANSGÊNICO VISANDO AVALIAÇÃO FUNCIONAL DO PEPTÍDEO PAMA

João Arthur Vieira Sulzbacher Rabello

Loeni Lüdke Falcão

Joseilde Oliveira Silva Werneck

Lucilia Helena Marcellino

O PAMa é um peptídeo antimicrobiano capaz de inibir a germinação de esporos dos fungos fitopatogênicos *Fusarium solani* f. sp. *glycines* e *Colletotrichum gossypi*. A atividade desse peptídeo foi demonstrada in vitro. Para avaliar sua atividade in planta, recentemente, foram obtidos tomates (*Solanum lycopersicon*) cv Micro-Tom-Rg1 (MT) geneticamente modificados com o gene PAMa, sendo necessários bioensaios com fungos fitopatogênicos. O fungo *Verticillium dahliae* é causador da murcha-de-verticílio em tomateiro. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um bioensaio com *V. dahliae* em MT visando avaliar in planta a atividade antifúngica de PAMa. Inicialmente, foi preparado o inóculo de *V. dahliae*. Um disco de micélio foi inoculado em meio BDA (batata, dextrose e ágar), em placa de Petri de 9 cm, e incubado por 96 h a 28°C. Discos de papel filtro estéreis (0,5 cm) foram depositados à 3 cm do inóculo, permitindo o crescimento do micélio sobre o papel. O bioensaio foi montado em placas de Petri descartáveis contendo um chumaço de algodão umedecido em água estéril. Um disco de papel filtro contendo o micélio foi colocado sobre o algodão e, em seguida, foi depositada a folha destacada de MT, com o pecíolo sobre o disco. O sistema foi incubado à temperatura ambiente e os sintomas foram avaliados nos 3 dias iniciais e após 10 dias. Como controle negativo, foram utilizadas folhas destacadas não inoculadas. O inóculo utilizado foi suficiente para causar lesão na folha do tomate MT. Após 48 horas do desafio das folhas com o micélio, foi possível observar o início de sinais da infecção: mudança de coloração do pecíolo e início de necrose; com 72h, a necrose é mais proeminente, cobrindo cerca de 1/5 da superfície foliar; em 10 dias a necrose ocorre por toda a extensão foliar. Assim, este bioensaio pode ser utilizado futuramente para avaliar tomates transgênicos transformados com PAMa e sua potencial atividade antifúngica, ao mesmo tempo que preserva a planta para obtenção da geração T1.

# SILENCIAMENTO GÊNICO VIA RNA INTERFERENTE (RNAi) VISANDO O AUMENTO DE BIOMASSA E TOLERÂNCIA À SECA EM SOJA

---

Naiara Cordeiro Santos

Fabício Barbosa Monteiro Arraes

Carolina Vianna Morgante

Maria Fátima Grossi De Sá

O uso da biotecnologia e de técnicas inovadoras de melhoramento de precisão tem contribuído para a solução de problemas do setor produtivo desde à prospecção de novos genes até a sua utilização em novas cultivares. Estudos prévios com a planta modelo *A. thaliana* destacaram o potencial da proteína AtAIP no controle do ciclo celular, integrando vias de sinalização do desenvolvimento vegetal, por meio do controle da replicação do DNA e da divisão celular. Plantas expressando níveis reduzidos desta proteína apresentaram aumento de biomassa, de produtividade e tolerância à seca. Assim, surgiu a iniciativa de se realizar a prova de conceito em soja transgênica por meio do silenciamento do gene AIP, utilizando a técnica de RNA interferente (RNAi). Plantas de soja da cultivar BRS 284 foram transformadas geneticamente pelo método de biolística e posteriormente caracterizadas tanto por PCR quanto por ensaios imunológicos para a quantificação dos níveis da proteína PAT, codificada pelo gene marcador de seleção bar. Após a caracterização molecular, plantas da geração T3 de três eventos independentes de transformação foram avaliadas fenotipicamente em casa de vegetação. Os eventos transgênicos selecionados apresentaram aumento significativo do número de vagens e sementes, assim como incremento na biomassa da parte aérea, em comparação ao controle não transgênico. Não foram observadas diferenças significativas na altura de plantas, diâmetro de caule e área foliar em diferentes estádios vegetativos e reprodutivos das plantas. Conclui-se, portanto, que os efeitos do silenciamento de AIP em soja são mais proeminentes em características reprodutivas, relacionadas à produtividade. Novas análises serão realizadas com plantas na geração T4 para a confirmação dos resultados obtidos e avaliação da tolerância à seca.

# AVALIAÇÃO DE *Arabidopsis thaliana* SUPEREXPRESSANDO GENES QUE CODIFICAM UMA ENDOQUITINASE E UDP-ARABINOPIRANOSE MUTASE ENVOLVIDOS NA RESISTÊNCIA À *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

---

Pollyana Da Nóbrega Mendes

Cristiane Dos Santos

Daiane Gonzaga Ribeiro

Angela Mehta

*Brassica oleracea* é considerada uma das principais espécies da família Brassicaceae. Entretanto, uma ameaça de grande importância econômica para essa cultura é a podridão negra causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc). A infecção das plantas por essa bactéria pode resultar em perdas totais das plantações, causando grandes prejuízos. Dentre as mais diversas formas de controle dessa doença, destaca-se o uso de cultivares resistentes. Este trabalho teve como objetivo verificar a resistência de linhagens de *Arabidopsis thaliana*, previamente obtidas, superexpressando os genes que codificam as proteínas endoquitinase CHB4 like e UDP-arabinopiranoase mutase like. Sementes de plantas da geração T3, transformadas com cada gene, foram desinfestadas e semeadas em meio MS contendo o antibiótico de seleção. Após uma semana, as plantas selecionadas foram transferidas para substrato autoclavado. Aproximadamente 30 dias após a germinação, as plantas foram submetidas ao bioensaio por inoculação (via infiltração ou pulverização) com Xcc (OD600 = 0,1) ou solução salina (NaCl 0.85%). Foram selecionadas 3 linhagens para cada gene e foram avaliadas 5 plantas por linhagem. Foram também avaliadas 5 plantas não transformadas (Col-0) inoculadas com Xcc e 5 plantas inoculadas apenas com solução salina. Os resultados mostraram que algumas linhagens foram mais resistentes à Xcc e que a forma de inoculação pode influenciar na resposta de resistência.

Apoio: Embrapa, CAPES e CNPq

# PROCESSOS ANALISADOS E FUNGOS IDENTIFICADOS NA ESTAÇÃO QUARENTENÁRIA DA EMBRAPA, DE 2018 A 2020

Joao Marcos Teixeira Martins

Arailde Fontes Urben

Gabriele Louise Trindade Araujo

Karolina De Brito Da Silva

Eudes De Arruda Carvalho

A Estação Quarentenária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realiza a quarentena de germoplasma vegetal e de outras plantas demandados pelo Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária – SNPA desde 1976. Todos esses artigos regulamentados em trânsito passam por análises fitossanitárias nas unidades de Micologia, Bacteriologia, Virologia, Nematologia, Plantas Daninhas, Entomologia e Acarologia. O objetivo deste trabalho é relatar processos, acessos, fungos interceptados, plantas hospedeiras, origens geográficas de germoplasma e outros materiais vegetais analisados, entre os anos de 2018 e 2020. Todos os materiais foram submetidos a análises fitossanitárias, aplicando-se os testes pertinentes a sementes ou a material de propagação vegetativa. Os métodos de análises mais comumente empregados foram o plaqueamento em papel filtro (*Blotter test*); plantio e acompanhamento das plantas em quarentenários, exame direto sob microscópio estereoscópio e análises morfológicas por microscopia de luz. Sempre que necessário, os fungos foram isolados em meio de cultura e repicados até a obtenção de cultura pura. A identificação das espécies foi realizada com base em características morfológicas e fisiológicas, e em alguns casos, aplicaram-se técnicas moleculares de extração de ácidos nucleicos, sequenciamento de regiões genômicas específicas e análises filogenéticas para confirmar espécies. Neste período foram finalizados 42 processos, 38 de importação e 04 de exportação, de 13 diferentes países e total de 2.287 acessos. Foram contabilizadas 27 espécies de plantas hospedeiras, dentre as quais o trigo (*Triticum* sp.) foi a mais frequente. Foram identificadas 25 espécies de fungos distintas, sendo que os fungos de armazenamento (*Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus* e *Penicillium* sp.) estavam presentes em 37% das interceptações. O fungo *Neopestalotiopsis clavispora* foi identificado após sequenciamento de DNA. Não foi interceptado nenhum fungo exótico ou regulamentado como praga quarentenária ausente.

# EVIDÊNCIAS DE MITOVIRUS EM ACESSOS DE *Passiflora* SPP COMO ELEMENTOS ENDOGENIZADOS DE RNA-NÃO-RETROVIRAL

---

Yam De Sousa Santos

Andreza Henrique Vidal

Emanuel Felipe Medeiros Abreu

Isadora Nogueira

Fabio Gelape Faleiro

Cristiano Lacorte

Fernando L

Magnólia De Araújo Campos

Arvind Varsani

Simone Da Graça Ribeiro

O maracujazeiro (*Passiflora* spp), pertence à família Passifloracea e possui grande importância econômica. Sua produção pode ser afetada por uma grande variedade de doenças causadas por vírus. O gênero Mitovirus, da família Narnaviridae, compreende vírus de ssRNA não encapsidados caracterizados por possuírem uma única ORF capaz de codificar uma RNA-polimerase dependente de RNA (RdRP) e por localizar-se no interior de mitocôndrias de fungos. Entretanto, vírus deste gênero tem sido identificados em plantas, tanto replicante, como na forma de elementos endogenizados de RNA-não-retroviral, embora não possuam estágio obrigatório de DNA, tampouco uma transcriptase reversa em seu genoma. Até o presente momento, não há estudos relacionados a infecções causadas por mitovírus em maracujazeiros. Desta forma o objetivo deste estudo foi identificar mitovírus em acessos de *Passiflora* spp. através de técnicas moleculares. RNAs de dupla fita (dsRNA) extraídos de 22 acessos de *Passiflora* spp. do “BAG Flor da Paixão” foram sequenciados em plataforma Illumina HiSeq 2500. Vinte e três contigs com alta similaridade com outros mitovirus de plantas foram montados a partir dos reads obtidos no sequenciamento. Um contig de 5,5kb (nomeado *Passiflora mitovirus-like*, PMV) contendo uma única ORF com domínios conservados de RdRp de mitovirus foi selecionado para análises. Primers foram sintetizados para PCR e RT-PCR e um fragmento de 926nt foi amplificado a partir do RNA e do DNA extraído de 13 acessos diferentes de *Passiflora* spp. Fragmentos de mitovirus-like dos acessos de *P. galbana* e *P. maliformis* foram clonados e sequenciados pelo método de Sanger. Os clones de PMV possuem 54% de identidade com chenopodium quinoa mitovirus 1 e análises filogenéticas de sua ORF predita mostra um agrupamento com outros mitovirus de planta. Em suma, este é o primeiro relato de evidências de infecção por mitovirus em *Passiflora* spp. como elemento endogenizados e a detecção destes fragmentos em amostras de RNA indicam que PMV é transcrito pela planta.

# NOVAS ABORDAGENS PARA O USO DO RNA DE INTERFERÊNCIA OBJETIVANDO O CONTROLE DE NEMATOIDES PARASITAS DE PLANTAS

Valdeir Junio Vaz Moreira

Isabela T. Lourenço-Tessutti

Marcos Fernando Basso

Maria Eugênia Lisei-De-Sá

Bruno Paes De Melo

Carolina Vianna Morgante

Fabício Barbosa Monteiro Arraes

Diogo Martins De Sá

Etienne G. J. Danchin

Patrícia Messenberg Guimaraes

Priscila Grynberg

Janice Almeida Engler

Maria Fatima Grossi-De-Sá

Várias estratégias de controle biológicos, genéticos e tradicionais são constantemente aplicadas na agricultura para o controle de nematoides formadores de galhas (NFG), gênero *Meloidogyne* spp. No entanto, devido a inespecificidade do uso de agroquímicos para ao ambiente e a saúde humana, além da quebra de resistência naturais de cultivares em vista do surgimento de cepas virulentas de NFG em cultivares elites, novas estratégias biotecnológicas são necessárias, sendo o uso do RNA de interferência, um mecanismo de silenciamento gênico pós-transcricional, uma potente ferramenta para o controle de nematoides. Neste estudo, linhagens de *Arabidopsis thaliana* foram geradas, expressando dsRNA, e demonstraram alta supressão do estabelecimento de *Meloidogyne incognita*, quando os genes de parasitismo de glândulas subventrais Minc03328 e Minc16803 foram silenciados. O uso do promotor 4 de conjugação a ubiquitina de soja (UceS8.3), relatado pelo nosso grupo de pesquisa como um promotor específico de raiz e responsivo a *M. incognita*, foi utilizado pela primeira vez, como prova de conceito, para a modulação gênica de duplas fitas de RNA contra esses genes de parasitismo. Para ambos os casos, foram geradas linhagens transgênicas expressando dsRNA no genoma nuclear de *A. thaliana*. Nossos resultados demonstraram reduções em torno de 81% e 93% para as linhagens At-nuHP-Minc03328 para os parâmetros número de galhas e massa de ovos, respectivamente, enquanto as linhagens At-nuHP-Minc16803 foram verificadas reduções em torno de 76% e 87% nos mesmos parâmetros avaliados. Interessantemente, análises histopatológicas de galhas induzidas por *M. incognita* demonstraram que ambos os genes são extremamente importantes para as fases iniciais de parasitismo. Em conclusão, o uso da construção pUceS8.3::nuHP-dsRNA demonstrou alta tolerância em linhagens transgênicas expressando dsRNAs, e os transcritos de parasitismo Minc03328 e Minc16803 se revelaram como alvos específicos para serem aplicados em plantas de interesse agrônômico como estratégia de silenciamento gênico mediado pelo hospedeiro.

# EXTRATOS BIOATIVOS DE PLANTAS DA FAMÍLIA POACEAE PARA O CONTROLE DE *Meloidogyne incognita*

---

Laís Oliveira Dos Reis

Vera Lucia Perussi Polez

Thales Lima Rocha

*Meloidogyne incognita* é um nematoide distribuído globalmente capaz de parasitar um número expressivo de plantas. O controle deste fitoparasita é de extrema importância, em decorrência do grande impacto negativo que vem causando, especialmente em regiões de clima tropical. Atualmente, existem alguns métodos de controle disponíveis no mercado, contudo o uso de químicos sintéticos ainda é o mais adotado pelos agricultores, apesar dos efeitos negativos para a saúde humana, animal e meio ambiente. Assim, pesquisas focadas na obtenção de tecnologias mais eco amigáveis tornam-se indispensáveis visando alcançar uma agricultura mais sustentável. Espécies da família Poaceae representam uma fonte rica de extratos com atividade nematotóxica. Assim, este trabalho propõe a prospecção de extratos a partir de raízes de 16 espécies e 11 cultivares de plantas da família Poaceae. Para tanto, os passos descritos a seguir serão realizados (i) Obter extratos crus aquosos (ECAs) de raiz de plantas da família Poaceae seguindo os protocolos estabelecidos no LPCB; (ii) Extrair ovos de *M. incognita* a partir de plantas de *Nicotiana tabacum* infectadas e obter J2; (iii) Determinar a atividade nematotóxica (nematicida e/ou nematostática) dos ECAs em bioensaios in vitro de viabilidade e de recuperação utilizando J2 de *M. incognita*; (iv) Submeter os extratos mais ativos a bioensaios in vitro de termoestabilidade, citotoxicidade, fitotoxicidade, especificidade utilizando organismos não alvo e por fim, (v) Avaliar o efeito dos ECAs mais efetivos em casa de vegetação utilizando plantas de soja. Espera-se ao final da execução do projeto, que os resultados gerados possam auxiliar os programas de seleção de genótipos de gramíneas resistentes ao ataque de fitonematoides, além da seleção de pelo menos 1 ECA de raiz efetivo no controle de *M. incognita*.

Apoio: CNPq / Embrapa

# Agradecimentos

---

Agradecemos a todos os técnicos que colaboraram com afinco para que esta publicação pudesse acontecer, ao **Alex Antônio Torres Cortês de Sousa** e a **Lilian Botelho Praça** da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e a **Maria Monica Domingues Franco Cintra**, técnica da Embrapa Arroz e Feijão, GO.



**Embrapa**

# Índice de Orientadores:

Obs: A Numeração corresponde a página

Alexandre Floriani Ramos .....	40, 42
Alexandre Rodrigues Caetano .....	30, 41, 42, 44
Ana Claudia Guerra De Araujo .....	66
Ana Cristina Miranda Brasileiro .....	15, 66, 71, 75, 76
Angela Mehta .....	21, 23, 55, 65, 67, 77, 84
Arailde Fontes Urben .....	84
Barbara Eckstein .....	80
Bianca Damiani Marques Silva .....	40
Carmen Silvia Soares Pires .....	43, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 53, 54
Carolina Vianna Morgante .....	83, 87
Clarissa Silva Pires De Castro .....	63
Cristiano Lacorte .....	15, 20, 86
Daniel Luis Mascia Vieira .....	78
Daniel Nogoceke Sifuentes .....	32
Daniela Aguiar De Souza .....	24
Dulce Alves da Silva .....	78
Dulce R. N. Warwick.....	80
Edison Ryoiti Sujii .....	46
Eliana M. G. Fontes .....	43, 46, 47, 48, 50, 51, 53, 54
Emanuel Felipe Medeiros Abreu .....	20, 71, 86
Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire .....	34, 39, 55, 73
Eudes De Arruda Carvalho .....	84
Fabio Gelape Faleiro.....	20, 86
Francisco Aragão .....	70

Giovanni Rodrigues Vianna .....	70
Isabela T. Lourenço-Tessutti.....	87
João Henrique Moreira Viana .....	37
Joseilde Oliveira Silva Werneck .....	81, 82
Juliana Dantas De Almeida .....	34, 39
Julio Carlyle Macedo Rodrigues .....	70
Loeni Lüdke Falcão .....	81, 82
Lorena Ramos Da Mata .....	74
Luciano Paulino Silva .....	11, 21, 23, 26, 27, 28, 29, 39, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 68
Lucilia Helena Marcellino .....	81, 82
Marcelo Lopes Da Silva .....	36
Marcio Martinello Sanches .....	14, 18, 22
Margot Alves Nunes Dode .....	31, 32, 33, 35, 37, 38, 45
Maria Carolina Blassioli Moraes .....	52, 69, 72
Maria Eugênia Lisei De Sá .....	77, 78, 87
Maria Fátima Grossi De Sá .....	64, 77, 83, 87
Marilia De Castro Rodrigues Pappas .....	74
Marilia Santos Silva .....	18, 22
Mario Alfredo De Passos Saraiva .....	76
Marlinda Lobo De Souza .....	14, 18
Mauricio Franco .....	31, 32, 35
Miguel Borges .....	52, 69, 72
Natalia Florêncio Martins .....	55
Norton Porto Benito .....	39
Patrícia Ianella .....	30, 41, 42, 44
Patricia Messenberg Guimarães .....	15, 66, 71, 75, 76, 87
Priscila Grynberg .....	12, 16, 73, 87

Raul Alberto Laumann .....	46, 47, 48, 52, 69, 72
Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro .....	24
Roberto Coiti Togawa .....	12, 16, 73
Rogério B. Lopes .....	39
Rose Gomes Monnerat .....	12, 13, 16, 17
Samuel Rezende Paiva .....	42
Simone Da Graça Ribeiro .....	20, 86
Sueli Corrêa Marques De Mello .....	19
Tallyrand Moreira Jorcelino .....	22
Thales Lima Rocha .....	39, 79, 88
Vera Lucia Perussi Polez .....	79, 88
William Sihler .....	18

# Índice de Autores:

Obs: A Numeração corresponde a página

Abreu, E. F. M. ....	20, 71, 86
Abreu, K. de B. R. ....	68
Aguiar, M. N. de ....	76
Alcântara, B. de S. ....	74
Almeida, J. D. de ....	34, 39
Alves, D. ....	78
Alves, W. B. dos S. ....	74
Anjos, R. M. dos ....	75
Aquino, M. ....	52
Aragão, F. ....	70
Araujo, A. C. G. de ....	66
Araujo, G. L. T. ....	85
Araujo, T. F. de ....	27
Arraes, F. B. M. ....	77, 83, 87
Assunção, R. M. ....	49
Barreto, B. T. da C. ....	61
Basso, M. F. ....	64, 87
Benito, N. P. ....	39
Berbert, P. S. ....	75
Berçot, M. R. ....	13, 17
Bevitori, R. ....	65
Bílio, J. V. F. ....	34, 39
Bonatto, C. C. ....	62
Borges, M. ....	52, 69, 72
Braga, I. G. C. ....	36

Brandão, P. de F. P. ....	50, 53
Brandão, R. P. ....	46, 51, 54
Brasileiro, A. C. M. ....	15, 66, 71, 75, 76
Brilhante, G. C. ....	40
Brito, C. H. de ....	16
Caetano, A. R. ....	30, 41, 42, 44
Caixeta, F. M. C. ....	38
Campelo, A. A. ....	30
Campos, M. de A. ....	86
Cardoso, A. L. B. ....	19
Carneiro, R. M. D. G. ....	24
Carvalho, J. ....	35
Carvalho, C. ....	39
Carvalho, E. de A. ....	85
Carvalho, R. de C. P. ....	22
Castro, B. S. de ....	72
Castro, C. S. P. de ....	63
Castro, M. ....	65
Cintra, M. M. D. F. ....	65
Cogitskei, M. ....	43, 47, 48, 50
Costa, R. S. ....	43, 46, 47, 48, 50, 51, 54
Costa, V. S. de S. ....	52
Daldegan, D. A. ....	43, 50, 53
Danchin, E. G. J. ....	87
Dias, L. R. O. ....	37
Dode, M. A. N. ....	31, 32, 33, 35, 37, 38, 45

Dutra, J. K. S. ....	63
Eckstein, B. ....	80
Engler, J. A. ....	87
Evangelista, N. C. L. ....	26, 58
Falcão, L. L. ....	81, 82
Faleiro, F. G. ....	20, 86
Faria, O. A. C. de ....	32, 35, 37, 38, 45
Farias, F. G. ....	44
Favaro, S. P. ....	69
Felix, G. P. ....	20
Fernandes, G. de O. ....	31, 32
Fernandez, D. ....	73
Fernando, L. ....	86
Ferreira, A. D. C. de L. ....	16
Ferreira, C. L. ....	11
Ferreira, D. D. S. ....	15
Ferreira, D. da S. ....	75
Fidelis, A. A. G. ....	31, 35, 38, 45
Fontenele, R. S. ....	20
Fontes, E. M. G. ....	46, 47, 48, 50, 51, 53, 54
Fontes, W. ....	65
Franco, M. ....	31, 32, 35
Franco, O. L. ....	65, 77
Freire, E. V. S. A. ....	34, 39, 55, 73
Freitas, D. M. T. A. ....	20
Gelelete, T. B. ....	14
Grynberg, P. ....	12, 16, 73, 87

Guerrelhas, A. C. ....	44
Guijo, M. M. ....	21, 23
Guimarães, G. C. ....	18
Guimarães, P. M. ....	15, 66, 71, 75, 76,87
Hoffmann, L. V. ....	63
Ianella, P. ....	30, 41, 42, 44
Jesus, O. N. de ....	20
Jorcelino, T. M. ....	22
Junior, F. B. R. ....	21, 23
Júnior, N. T. de A. ....	41
Kawamoto, T. S. ....	31
Kussano, N. R. ....	33
Lacerda, I. P. de ....	35
Lacorte, C. ....	15, 20, 86
Lafayette, P. ....	70
Laumann, P. D. ....	78
Laumann, R. A. ....	46, 47, 48, 52, 69,72
Lauria, V. B. de M. ....	60
Leme, L. ....	31, 33, 35
Lima, D. D. ....	46, 51, 54
Lima, A. C. R. ....	21, 23
Lopes, L. de A. Z. ....	71
Lopes, R. B. ....	39
Luz, J. R. P. ....	34, 39
Macedo, L. B. ....	43, 47, 48, 50
Magarelli, G. ....	63
Maia, Y. M. ....	24

Marcellino, L. H. ....	81, 82
Martins, A. da C. Q. ....	75, 76
Martins, J. M. T. ....	85
Martins, N. F. ....	55
Mata, L. R. da ....	74
Mattos, V. da S. ....	24
Maximiano, M. R. ....	21, 23
Mehta, A. ....	21, 23, 55, 65, 67, 77, 84
Meiros, I. L. O. ....	36
Mello, G. N. de ....	64
Mello, R. ....	65
Mello, S. C. M. de ....	19
Melo, B. P. de ....	87
Mendes, P. da N. ....	55, 84
Mendoza, R. S. de ....	36
Meunier, A. C. ....	65
Michereff, M. F. F. ....	52, 72
Miller, R. N. G. ....	15
Miranda, J. E. ....	16
Monnerat, R. G. ....	12, 13, 16, 17
Montalvão, S. C. L. ....	13
Moraes, M. C. B. ....	52, 69, 72
Moreira, V. J. V. ....	87
Moreno, A. B. ....	22
Morgante, C. V. ....	83, 87
Mota, A. ....	15, 66, 76, 77
Motta, I. de O. ....	34, 39

Nascimento, E. B. do .....	66
Neto, L. ....	57
Neto, O. B. de O. ....	65
Neves, W. dos S. ....	22
Nogueira, I. ....	20, 86
Oliveira, T. N. ....	76
Orth, D. ....	42
Paiva, S. R. ....	42
Pappas, M. de C. R. ....	74
Parrott, W. ....	70
Peixoto, J. R. ....	20, 36
Pereira, B. de O. ....	38, 45
Pereira, B. M. ....	71, 76
Pereira, T. de M. ....	62
Périn, C. ....	65
Petitot, A. S. ....	73
Pires, C. S. S. ....	43, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 53, 54
Polez, V. L. P. ....	79, 88
Pupe, J. M. ....	39, 59
Purcena, T. V. ....	12, 16
Queiroz, P. R. M. ....	12, 13, 16, 17
Rabello, J. A. V. S. ....	81, 82
Ramos, A. F. ....	40, 42
Ramos, D. de L. ....	43, 46, 47, 48, 50, 51, 54
Reis, L. A. dos .....	88
Resende, R. de O. ....	20
Ribeiro, D. G. ....	21, 23, 77, 84

Ribeiro, N. T. M. ....	71
Ribeiro, S. da G. ....	20, 86
Ribeiro, T. P. ....	64
Rios, T. B. ....	21, 23
Rocha, J. L. ....	44
Rocha, T. L. ....	39, 79, 88
Rocha, E. ....	43, 47, 48, 49, 50
Rocha, G. T. ....	13, 17
Rodrigues, J. C. M. ....	70
Rosa, R. C. C. ....	20
Ruas, F. L. ....	35
Sá, D. M. de ....	87
Sá, M. E. L. de ....	77, 87
Sá, M. F. G. de ....	64, 77, 83, 87
Sanches, M. M. ....	14, 18, 22
Santos, A. G. M. ....	40
Santos, C. dos ....	67, 84
Santos, I. R. ....	21, 23, 67
Santos, J. R. dos ....	36
Santos, L. M. ....	40
Santos, M. F. A. dos ....	24
Santos, N. C. ....	83
Santos, Y. de S. ....	86
Saraiva, M. A. de P. ....	76
Scarabuci, L. T. ....	80
Severo, E. A. F. ....	67
Sifuentes, D. N. ....	32

Sihler, W. ....	18
Silva, B. D. M. ....	40
Silva, A. R. V. da ....	26, 58
Silva, E. Y. Y. da ....	13, 16, 17
Silva, H. C. da ....	43, 47, 48, 50
Silva, K. de B. da ....	85
Silva, L. P. ....	11, 21, 23, 26, 27,28, 29, 39, 57, 58,59, 60, 61, 62, 68
Silva, M. L. da ....	36
Silva, M. S. ....	18, 22
Silva, N. M. L. ....	30, 41, 44
Silva, P. A. ....	52, 69
Silva, R. G. da ....	63
Silva, R. V. da ....	79
Sousa, M. M. ....	29
Sousa, M. V. de ....	65
Souza, D. A. de ....	24
Souza, J. K. de ....	70
Souza, L. S. ....	46, 49, 51
Souza, M. L. de ....	14, 18
Sujii, E. R. ....	46
Távora, F. T. P. K. ....	65
Teixeira, A. K. ....	44
Tessutti, I. T. L. ....	87
Togawa, R. C. ....	12, 16, 73
Togni, P. H. B. ....	49
Tripode, B. M. D. ....	63
Urban, A. F. ....	85

Varsani, A. ....	20, 86
Vaz, G. M. da R. ....	28
Veiga, A. D. ....	39
Vernet, A. ....	65
Viana, J. H. M. ....	37
Vianna, G. R. ....	70
Vidal, A. H. ....	20, 86
Vidal, L. de A. ....	34, 39, 73
Vieira, D. L. S. ....	78
Warwick, D. R. N. ....	80
Werneck, J. O. S. ....	81, 82
Yamagishi, M. E. B. ....	44
Zacaroni, A. B. ....	19

# Índice de Instituições

---

Aquatec Larvicultura de Camarão Marinho, Canguaretama, RN  
Arizona State University, EUA  
Assistência Técnica e Extensão Rural do DF, Brasília, DF  
Centro Universitário de Brasília – (UniCEUB), Brasília, DF  
CIRAD, France  
Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ  
Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE  
Embrapa Algodão, Campina Grande, PB  
Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO  
Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO  
Embrapa Café, Brasília, DF  
Embrapa Cerrados, Brasília, DF  
Embrapa Informática Agropecuária, Campinas, SP  
Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA  
Embrapa Semiárido, Petrolina, PE  
Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE  
Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Viçosa, MG  
Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier, França  
Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) - Sophia Antipoli, France  
Instituto Mato-grossense do Algodão - Cuiabá - MT  
UDF Centro Universitário, Brasília, DF  
UNICEPLAC, Brasília, DF  
Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF  
Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF  
Universidade da Georgia, Athens, EUA  
Universidade de Brasília, Brasília, DF  
Universidade de Sevilha, Espanha  
Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB  
Universidade Federal de Campina Grande, Cajazeiras, PB  
Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB  
Universidade Federal de Goiás, Goiana, GO  
Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG  
Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES  
Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR  
Universidade Paulista, Brasília, DF  
University of Georgia, Athens, EUA



---

*Recursos Genéticos e  
Biotecnologia*

MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO

