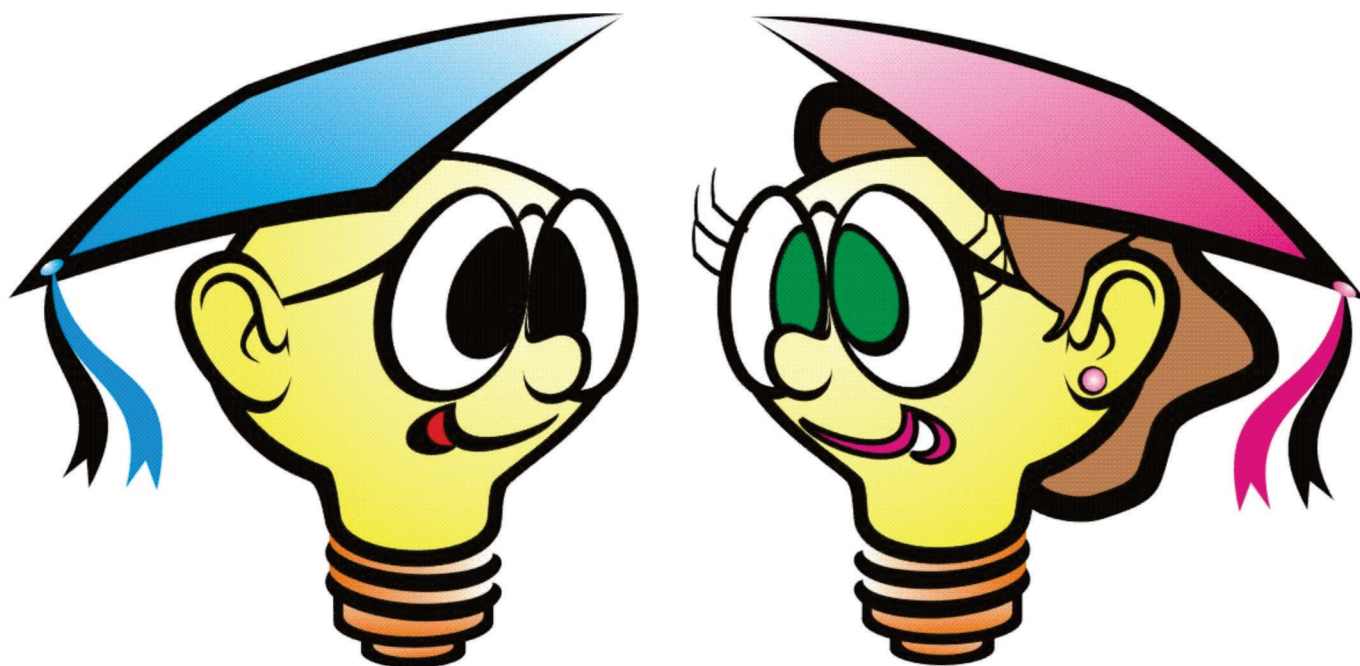


*Resumos*

**XXVII**

**Encontro do Talento Estudantil 2024**

Brasília, 28 a 30 de agosto de 2024  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia





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

e-ISSN 0000 0000

# ***Eventos Técnicos & Científicos***

**2**

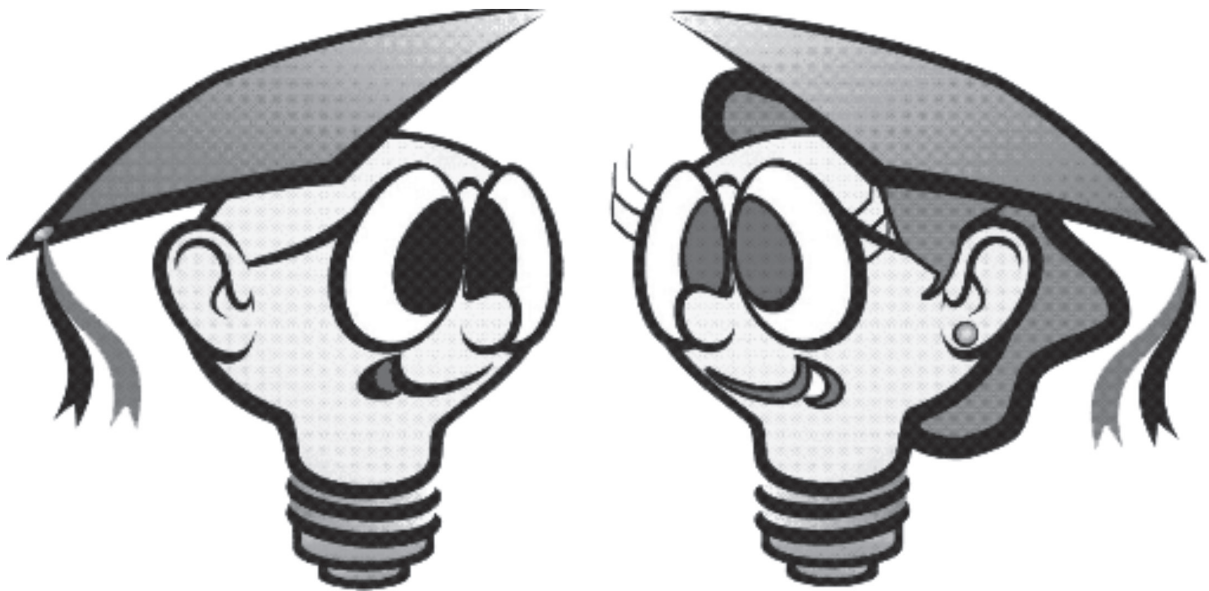
Outubro, 2024

## *Resumos*

### **XXVII**

## ***Encontro do Talento Estudantil 2024***

Brasília-DF, 28 a 30 de agosto de 2024



***Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia***

*Brasília, DF  
2025*

**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**  
Parque Estação Biológica, PqEB, Av. W5 Norte (final)  
www.embrapa.br/recursos-geneticos-e-biotecnologia  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente  
*Priscila Grynberg*

Secretária-executiva  
*Ana Flavia do Nascimento Dias*

Membros  
*Andrielle Camara Amaral Lopes, Bruno Machado  
Teles Walter, Carolina Vianna Morgante, Débora Pires  
Paula, Edson Junqueira Leite, Marcos Aparecido  
Gimenes, Solange Carvalho Barrios Roveri Jose e  
Sueli Corrêa Marques de Mello*

Revisão de texto  
Comissão técnico-científica

Normalização bibliográfica  
*Rosameres Rocha Galvão (CRB-1/2122)*

Projeto gráfico  
*Leandro Sousa Fazio*

Diagramação  
*Adilson Werneck*

Foto da capa  
*Paulo Euler*

Ilustrações  
*Gustavo Coelho*

Publicação digital: PDF

**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 (27 : 2024 : Brasília, DF).

Resumos: XXVII Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 28-30 de agosto de 2024, Brasília, DF / – Brasília, DF : Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2025.

e-ISSN 0000-0000

173p. -- (Eventos Técnicos e Científicos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2).

1. Recursos genéticos. 2. Biotecnologia. 3. Controle biológico. I. Título: XXVII Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CDD: 575.1

## Comissão organizadora

---

*Marcos Aparecido Gimenes*

Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Adilson Amaral Werneck*

Técnico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Priscila Grynberg*

Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Naiara Milagres Augusto da Silva*

Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

## Comissão técnica e/ou científica

---

*Marcos Aparecido Gimenes*

Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Luciano Paulino da Silva*

Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Priscila Grynberg*

Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Naiara Milagres Augusto da Silva*

Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Raul Alberto Laumann*

Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Elisângela Gomes Fidelis*

Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Patrícia Ianella*

Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

# Comissão avaliadora

---

*Alexandre Nunes Cardoso*

Pesquisador, Embrapa Agroenergia, Brasília, DF

*Alisson Ferreira Dantas*

Pesquisador colaborador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*André Felipe Câmara Amaral*

Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Andrielle Câmara Amaral Lopes*

Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Antonieta Nassif Salomão*

Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Carolina Vianna Morgante*

Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Cassio Costa da Silva Curi*

Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Cecília Waichert Monteiro*

Professora, Universidade de Brasília, UnB, Brasília, DF

*Cíntia Caetano Bonatto*

Pesquisadora colaboradora, Universidade de Brasília, UnB, Brasília, DF

*Deise Maria de Oliveira*

Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Eduardo Fernandes Formighieri*

Pesquisador, Embrapa Agroenergia, Brasília, DF

*Eduardo Romano de Campos Pinto*

Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Eudes de Arruda Carvalho*

Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Juliana Junqueira Pinelli*

Pesquisadora colaboradora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Leila Maria Gomes Barros*

Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Loeni Ludke Falcão*

Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Marília de Castro Rodrigues Pappas*

Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Maura Vianna Prates*

Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Michele Aquino*

Pesquisadora colaboradora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Miriam Michereff*

Pesquisadora colaboradora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Paula Daiana de Paulo*

Pesquisadora colaboradora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Rosa de Belém das Neves Alves*

Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Sayuri Cristina Santos Takada da Silva*

Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

*Sérgio Eustáquio de Noronha*

Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

# Apresentação

---

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia realizou a 27ª Edição do Encontro do Talento Estudantil, entre os dias 28 a 30 de agosto de 2024. Este evento promove o intercâmbio de conhecimentos entre pesquisadores, professores e estudantes das instituições de pesquisa e ensino do Distrito Federal. O Encontro tem como objetivo incentivar e valorizar a produção científica de estudantes de graduação e pós-graduação que atuam em pesquisas voltadas à caracterização, conservação e biotecnologia de recursos genéticos animais, microbianos e vegetais. Além disso, o evento possibilita a divulgação dos resultados das pesquisas realizadas sob a orientação de equipes de alta qualidade.

Por meio dessas iniciativas, a Embrapa contribui para a formação acadêmica e científica brasileira, oferecendo aos estudantes a oportunidade de aprender e praticar o método científico, além de ampliar seus conhecimentos e interagir com pesquisadores experientes.

Nesta edição, foram inscritos 162 trabalhos, distribuídos nas seguintes áreas temáticas: Biotecnologia, Controle Biológico, Quarentena, Recursos Genéticos Animais e Recursos Genéticos Vegetais. Os trabalhos foram apresentados em forma de pôsteres, avaliados por uma Comissão Julgadora composta por pesquisadores altamente qualificados. Os resumos dos trabalhos são publicados nos anais do evento, disponíveis no site da Embrapa.

Como forma de reconhecimento e incentivo, os melhores trabalhos destacados pela Comissão Julgadora receberam uma premiação simbólica. O Encontro de 2024 também incluiu 18 apresentações orais no formato “Minha Pesquisa na Embrapa em 180 segundos”. Essa sessão foi um sucesso, com apresentações criativas e envolventes que permitiram aos participantes explicar suas pesquisas para a plateia em apenas três minutos. Uma comissão julgadora, composta por profissionais de diversas áreas, selecionou os melhores trabalhos para premiação.

Outra atração foi o concurso de fotografia, que encantou a todos com 14 imagens relacionadas às pesquisas em andamento. Diante do sucesso da iniciativa, a Comissão Organizadora decidiu incluir essa categoria como parte permanente dos futuros Encontros do Talento Estudantil.

Parabenizamos todos os participantes e agradecemos às pessoas que contribuíram para a realização do 27º Encontro do Talento Estudantil. Nosso reconhecimento se estende aos empregados da Unidade pela orientação e apoio aos estudantes, à Comissão Julgadora e às demais unidades da Embrapa que colaboraram para o sucesso do evento.

Marcelo Lopes da Silva  
Chefe-Geral  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia





# Sumário

---

<b>CONTROLE BIOLÓGICO</b> .....	16
Inibição do crescimento micelial de <i>Rhizoctonia solani</i> e supressão do tombamento de plântulas de soja por isolados de <i>Trichoderma</i> .....	17
Sinais químicos e acústicos de <i>Euscepes postfasciatus</i> (Fairmaire, 1849) (Coleoptera: Curculionidae) visando a sua aplicação no manejo da praga .....	18
Inibição do crescimento micelial de <i>Thielaviopsis</i> sp. por compostos orgânicos não voláteis de linhagens de <i>Trichoderma</i> ... ..	19
Enriquecimento da Coleção de Agentes de Controle Biológico da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia .....	20
Expressão heteróloga de novas toxinas <i>Cry</i> contra bicudo-do-algodoeiro em diferentes sistemas de expressão .....	21
Identificação de toxinas de <i>Bacillus thuringiensis</i> com potencial de uso no tratamento a doenças helmínticas .....	22
O potencial das vespas parasitoides: uma abordagem comparativa da biologia reprodutiva e do comportamento de oviposição de populações de <i>Telenomus podisi</i> .....	23
Influência dos voláteis do milho induzidos por herbivoria na seleção de plantas hospedeiras por <i>Dalbulus maidis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	24
Explorando a comunicação química da cigarrinha-do-milho <i>Dalbulus maidis</i> : bioensaios de dupla escolha demonstraram que machos são produtores do feromônio sexual .....	25
Virulência de uma população de <i>Meloidogyne inornata</i> em tomateiro resistente cv. Nemadoro .....	26
Prospecção de biomoléculas presentes no ovipositor da micro-vespa <i>Telenomus podisi</i> (Scelionidae) com potencial para o controle biológico de percevejos em soja .....	27
Linhagens alopatricas de <i>Euschistus heros</i> no Brasil produzem diferentes quantidades de feromônio sexual, mas esta diferença não afeta a resposta comportamental das fêmeas .....	28
Identificação e avaliação dos compostos defensivos de <i>Diceraeus melacanthus</i> semioquímicos para o controle sustentável de pragas .....	29
Síntese verde e convergente do feromônio de <i>Sphenophorus levis</i> – o uso de enzimas na resolução cinética dos isômeros 2(r/s)-metil-4-octanol .....	30
Influência dos metabólitos secundários de diferentes variedades de <i>Brachiaria</i> sobre o comportamento de busca de hospedeiros de <i>Blissus sp</i> (Hemiptera: Lygaeidae) .....	31
Nanoformulações à base de lignina com o feromônio do percevejo <i>Euschistus heros</i> , visando potencial uso no manejo de pragas .....	32
Multiplicação, análise e preservação de vírus com potencial de biocontrole em Coleção de Vírus de Invertebrados da Embrapa/Cenargen .....	33
Comportamento de parasitismo de <i>Telenomus podisi</i> provenientes de diferentes regiões do Brasil quando forrageando posturas de <i>Euschistus heros</i> .....	34
<i>Blissus sp.</i> (Hemiptera: Lygaeidae) produz dois sesquiterpenos com potencial de serem feromônios sexuais .....	35

Ação antagonista de <i>Trichoderma</i> spp. contra o fitopatógeno <i>Sclerotium rolfsii</i> .....	36
Extratos de sementes de acessos de <i>Arachis hypogaea</i> da região do alto Xingu com potencial nematotóxico contra <i>Meloidogyne incognita</i> .....	37
Desenvolvimento de software com aprendizagem de máquina para contagem e classificação de fitonematóides .....	38
Patogenicidade de linhagens de <i>Metarhizium</i> e <i>Beauveria</i> a ninfas e ovos de <i>Euschistus heros</i> e <i>Diceraeus melacanthus</i> (Hemiptera: Pentatomidae) .....	39
Perfil químico de voláteis da batata-doce em dois estágios fenológicos: raiz tuberosa e fase foliar .....	40
Bactérias produtoras de biossurfactantes utilizadas para controle biológico contra insetos da ordem <i>Lepidoptera</i> .....	41
Avaliação in vitro do efeito de <i>Bacillus aryabhatai</i> ao nematoide-das-galhas <i>Meloidogyne enterolobii</i> .....	42
Prospecção de extratos vegetais como alternativa sustentável no controle do nematoide-das-galhas .....	43
Ação inseticida de um gene <i>Cry</i> para controle de <i>Helicoverpa</i> spp. ....	44
Análises isotópicas indicam complementariedade funcional das assembleias de formigas (Formicidae) em diferentes usos de solo no Cerrado .....	45
Análise da proteína Cry60ba4 de <i>Bacillus thuringiensis</i> em <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	46
Diferentes usos de solo impactam a diversidade, composição e funcionalidade de assembleias de formigas (Formicidae) no Cerrado .....	47
Caracterização de dois isolados de <i>Chrysodeixis includens</i> nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) para controle da lagarta falsa-medideira, <i>Chrysodeixis includens</i> (Walker) ( <i>Lepidoptera</i> : Noctuidae) .....	48
Ajuste do protocolo de bioensaios para avaliação do efeito entomotóxico de moléculas no controle de <i>Euschistus heros</i> in vitro .....	49
Efeito de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>Kurstaki</i> e <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> sobre imaturos de abelhas sem ferrão .....	50
<b>RECURSOS GENÉTICOS ANIMAIS</b> .....	51
Morfometria de bovinos da raça Crioula Lageana das variedades aspada e mocha .....	52
Diversidade genética de equinos do grupo genético Baixadeiro no estado do Maranhão .....	53
Diversidade genética e manejo populacional dos ovinos Bergamácia e Morada Nova no Campo Experimental Sucupira ....	54
Conhecimento e preservação: montagem de coleções didáticas de abelhas nativas para iniciativas de educação ambiental no Distrito Federal .....	55
Manejo genético núcleo de conservação de caprinos da Embrapa Meio Norte .....	56
Manejo genético do núcleo de conservação dos ovinos pantaneiros da Embrapa .....	57
Atividade de forrageamento como parâmetro de qualidade de ninhos de abelha nativa para introdução em agroecossistemas .....	58
Avaliação da espécie <i>Melipona quadrifasciata</i> (Apidae: Meliponini) para polinização complementar em cultivos abertos de tomateiros orgânicos .....	59
Conservação e caracterização genética de populações da raça bovina Curraleiro Pé-duro .....	60
Abelhas dominantes não afetam os polinizadores do maracujazeiro em pequenas propriedades rurais no bioma Cerrado ..	61

Diversidade genética do camarão gigante-da-malásia ( <i>Macrobrachium Rosenbergii</i> de Man 1879) com base no sequenciamento do gene mitocondrial COI .....	62
Diversidade genética do <i>Arapaima gigas</i> (Pirarucu) com base no gene COI do DNA mitocondrial .....	63
<b>RECURSOS GENÉTICOS MICROBIANOS</b> .....	64
Raças de populações de <i>Meloidogyne enterolobii</i> de diferentes culturas no Brasil: diversidade genética e teste de hospedeiros diferenciais .....	65
Ocorrência do Bean-associated cytorhabdovirus e Cowpea mild mottle virus em diferentes espécies de <i>Passiflora</i> no Brasil .....	66
Caracterização do Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV) de maracujazeiros no Brasil: evidências de um complexo de isolados de espécies de CABYV .....	67
Ocorrência de <i>Allexivirus</i> em <i>Vanilla planifolia</i> .....	68
Identificação de quatro prováveis novas espécies de <i>Begomovirus</i> associados a <i>Hyptis</i> sp. ....	69
Identificação de vírus transmitidos por <i>Bemisia tabaci</i> em soja na safra de 2024 .....	70
<b>RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS</b> .....	71
Criopreservação de ápices caulinares de acessos de batata por droplet vitrification .....	72
Identificação de proteínas-alvo para o controle da mosca minadora do melão ( <i>Liriomyza sativae</i> ) .....	73
Caracterização de extratos vegetais de acessos de Bancos Ativos de Germoplasma da Embrapa para medida da atividade antioxidante e compostos fenólicos totais .....	74
Conservação in vitro de germoplasma de espécies de baunilha ( <i>Vanilla phaeantha</i> Rchb.F. e <i>Vanilla planifolia</i> Jack ex. Andrews) .....	75
Síntese verde de nanopartículas de prata, cobre e prata-cobre utilizando acessos de pimentas .....	76
Uso de recursos genéticos vegetais para a formulação de lipossomas .....	77
BAG Cucurbitaceae: avaliação da atividade antioxidante total e conteúdo fenólico total .....	78
Síntese de nanopartículas lipídicas sólidas a partir de recursos genéticos vegetais .....	79
Seleção e triagem de recursos genéticos vegetais para o desenvolvimento de nanoemulsões .....	80
Genes de suscetibilidade de <i>Coffea arabica</i> identificados por análise proteômica durante a interação café <i>Hemileia vastatrix</i> .....	81
Estabelecimento in vitro de acessos de mandioca açúcarada para criação de coleção e incorporação no Banco Genético ....	82
Caracterização fitoquímica das folhas de acessos de pimenta <i>Capsicum</i> cultivados em ambiente controlado .....	83
Identificação e caracterização de isolados de <i>Xanthomonas</i> spp. causadoras da mancha bacteriana do tomateiro por meio de técnicas moleculares .....	84
Avaliação da atividade antioxidante total de acessos de pimenta do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa pelo método de redução do ferro .....	85
Modulação transcricional e traducional via CRISPR-CAs visando a tolerância da soja a nematoides de galhas .....	86
Banco de DNA vegetal da Embrapa: uma ferramenta de apoio à conservação .....	87

Avaliação da integridade de transcritos de feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) armazenados em sementes e envolvidos na germinação usando QPCR .....	88
Identificação de tempos de envelhecimento artificial pré e pós quedas abruptas do poder de germinação em sementes de feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) .....	89
Efeitos da embebição de sementes de <i>Phaseolus vulgaris</i> na integridade e concentração do RNA .....	90
Nova estratégia para aumento da tradução gênica via CRISPR/Cas9: o gene GmPR10 como estudo de caso visando a tolerância a <i>Meloidogyne incognita</i> em soja .....	91
Análise da expressão diferencial de genes envolvidos na interação de <i>Musa acuminata</i> subsp. <i>burmannicoides</i> var. Calcutta 4 e <i>Fusarium oxysporum</i> F. sp. cubense raça STR4 .....	92
Identificação e caracterização funcional de genes e vias metabólicas envolvidas na germinação de sementes de feijoeiro comum ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) .....	93
Variáveis que afetam o grau de dificuldade de conservação <i>ex situ</i> dos recursos genéticos de espécies silvestres de <i>Arachis</i> (Fabaceae) .....	94
Extratos botânicos: potencial no controle sustentável de pragas .....	95
Otimização do protocolo da dissecação de estruturas florais e extração de RNA de <i>Bertholletia excelsa</i> e <i>Couroupita guianensis</i> .....	96
Metanálise de dados transcritômicos de cultivares suscetíveis de <i>Solanum lycopersicum</i> para seleção de genes candidatos à edição por CRISPR/Cas . .....	97
Comparação de transcriptomas de amostras de feijão conservadas em longo prazo .....	98
<b>QUARENTENA VEGETAL</b> .....	99
Artrópodes associados a mudas de cacau, café e citros em viveiros em Rolim de Moura, Rondônia .....	100
Percevejo-das-gramíneas, <i>Blissus</i> spp. (Hemiptera: Blissidae): revisão de literatura e apontamentos de soluções para o manejo sustentável .....	101
Metodologia para criação massal de percevejos <i>Blissus</i> sp. (Hemiptera: Blissidae) .....	102
Risco de introdução de pragas quarentenárias em cultivos da videira no Distrito Federal .....	103
Biologia e desenvolvimento de <i>Blissus antillus</i> (Hemiptera: Blissidae) em diferentes gramíneas forrageiras .....	104
Abordagem múltipla na análise fitossanitária para verificação da presença de <i>Xylella fastidiosa</i> em mudas de Jacarandá-mimoso .....	105
Análise fitossanitária de germoplasma de <i>Agave tequilana</i> identifica contaminação por bactérias fitopatogênicas .....	106
Primeiro relato de <i>Wolbachia</i> em percevejo-das-gramíneas ( <i>Blissus</i> sp.) .....	107
Espécies de <i>Fusarium</i> interceptadas na Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal em 2024 .....	108
<b>BIOTECNOLOGIA</b> .....	109
Comparação das atividades antimicrobianas de nanopartículas metálicas sintetizadas por rotas verde e química .....	110
Embalagem biodegradável para mudas de morangueiro produzida com compósito à base de casca de arroz .....	111
Edição genômica utilizando a ferramenta CRISPR/Cas9 em células e embriões para inserção do gene repórter EGFP no locus H11 no genoma bovino .....	112

Transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) como alternativa para a maturação de ovócitos bovinos .....	113
Produção de análogos de pescados pela utilização de farinha da polpa de baru por meio de impressão 3D .....	114
Como a impressão 3D pode revolucionar o aproveitamento da farinha da polpa do baru na criação de alimentos saudáveis e saborosos? .....	115
Otimização de protocolo para transformação de diferentes variedades de tomateiro ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) .....	116
Validação de resistência de população do bicho mineiro do cafeeiro ( <i>Leucoptera coffeella</i> ) ao clorantraniliprole .....	117
Expressão de genes de suscetibilidade em tomateiro durante o processo de infecção por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	118
Efeitos da transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) no ambiente folicular bovino – resultados preliminares .....	119
Manipulação molecular do genoma sintético JCVI-SYN1.0 com DCAS9 .....	120
Efeito do enraizamento e do comprimento da parte aérea na aclimação de brotos de tabaco transformados por <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	121
Efeito da melatonina nos meios de produção in vitro de embriões bovinos .....	122
Otimização da germinação e do crescimento inicial de tomateiros ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) em condições controladas de cultivo .....	123
Protocolo para aumentar a segurança do diagnóstico da anemia infecciosa equina .....	124
Uma abordagem trans-espécies para validação funcional <i>in root</i> e seleção de genes candidatos para resistência a fitopatógenos em leguminosas .....	125
Estabelecimento e otimização de protocolo de cultivo in vitro de raízes do tipo “hairy root” de espécies silvestres de <i>Arachis</i> visando a produção de resveratrol .....	126
Desinfestação de explantes foliares de <i>Piper aduncum</i> L. para cultivo in vitro .....	127
Otimização do processo de desinfestação de explantes foliares de <i>Piper aduncum</i> L. para estudos de calogênese e embriogênese somática .....	128
Caracterização do perfil de metilação de DNA da ilha CPG abrangendo o 5’UTR até o íntron 1 do gene OCT4/POU5F1 em gametas bovinos, embriões e células somáticas .....	129
Edição gênica em gene de suscetibilidade e superexpressão de gene de defesa visando resistência a doenças do tomateiro .....	130
Busca de genes para controle interno em análises de expressão diferencial de genes de interesse por PCR tempo real em <i>Leucoptera coffeella</i> .....	131
Avanços biotecnológicos para redução da suscetibilidade da soja a nematoides formadores de galhas .....	132
Potencial biotecnológico de nanopartículas de prata obtidas pelo método de síntese verde no controle de bactérias fitopatogênicas .....	133
Síntese verde de nanopartículas de prata utilizando acessos do Banco Ativo de Germoplasma de pimenta .....	134
Gene NOTCH como alvo de silenciamento via dsRNA em <i>Leucoptera coffeella</i> .....	135
Sistema de criação de <i>Leucoptera coffeella</i> em gaiolas em telados .....	136
Padrão de expressão de transcritos de genes efetores candidatos em <i>Meloidogyne incognita</i> via hibridização in situ .....	136

Análise do transcrito da espécie silvestre <i>Arachis duranensis</i> sob condições recorrentes de seca .....	138
Obtenção de tomateiro superexpressando o gene SW5B que confere resistência a tospovírus .....	139
Nova metodologia de microscopia de dissecação a laser visando a obtenção de RNA de células específico íntegro .....	140
CRISPR como ferramenta para edição genica visando silenciamento da cis-preniltransferase .....	141
Expressão transiente de três genes STS oriundos de diferentes espécies de <i>Arachis</i> em folhas de <i>Nicotiana benthamiana</i> via agroinfiltração .....	142
Produção de espiroínas utilizando a levedura <i>Metilotrófica Komagataella phaffii</i> como sistema de expressão heteróloga ..	143
Expressão do gene MdoDHN11 de maçã ( <i>Malus domestica</i> ) em soja visando aumento da tolerância ao estresse hídrico .....	144
Expressão do gene MdoDHN11 de maçã ( <i>Malus domestica</i> ) em tomate visando aumento da tolerância ao déficit hídrico ...	145
<i>Mycoplasmas</i> sem cromossomos como receptores de construções genéticas funcionais .....	146
Avaliação da resistência a <i>Verticillium dahliae</i> conferida pela superexpressão do gene ASTIR19 de <i>Arachis stenosperma</i> em linhagens transgênicas de tomate .....	147
Melhoria da digestibilidade da soja para alimentação via edição de genoma .....	148
Aquisição de memória de estresse na resposta de tolerância de <i>Arachis duranensis</i> a ciclos de seca e reidratação .....	149
Desenvolvimento de organelas sintéticas sem membrana como ferramenta para o controle de funções celulares em plantas .....	150
Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) para a maturação in vivo de ovócitos bovinos vitrificados .....	151
A suplementação de melatonina em meios de pré-maturação não afeta o resultado da produção in vitro de embriões bovinos .....	152
Desenvolvimento de tecnologia multifuncional empregando hidrogel como carreador de biofertilizante agrícola com efeito nematocida .....	153
Criação de um banco de extratos para valorização de recursos genéticos vegetais e desenvolvimento de novos ativos biológicos .....	154
Superexpressão dos genes GMGLB1-1 E GMEXPA-1 aplicada ao aumento da tolerância do algodoeiro a <i>Meloidogyne incognita</i> .....	155
Plataforma para edição livre de DNA em soja por bombardeamento de ribonucleoproteínas do sistema CRISPR/CAs9 ligadas a partículas de ouro .....	156
Efeito da quantidade de CCOS e da qualidade da injeção na recuperação de embriões após a TIFOI .....	157
Nanocristais: síntese a partir de recursos vegetais oriundos de Bancos Ativos de Germoplasma .....	158
Desenvolvimento de um spin-coater de baixo custo e avaliação da produção de filmes de alginato .....	159
Avaliação de risco de nanopartículas de dsRNA/Quitossana/TPP em abelhas do gênero <i>Scaptotrigona postica</i> .....	160
Validação funcional de novos putativos efetores de <i>Meloidogyne incognita</i> via RNAi, em <i>Nicotiana tabacum</i> .....	161
Expressão do gene sintético PG-PGIP, em soja, visando maior tolerância ao fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	162

Plantas de soja tolerantes ao déficit hídrico por meio da modulação da via de controle de morte celular programada induzida por estresses utilizando CRISPR/DCA9 .....	163
Perfil de metilação do DNA em células doadoras de núcleo para a clonagem por transferência nuclear .....	164
Avaliação da fisiologia ovariana em diferentes categorias de ovelhas Santa Inês utilizando protocolo curto de sincronização de estro .....	165
Expressão genica diferencial em resposta a <i>Spodopera frugiperda</i> em diferentes plantas hospedeiras de relevância agrícola .....	166
Plantas de algodão geneticamente modificadas com redução da suscetibilidade a nematoides formadores de galhas e à seca .....	167
Método diagnóstico para influenza aviária e programa para processamento automatizado de dados fluorimétricos .....	168
Biobalística como sistema de entrega integrases expressas por vetor viral baseado no <i>Potato virus X</i> (PVX) para ativação do gene GFP em plantas de <i>Nicotiana benthamiana</i> geneticamente modificadas .....	169
Validação in planta do gene GmNBS no controle de fitonematoides formadores de galhas na cultura da soja .....	170
Avaliação da puberdade em ovinos macho Santa Inês e Bergamácia .....	171
Manejo de insetos-praga: nanoemulsões de óleos essenciais como potenciais bioinsumos agrícolas sustentáveis .....	172

# ***Controle Biológico***





# Inibição do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e supressão do tombamento de plântulas de soja por isolados de *Trichoderma*

Amanda Silva Botelho<sup>(1)</sup>, Gean Soares De Jesus<sup>(1)</sup>, Amanda Gomes Moreira<sup>(1)</sup>, Luis Alberto Martins Palhares de Mello<sup>(2)</sup> e Sueli Corrêa Marques de Mello<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>Bolsistas, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - *Trichoderma* é um grupo de fungos que desempenham um importante papel econômico e ambiental na agricultura, devido ao seu uso como agentes de biocontrole de doenças de plantas. O fungo fitopatogênico *Rhizoctonia solani* é habitante do solo, capaz de sobreviver por longos períodos e infectar diversas espécies de plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar 20 isolados de *Trichoderma* quanto ao potencial para inibir o desenvolvimento do patógeno in vitro e para suprimir a doença *damping off* (tombamento) em plântulas de soja. Para tanto, foi realizado o experimento de pareamento de culturas, no qual antagonista e patógeno confrontaram-se em placas de Petri. Em casa de vegetação, uma mistura de solo e substrato (2:1), distribuída em vasos de 300 mL de capacidade, foi infestada com grãos de arroz colonizados por *R. solani* (um grão por vaso). Em seguida, aplicaram-se as suspensões de conídios dos isolados de *Trichoderma* ( $1 \times 10^7$  conídios/mL). Imediatamente após, duas sementes de soja foram depositadas em cada vaso. O controle consistiu na aplicação de água destilada. As avaliações foram realizadas aos vinte dias após, com base na porcentagem de plantas vivas. Todos os experimentos foram conduzidos três vezes, e constituíram-se de oito repetições cada, distribuídas inteiramente ao acaso. No experimento de pareamento de culturas, os valores médios de índice de inibição do crescimento micelial de *R. solani* atingiram pelo menos 50%. Destacaram-se os tratamentos com os isolados CEN1513 e CEN1559 pertencentes às espécies *T. koningiopsis* e *T. asperelloides*, respectivamente, o primeiro com 80,00% e o segundo, com 69,17%. Nos experimentos conduzidos em casa de vegetação, os isolados CEN1277, CEN1559, ambos pertencentes à espécie *T. asperelloides*, CEN1546 (*T. afroharzianum*), CEN1650, CEN1651, CEN1653, CEN 1656 e CEN 1658 (*Trichoderma* sp.) apresentaram as maiores porcentagens de plantas vivas (acima de 48%) comparados ao tratamento controle, este com 29%. Conclui-se que, os isolados citados possuem potencial para controlar o tombamento de plântulas da soja. Estudos futuros deverão ser conduzidos, buscando a compreensão das interações desses isolados de *Trichoderma* com as plantas e com o fitopatógeno.

**Termos para indexação:** controle biológico, damping off, fungos antagonistas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Sinais químicos e acústicos de *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire, 1849) (Coleoptera: Curculionidae) visando a sua aplicação no manejo da praga

Alice Pereira De Freitas<sup>(1)</sup>, Maria Carolina Blassioli Moraes<sup>(2)</sup>, Miriam Michereff<sup>(1)</sup>, Miguel Michereff Filho<sup>(2)</sup>, Miguel Borges<sup>(2)</sup> e Raul Alberto Laumann<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsistas, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire, 1849) (Coleoptera: Curculionidae) é uma das principais pragas da batata-doce. Uma alternativa para seu controle e monitoramento é a manipulação comportamental. Para isto é necessário conhecer o sistema de comunicação da espécie e os sinais envolvidos. A comunicação química de *E. postfasciatus* é desconhecida, sendo de suma importância para desenvolvimento de armadilhas de monitoramento e controle. A produção do som em Curculionidae está relacionada às situações de estresse (defesa) e, também em algumas espécies, à comunicação durante a reprodução (corte e cópula). O objetivo deste trabalho foi estudar os sinais químicos (feromônios) e estridulatórios (sons) produzidos por fêmeas e machos da espécie. Foram realizadas coletas de voláteis a partir de aerações dos adultos (N=100 a 120 por sexo), sendo as amostras analisadas por CG-DIC e CG-EM. Os sinais estridulatórios emitidos pelos indivíduos em situação de estresse foram registrados utilizando um acelerômetro piezoelétrico e um microfone de alta sensibilidade (N = 10 por sexo). As análises de extratos de aeração mostraram a presença de 4 compostos exclusivos das fêmeas. Em situação de estresse, os insetos emitem sinais estridulatórios caracterizados por uma longa sequência de pulsos, com ampla variabilidade entre indivíduos ( $53,3 \pm 7,37$  pulsos por emissão, GLM,  $z=-1,89$ ,  $P=0,06$ ), de pequena duração e que se repetem de forma uniforme ( $17,7 \pm 1,22$  pulsos/5 s, GLM,  $z=1,62$ ,  $P=0,18$ ). As fêmeas emitem os sinais em intervalos de tempo maiores do que os machos ( $20,7 \pm 3,17$  s fêmeas,  $14,9 \pm 2,92$  s machos, ANOVA,  $F=1,79$ ,  $gl=1,19$ ,  $P=0,19$ ). Os parâmetros temporais (duração do pulso, tempo de repetição) e dos espectros de frequências são similares entre machos e fêmeas. Encontram-se em desenvolvimento a identificação química dos compostos produzidos pelas fêmeas, o estudo de sua função no comportamento dos insetos, e o estudo dos sinais estridulatórios.

**Termos para indexação:** broca da batata-doce, ecologia química, bioacústica.



# Inibição do crescimento micelial de *Thielaviopsis* sp. por compostos orgânicos não voláteis de linhagens de *Trichoderma*

Gean Soares de Jesus <sup>(1)</sup>, Amanda Silva Botelho <sup>(1)</sup> e Sueli Corrêa Marques de Mello <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Fungos do gênero *Trichoderma* são utilizados para controle biológico na agricultura, pela sua reconhecida atuação, utilizando múltiplos mecanismos, tais como: parasitismo, competição, antibiose, indução de resistência e promoção de crescimento de plantas. Já o fungo *Thielaviopsis* sp. causa podridão em abacaxi, cana-de-açúcar, coco e palma de óleo, entre outras culturas, provocando grandes perdas na produção. Neste trabalho, estudou-se o efeito de 16 linhagens de *Trichoderma* no crescimento micelial do patógeno, por compostos orgânicos não voláteis produzidos pelo agente de biocontrole. As linhagens de *Trichoderma* foram cultivadas em meio BD (150 rpm, 25 °C) e, o filtrado resultante, coletado em membrana de nitrocelulose (0,45 µm). Os filtrados foram incorporados ao meio batata-dextrose-ágar (BDA), à razão de 25%. Em placas de Petri contendo o meio assim suplementado, cultivou-se o fungo *Thielaviopsis* sp. O tratamento controle consistiu de meio BD estéril. As placas foram incubadas a 25°C, com fotoperíodo de 12h, até a colonização completa da superfície do meio, quando se tomaram as medidas do diâmetro das colônias e foram, então, calculados os índices de inibição do crescimento micelial do patógeno. O experimento foi conduzido duas vezes, em delineamento ao acaso, com quatro repetições. Observou-se a inibição do desenvolvimento das colônias do *Thielaviopsis* por metabólitos produzidos pelas linhagens CEN1513, CEN 511, CEN 1080, CEN 162, CEN1559 e CEN1075, em mais de 50%. As três últimas linhagens citadas destacaram-se das demais, com índices de inibição de 71,5%, 75,6% e 76,5%, respectivamente. As colônias de *Thielaviopsis* assumiram coloração esbranquiçada nos tratamentos com os metabólitos de *Trichoderma*, sugerindo redução da esporulação e pigmentação do patógeno. Essa pesquisa será continuada com as linhagens de *Trichoderma* que apresentaram melhor desempenho neste experimento, na busca de controle para essa doença, especialmente em cana-de-açúcar. Estudos estão em curso para a identificação da espécie do patógeno.

**Termos para indexação:** controle biológico, metabólitos secundários, fungos antagonistas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Enriquecimento da coleção de agentes de controle biológico da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Amanda Gomes Moreira <sup>(1)</sup>, Amanda Silva Botelho <sup>(1)</sup>, Gean Soares de Jesus <sup>(1)</sup> e Sueli Corrêa Marques de Mello <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Reconhecidas pela capacidade de parasitar fitopatógenos, espécies de *Trichoderma* estão, atualmente, entre os fungos mais estudados e utilizados como agentes de biocontrole. O sucesso desses fungos reside, principalmente, nos seus variados mecanismos de ação, diretos (competição, parasitismo e antibiose), e indiretos (indução de resistência e promoção de crescimento de plantas). O objetivo deste trabalho foi enriquecer a Coleção de Agentes de Controle Biológico do Cenargen com isolados de *Trichoderma*. Foram coletadas 10 amostras de solo (1 kg cada) da rizosfera de diferentes espécies arbóreas da Mata Atlântica, a 10 cm de profundidade. Imediatamente encaminhadas ao Laboratório de Fitopatologia (PCB1), essas amostras foram secas ao ar durante três dias. Para os isolamentos, 10 g de solo de cada amostra foram acrescidos de 90 mL de água destilada e agitados a 150 rpm por 60 minutos para homogeneização. Foram, então, feitas diluições seriadas (cinco vezes) e estas, distribuídas em placas de Petri, contendo meio Martin (1mL/placa). As culturas foram incubadas em BOD, a 25 °C por três dias no escuro seguidos de cinco dias com fotoperíodo de 12h. Verificações foram realizadas diariamente, até o aparecimento das colônias típicas do gênero *Trichoderma*. Estas foram individualizadas em novas placas com meio BDA. Os procedimentos para produção de culturas monospóricas consistiram na diluição das colônias obtidas em água destilada esterilizada e semente de alíquotas (µL) dessas suspensões de esporos para placas contendo meio BDA. Após incubação por 12 horas à temperatura de 25 °C no escuro, utilizou-se de um microscópio estereoscópico para transferir, individualmente, conídios germinados para novas placas de Petri, contendo o mesmo meio. Após sete dias de cultivo, os isolados monospóricos foram preservados por três métodos: óleo mineral, nitrogênio líquido e ultra-freezer (-80 °C). Ao todo, foram obtidos 64 novos isolados, os quais estão adequadamente armazenados e cadastrados no Sistema Corporativo da Embrapa Redape. Parte desse material biológico já está sendo analisado quanto ao potencial de uso na agricultura e, oportunamente, serão realizadas as identificações taxonômicas, em nível de espécies.

**Termos para indexação:** biocontrole, coleção, *Trichoderma*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## Expressão heteróloga de novas toxinas Cry contra bicudo-do- algodoeiro em diferentes sistemas de expressão

Julia Moura do Rosário Santana <sup>(1)</sup>, Thuanne Pires Ribeiro <sup>(1)</sup>, Leonardo Lima Pepino Macedo <sup>(2)</sup>,  
Gustavo Caseca Ruffo <sup>(1)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Um dos principais desafios na cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) é o controle do bicudo-do-  
algodoeiro (*Anthonomus grandis*), a principal praga do algodão no Brasil. Embora existam variedades  
de algodão geneticamente modificadas (GM) que expressam toxinas Cry para resistência a insetos, não há,  
atualmente, variedades GM disponíveis no mercado especificamente para o controle do bicudo. Este estudo  
busca validar novas moléculas e mutantes Cry10Aa com potencial efeito entomotóxico contra o bicudo,  
visando o desenvolvimento de plantas GM resistentes a esta praga. Aqui, foram analisadas duas novas  
toxinas Bt (Cry23Aa e Cry37Aa), que demonstraram uma taxa de mortalidade significativa em insetos da  
ordem Coleóptera. As toxinas foram expressas separadamente para avaliações de toxicidade in vitro contra  
larvas de *A. grandis*, usando dieta artificial contendo as toxinas purificadas. Paralelamente, mutantes da  
toxina Cry10Aa foram desenvolvidos para melhorar a solubilidade e a atividade no intestino dos insetos.  
Células de *E. coli* BL21 (DE3) pLysS e *Bacillus thuringiensis* acristalífero foram transformadas com os genes  
mutantes de Cry10Aa para uma análise comparativa dos rendimentos de expressão. Os bioensaios revelaram  
que Cry23Aa reduziu a sobrevivência das larvas em aproximadamente 69%, enquanto Cry37Aa sozinho não  
mostrou diferença significativa em relação ao controle. A combinação de Cry23Aa e Cry37Aa resultou em  
100% de mortalidade das larvas, indicando sinergia entre as toxinas. A expressão heteróloga dos mutantes da  
toxina Cry10Aa em *E. coli* teve baixo rendimento, dificultando a purificação dessa toxina para os bioensaios in  
vitro. No entanto, a clonagem dos genes mutantes de Cry10Aa no vetor pSVP27A para expressão em *Bacillus  
thuringiensis* foi bem-sucedida, permitindo avaliações de toxicidade in vitro. A utilização de Bt como sistema  
de expressão mostrou-se promissora para superar os problemas de expressão e solubilidade observados em  
*E. coli*, possibilitando a produção de novas toxinas Cry com altos rendimentos e avançando na transformação  
genética de plantas. Este estudo representa um avanço significativo no controle sustentável de pragas na  
agricultura e na transformação genética de plantas.

**Termos para indexação:** *Bacillus thuringiensis*, bioensaio, cry23aa/cry37aa, cry10aa, *Anthonomus grandis*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico  
-CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à  
Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Identificação de toxinas de *Bacillus thuringiensis* com potencial de uso no tratamento a doenças helmínticas

Bruna Martins da Silva <sup>(1)</sup>, Sonia Frantz Canilha <sup>(1)</sup>, Caroline Bezerra <sup>(1)</sup>, Anderson de Oliveira Feitosa <sup>(1)</sup>, Barbara Eckstein <sup>(2)</sup>, Paulo Roberto Martins Queiroz <sup>(3)</sup> e Eduardo de Oliveira Melo <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Professor, UniCeUB, Brasília, DF.

**Resumo** - A ovinocultura apresenta grande importância para a pecuária mundial, entretanto as doenças parasitárias causadas por nematóides gastrointestinais estão entre os principais fatores que limitam a produção. Os produtores normalmente realizam o controle desses parasitas administrando anti-helmínticos farmacológicos. Entretanto, esses medicamentos estão perdendo sua eficácia pois vem aumentando cada vez mais a resistência desses vermes ao princípio ativo das fórmulas disponíveis no mercado. Portanto, novas abordagens precisam ser desenvolvidas para atacar esse problema e oferecer novas vias de combate a parasitoses por helmintos. Dentre as novas abordagens contra os nematoides, há estudos relacionados às propriedades nematicidas das proteínas cristal expressas pelas bactérias *Bacillus thuringiensis*. Entretanto, nenhum novo produto foi desenvolvido com esse tipo de controle biológico até o presente momento. Perante o exposto, o objetivo deste trabalho é descrever a ação de uma possível proteína Cry com atividade anti-helmíntica contra *Caenorhabditis elegans* e, assim, proporcionar uma solução viável para a problemática descrita. Os genes candidatos a nematicida que codificam as toxinas Cry6 e Cry11 foram clonados em vetores pHT (plasmid hot transcription) para expressão em células de *B. thuringiensis*. As bactérias foram cultivadas, extraídas e purificadas. Uma vez que a esses processos foram realizados, foi dado continuidade no experimento por intermédio de bioensaios com duração de 24h e 72h utilizando o nematoides *C. elegans* e soluções com o bacilo. Por meio desta pesquisa foi possível concluir que a proteína Cry11 não possui efeitos nematicidas, concordando com a maior parte da literatura, enquanto a proteína Cry6 mostra-se promissora para o controle de nematoides com uma mortalidade média de 80% após 72h do tratamento com dosagens acima de 173,51 ppm (173512,1 ng/mL).

**Termos para indexação:** *Caenorhabditis elegans*, nematicida, nematoide, toxina cry.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# O potencial das vespas parasitoides: uma abordagem comparativa da biologia reprodutiva e do comportamento de oviposição de populações de *Telenomus podisi*

Beatriz Guedes Carneiro Dos Santos <sup>(1)</sup>, Maria Carolina Blassioli Moraes <sup>(2)</sup>, Miguel Borges <sup>(2)</sup>, Izabella Cerqueira de Paula <sup>(1)</sup>, Maura Vianna Prates <sup>(2)</sup> e Raul Alberto Laumann <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - As vespas *Telenomus podisi* (Hymenoptera:Scelionidae) são importantes inimigos naturais de percevejos fitófagos, particularmente do percevejo-marrom, *Euschistus heros* (Hemiptera:Pentatomidae), o seu hospedeiro preferencial. Esta espécie possui ampla distribuição geográfica no continente americano. Frequentemente, populações de diferentes localidades geográficas são caracterizadas por diferenças biológicas, ecológicas e comportamentais que podem modificar sua eficiência como agentes de controle biológico. Este trabalho tem por finalidade descrever a biologia e comportamento de populações de *T. podisi*, de diferentes regiões geográficas do Brasil (MT, DF, PR, SP) verificando se há variabilidade em parâmetros biológicos e nas síndromes comportamentais entre as populações. Foram realizadas análises de tabela de vida, para avaliar parâmetros demográficos. Para avaliar o comportamento de oviposição foram realizados experimentos de observação de comportamentos de reconhecimento e aceitação do hospedeiro, computando a frequência de ocorrência das categorias comportamentais e os tempos investidos. Não foram encontradas diferenças significativas na longevidade de fêmeas e machos entre indivíduos de diferentes populações (Kruskal-Wallis=4,49 p=0,72), entretanto a população do DF apresentou menor fecundidade em comparação às outras populações (K-W=23,64 p<0,001). Os comportamentos dos parasitoides das populações apresentaram-se estereotipados sendo observadas sequências similares. Entretanto o tempo médio investido por indivíduos de cada população em cada categoria do comportamental foi diferente para a prova (K-W=14,31 p=0,002), oviposição (K-W=9,78 p=0,02) e marcação (K-W=17,61 p<0,001). Os resultados obtidos até o momento indicam que diferentes populações de *T. podisi* podem apresentar características biológicas diferentes. O possível impacto destas diferenças na performance dos parasitoides será avaliado em experimentos futuros.

**Termos para indexação:** vespas parasitoides, parâmetros biológicos, comportamento.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Influência dos voláteis do milho induzidos por herbivoria na seleção de plantas hospedeiras por *Dalbulus maidis* e *Spodoptera frugiperda*

Mateus de Souza Sanches <sup>(1)</sup>, Miguel Borges <sup>(2)</sup>, Raul Alberto Laumann <sup>(2)</sup>, Charles Martins de Oliveira <sup>(1)</sup>, Marina Regina Frizzas <sup>(1)</sup> e Maria Carolina Blassioli Moraes <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis*, e a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, são pragas importantes do cultivo de milho. É incomum encontrar os dois insetos na mesma planta, portanto, hipotetizou-se que esses insetos podem, no processo de seleção da planta hospedeira, perceber potenciais competidores em áreas de alimentação e oviposição, e, que essa interação pode estar mediada por voláteis de planta induzidos pela herbivoria (VPIH). Para checar essa hipótese, foram coletados voláteis de plantas de milhos sadia e submetidas a herbivoria de *D. maidis* ou de lagartas de *S. frugiperda*. As análises químicas mostraram que há uma diferença no perfil químico emitido por plantas sadia em comparação ao perfil emitido pelas plantas herbivoradas tanto por *D. maidis* ( $p < 0,001$ , PERMANOVA) como *S. frugiperda* ( $p < 0,001$ , PERMANOVA). Posteriormente, usando olfatômetros em Y, avaliou-se a influência desses voláteis sobre o comportamento de busca de *D. maidis* e lagartas de quinto instar de *S. frugiperda* em bioensaios de dupla escolha. Os seguintes tratamentos foram contrastados: voláteis de milho sadio (MS) x milho herbivorado por *D. maidis* (MDM), MS x milho herbivorado por *S. frugiperda* (MSF) e MDM x MSF, para cada combinação de tratamentos foram testados 30 espécimes de cada espécie individualmente. Fêmeas de *D. maidis* apresentaram preferência pelos voláteis de MS em relação aos MDM ( $p = 0,01$ , chi-quadrado) ou MSF ( $p = 0,001$ , chi-quadrado). Quando comparado o odor de MDM x o odor de MSF preferiram MDM ( $p = 0,001$ , chi-quadrado). As lagartas-do-cartucho também preferiram o odor de plantas sadia ao odor de MDM ( $p = 0,014$ , chi-quadrado). Esses resultados mostram que a planta de milho apresenta uma resposta química ao dano desses insetos e, ambos os insetos utilizam voláteis de planta como pistas para selecionar hospedeiras mais adequadas, evitando colonizar plantas com outros herbívoros. O conhecimento de voláteis de não-preferência e preferência pode ser explorado em estratégias de controle, evitando a colonização dessas pragas nos plantios com o uso de semioquímicos.

**Termos para indexação:** semioquímicos, ecologia química, competição, voláteis de planta.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.





# Explorando a comunicação química da cigarrinha-do-milho *Dalbulus maidis*: bioensaios de dupla escolha demonstraram que machos são produtores do feromônio sexual

Mateus de Souza Sanches <sup>(1)</sup>, Miguel Borges <sup>(2)</sup>, Raul Alberto Laumann <sup>(2)</sup>, Charles Martins de Oliveira <sup>(3)</sup>, Marina Regina Frizzas <sup>(4)</sup> e Maria Carolina Blassioli Moraes <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisador, Embrapa Cerrados, Brasília, DF, <sup>(4)</sup> Professora, Universidade de Brasília, DF.

**Resumo** - Para muitos insetos, feromônios são vitais para sua sobrevivência atuando na comunicação intra-específica, fundamentais para o sucesso reprodutivo das espécies. A cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis*, é uma importante praga deste cultivo, causando danos consideráveis devido à transmissão de microrganismos que causam enfezamentos na planta. Compreender como esses insetos encontram parceiros sexuais a longas distâncias é crucial para desenvolver estratégias efetivas de monitoramento e controle dessa praga. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi investigar se *D. maidis* produz feromônio sexual. Para isso, 100 machos e fêmeas da cigarrinha foram colocados em câmaras de vidro distintas, mantidos em um sistema de aeração para coleta de voláteis por 24 h. A aeração foi repetida com a presença de uma planta de milho em cada câmara para reduzir a mortalidade dos insetos e manter condições ótimas para produção do feromônio. Essa aeração foi mantida por 3 semanas, coletando os voláteis a cada 24 horas e substituindo os insetos semanalmente. As amostras de voláteis foram analisadas via cromatografia de gás acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS). Uma série de compostos voláteis comum a ambos os sexos foram identificados nas aerações contendo apenas cigarrinhas, incluindo compostos voláteis comuns de planta, como o linalol. Nenhum composto específico a um dos sexos foi identificado. Bioensaios de dupla escolha foram conduzidos em olfatômetros em Y para avaliar a resposta das fêmeas ao odor de 20 machos contrastados com ar, e a resposta de machos ao odor de 20 fêmeas contrastados com ar. Os machos não apresentaram preferência pelo odor das fêmeas em relação ao ar puro ( $p = 0,797$ , qui-quadrado). No entanto, as fêmeas apresentaram preferência ao odor de machos tanto na primeira escolha ( $p < 0,001$ , qui-quadrado) como residindo por mais tempo onde havia odor dos machos ( $p = 0,002$ , teste-t pareado). Esses resultados sugerem que os machos de *D. maidis* liberam compostos voláteis atrativos para as fêmeas, provavelmente atuando como feromônio sexual da espécie.

**Termos para indexação:** semioquímicos, reprodução, comportamento.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Virulência de uma população de *Meloidogyne inornata* em tomateiro resistente cv. Nemadoro

Ana Claudia da Costa <sup>(1)</sup>, Sheila Freitas de Almeida <sup>(1)</sup>, Inorbert de Melo Lima <sup>(2)</sup>, Juvenil Enrique Cares <sup>(3)</sup>, Leonardo Silva Boiteux <sup>(4)</sup> e Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro <sup>(5)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador do Instituto Capixaba de Pesquisa, Vitória, ES, <sup>(3)</sup> Professor, Universidade de Brasília, DF. <sup>(4)</sup> Pesquisador, Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, <sup>(5)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Em fevereiro de 2023, foi enviada ao Laboratório de Nematologia da Embrapa Cenargen, uma amostra de raízes de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) cv. Caribe proveniente do município de Alto Caxixi, Espírito Santo (ES). A identificação do nematoide-das-galhas (NG), *Meloidogyne inornata*, foi confirmada através da técnica eletroforese de isoenzimas e o fenótipo de esterase (Est I3) foi detectado. Embora já tivesse ocorrido a detecção de *M. inornata* no ES em 2016, a efetiva ação do alelo Mi-1.2 na reação de resistência do tomateiro a *M. inornata* não pode ser confirmada, pois os resultados em casa de vegetação foram contraditórios. Também nesse estudo, não foi realizada a genotipagem dos diferentes híbridos de tomateiros estudados, mostrando a presença ou ausência do alelo Mi-1.2 nas cultivares ditas resistentes. Em outro estudo, *M. inornata*, população de São Paulo foi considerada não virulenta ao gene de resistência Mi-1.2. Dessa maneira, foi objetivo desta pesquisa avaliar a interação da espécie *M. inornata* com a cultivar Nemadoro genotipada como homocigota dominante (MiMi). O ensaio foi realizado em casa de vegetação e as plantas dessa cultivar foram inoculadas com 5000 ovos, e após três meses da inoculação, avaliadas quanto ao fator de reprodução ( $FR = Pf/Pi$ ), onde Pf é a população final e Pi= 5.000 ovos. A população de *M. inornata* do ES foi considerada altamente virulenta ao gene de resistência Mi do tomateiro, apresentando  $FR = 222,0$ . Mais estudos com outras populações de *M. inornata* são necessários para comprovar a virulência de outras populações da espécie.

**Termos para indexação:** Nematode das Galhas, Resistência Genética, Controle Genético.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Prospecção de biomoléculas presentes no ovipositor da microvespa *Telenomus podisi* (Scelionidae) com potencial para o controle biológico de percevejos em soja

Marcela Borges Corrêa <sup>(1)</sup>, Guilherme Brand <sup>(1)</sup>, Sayuri Cristina Santos Takada da Silva <sup>(2)</sup>, Mirian Fernandes Furtado Michereff <sup>(3)</sup>, Miguel Borges <sup>(3)</sup>, Raul Alberto Laumann <sup>(3)</sup>, Maria Carolina Blassioli-Moraes <sup>(3)</sup> e Maura Vianna Prates <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista da Embrapa Cerrados, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Os percevejos são a principal praga da soja, interferindo na produtividade e causando a queda da qualidade do produto final. A forma de controle mais utilizada é a química, com o uso de inseticidas, mas nas últimas décadas, estudos vêm propondo abordagens sustentáveis no manejo de pragas, como o uso de inimigos naturais. Nesse contexto, propõe-se a investigação de moléculas com potencial bioativo, peptídeos e metabólitos armazenados em glândulas secretoras do *Telenomus podisi* (Scelionidae), uma microvespa parasitóide de ovos dos percevejos, visando identificar compostos que atuem na interface parasita-hospedeiro. Para a propagação das colônias, os insetos foram mantidos em gaiolas de plástico, em ambiente controlado, alimentados com mel de abelhas e foi oferecido posturas de *Euschistus heros* (Hemiptera) para a oviposição. Após o acasalamento, os adultos foram separados por sexo e tiveram suas porções abdominais extraídas e reunidas em pools de machos e fêmeas. Os abdomens coletados foram submetidos a dois tratamentos para a obtenção dos extratos: fêmeas (F1) e machos (M1) em acetonitrila 50%, fêmeas (F2) e machos (M2) em tampão de lise. Foram utilizados 1900 abdomens para F1, 1150 para F2, 800 para M1 e 219 para M2. Os extratos foram concentrados em filtros AMICON (Millipore, EUA) e liofilizados. O fracionamento dos extratos por HPLC foi realizado em coluna analítica de fase reversa, em um gradiente linear de acetonitrila e os experimentos foram monitorados a 216 nm e 280 nm. Análises cromatográficas preliminares (HPLC) dos extratos abdominais mostraram uma fração comum majoritária, e a análise por espectrometria de massa (TripleTof 5600+ AB Sciex, Canada) mostrou a presença de compostos diferenciais entre machos e fêmeas. Estudos estão sendo conduzidos para elucidar a estrutura química desses compostos e bioensaios serão conduzidos para determinar se estão envolvidos com o parasitismo dos ovos.

**Termos para indexação:** Controle Biológico, Manejo Integrado de Pragas, Percevejo, Soja.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Linhagens alopátricas de *Euschistus heros* no Brasil produzem diferentes quantidades de feromônio sexual, mas esta diferença não afeta a resposta comportamental das fêmeas

Amanda de Oliveira Mourão<sup>(1)</sup>, Maria Carolina Blassioli Moraes<sup>(2)</sup>, Miguel Borges<sup>(2)</sup>, Raul Alberto Laumann<sup>(2)</sup>, Maura Vianna Prates<sup>(2)</sup> e Mirian Fernandes Furtado Michereff<sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O feromônio sexual produzido pelos machos de *Euschistus heros* (F.) é importante para o sucesso reprodutivo da espécie. Os machos de *E. heros* produzem como feromônio sexual três ésteres: (2E,4Z)-2,4-decadienoato de metila (DDM) (51%), 2,6,10-trimetildodecanoato de metila (TDDM) (3%) e 2,6,10-trimetiltridecanoato de metila (TTDM) (47%). Recentemente, um estudo mostrou que existem duas linhagens alopátricas da espécie, situadas nas regiões Norte e Sul do Brasil. Dessa forma, levantou-se a hipótese se haveria diferenças na produção do feromônio sexual dessas populações, e se essas diferenças afetariam a atratividade das fêmeas. Assim, a produção do feromônio nas duas populações, e em uma população chamada de Centro (da colônia estabelecida no Cenargen de insetos coletados no Centro-Oeste) foi analisada. Adicionalmente foram avaliadas as respostas das fêmeas aos odores dos machos da mesma e de diferentes populações em bioensaios de olfatométrica de duas escolhas, em “Y”. Para a coleta do feromônio sexual foram conduzidas aerações com machos de cada população. As amostras de aeração foram analisadas por GC-DIC. Nos bioensaios, em olfatométrica, 10 machos de cada uma das populações foram utilizados como fonte de odor e contrastados com ar. Foram conduzidos 30 replicatas para cada tratamento. As análises químicas das amostras de aeração mostraram que há diferença significativa na quantidade produzida quando comparado os dois compostos majoritários entre as populações (TTDM:H= 26,74,  $p < 0.001$ , DDM:H= 20.56,  $p < 0.001$ ). Nos resultados dos bioensaios, conduzidos até o momento, as fêmeas do Centro responderam aos odores de macho do Centro ( $p = 0.028$ ) e do Sul ( $p = 0.028$ ). Já as fêmeas do Sul responderam aos odores de machos do Sul ( $p = 0.019$ ) e do Centro ( $p = 0.011$ ) e, as fêmeas do Norte responderam aos odores do macho do Norte ( $p = 0.0106$ ), do Centro ( $p = 0.00026$ ) e do Sul ( $p = 0.028$ ). Os resultados mostraram que as fêmeas respondem aos machos das diferentes populações, mesmo produzindo quantidades diferentes do feromônio.

**Termos para indexação:** Feromônio Sexual, Diferentes Populações, Primeira Escolha.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Identificação e avaliação dos compostos defensivos de *Diceraeus melacanthus* semioquímicos para o controle sustentável de pragas

João Victor Costa Machado <sup>(1)</sup>, Mirian Fernandes Furtado Michereff <sup>(1)</sup>, Miguel Borges <sup>(2)</sup>, Raul Alberto Laumann <sup>(2)</sup>, Maura Vianna Prates <sup>(2)</sup> e Maria Carolina Blassioli-Moraes <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - *Diceraeus melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) é atualmente uma das principais pragas na cultura do milho, e seu controle é feito predominantemente com inseticidas. O uso excessivo de inseticidas na agricultura traz diversos efeitos negativos, como o impacto prejudicial sobre inimigos naturais e polinizadores. Nesse contexto, o desenvolvimento de métodos de controle mais sustentáveis torna-se essencial para promover uma agricultura mais verde. Os semioquímicos são uma ferramenta eficiente para o controle de pragas. Assim, este trabalho teve como objetivo identificar os compostos defensivos produzidos por machos e fêmeas de *D. melacanthus*, e estudar a função destes compostos no comportamento de machos e fêmeas. Para o isolamento dos compostos defensivos foram conduzidas aerações dos insetos adultos, e também a extração das glândulas metatorácica dos adultos e da glândula abdominal dorsal das ninfas. Os extratos obtidos foram analisados por CG-FIC (Cromatografia Gasosa com Detecção por Ionização de Chama) e CG-EM (Gasosa com Detecção por Ionização de Chama). Para os bioensaios foram testados os compostos sintéticos usando quantidades próximas às quantificadas na aeração. Dentre os compostos identificados estão (E)-2-hexenal, (E)-2-octenal, 4-oxo-(E)-2-hexenal, tridecano, linalol, (E)-2-acetato de octenila, alguns destes compostos já foram relatados por Marque et al. (2007). A principal diferença observada entre machos e fêmeas é a maior quantidade liberada pelos machos de (E)-2-acetato de octenila ( $t = 2,302$ ,  $P = 0,04$ ). Nos bioensaios de olfatomетria, os machos preferiram o braço com o odor do hexano comparado ao braço com o odor do (E)-2-acetato de octenila ( $X^2 = 8,06$ ,  $P = 0,004$ ). Não houve preferência de ambos os sexos para os demais compostos avaliados. Os resultados mostraram que *D. melacanthus* produz compostos defensivos similares aos identificados em outros percevejos, e que o composto (E)-2-acetato de octenila mudou a resposta comportamental dos machos, que pode sugerir um efeito de repelência, defesa, ou mesmo ser o feromônio da espécie. Estudos comportamentais com as fêmeas estão sendo conduzidos para avaliar a resposta a estes compostos.

**Termos para indexação:** Ecologia química, Semioquímicos, Percevejos-praga.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico -CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Síntese verde e convergente do feromônio de *Sphenophorus levis* o uso de enzimas na resolução cinética dos isômeros 2(r/s)-metil-4-octanol

Izabella Vitoria Souza Maravalho <sup>(1)</sup>, Sayuri Cristina Santos Takada da Silva <sup>(2)</sup>, Maria Carolina Blassioli Moraes <sup>(3)</sup>, Miguel Borges <sup>(3)</sup> e Raul Alberto Laumann <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Cerrados, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A cultura da cana-de-açúcar é um dos pilares da economia brasileira sendo de suma importância para a produção de álcool e açúcar. O Brasil é o maior produtor dessa cultura no mundo. No entanto, grandes perdas na produtividade são causadas pelo ataque de insetos. *Sphenophorus levis* (Coleoptera:Curculionidae), é o principal inseto responsável pelas maiores perdas na produção. Assim, semioquímicos podem ser empregados como ferramentas mais sustentáveis no manejo integrado de pragas. O (S)-2-metil-4-octanol foi identificado como um composto específico liberado pelos machos de *S. levis*. Estudos sobre a estereoquímica do feromônio são necessários para estabelecer a importância do centro quiral na atividade biológica e melhorar a resposta do inseto ao feromônio formulado. O objetivo deste trabalho foi sintetizar de forma convergente os dois estereoisômeros do álcool 2-metil-4-octanol, isto é, com menos etapas, utilizando reagentes e metodologias ambientalmente amigáveis. Para isto, uma nova via sintética foi desenvolvida, utilizando, como material de partida, a cetona 2-metil-4-octanona e enzimas para a resolução cinética do centro quiral, ambas comercialmente disponíveis. A nova rota sintética consiste em três etapas. Na primeira etapa, a cetona foi reduzida a álcool com NaBH<sub>4</sub> formando a mistura racêmica 2(R/S)-metil-4-octanol. Para a segunda etapa foi utilizada a enzima Amano Lipase PS - Burkholderia cepacia (BC-ALPS) e acetato de vinila para a resolução dos estereoisômeros. A enzima reagiu enantiosseletivamente com o isômero R via reação de transesterificação, sendo facilmente separado do (S)-2-metil-4-octanol em uma coluna de sílica gel. Na terceira etapa, o acetato foi submetido a uma hidrólise básica (NaOH) gerando como produto da reação o (R)-2-metil-4-octanol. A metodologia se mostrou eficiente com um rendimento quantitativo na etapa de redução, e conversão de 72% do isômero R no acetato, com isso foi possível a obtenção dos dois isômeros, (R)-2-metil-4-octanol e (S)-2-metil-4-octanol, que posteriormente serão utilizados em bioensaios e formulações para avaliar a resposta dos insetos *S. levis* ao feromônio.

**Termos para indexação:** Síntese enantiosseletiva, Feromônio, *Sphenophorus levis*, 2-metil-4-octanol.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Influência dos metabólitos secundários de diferentes variedades de *Brachiaria* sobre o comportamento de busca de hospedeiros de *Blissus* sp. (Hemiptera: Lygaeidae)

Anariel Gomes Campos <sup>(1)</sup>, Beatriz Cardoso da Silva Lara <sup>(1)</sup>, Marcus Vinicius de Sá Gonçalves da Silva <sup>(1)</sup>, Juliano Vilardi Gavoçi Tenente Prendi <sup>(1)</sup>, Raul Alberto Laumann <sup>(2)</sup>, Miguel Borges <sup>(2)</sup>, Maria Carolina Blassioli Moraes <sup>(2)</sup> e Elisangela Gomes Fidelis <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A *Brachiaria* é uma importante gramínea utilizada como pasto no Brasil, com mais de 80 variedades disponíveis para uso. Uma de suas pragas é o percevejo *Blissus* sp., que ataca a planta alojando-se em suas bainhas e parte aérea, os danos causados acontecem através da alimentação dos percevejos, que injetam seus estiletes no floema da planta. O objetivo deste estudo foi determinar a influência dos metabólitos secundários voláteis de diferentes variedades de *Brachiaria* sobre o comportamento de busca de *Blissus* sp. Para isso foram cultivadas três variedades de *Brachiaria* (*B. ruzizensis*, *B. humidicola* e *B. marandu*) comumente utilizadas pelos agricultores. A coleta dos voláteis das três variedades foi feita com 45 dias após o plantio (n=8 para cada variedade), cada planta foi colocada em uma câmara de vidro e foram utilizados adsorventes químicos (Porapak Q, 100 mg 80-20 mesh) para retenção dos voláteis. As amostras de voláteis foram coletadas a cada 24 horas e analisadas por cromatógrafo a gás com detector de ionização em chama (CG-DIC) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). A análise química das amostras contendo os voláteis das plantas mostrou que estas produzem um perfil de voláteis diferentes, mas que não há diferença na produção total de voláteis entre as três variedades (Anova, F=0,059, gl=2, p=0,947).

**Termos para indexação:** *Brachiaria*, *Bissus* sp, Percevejo, Metabólitos, Voláteis, Análise, Comportamento.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Nanoformulações à base de lignina com o feromônio do percevejo *Euschistus heros*, visando potencial uso no manejo de pragas

João Victor Costa Machado <sup>(1)</sup>, Flavia Augusta Dias Galarza <sup>(1)</sup>, Silvio Vaz Júnior <sup>(2)</sup>, Mirian Fernandes Furtado Michereff <sup>(1)</sup>, Miguel Borges <sup>(3)</sup>, Raul Alberto Laumann <sup>(3)</sup> e Maria Carolina Blassioli Moraes <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Agroenergia, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Atualmente, o controle de pragas na agricultura é realizado através de inseticidas, e apesar de eficiente, a aplicação excessiva destes produtos traz efeitos negativos, como o impacto prejudicial sobre inimigos naturais e polinizadores. Nesse contexto, o desenvolvimento de métodos de controle mais sustentáveis torna-se essencial para promover uma agricultura mais verde. Os semioquímicos são uma ferramenta eficiente para o manejo e o controle de pragas. Contudo, sua utilização é frequentemente limitada devido à sua volatilidade, instabilidade química e ausência de sistemas de liberação eficientes. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de liberação do feromônio sexual do percevejo *Euschistus heros*, o composto 2,6,10-trimetiltridecanoato de metila, formulado em emulsões de lignina. Foram avaliadas sete emulsões, que diferiram em relação à quantidade de lignina (10 ou 3 mg), do surfactante (1 ou 0.05%) e o tipo de surfactante (Tween 80 ou SDS). O feromônio foi adicionado às emulsões através da técnica de gotejamento, da fase oleosa sobre a aquosa, com 1 mg de feromônio por mL de emulsão. Para avaliar a taxa de liberação do composto, foi realizada aeração ao longo de 30 dias, com coleta dos voláteis diariamente na primeira semana, e depois a cada 72 h. Os extratos obtidos foram analisados por CG-DIC. O modelo matemático de Korsmeyer-Peppas ( $M/M^2 = Ktn$ ) mostrou que para seis das emulsões testadas a liberação foi muito rápida nos primeiros dias, com alto valores de K, entre 25 e 8. A emulsão que continha 10 mg de lignina e 0,05% de SDS apresentou o melhor desempenho, liberando em média  $\pm$  DP de  $7,73 \pm 4,01 \mu\text{g}$  do feromônio ao longo de 30 dias. Para esta formulação o valor de K foi 2,76, indicando uma liberação mais lenta, e o valor de  $n = 0,45$ , sugerindo liberação por difusão. A homogeneidade do feromônio na emulsão e a atratividade da emulsão às fêmeas de *E. heros* estão em avaliação.

**Termos para indexação:** Semioquímicos, Biopolímeros, Liberação lenta.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.





# Multiplicação, análise e preservação de vírus com potencial de biocontrole em Coleção de Vírus de Invertebrados da Embrapa/Cenargen

Mariele de Sousa Gomes <sup>(1)</sup>, Lucas de Araújo Andrade <sup>(1)</sup>, William Sihler <sup>(2)</sup> e Marlinda Lobo de Souza <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Neste trabalho foi feita a multiplicação, a caracterização inicial de isolados de baculovírus patogênico a larvas de *Helicoverpa armigera* (HearNPV), *Chrysodeixis includens* (ChinNPV) e *Spodoptera frugiperda* (SfGV e SfMNPV), e seu armazenamento na Coleção de Vírus de Invertebrados da Embrapa. No total seis isolados foram utilizados: (1) HearNPV–Quenia, (2) HearNPV CNPSo 185, (3) ChinNPV CNPSo 221, (4) SfGV 93- Sete Lagoas, MG, (5) SfGV-Bom Jesus do Amparo, MG e (6) SfMNPV I-19, Sertaneja, PR. Todos os isolados virais foram amplificados em seu hospedeiro natural, de acordo com o método de ingestão da dieta artificial contendo inóculo viral. sendo as larvas inoculadas monitoradas durante 10 dias. Em seguida, partículas virais foram purificadas por centrifugação diferencial e quantificadas em câmara de Neubauer. O DNA viral foi então extraído com ciclos de clorofórmio: álcool isoamílico: fenol ou utilizando-se o kit comercial DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN). Para análise do DNA as amostras dos isolados virais foram submetidas ao processo de eletroforese em gel de agarose 0.8%. Lagartas incubadas com nucleopolyhedrovirus (HearNPV, ChinNPV e SfMNPV) apresentaram sintomas típicos de infecção como diminuição do apetite, mudança de coloração e flacidez cutânea culminando na liquefação do tecido. A infecção de nucleopolyhedrovirus (NPVs) nas larvas resultou na formação de corpos de oclusão (poliedros), refringentes e visíveis ao microscópio ótico (2µm). No caso do granulovírus (SfGV) a sintomatologia da doença foi similar, não sendo possível visualizar por microscopia ótica os corpos de oclusão (grânulos), devido ao seu pequeno tamanho (aprox. 500nm). Foi também identificado, por análise em gel de agarose, o fragmento de DNA viral tanto nas amostras de NPVs como nas amostras de GVs. Atualmente o DNA viral encontra-se conservado (-20 °C) para confirmação do gênero e verificação de possíveis infecções mistas, para o qual será empregada posteriormente a técnica de Polymerase Chain Reaction (PCR) com primers específicos para os genes da poliedrina e granulina.

**Termos para indexação:** Vírus, Coleção, Pragas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Comportamento de parasitismo de *Telenomus podisi* provenientes de diferentes regiões do Brasil quando forrageando posturas de *Euschistus heros*

Izabella Cerqueira de Paula <sup>(1)</sup>, Beatriz Guedes Carneiro Dos Santos <sup>(1)</sup>, Maria Carolina Blassioli Moraes <sup>(2)</sup>, Maura Vianna <sup>(2)</sup>, Miguel Borges <sup>(2)</sup> e Raul Alberto Laumann <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae), uma microvespa parasitoide de ovos de percevejos (Pentatomidae), tem como hospedeiro preferencial *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae), popularmente conhecido como percevejo-marrom, uma das pragas chave da soja. No continente americano, *T. podisi* se encontra distribuída desde o sul dos Estados Unidos até o centro da Argentina. Esta ampla distribuição geográfica pode originar populações com diferentes características biológicas e comportamentais. Este trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento de parasitismo de fêmeas de *T. podisi* de diferentes regiões do Brasil (Mato Grosso, Distrito Federal, São Paulo e Paraná). Foram realizados experimentos de observação em placas de Petri (35 x 10 mm) e, a cada fêmea (n= 192) das quatro populações estudadas foi oferecida uma massa com 8 ovos de *E. heros*. O comportamento das fêmeas foi observado em microscópio estereoscópico até o abandono da postura, registrando e cronometrando as seguintes categorias comportamentais: encontro, tamborilamento, prova, oviposição e marcação. O tempo de cada categoria comportamental, medido em segundos, observado para cada população de parasitoide foi comparado através de teste de Kruskal-Wallis. Os resultados preliminares desse estudo indicam que existe variabilidade no tempo investido em relação ao comportamento de tamborilamento (K-W=23,54 p<0,001), prova (K-W= 8,84 p=0,03) e marcação (K-W= 3,15 p=0,004). Os resultados sugerem que as diferentes populações estudadas podem ter diferente potencial como agentes de controle biológico de *E. heros* o que deve ser comprovado avaliando outros parâmetros biológicos e comportamentais em trabalhos futuros.

**Termos para indexação:** Parasitoide, Comportamento, Controle biológico.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## ***Blissus* sp. (Hemiptera: Lygaeidae) produz dois sesquiterpenos com potencial de serem feromônios sexuais**

Beatriz Cardoso da Silva Lara <sup>(1)</sup>, Anariel Gomes Campos <sup>(1)</sup>, Marcus Vinicius de Sá Gonçalves da Silva <sup>(1)</sup>, Juliano Vilarde Gavóçi Tenente Prendi <sup>(1)</sup>, Raul Alberto Laumann <sup>(2)</sup>, Miguel Borges <sup>(2)</sup>, Maria Carolina Blassioli Moraes <sup>(2)</sup> e Elisangela Gomes Fidelis <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O percevejo *Blissus* sp. é uma praga de gramíneas usadas como pasto no Brasil. O objetivo deste estudo foi identificar os semioquímicos, ou seja, compostos defensivos das glândulas metatorácicas (MTG) e abdominais dorsais (DAG) e feromônios sexuais ou de agregação dessa espécie. Para a coleta dos feromônios sexuais ou de agregação foi utilizado um sistema de aeração. Os insetos foram colocados em câmaras de vidro e seus voláteis foram coletados durante 24 horas. A coleta dos compostos defensivos das MTG de adultos e DAG de ninfas foram extraídos através da maceração dos insetos com hexano líquido. As amostras dos voláteis coletados e das extrações das glândulas foram analisadas por GC-FID e GC-MS. Os resultados obtidos mostram que fêmeas, machos e ninfas produzem típicos compostos defensivos encontrados em percevejos, como os (E)-2-hexenal e (E)-2 acetato de hexenila, encontrados em adultos e o hexanal e 4-oxo-(E)-2-hexenal encontrados em ninfas. Os machos produzem dois compostos sesquiterpenos específicos, que não estão presentes nas amostras dos voláteis coletados das fêmeas. A partir destes resultados, atualmente se executa estudos para avaliar se esses dois compostos específicos têm função como feromônios sexuais ou de agregação de *Blissus* sp. e também para elucidar a estrutura química dos compostos.

**Termos para indexação:** Controle biológico, Insetos, Percevejos, Feromônios, Semioquímicos.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Ação antagônica de *Trichoderma* spp. contra o fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*

Carolina Oliveira Isaias<sup>(1)</sup>, Amanda Silva Botelho<sup>(1)</sup>, Amanda Gomes Moreira<sup>(1)</sup>, Gean Soares de Jesus<sup>(1)</sup> e Sueli Corrêa Marques de Mello<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - *Sclerotium rolfsii* é um patógeno de difícil controle, pois forma estruturas de resistência (escleródios), que lhe confere a capacidade de sobreviver por longos períodos no solo em condições adversas. Trata-se de um fungo altamente destrutivo em várias culturas de importância econômica. Fungos do gênero *Trichoderma* são fortes competidores no ambiente do solo e constituem fontes de enzimas degradadoras de parede de outros fungos, assim parasitando fitopatógenos, além de serem exímios produtores de metabólitos secundários com propriedades antibióticas. Tais características são fundamentais para o sucesso desses organismos como agentes de biocontrole. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação antagônica de isolados de *Trichoderma* provenientes da Mata Atlântica, recém-incorporados à Coleção de Agentes de Controle Biológico da Embrapa, abrigada no CENARGEN, contra *S. rolfsii*. Utilizou-se a técnica de pareamento de culturas em meio BDA, com temperatura de incubação de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Para instalação do experimento, discos de micélio (5 mm) foram retirados da zona de crescimento de colônias do patógeno e do antagonista, e opostamente depositados a 10 mm das margens das placas de Petri (90 mm). Após cinco dias de cultivo, foram tomadas medidas de raio das colônias do patógeno e calculadas as porcentagens de inibição do crescimento micelial em relação ao controle. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente ao acaso (DIC), com cinco repetições para cada isolado de *Trichoderma*. Entre 20 isolados do agente de biocontrole testados, destacaram-se oito (CEN1670, CEN1704, CEN1676, CEN1679, CEN1718, CEN1698, CEN1716, CEN1700), com valores médios de índice de inibição variando entre 55,7% e 60,2%.

**Termos para indexação:** Controle biológico, Fungos antagonistas, Patógeno de solo.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Extratos de sementes de acessos de *Arachis hypogaea* da região do Alto Xingu com potencial nematotóxico contra *Meloidogyne incognita*

Mariana Natal Berbert <sup>(1)</sup>, Paulo de Moraes Ferreira <sup>(1)</sup>, Gilberto de Oliveira Hiragi <sup>(2)</sup>, Renato Sales de Oliveira <sup>(2)</sup>, Fábio de Oliveira Freitas <sup>(3)</sup>, Luis Alberto Martins Palhares de Mello <sup>(2)</sup> e Thales Lima Rocha <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analistas, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o nematoide das galhas *Meloidogyne incognita* é uma das oito pragas prioritárias que exigem alternativas sustentáveis de controle. Este fitopatógeno infecta mais de 3000 espécies de plantas, causando tumores nas raízes, bloqueando a translocação de nutrientes e levando à morte das plantas. O controle atual depende de agroquímicos, que prejudicam a saúde humana e o meio ambiente. A crescente demanda por alimentos saudáveis impulsiona a busca por alternativas ecoamigáveis, como extratos botânicos. Este estudo avaliou extratos crus aquosos (ECAs) de sementes de *Arachis hypogaea* do alto Xingu no controle de juvenis de *M. incognita*. Bioensaios *in vitro* testaram a nematotoxicidade, estabilidade térmica e curva de concentração dos ECAs. Os resultados mostraram que todos os ECAs (acessos 992, 993 e 994) na concentração de 1mg/ml paralisaram mais de 98% dos J2 de *M. incognita* após 48 horas, comparáveis ao controle positivo. O ECA do acesso 994 apresentou atividade nematicida semelhante ao controle positivo, matando mais de 98% dos J2. O ECA do acesso 993 matou 89% dos J2, enquanto o ECA do acesso 992 mostrou atividade nematostática, com 95% dos J2 recuperando a motilidade. Os ECAs dos acessos 992, 993 e 994 mantiveram sua ação paralisante após exposição a 50°C por 24 horas, indicando termoestabilidade. Bioensaios de recuperação mostraram que os ECAs dos acessos 994 e 993 conservaram a atividade nematicida após aquecimento, enquanto o ECA do acesso 992 permaneceu nematostático. Para determinar a menor concentração eficaz, verificou-se que 500µg do ECA 992 e 250µg dos ECAs 993 e 994 paralisaram os J2. A concentração de 250 µg/mL do ECA 994 mostrou atividade nematicida, matando 99% dos J2, enquanto concentrações menores do ECA 992 e do ECA 993 foram nematostáticas. O ECA 994 não foi nematicida a 100 µg/mL. Estes resultados destacam o potencial bionematicida dos ECAs 994 e 993, agregando valor aos recursos genéticos.

**Termos para indexação:** *Arachis*, Extratos, Fitonematoides, Nematicida.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.



# Desenvolvimento de software com aprendizagem de máquina para contagem e classificação de fitonematoides

Paulo de Moraes Ferreira <sup>(1)</sup>, Guilherme Alarcão dos Santos <sup>(2)</sup>, Gilberto de Oliveira Hiragi <sup>(3)</sup>, Renato Sales de Oliveira <sup>(3)</sup>, Luís Alberto Martins Palhares de Mello <sup>(3)</sup> e Thales Lima Rocha <sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Estudante de Mestrado, Uniceub, Brasília, <sup>(3)</sup> Analistas, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(4)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A detecção manual de juvenis de segundo estágio (J2) do fitonematoide das galhas *Meloidogyne incognita* é uma prática comum no Laboratório de Prospecção de Compostos Bioativos - LPCB, envolvendo a utilização de microscópio óptico e Lâmina de Peters. Esta metodologia é essencial para a seleção de extratos vegetais nematotóxicos por meio da realização de bioensaios in vitro de viabilidade, a qual apresenta desafios significativos devido ao tempo consumido, cerca de 5 a 10 minutos para a realização completa de leitura de cada replicata, e à limitação na escala de produção de novos bioativos. Para superar estes obstáculos, foi desenvolvido um programa computacional baseado em aprendizado de máquina, destinado a automatizar a contagem e classificação dos J2 após exposição a extratos vegetais. O programa utiliza fotografias dos J2 na Lâmina de Peters, capturadas e armazenadas para treinamento. A fase de desenvolvimento do software incluiu coleta e processamento das imagens, criação de algoritmos e interface, além de testes de acurácia. Os resultados demonstraram que o software alcançou uma precisão de 83,20% na identificação dos J2, comparados com contagens manuais de referência. Houve 763 identificações corretas (Verdadeiro positivo), 154 identificações incorretas (Falso positivo) e 94 J2 não identificados (Falso negativo). Apesar de algumas imprecisões, como a identificação incorreta de restos de raízes como J2, o software superou em precisão um software similar disponibilizado na literatura, que apresentou uma acurácia de 75%. Em conclusão, o programa desenvolvido neste projeto não apenas poderá acelerar o processo de seleção de ativos biológicos para controle de *M. incognita*, mas também apurar a precisão em comparação com soluções existentes. Estes resultados destacam o potencial do software para facilitar e otimizar futuras investigações no campo da nematologia agrícola.

**Termos para indexação:** Fitonematoide, *Meloidogyne incognita*, Extratos vegetais, Bioensaios in vitro.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.



# Patogenicidade de linhagens de *Metarhizium* e *Beauveria* a ninfas e ovos de *Euschistus heros* e *Diceraeus melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae)

Giancarlo Catafesta <sup>(1)</sup>, Isis Carolina Souto de Oliveira <sup>(1)</sup>, Caio Augusto Rosado Torres <sup>(1)</sup> e Rogério Biaggioni Lopes <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Percevejos sugadores são umas das principais pragas da soja, responsáveis pela redução do rendimento e da qualidade das sementes. Dentre as espécies mais importantes relatadas no Brasil estão o percevejo marrom *Euschistus heros* e o percevejo barriga verde *Diceraeus melacanthus*. O objetivo deste estudo foi avaliar a virulência de linhagens de fungos dos gêneros *Metarhizium* e *Beauveria* contra ninfas e ovos de *E. heros* e *D. melacanthus*. Conídios de 30 diferentes linhagens foram coletados de culturas em placas (12-15 dias em meio BDA) para o preparo das suspensões em concentração discriminatória de  $4 \times 10^7$  conídios/mL. Na primeira etapa, ninfas de segundo instar de *E. heros* e *D. melacanthus* acondicionadas em placas de Petri com alimento (vagens de feijão) foram pulverizadas utilizando-se uma Torre de Potter (ca.  $5 \times 10^4$  conídios/cm<sup>2</sup>). Na segunda etapa, ovos dos percevejos com idade entre 2 e 3 dias foram separados em grupos de 30-40 sobre um disco de papel de filtro e inoculados com 300µL das suspensões. As ninfas e ovos foram mantidos em condições controladas de  $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$  e 12 h de fotofase. A mortalidade das ninfas foi observada diariamente durante 7 dias e os cadáveres mantidos em câmara úmida para a confirmação da doença. No caso dos ovos foi observado a taxa de eclosão de ninfas após 7 dias. Os índices de mortalidade de ninfas de *E. heros* e *D. melacanthus* variaram de 6 a 81% e de 30 a 99%, respectivamente, para os diferentes isolados. As reduções das taxas de eclosão de ninfas em relação ao controle (ovos não tratados) variaram entre 0 e 96% e entre 0 e 87% para *E. heros* e *D. melacanthus*, respectivamente. Em geral, as duas espécies de percevejo mostraram-se mais suscetíveis a linhagens de *Metarhizium*. Os resultados indicam a possibilidade do uso desses microrganismos no desenvolvimento de novos biopesticidas para o controle de percevejos da soja.

**Termos para indexação:** Fungo entomopatogênico, Controle biológico, Percevejo.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Perfil químico de voláteis da batata-doce em dois estágios fenológicos: raiz tuberosa e fase foliar

Kamila Ketlen Santos Leite <sup>(1)</sup>, Maria Carolina Blassioli Moraes <sup>(2)</sup>, Miguel Borges <sup>(2)</sup>, Raul Alberto Laumann <sup>(2)</sup>, Miguel Michereff Filho <sup>(2)</sup> e Mirian Fernandes Furtado Michereff <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) é originária da América Central e do Sul. Trata-se de uma planta perene de grande importância econômica, amplamente distribuída em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. No mundo, é o quinto alimento mais produzido e no Brasil ocupa a quinta posição em área plantada entre as hortaliças. Embora de fácil cultivo e baixo custo, pragas podem limitar sua produtividade. Globalmente, 270 espécies de insetos e 17 espécies de ácaros são pragas da batata-doce. A planta produz compostos químicos com potencial para manejo de pragas. Assim, o estudo identifica semioquímicos da batata-doce para manejo de pragas e desenvolvimento de cultivares resistentes. Raízes tuberosas e raízes tuberosas com folhas de batata-doce foram colocadas em câmaras de vidro para coleta de voláteis 0-24h e 24-72h. Os voláteis capturados foram eluídos com n-hexano e analisados por CG-DIC para as análises quantitativas e por CG-EM para as análises qualitativas, ambas com uma coluna apolar identificação de compostos foi feita comparando espectros de massas com bancos de dados (NIST, 2020 e padrões autênticos). Um total de 62 semioquímicos voláteis foram identificados, dos quais 22,58% estavam presentes tanto nos tubérculos quanto nas folhas. Os 20,97% restantes foram encontrados exclusivamente nas folhas. A diferença na composição dos voláteis entre os tubérculos e as folhas pode indicar funções específicas desses compostos em estágios distintos do desenvolvimento da planta ou em resposta a diferentes estímulos ambientais. Nos dois estágios fenológicos da planta avaliada, foi identificado o sesquiterpeno  $\beta$ -cariofileno, um volátil importante para a defesa contra patógenos e herbívoros. Além disso, foram encontrados outros voláteis importantes para a defesa da planta como o (Z)-3-acetato de hexenila, os terpenos (E)-ocimeno, DMNT e TMTT presentes nas folhas da batata-doce. O conhecimento desses semioquímicos é essencial para o desenvolvimento de novas estratégias de manejo de pragas e doenças, com potencial para aumentar a produtividade agrícola.

**Termos para indexação:** Batata-doce, Semioquímicos, Voláteis, Manejo de pragas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.





# Bactérias produtoras de biossurfactantes utilizadas para controle biológico contra insetos da ordem *Lepidoptera*

Vanessa de Araujo Clifford<sup>(1)</sup>, Roberto Coiti Togawa<sup>(2)</sup>, Paulo Roberto Martins Queiroz<sup>(3)</sup>, Gabriella Magarelli<sup>(2)</sup>, Francisca Elaine Mascarenhas Silva<sup>(1)</sup>, Priscila Grynberg<sup>(4)</sup> e Barbara Eckstein<sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Professor, UniCeub, Brasília, DF, <sup>(4)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Atualmente há uma grande busca por estratégias de controle biológico, sem o uso de agrotóxicos, através da identificação e caracterização de microrganismos não tóxicos. Seus alvos são, principalmente, insetos-praga, como as lagartas da espécie *Spodoptera frugiperda*. A maioria das bactérias do gênero *Bacillus* são consideradas seguras por não apresentarem toxicidade para os humanos. Elas já são utilizadas como bioinsumos para o controle biológico em função da presença de proteínas tóxicas, como a Cry, Cyt e Vip. No entanto, outras moléculas, como os lipopeptídeos produzidos pelos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* e *Arthrobacteri*, caracterizados como metabólitos secundários, também podem ser tóxicos contra lepidópteros. Os biossurfactantes mais estudados são a surfactina, fengicina, iturina e lichenisina. O objetivo deste trabalho foi identificar estirpes de *Bacillus* spp., pertencentes à Coleção de Bactérias de Invertebrados da Embrapa, que produzem lipopeptídeos ativos contra lepidópteros-praga. Para a identificação dos isolados produtores, o sobrenadante da amostra foi submetido ao teste do colapso de gotas e analisado quanto ao índice de emulsificação. Foram testados três estirpes, e quatro meios de cultura a fim de constatar qual meio estimula a produção de mais biossurfactante. Os meios foram: Luria-Bertani (LB), TSB suplementado com 1% de quitosana, Chen e Landy. Após multiplicação dos isolados nos diferentes meios, estes foram centrifugados e fez-se a separação do sobrenadante e o pellet. Para extrair os lipopeptídeos, o sobrenadante foi acidificado com HCl 6M "overnight" (16h), centrifugado e o novo pellet obtido foi pesado e colocado em dessecador, gerando os extratos secos de lipopeptídeos. Observou-se que os três isolados testados possuem biossurfactantes. O meio de cultura TSB foi o que mais induziu a produção de lipopeptídeos, com um bom índice de emulsificação e resultado positivo no teste de colapso de gotas. Os lipopeptídeos em pó serão futuramente utilizados em bioensaios para testes de controle de lepidópteros-praga. Acredita-se que os biossurfactantes ou os isolados que os produzem possam ser utilizados no desenvolvimento de produtos biológicos.

**Termos para indexação:** Insetos-praga, *Bacillus*, Lipopeptídeos, Biossurfactantes.

Trabalho realizado com apoio financeiro do SEMPRE AgTech.



## Avaliação in vitro do efeito de *Bacillus aryabhatai* ao nematoide-das-galhas *Meloidogyne enterolobii*

Nanci Almeida Ribeiro <sup>(1)</sup>, Barbara Eckstein <sup>(2)</sup>, Vanessa da Silva Mattos <sup>(1)</sup> e Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Os nematoides-das-galhas (gênero *Meloidogyne*), são importantes patógenos e causam perdas na agricultura mundial. A espécie emergente *Meloidogyne enterolobii*, representa um risco devido à sua distribuição global, ampla gama de hospedeiros e capacidade de se reproduzir em genótipos de tomateiros resistentes. Devido às restrições ao uso de nematicidas químicos nos últimos anos e às dificuldades de controle genético dessa espécie, há necessidade de novas estratégias de controle biológico. Este estudo teve como objetivo investigar a eficácia do *Bacillus aryabhatai* cepa 2538 in vitro como potencial agente biocontrolador de *M. enterolobii*. Ovos de *M. enterolobii* foram extraídos de plantas de tomate, esterilizados e dispostos em Funil de Baermann para eclosão dos juvenis de segundo estágio (J2). O experimento foi realizado em placas de 6 poços, a suspensão bacteriana foi preparada nas concentrações de 8 e 16% foi adicionada a cada poço, seguido pela introdução de 50 J2 usando uma micropipeta. Um controle com mesmo número de nematoides e contendo apenas água destilada estéril foi adicionado. Subsequentemente, as placas foram incubadas à temperatura ambiente (25-28°C) por 24 horas. O experimento foi conduzido em triplicata para garantir a consistência dos resultados. A mortalidade dos nematoides foi avaliada através de contagem microscópica e foi aplicada uma gota de 1 M NaOH para distinguir os juvenis mortos dos vivos. Observou-se que tanto a concentração de 8% quanto a de 16% de *B. aryabhatai* (2538) foram eficazes na mortalidade dos J2s de 29% e 55%, respectivamente, em comparação ao controle que foi 5%. Este estudo demonstra o potencial in vitro do *Bacillus aryabhatai* 2538 como agente de biocontrole. Estudos futuros em casa-de-vegetação devem ser realizados para confirmar essa ação nematicida.

**Termos para indexação:** Nematoides-das-galhas, *M. enterolobii*, Controle biológico.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Prospecção de extratos vegetais como alternativa sustentável no controle do nematoide-das-galhas

Lorena Weber <sup>(1)</sup>, Júlia Brandão Tavares <sup>(1)</sup> e Thales Lima Rocha <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Os nematoides são patógenos de grande relevância na agricultura, causando danos significativos às plantas. A busca por métodos de controle sustentáveis tem crescido e extratos vegetais têm despertado interesse devido à sua possível eficácia e baixa toxicidade. Neste contexto, investigou-se o potencial nematotóxico de extratos de plantas, explorando a diversidade botânica de áreas de aproveitamento de hidrelétricas. Este estudo é parte do Projeto REGEN - Conservação de Coleções do Banco Genético da Embrapa - Prospecção de extratos aquosos vegetais para enriquecimento do Banco de ativos - Alelo e do Banco físico de extratos do LPCB - Embrapa. Para tanto, amostras de plantas foram coletadas e processadas em extratos crus aquosos (ECAs) no Laboratório de Prospecção e Compostos Bioativos. Os bioensaios in vitro de viabilidade envolveram a exposição de aproximadamente 80 nematoides a cada tratamento com concentrações de 1 mg/mL. Após 48h, os nematoides foram contados e classificados em móveis e parados, seguidos de um bioensaio in vitro de recuperação com 3 lavagens com água destilada, descanso de 24h e contagem e classificação em mortos e vivos. Dos 46 extratos avaliados, 21 apresentaram eficácia superior a 80% contra *M. incognita*. Isso indica um potencial significativo para o desenvolvimento de biopesticidas a partir desses extratos, que podem servir como alternativas sustentáveis aos pesticidas químicos atuais. Os extratos vegetais oferecem vantagens sobre os pesticidas sintéticos, como menor toxicidade ambiental e múltiplos modos de ação. Este estudo demonstra a viabilidade de utilizar extratos vegetais como agentes de controle de nematoides e destaca a importância da conservação de recursos genéticos vegetais nativos. A identificação de extratos com alta atividade nematicida representa um avanço na busca por alternativas sustentáveis para o manejo de nematoides. Futuros estudos devem explorar os mecanismos de ação dos compostos ativos, avaliar a eficácia em campo e desenvolver formulações comerciais para integração em programas de manejo integrado de pragas.

**Termos para indexação:** Biopesticidas, Nematoides, Extratos vegetais.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA e SEMPRE Ag Tech.



## Ação inseticida de um gene Cry para controle de *Helicoverpa* spp.

Nanci Almeida Ribeiro <sup>(1)</sup>, Barbara Eckstein <sup>(2)</sup>, Sabrina Martins de Souza <sup>(1)</sup>, Alex Lucas Souza Caetano <sup>(1)</sup> e Francisca Elaine Mascarenhas Silva <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Ao alinhar a agricultura com métodos saudáveis de produção, para que possa frear cada vez mais o uso indevido de agrotóxicos, causador de uma variedade de males, segundo estudos científicos de todo o mundo, a Embrapa Cenargen conduz pesquisas de genes Cry de *Bacillus thuringiensis* (Bt), tóxicos a lagartas e que podem ser utilizados em plantas transgênicas. O objetivo deste trabalho foi investigar a toxicidade de uma proteína Cry, denominada de CryLBE1 contra a lagarta *Helicoverpa* spp., uma das pragas mais danosas para a agricultura brasileira. Foram realizados bioensaios em placas de 24 poços contendo dieta sólida estéril para *Helicoverpa* spp., em fluxo laminar foi adicionada, sobre a dieta, a proteína CryLBE1 nas concentrações de 5 ppm e 20 ppm e controle (sem proteína) com 24 repetições (uma placa) para cada tratamento. As lagartas em 2º instar, foram expostas a essas concentrações e após 48 horas e 168h realizou-se a análise da mortalidade das lagartas nos tratamentos. Os resultados indicaram que a concentração de 5 e 20 ppm causaram mortalidade de *Helicoverpa* spp. similares, de 48 e 52%, respectivamente. No controle a mortalidade foi de 20%. Considera-se uma boa taxa de mortalidade nas lagartas expostas à essas concentrações da proteína, evidenciando sua eficácia como proteína tóxica contra a espécie. A utilização de proteínas Bt, como a CryLBE1, pode representar uma alternativa promissora para o controle deste inseto, considerando que ela ainda não faz parte dos eventos transgênicos contendo genes de Bt, no entanto, é necessário analisar a eficácia a longo prazo e, preferencialmente combinar tal proteína com outras para desenvolver eventos transgênicos mais robustos com menos chances de desenvolvimento de resistência pelo inseto.

**Termos para indexação:** proteína cry, controle biológico, *Helicoverpa* spp, bioensaio, insetos.

Trabalho realizado com apoio financeiro do SEMPRE Ag Tech.



# Análises isotópicas indicam complementariedade funcional das assembleias de formigas (Formicidae) em diferentes usos de solo no Cerrado

Daniel Antunes Daldegan <sup>(1)</sup>, Otávio Silverio Castelo Branco <sup>(1)</sup>, Rebeca Andrade Gama <sup>(1)</sup>, Lucas de Souza Nery <sup>(1)</sup>, Fernanda Vieira da Costa <sup>(1)</sup>, Tiago Luiz Massochini Frizzo <sup>(1)</sup>, Edison Ryoiti Sujii <sup>(2)</sup> e Pedro Henrique Brum Togni <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Mudanças do uso do solo são uma grande ameaça à biodiversidade. A conversão de áreas nativas em agrícolas causa homogeneização dos ambientes, simplificando as assembleias de formigas. Entender como o uso do solo altera as dinâmicas tróficas pode ajudar a prever os possíveis impactos no funcionamento dos ecossistemas. Avaliamos como os grupos funcionais de formigas são afetados por diferentes usos do solo no Cerrado. O estudo foi feito em 2013 e 2014 em 24 localidades no Distrito Federal: plantio de soja (S), pasto (P), agricultura orgânica (AO), áreas nativas de cerrado típico (CE), campo (CA) e mata (M). Classificamos as espécies em grupos funcionais e realizamos análises isotópicas para aferir as razões de  $^{13}\text{C}$  (relativo ao recurso basal da cadeia trófica) e  $^{15}\text{N}$  (relativo à posição na cadeia trófica). Encontramos três principais grupos funcionais: Predadoras epigeicas generalistas (PEG), Camponotinis generalistas patrulheiras (CGP) e Onívoras de solo (OS). Quanto ao recurso basal ( $^{13}\text{C}$ ), nas áreas AO, CE e M os grupos PEG e OS atuam predando herbívoros de plantas C3 (e.g., Pequi e Mandioca). Nas áreas P obtivemos razões de C4 e nas áreas CA uma grande amplitude isotópica, indicando maior abrangência de presas. O grupo CGP obteve padrão semelhante, com exceção na área P que demonstrou grande amplitude de variação isotópica. Para a posição trófica ( $^{15}\text{N}$ ), PEG obtiveram maiores razões de N, padrão esperado por serem predadoras, OS com os valores entre o 1º e 3º nível trófico, seguido das CGP, possivelmente por utilizarem recursos florais. No geral, CGP estão em um nível trófico primário baseado em recursos de plantas C3 e as PEG e OS em níveis superiores, predando herbívoros de C3 e C4, respectivamente. Nossos resultados indicam complementariedade funcional quanto a predação de pragas destes cultivos por diferentes espécies de formigas. Compreender as dinâmicas tróficas frente as pressões antrópicas nos ajudam a prever padrões ecossistêmicos futuros e como os conservar.

**Termos para indexação:** ecologia funcional, impactos antrópicos, isótopos estáveis.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Análise da proteína Cry60ba4 de *Bacillus thuringiensis* em *Spodoptera frugiperda*

Alex Lucas Souza Caetano <sup>(1)</sup>, Nanci Almeida Ribeiro <sup>(1)</sup>, Francisca Elaine Mascarenhas Silva <sup>(1)</sup>, Rafaella Athayde <sup>(1)</sup>, Giovana Curcio <sup>(1)</sup>, Francisco Guilherme V. Schmidt <sup>(2)</sup>, Sabrina Martins de Souza <sup>(1)</sup>, Letícia Oliveira Dias <sup>(1)</sup>, Gabriella Magarelli <sup>(3)</sup>, Paulo Roberto Martins Queiroz <sup>(1)</sup> e Barbara Eckstein <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) é uma praga agrícola muito importante. Várias medidas são necessárias para evitar sua proliferação em plantações, principalmente de milho (*Zea Mays* L.). Uma das principais forças no combate a essa praga é a utilização de plantas transgênicas Bt (*Bacillus thuringiensis*) que produzem proteínas específicas para assolar a lagarta, porém, nem toda proteína produzida por Bt mostra-se eficiente. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi testar e analisar o efeito da proteína Cry60Ba4 em *S. frugiperda* de quinta geração, oriundas de campo de milho no DF (2024). Para tal, bioensaios foram realizados, onde a Cry60Ba4 foi obtida pelo cultivo em Meio “Embrapa” do isolado de Bt recombinante contendo o gene correspondente. Em uma placa de 24 poços foi adicionada dieta que, após a solidificação, recebeu 35µl do cultivo bacteriano e, posteriormente, uma lagarta de segundo instar de *S. frugiperda*. Como controle, lagartas foram colocadas nas mesmas condições, mas sem a proteína, resultando em 90% das lagartas de controle vivas após 7 dias de ensaio. A mortalidade das lagartas submetidas à proteína foi de 30%, observou-se que 70% das lagartas continuavam vivas e resistentes à proteína após 7 dias de ensaio. Conclui-se que, baseado nos bioensaios e na literatura, a Cry60Ba4 não foi eficiente para controle de *S. frugiperda*. A mesma proteína apresenta atividade inseticida mais alta em dípteros como o *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, *Culex pipiens* e *Aedes albopictus*. Quando a proteína Cry60Ba4 é utilizada em dípteros os resultados são satisfatórios servindo como excelente remediador da proliferação desses mosquitos, porém em lepidópteros como a *S. frugiperda*, mostrou-se pouco tóxica. O motivo principal desta proteína não ser promissora na tentativa de eliminar as lagartas ainda é incerto.

**Termos para indexação:** *S. frugiperda*, Cry60ba4, Bioensaio, Lepidóptera.

Trabalho realizado com apoio financeiro do SEMPRE Ag Tech.



# Diferentes usos de solo impactam a diversidade, composição e funcionalidade de assembleias de formigas (Formicidae) no Cerrado

Isabelle Evangelista Gonçalves da Silva <sup>(1)</sup>, Fabrini Pereira da Silva <sup>(1)</sup>, Daniel Antunes Daldegan <sup>(1)</sup>, Artur Lima Cysneiros <sup>(1)</sup>, Tiago Luiz Massochini Frizzo <sup>(1)</sup>, Edison Ryoiti Sujii <sup>(2)</sup>, Fernanda Vieira da Costa <sup>(1)</sup> e Pedro Henrique Brum Togni <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - As formigas (Formicidae) possuem papéis chave nos ecossistemas naturais e antropizados ao desempenharem serviços como a dispersão secundária de sementes e o controle biológico. Contudo, as mudanças no uso do solo podem afetar as suas assembleias e serviços ecossistêmicos associados. O objetivo deste estudo foi avaliar como a mudanças no uso do solo pela agropecuária afeta a diversidade e funcionalidade das assembleias de formigas. Armadilhas do tipo pitfall (10 por área) foram instaladas em 22 pontos no DF em 2013 e 2014. As amostragens ocorreram em áreas campestres de cerrado (3 pontos), cerrado *sensu stricto* (3 pontos), matas (3 pontos), agricultura orgânica (4 pontos), pastagens (5 pontos) e cultivos de soja (4 pontos). Pelas curvas de rarefação, as áreas de campo apresentaram a maior riqueza de espécies (Sobs = 76 espécies, Sest = 81,8 espécies) e as áreas de soja, a menor (Sobs = 12, Sest = 14). As áreas de cerrado *sensu stricto* (Sobs = 61, Sest = 78,1), agricultura orgânica (Sobs = 56, Sest = 72,5), mata (Sobs = 52, Sest = 63) e pastagem (Sobs = 51, Sest = 55) apresentaram riqueza semelhante entre si e intermediária em relação às demais áreas. A frequência de ocorrência das formigas (abundância) não diferiu significativamente entre elas. Apesar disso, a composição das espécies variou significativamente. As áreas manejadas tiveram composição de espécies semelhantes entre si, formando um agrupamento de espécies, mas diferiram do agrupamento formado pelas áreas de vegetação nativa. Isso não se reflete nos agrupamentos funcionais, pois apenas as áreas de soja apresentaram um agrupamento funcional distinto das demais. As formigas nas áreas de soja provavelmente apresentam características funcionais mais relacionadas à maior homogeneidade de recursos e ao manejo intensivo. Portanto, a agropecuária afeta a riqueza e a composição das assembleias de formigas no bioma Cerrado, mas as características funcionais das assembleias foram reduzidas apenas em cultivos de soja.

**Termos para indexação:** Grupos funcionais, Serviços ecossistêmicos, Manejo de ecossistemas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Caracterização de dois isolados de *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) para controle da lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae)

Lucas de Araújo Andrade <sup>(1)</sup>, Mariele de Sousa Gomes <sup>(1)</sup>, William Sihler <sup>(2)</sup>, Rogerio Biaggioni Lopes <sup>(3)</sup>, Daniel R. Sosa-Gómez <sup>(4)</sup>, Daniel Ardisson-Araújo <sup>(5)</sup> e Marlinda Lobo de Souza <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(4)</sup> Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR, <sup>(5)</sup> Professor, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

**Resumo** - A lagarta falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*) é uma praga agrícola que prejudica economicamente diversas culturas. O controle convencional utiliza inseticidas químicos que poluem o meio ambiente e causam seleção de insetos resistentes. Em contrapartida, o uso de produtos à base do baculovírus *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) é uma alternativa ecologicamente segura e específica, amplamente utilizada no Brasil. Os baculovírus são vírus envelopados com DNA de fita dupla circular, envolvidos em um cristal protéico denominado corpo de oclusão, o princípio ativo dos produtos à base de baculovírus. Este trabalho visa caracterizar dois isolados de ChinNPV da Coleção de Vírus de Invertebrados (CVI) da Embrapa/CENARGEN, os isolados CNPSo168 (C168), como referência e Tabatinga (Tb) buscando encontrar os mais letais para o controle do inseto. O produto comercial leva tempo relativamente alto para matar o inseto e é altamente sensível à radiação UV. Os isolados originais foram amplificados em lagartas, semi-purificados e quantificados. O DNA viral dos novos isolados amplificados foi extraído, analisado em gel de agarose, e ensaios de dose letal foram realizados com os estoques originais. Curvas de sobrevivência e testes de exposição a UV na diluição de  $1 \times 10^7$  OB/mL por 10 dias também foram conduzidos. Análise de DNA de vírus amplificados em lagartas revelou a presença de bandas correspondentes ao genoma de ChinNPV e segmentos de RNA característicos de cypovirus. Testes confirmaram co-infecção após amplificação dos estoques virais, validada por PCR usando cDNA resultante de RT-PCR com primers específicos para a poliedrina de cypovirus. Nos ensaios de dose letal com estoque original, o isolado Tb teve uma taxa de mortalidade de 68% e o C168 de 81% na diluição de  $1 \times 10^6$ . Nos testes de exposição a UV, C168 manteve letalidade de 13% e Tb de 12,5%. Será realizado o sequenciamento de alto desempenho do genoma completo dos dois isolados, incluindo os co-infectados com cypovirus, além de bioensaios para determinar dose letal e tempo de morte, associando características biológicas com variações genômicas.

**Termos para indexação:** Baculovírus, Controle biológico, Cypovírus, *Chrysodeixis includens*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.





# Ajuste do protocolo de bioensaios para avaliação do efeito entomotóxico de moléculas no controle de *Euschistus heros* in vitro

Milena Barbosa Rocha <sup>(1)</sup>, Livia Maria Lemos Hoepers <sup>(1)</sup>, Barbara Eckstein <sup>(2)</sup> e Raul Alberto Laumann <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O percevejo marrom (*Euschistus heros*) é um dos principais insetos praga na cultura da soja, podendo causar redução na produção (BELORT et al., 2003). Para avaliar a eficácia de moléculas candidatas ao controle do percevejo marrom da soja, *Euschistus heros* (F.), uma das primeiras etapas consiste na realização de bioensaios em ambiente controlado, in vitro. No protocolo inicialmente utilizado, os insetos eram separados em recipiente plástico e pulverizados com cada tratamento, em seguida mantidos em caixas acrílicas contendo um disco de algodão úmido e uma vagem de feijão fresca, fechada com as tampas das próprias caixas. Verificou-se que o controle negativo (sem aplicação) repetidamente apresentou alta taxa de mortalidade, sendo necessárias alterações no protocolo experimental. Inicialmente, alterou-se a dieta, agora composta por cinco grãos de soja, dois de amendoim, dois de girassol e uma vagem fresca, trocada a cada três dias. As tampas acrílicas foram substituídas por uma camada de tecido (voil) presa à caixa por uma liga de borracha. A umidade foi mantida com dois mililitros de água adicionados ao disco de algodão. Em resumo, a otimização do protocolo incluiu o aumento da oferta de alimentos e o aumento da aeração no interior das gaiolas, reduzindo a umidade no ambiente. Após os ajustes, foram obtidos resultados mais consistentes, com menor mortalidade dos insetos no tratamento controle e redução do coeficiente de variação dos ensaios, proporcionando maior confiabilidade aos testes.

**Termos para indexação:** *Euschistus heros*, Controle biológico.

Trabalho realizado com apoio financeiro do SEMPRE Ag Tech.



## Efeito de *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* e *Bacillus amyloliquefaciens* sobre imaturos de abelhas sem ferrão

Luana Katheryne de Souza Dantas<sup>(1)</sup>, Jenifer Ramos<sup>(1)</sup>, Anderson de Oliveira Feitosa<sup>(1)</sup>, Gabriella Magarelli<sup>(2)</sup>, Juaci Vitória Malaquias<sup>(3)</sup>, Cristiano Menezes<sup>(1)</sup>, Barbara Eckstein<sup>(4)</sup>, Carmen Silvia Soares Pires<sup>(4)</sup> e Rose Gomes Monnerat<sup>(5)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Analista, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. <sup>(4)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(5)</sup> Professora Associada, Universidade de Brasília, Brasília-DF.

**Resumo** - Bactérias do gênero *Bacillus* são amplamente usadas na agricultura como biopesticidas e promotores de crescimento vegetal. Este estudo avaliou a toxicidade de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) e *Bacillus amyloliquefaciens* (Ba) em larvas de duas espécies de abelhas sem ferrão (ASF) do gênero *Scaptotrigona*. Bioensaios in vitro expuseram larvas de *S. aff. depilis* a diferentes concentrações de Btk e Ba, e *S. cf. postica* à Btk. Testes de toxicidade confirmaram a bioatividade do Btk contra *Spodoptera frugiperda* após a adição ao alimento larval das abelhas. O teste de halo de inibição confirmou a atividade do biopesticida Ba contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, com ocupação micelial de 50 a 75% do diâmetro da placa. Análises de Kaplan-Meier revelaram diferenças significativas nas curvas de sobrevivência de *S. aff. depilis* expostas a diferentes concentrações: Logrank (Btk  $X^2= 459,9$ , Ba  $X^2= 551,0$ , e *S. cf. postica* a Btk  $X^2= 1342,0$ ,  $P < 0,001$ ). As curvas indicaram que a concentração mais alta de Btk ( $1,3 \times 10^8$  UFC/larva) causou 61,7% de mortalidade em *S. aff. depilis*, e a mais alta concentração de Ba ( $2,0 \times 10^7$  UFC/larva) causou 33% de mortalidade. Larvas de *S. cf. postica* apresentaram 53,7% de mortalidade ao serem expostas a  $9,4 \times 10^8$  UFC/larva de Btk. Todos os imaturos de *Scaptotrigona* expostos ao inseticida tiametoxam morreram em até três dias, enquanto no alimento larval puro as taxas de sobrevivência ficaram acima de 90%. Em campo, o Btk é aplicado a  $13,2 \times 10^{12}$  UFC/hectare, resultando em exposição menor do que a dose mais alta testada ( $1,3 \times 10^9$  e  $9,4 \times 10^9$  UFC/ml). Portanto, podemos supor que a mortalidade das larvas de ASF em áreas agrícolas tratadas com Btk será insignificante. Nossos estudos indicam que Ba e Btk, nas concentrações utilizadas em campo, são seguros para as larvas de ASF. Para avaliar o risco ambiental e desenvolver estratégias de manejo de pragas, são necessários testes de semi-campo e campo sobre os impactos de *Bacillus* nas larvas de abelhas sem ferrão.

**Termos para indexação:** *Bacillus*, Biopesticida, Biossegurança, *Scaptotrigona*, Abelhas nativas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA e a Universidade de Brasília - UnB.



# ***Recursos Genéticos Animais***



# Morfometria de bovinos da raça Crioula Lageana das variedades aspada e mocha

Ana Karla Alvarenga<sup>(1)</sup>, Geraldo Magela Côrtes Carvalho<sup>(2)</sup>, Lucas Macêdo Santos Basílio<sup>(3)</sup>, Patricia Ianella<sup>(4)</sup> e Alexandre Floriani Ramos<sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Meio Norte, Teresina, PI, <sup>(3)</sup> Doutorando, Universidade de Brasília, Brasília, DF, <sup>(4)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Os animais da raça bovina Crioula Lageana são conhecidos por serem de porte avantajado, adaptados a diferentes climas brasileiros, resistentes a endo e ectoparasitas e por sua qualidade de carne. O objetivo deste trabalho foi auxiliar na caracterização fenotípica da raça Crioula Lageana. Em 2021, foram coletados e avaliados dados morfométricos de animais de oito fazendas localizadas no sul do Brasil, sendo 329 animais da variedade aspada e 126 animais da variedade mocha. Os parâmetros avaliados foram: peso, circunferência torácica (CT), altura da garupa (AG) e comprimento do corpo (CC). A análise estatística foi feita através do programa estatístico SAS e realizada a comparação de médias pelo Teste Tukey ( $p < 0,05$ ). Os animais foram divididos em grupos por idade de 14 a 20, 28 a 31, 40 a 43, 52 ou mais meses e nas variedades aspada ou mocha. As fêmeas da variedade mocha com idade entre 14 a 20 meses e 28 a 31 meses foram mais pesadas e mais altas (AG) que as aspadas e mais pesadas a partir dos 40 meses de idade ( $p < 0,05$ ). Quanto aos machos, os animais mochos com idades de 14 a 20 meses foram mais pesados ( $p < 0,05$ ) e não diferiram dos aspados quanto o CT, CC e AG. Dos 28 aos 43 meses ambas as variedades tiveram medidas morfométricas semelhantes ( $p > 0,05$ ). Os touros mochos tiveram maior peso, CT e AG que os aspados aos 52 meses ou mais de idade. Em ambos os sexos e nas diferentes idades houve diferenças significativas entre as variáveis avaliadas, mostrando que a variedade mocha da raça Crioula Lageana possui porte maior (peso e altura) do que os animais da variedade aspada.

**Termos para indexação:** Fenótipo, Peso, Recursos genéticos animais.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Diversidade genética de equinos do grupo genético baixadeiro no estado do Maranhão

Katherine Victoria Valadares Inglis <sup>(1)</sup>, Danielle Assis de Faria <sup>(1)</sup>, Francisco Carneiro Lima <sup>(2)</sup> e Samuel Rezende Paiva <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Professor, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA, <sup>(3)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O equino Baixadeiro é encontrado na região da Baixada Maranhense e é caracterizado pelo seu tamanho pequeno, força e resistência de trabalho. Esse grupo genético é utilizado na região no manejo do gado e, recentemente, tem sido alvo de pesquisas, em especial da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) com apoio da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O objetivo do trabalho foi gerar informações genéticas de alguns rebanhos no estado do Maranhão de forma a auxiliar futuros programas de conservação e manejo genético na região. Foram genotipados 85 animais com um total de 1.498 marcadores moleculares do tipo polimorfismo de nucleotídeo único (SNP). As análises dos SNPs foram feitas nos softwares SNP & Variation Suite (SVS), Arlequin e Structure. Para o controle de qualidade e filtragem dos dados foi aplicado um Call Rate menor que 97% para as amostras e para os marcadores. Um total de 81 animais e 1.452 marcadores foram selecionados para análises posteriores. A heterozigosidade esperada ( $He=0,47$ ) foi maior do que a heterozigosidade observada ( $Ho=0,46$ ). O valor do FIS (coeficiente de endogamia) apresentou uma média de 0,02, indicando um nível de endogamia levemente superior. A análise de estrutura genética evidenciou que há indícios de pelo menos duas populações distintas, de forma que uma apresenta certa miscigenação e a segunda apresentou uma composição genética mais homogênea. Os resultados indicam uma alta variabilidade genética deste grupo de equinos e foi verificada a existência de uma estrutura populacional significativa entre os animais/rebanhos analisados. Os resultados obtidos serão repassados para a UEMA para subsidiar o monitoramento e caracterização fenotípica dos rebanhos. Adicionalmente, os resultados irão subsidiar futuras coletas de germoplasma (sêmen, embriões, células somáticas) na região.

**Termos para indexação:** *Equus caballus*, Genotipagem, Recursos genéticos animais.

**Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.**



# Diversidade genética e manejo populacional dos ovinos Bergamácia e Morada Nova no Campo Experimental Sucupira

Camila Souza Rodrigues<sup>(1)</sup>, Danielle Assis de Faria<sup>(1)</sup>, Alexandre Floriani Ramos<sup>(2)</sup> e Samuel Rezende Paiva<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Morada Nova e Bergamácia são raças brasileiras de ovinos deslançados que possuem potencial de produção para carne e leite, respectivamente. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia mantém exemplares de raças brasileiras de ovinos no Campo Experimental Sucupira para experimentação e para vitrine, para representar o Programa Nacional de Recursos Genéticos Animais. Neste trabalho, o objetivo foi estimar a diversidade genética e prover dados para manejo populacional do rebanho dessas duas raças. No total, 41 animais e 2,945 marcadores do tipo SNP (polimorfismo de base única) foram genotipados por meio do Beadchip multi-espécie (EMBRAPA-MULTI 60K CHIP). Desses, 2.266 SNPs e 39 amostras passaram no controle de qualidade (call rate >0,99). Os índices de diversidade genética intrapopulacional demonstraram que, para ambas as raças, a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) foi 0,37, inferior à heterozigosidade observada ( $H_o$ ), que foi 0,39 para a Bergamácia e 0,43 para a Morada Nova. O coeficiente de endogamia (FIS) foi de -0.0607 e -0.1581 para Bergamácia e Morada Nova, respectivamente, confirmando a alta frequência de heterozigotos observada. Uma matriz de relacionamento (IBD - Identity by Descent), foi estimada entre os indivíduos de cada raça, sendo observada uma maior distância genética entre os indivíduos Bergamácia, em comparação com os ovinos Morada Nova. A análise de estrutura populacional evidenciou que não há fluxo gênico entre as duas raças específicas, sem a presença de animais cruzados entre elas. A diversidade das duas raças no rebanho do Campo Experimental Sucupira pode ser considerada alta, com baixa endogamia. Esses resultados irão orientar o manejo genético do rebanho, auxiliando no direcionamento de cruzamentos e na manutenção da variabilidade genética.

**Termos para indexação:** Recursos genéticos animais, *Ovis aries*, Genotipagem, Manejo genético.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Conhecimento e preservação: montagem de coleções didáticas de abelhas nativas para iniciativas de educação ambiental no Distrito Federal

Heitor Augusto Castilha de Queiroz <sup>(1)</sup>, João Victor de O. Marques <sup>(1)</sup>, Davi de Lacerda Ramos <sup>(1)</sup>, Krissy N. da Silva Santos <sup>(1)</sup>, Rafaela Mendes Assunção <sup>(1)</sup>, Eliana Maria Gomes Fontes <sup>(2)</sup>, Débora Pires Paula <sup>(2)</sup>, Roberto W. M. Montenegro <sup>(1)</sup> e Carmen Silvia Soares Pires <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - As abelhas (Hymenoptera: Apoidea) representam um grupo altamente diverso de insetos de grande importância para a manutenção de ecossistemas e no incremento da produção agrícola devido ao serviço de polinização. Dentro deste grupo, os meliponíneos (Apidae: Meliponini), abelhas sem ferrão (ASF) ou abelhas nativas sem ferrão (ANSF), encontradas nas regiões Neotropicais, são responsáveis pela polinização de muitas espécies de interesse agrícola. Mas, culturas como o maracujá dependem exclusivamente das abelhas solitárias e de grande porte, como as do gênero *Centris* (Tribo: Centridini) e *Xylocopa* (Tribo: Xylocopini) para polinização. Porém, ainda existe um desconhecimento pela sociedade em geral sobre a diversidade e importância das abelhas, sobretudo quanto às nativas regionais. Apesar de ser exótica no Brasil, a abelha mais conhecida popularmente é a *Apis mellifera* (Apidae: Apini), comumente denominada por abelha europeia africanizada. A falta de conhecimento sobre as abelhas nativas dificulta a preservação dessas espécies e, conseqüentemente, reduz o serviço de polinização provido por elas. Um método eficiente para divulgação e conscientização da importância das abelhas nativas é o uso de caixas entomológicas didáticas, que apresentam uma amostra de sua diversidade para diferentes públicos de forma acessível e prática. Este trabalho teve como objetivo a montagem de caixas entomológicas didáticas com as principais abelhas que ocorrem no Distrito Federal, a partir do material de excesso da Coleção Entomológica da EMBRAPA Cenargen e do material disponibilizado no curso Montagem de Abelhas para Coleção Didática promovido pela EMBRAPA Cenargen e a AME-DF (Associação de Meliponicultores do Distrito Federal), realizado em abril de 2024. Inicialmente, as caixas didáticas receberam 140 indivíduos de 28 espécies de ASF, 25 exemplares de *Apis mellifera* e exemplares de 10 tribos de abelhas solitárias. Essas caixas entomológicas serão utilizadas em trabalhos pedagógicos e introdutórios sobre a fauna de abelhas nativas do Distrito Federal e Centro-Oeste brasileiro.

**Termos para indexação:** Meliponicultura, Polinizadores, Abelhas nativas, Ecossistemas agrícolas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Manejo genético núcleo de conservação de caprinos da Embrapa Meio Norte

Gustavo de Sousa Lisboa <sup>(1)</sup>, Danielle Assis de Faria <sup>(1)</sup>, Danielle Maria Machado Ribeiro Azevêdo <sup>(2)</sup> e Samuel Rezende Paiva <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI, <sup>(3)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A raça Marota, adaptada da Região Nordeste do Brasil, evoluiu por meio de um processo de seleção natural e deriva genética dos caprinos introduzidos pelos portugueses durante a colonização. Neste estudo, foram usadas tecnologias avançadas de genotipagem, utilizando marcadores de polimorfismo único (SNP), para aprofundar a compreensão da diversidade genética do Núcleo de Conservação da Embrapa Meio Norte e contribuir com estratégias eficazes de conservação e uso da raça. Os dados genéticos brutos foram gerados a partir do uso de um SNP Chip customizado da Embrapa “multi-espécie” (EMBRAPA-MULTI 60K CHIP) em 35 animais do Núcleo de Conservação da raça Marota e Azul para 1.414 SNPs que foram genotipados em 25 animais Marota e 10 animais Azul. No controle de qualidade dos dados, excluímos amostras com call rate < 0,92, excluímos marcadores em cromossomos sexuais, não mapeados, com call rate < 0,94. Os valores de heterozigosidade esperada ( $HE=0,43$ ) foram ligeiramente inferiores aos valores de heterozigosidade observada ( $HO=0,44$ ) para a raça Marota e Azul, e confirmaram a aplicabilidade do chip para a raça em razão da alta diversidade genética observada. O  $FST$  (0,058), uma medida de diferenciação genética entre populações, sugere uma diferenciação genética moderada entre os indivíduos. Valores de  $FST$  próximos a 0 indicam pouca diferenciação genética, enquanto valores próximos a 1 indicam alta diferenciação genética. A análise do coeficiente de endogamia ( $FIS$ ) revelou um valor médio de 0.0134, indicando uma baixa endogamia e uma alta diversidade genética dentro da amostra estudada. O painel de marcadores poderá ser usado, por exemplo, para selecionar acasalamentos, corrigir pedigrees, reduzir a endogamia e auxiliar na seleção de animais para coleta e conservação de germoplasma no Banco Genético Animal da Embrapa.

**Termos para indexação:** SNP, Caprinos, Conservação, Genotipagem.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.





## Manejo genético do núcleo de conservação dos ovinos pantaneiros da Embrapa

Laura de Moraes Guazzelli <sup>(1)</sup>, Danielle Assis de Faria <sup>(1)</sup>, Adriana Mello de Araújo <sup>(2)</sup> e Samuel Rezende Paiva <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Pantanal, Corumbá, MS. <sup>(3)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A Embrapa possui um projeto de conservação de animais domésticos com interesse zootécnico desde 1980, focado em raças brasileiras que se desenvolveram de animais previamente trazidos na época da colonização. Os Ovinos Pantaneiros são um grupo genético que vem apresentando alguns padrões de adaptação ao ambiente do ecossistema do Pantanal, como termotolerância, resistência a parasitos e resistência dos cascos à umidade. A ovelha Pantaneira possui uma cobertura de lã que permite sua proteção contra o sol, frio e água das chuvas, possuindo pouca lã nas pernas, barriga e pescoço, regiões que ficam constantemente molhadas. Neste trabalho foram analisados geneticamente 145 Ovinos Pantaneiros da Embrapa Pantanal a partir de 2926 marcadores do tipo SNP (polimorfismos de base única) contidos no chip customizado Embrapa Multi-espécie. As análises foram realizadas inicialmente no programa SNP & Variation Suite (SVS), onde amostras e marcadores que possuíam call rate < 0,90 foram eliminados. Depois da limpeza dos dados, o banco ficou com 82 animais e 2360 SNPs, sendo que a perda de animais pode ser justificada pela qualidade do DNA, uma vez que foi extraído de pelos. Uma análise genética inicial utilizando GenAlex6.5 revelou a heterozigosidade observada do rebanho ( $H_o$ ) igual a 0,41 e coeficiente de endogamia (FIS) igual a -0,026, indicando variabilidade genética do rebanho e baixa endogamia. Além disso, os dados demonstram miscigenação no rebanho de Ovinos Pantaneiros, de acordo com as análises feitas no software Structure, porém não se sabe se os cruzamentos foram realizados com outras raças ou se há duas populações distintas dentro do rebanho da Embrapa Pantanal. Foi feita uma segunda análise adicionando Ovinos da raça Crioula e os resultados claramente diferenciam as duas raças, diminuindo a miscigenação dentro do grupo genético Pantaneiro. Os dados genéticos permitem um monitoramento alternativo do rebanho quando sistemas de identificação zootécnica ainda não estão totalmente implementados. O uso de marcadores pode otimizar a manutenção da variabilidade genética e conservação deste grupo genético regional.

**Termos para indexação:** Ovinos Pantaneiros, Genotipagem.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Atividade de forrageamento como parâmetro de qualidade de ninhos de abelha nativa para introdução em agroecossistemas

Marina de Almeida Magalhães Pereira <sup>(1)</sup>, Rafaela Mendes Assunção <sup>(1)</sup>, Patricia Sanae Sujii <sup>(1)</sup>, João Guilherme Vasconcelos Costa de Lacerda <sup>(1)</sup>, Carmen Sílvia Soares Pires <sup>(2)</sup> e Pedro Henrique Brum Togni <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A polinização assistida aumenta a produtividade agrícola, mas é pouco explorada devido às dificuldades em selecionar ninhos manejados de qualidade. Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade dos ninhos de *Melipona quadrifasciata* (Apidae: Meliponini) por meio da atividade de forrageamento, visando a seleção de ninhos saudáveis para introdução em agroecossistemas. Avaliamos, semanalmente, em junho de 2023, a atividade de forrageamento de nove ninhos de *M. quadrifasciata* na área experimental da Embrapa Cenargen, no Distrito Federal. As observações ocorreram entre 8h e 11h da manhã, em intervalos de 30 min. Contabilizamos o número de abelhas entrando e saindo do ninho e a temperatura. A temperatura apresentou uma correlação positiva com a hora de observação. Em espécies como *M. quadrifasciata*, as forrageiras preferem temperaturas mais amenas. Temperaturas extremas influenciam a termorregulação, o que é fundamental para o voo das abelhas. Isso pode afetar a coleta de recursos como pólen, a qual diminui em temperaturas acima de 29 °C. Portanto, o produtor poderá avaliar a qualidade do ninho observando o forrageamento das abelhas no início da manhã, entre 8h e 10h, e considerando o intervalo ótimo de temperatura para a espécie. Também observamos diferença na atividade de forrageamento entre os ninhos observados. A média total de indivíduos saindo foi maior nos ninhos B e C. Enquanto os ninhos F e G apresentaram atividades consideravelmente mais baixas que os demais ninhos. A saúde do ninho depende do alimento armazenado dentro dele e isto está associado à atividade de forrageamento das abelhas para coleta de recurso. Portanto, avaliar a saída ou entrada de abelhas do ninho pode ser um bom indicativo de sua qualidade. Com base nos ninhos com maior atividade, recomendamos um valor mínimo de 100 abelhas forrageando durante os períodos de maior fluxo. Essa atividade pode servir como um proxy de qualidade do ninho para sua seleção e utilização na polinização assistida em agroecossistemas.

**Termos para indexação:** Mandaçaia, *Melipona*, Polinização, Manejo, Meliponicultura.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Avaliação da espécie *Melipona quadrifasciata* (Apidae: Meliponini) para polinização complementar em cultivos abertos de tomateiros orgânicos

Isabelle Evangelista Gonçalves da Silva <sup>(1)</sup>, Rafaela Mendes Assunção <sup>(1)</sup>, Patricia Sanae Sujii <sup>(1)</sup>, Pedro Henrique Brum Togni <sup>(1)</sup> e Carmen Sílvia Soares Pires <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Uma estratégia que pode favorecer a polinização é o manejo de abelhas nativas em cultivos agrícolas. O objetivo deste estudo foi avaliar se a introdução de ninhos da abelha nativa *Melipona quadrifasciata* contribuiu para a polinização complementar em cultivos abertos de tomateiros orgânicos. Entre junho e novembro de 2023, instalamos ninhos de *M. quadrifasciata* (três ninhos por propriedade) em duas propriedades (CN) produtoras de tomate orgânico no Distrito Federal e acompanhamos mais duas sem ninhos (SN). Realizamos coleta ativa de abelhas para caracterizar os visitantes florais do tomateiro em todas as áreas. Avaliamos também o serviço de polinização por meio de dois tratamentos: Polinização Aberta (PA) e Polinização Fechada (PF) (autopolinização). Avaliamos a qualidade dos frutos por peso (g), largura e comprimento (cm) e número de sementes por fruto. Todas as áreas apresentaram gêneros considerados eficientes polinizadores do tomateiro, por realizarem polinização por vibração ou por ordenha. As áreas SN possuíam maior diversidade de abelhas em relação às áreas CN. Como não observamos comportamentos agressivos ou de afastamento de *M. quadrifasciata* para com outras espécies, essa menor diversidade em CN pode estar relacionada a fatores específicos de cada área. Dos 458 frutos colhidos do tratamento PA, 32% apresentavam sintomas de ataques por pragas. Em PF, foram colhidos 290 frutos, tendo 41% apresentado esses sintomas. Isso indica que a polinização cruzada pode auxiliar na resistência dos frutos a doenças. A qualidade dos frutos (peso, tamanho e número de sementes) foi significativamente maior nos tratamentos de polinização. Esse resultado demonstra maior eficiência da polinização por abelhas em relação à autopolinização. Contudo, áreas CN não apresentaram serviço de polinização mais eficiente e não encontramos indivíduos de *M. quadrifasciata* forrageando nos cultivos. Isso sugere que as flores de tomateiro não são seu recurso floral prioritário em cultivos abertos e que possivelmente estão forrageando em outras plantas cultivadas e não cultivadas nas propriedades.

**Termos para indexação:** Serviços ecossistêmicos, Mandaçaia, Agroecossistemas, Manejo, Abelhas nativas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Conservação e caracterização genética de populações da raça bovina Curraleiro Pé-duro

Ana Beatriz Pereira Mendes <sup>(1)</sup>, Luidy Carlo de Azevedo Lima <sup>(1)</sup>, Alexandre Rodrigues Caetano <sup>(2)</sup>, Geraldo Magela Côrtes Carvalho <sup>(3)</sup>, Alexandre Floriani Ramos <sup>(2)</sup> e Patricia Ianella <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisador, Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI.

**Resumo** - A conservação de recursos genéticos animais em bancos de germoplasma (ex-situ) é importante para garantir a preservação e diversidade de raças localmente relevantes, como a raça Curraleiro Pé Duro. Amostras de 1075 animais de 27 rebanhos da Associação Brasileira de Criadores de Curraleiro Pé-Duro tiveram seu material genético extraído, e foram genotipadas com o chip Bovine GGP 100K. Os dados foram inicialmente analisados por meio do software SNP & Suite Variation v8.x (Golden Helix) e SNPs e amostras com call rate < 0.95 foram excluídas. Além disso, SNPs com MAF < 0.05, Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) abaixo de 5%, e em Desequilíbrio de Ligação (LD) com  $r^2 < 0.50$  em uma janela de 50 SNPs, também foram excluídos. De 95256 marcadores e 1075 amostras, 40871 marcadores e 968 amostras foram mantidos. A partir da Análise de Componente Principal (PCA), foi possível observar a diferenciação genética entre as populações. As duas principais componentes representam 20% da variação genética total (10,6% e 9,4%, respectivamente). O rebanho da fazenda MUSA apresentou a maior diferenciação, estando isolado dos outros nos dois eixos. Nas análises de  $F_{st}$ , observa-se que os maiores valores foram gerados a partir da comparação do rebanho da fazenda MUSA em relação a todos os outros rebanhos (0.10 – 0.15), corroborando com o observado na estruturação de população obtida pelas análises de PCAs. O menor valor  $F_{st}$  par a par foi encontrado pela comparação entre o rebanho da Embrapa Meio Norte e NDR Agropecuária ( $F_{st} = 0.005$ ), o que pode ser explicado pelo fato de parte dos touros utilizados no rebanho da Embrapa Meio Norte e NDR serem os mesmos. A grande diferença observada nos animais da fazenda MUSA deve ser mais profundamente estudada para se averiguar as causas dessa diferenciação. A análise da variabilidade genética entre essas populações permitirá, posteriormente, a seleção de amostras a serem incluídas no Banco Brasileiro de Germoplasma Animal, para que a diversidade dessa raça esteja devidamente representada e conservada no banco.

**Termos para indexação:** Curraleiro, Diversidade, Variabilidade genética.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Abelhas dominantes não afetam os polinizadores do maracujazeiro em pequenas propriedades rurais no bioma Cerrado

Rafaela Mendes Assunção <sup>(1)</sup>, Luan Santos Souza <sup>(1)</sup>, Nicholas Ferreira de Camargo <sup>(2)</sup>, Patricia Sanae Sujii <sup>(1)</sup>, Edison Ryoiti Sujii <sup>(3)</sup>, Carmen Silvia Soares Pires <sup>(3)</sup> e Pedro Henrique Brum Togni <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Universidade de Brasília, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Espécies dominantes de abelhas podem sobrepor seu forrageamento com polinizadores regulares e prejudicar a provisão do serviço de polinização em cultivos como o maracujazeiro. O objetivo do estudo foi entender se as abelhas dominantes afetam os polinizadores do maracujazeiro em cultivos de maracujá no bioma Cerrado. Amostramos quatro propriedades rurais na região central do Brasil de janeiro a maio de 2021. Coletamos abelhas das 12h às 16h durante a floração do maracujazeiro (*Passiflora edulis*, var. BRS Gigante Amarelo). Classificamos as abelhas amostradas em dois grupos: polinizador-ocasional (PO) e polinizador-regular (PR). Analisamos como a abundância e riqueza de PR são afetadas por PO. Avaliamos também o padrão da atividade de forrageamento dos grupos PR e PO (nicho temporal) e sua sobreposição. As espécies mais abundantes de PR foram *Xylocopa frontalis*, *X. suspecta* e *Centris scopipes*. Estas são espécies nativas do Cerrado e são consideradas polinizadoras eficazes do maracujazeiro. As espécies mais abundantes de PO foram *Apis mellifera*, *Trigona hyalinata* e *T. spinipes*. Estas espécies são menos sensíveis às áreas degradadas e concentraram 90% da abundância total de abelhas amostradas. Por isso, podem ser indicadoras de degradação ambiental das áreas. Apesar da alta dominância de espécies de PO, isso não teve impacto na comunidade de PR. Simulações usando os valores do índice de Pianka indicaram que indivíduos de PO e PR sobrepõem seus intervalos de forrageamento (nicho temporal). Essa redundância no nicho temporal pode estar associada ao momento da produção abundante de néctar pelo maracujazeiro. Estudos demonstraram que abelhas dominantes não têm efeito negativo sobre abelhas nativas em habitats onde os recursos florais não são limitados, como é o caso dos cultivos avaliados. Além disso, isso reforça que abelhas sociais nativas (*Trigona* spp.) podem atingir níveis de dominância semelhante às espécies introduzidas (*A. mellifera*). Nessa situação, outros fatores como o uso de inseticidas e a cobertura vegetal natural podem ser mais determinantes na manutenção de polinizadores nativos no maracujazeiro.

**Termos para indexação:** Polinização, Nicho, forrageamento, *Apis*, *Trigona*, Maracujá.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Diversidade genética do camarão gigante-da-malásia (*Macrobrachium Rosenbergii* de Man 1879) com base no sequenciamento do gene mitocondrial COI

Fernanda Cortez Roriz Pontes <sup>(1)</sup>, Maysa Dias Sousa <sup>(2)</sup>, Alexandre Rodrigues Caetano <sup>(3)</sup> e Patricia Ianella <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O camarão gigante da malásia (*Macrobrachium rosenbergii* de Man, 1879) é uma espécie de camarão de água doce nativa da região do Indo-Pacífico. Cultivado em pelo menos 40 países, se tornou um dos mais famosos e economicamente valorizados crustáceos de água doce. Para realizar estudo de diversidade e estrutura genética do germoplasma atualmente em uso pelo setor produtivo brasileiro, foi sequenciado em equipamento ABI 3100 um fragmento do gene mitocondrial COI (710pb) de 183 indivíduos. Estes indivíduos foram coletados de quatro plantéis em diferentes estados brasileiros (Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Norte), uma população feral (Pará) e um plantel peruano (San Martín), que foi utilizado como grupo externo. Após edição e análise das sequências (337pb) nos softwares MEGA, DNAsp e Arlequin, foram identificados oito SNPs e dois haplótipos. Os plantéis brasileiros compartilham do haplótipo A ( $Hd=0.00000$ ), o plantel peruano possui haplótipo B ( $Hd=0.00000$ ), e a população feral do Pará é composta pelos haplótipos A e B ( $Hd=0,38889$ ). A partir da Análise de Variância Molecular (AMOVA), foi identificado que 87% da variação dos dados é explicada pela diferenciação entre as populações. Os valores de  $F_{st}$  variaram de 0.00000, quando as populações brasileiras foram comparadas entre si, até 1,00000, para a comparação dos plantéis brasileiros ao plantel peruano. A população feral do Pará, quando comparada às outras populações brasileiras, apresentou  $F_{st}=0,74074$ . Já quando comparada à população do Perú apresentou  $F_{st}=0,22222$ . A árvore filogenética inferida pelo método UPGMA (MEGA) confirmou a segregação das populações em dois ramos. A partir dos resultados, especula-se que o germoplasma em uso pelo setor produtivo seja proveniente de apenas uma origem, diferente da origem do germoplasma peruano, e que a população do Pará tenha sido composta por indivíduos das duas diferentes origens. Mais análises deverão ser realizadas para complementar os achados, de forma que seja possível subsidiar ações futuras para aprimorar o manejo e o melhoramento genético da espécie.

**Ternos para indexação:** Citocromo C Oxidase subunidade 1, Cox1, Melhoramento genético, Mtdna, SNPs.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Diversidade genética do *Arapaima gigas* (Pirarucu) com base no gene COI do DNA mitocondrial

Maysa Dias Sousa <sup>(1)</sup>, Aline Araujo Campelo <sup>(1)</sup>, Fernanda Cortez Roriz Pontes <sup>(1)</sup>, Alexandre Rodrigues Caetano <sup>(2)</sup> e Patricia Ianella <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O Pirarucu (*Arapaima gigas*) é o maior peixe de água doce do mundo, encontrado nas Bacia Amazônica (BA) e do Tocantins-Araguaia (BTA) e com potencial para a aquicultura. Objetivando-se avaliar a diversidade genética em populações selvagens e de cativeiro, 245 amostras de 15 populações das BA e BAT tiveram seu material genético avaliado por sequenciamento do gene mitocondrial COI (Citocromo Oxidase 1). As sequências obtidas em ABI3100 foram alinhadas e tiveram SNPs prospectados utilizando os programas Phred, Phrap e Consed. Os dados resultantes foram analisados com o programa ARLEQUIN para calcular o índice de fixação (Fst), analisar a variação molecular (AMOVA) e identificar os haplótipos (H). A análise AMOVA mostrou que pouco mais de 42% da variação genética ocorre entre populações e que quase 58% da variação genética é encontrada dentro das populações. Foram identificados seis haplótipos, sendo o H2 presente em todas as populações, exceto na população 24 da BA, e o H5 que é exclusivo da população 27 da BA. O haplótipo 1 aparece em todas as populações da BA e na população 16 da BAT. Os valores de FST revelam que as populações 16, 22 e 24 possuem maior divergência genética em relação às demais populações estudadas. A população 16, localizada na BTA, é uma população de cativeiro, indicando que eventos de introgressão de material da BA podem ter ocorrido nesta piscicultura. Tais eventos podem causar problemas ambientais em caso de escape desse material para o ambiente. As populações com menores valores de Fst são as populações 1, 6, 9, 10, 11, 12 e 17, informação que corrobora com as análises haplotípicas, uma vez que estas populações apresentaram somente o haplótipo 2, mais comumente observado. Os resultados obtidos são concordantes com os da literatura que utilizaram marcadores nucleares, sugerindo forte diferenciação entre populações das duas bacias estudadas e demonstrando a importância de se realizar a gestão de estoques de populações naturais e de cativeiro com objetivos conservacionistas.

**Termos para indexação:** Conservação genética, MTDNA, PCR, Variação genética.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# ***Recursos Genéticos Microbianos***





# Raças de populações de *Meloidogyne enterolobii* de diferentes culturas no Brasil: diversidade genética e teste de hospedeiros diferenciais

Caio Felipe de Barros Souza <sup>(1)</sup>, Ana Luisa Porto Cruz <sup>(1)</sup>, Juvenil Enrique Cares <sup>(2)</sup>, Philippe Castagnone-Sereno <sup>(1)</sup> e Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Professor, Universidade de Brasília, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - *Meloidogyne enterolobii* é considerado um risco para a agricultura devido à sua capacidade de se reproduzir em plantas portadoras de resistência contra as principais espécies de nematoides das galhas tropicais (RKN). Raças de *Meloidogyne* spp. podem ser reconhecidas de acordo com sua reprodução em diferentes plantas hospedeiras, conforme padronizado no Teste Diferencial do Hospedeiro da Carolina do Norte (NCDHT) com base em seis espécies de plantas e cultivares específicas. O NCDHT exibiu dois perfis patogênicos distintos em cinco populações de *M. enterolobii* do Brasil, apoiando uma subclassificação em duas raças fisiológicas: raça 1 (reação positiva em tomate, tabaco, melancia e pimenta, mas não em amendoim e algodão) e raça 2 (positiva nas mesmas culturas e algodão, mas não em amendoim). Apenas as populações de algodão pertencem à raça 2, as populações de outras culturas (goiaba, pimentão e batata-doce) pertencem à raça 1. Como as cultivares propostas pelo NCDHT estão obsoletas e algumas das sementes não estão mais disponíveis no mercado, avaliamos a eficácia de cultivares brasileiras atuais para a realização deste teste. Este estudo também investigou a diversidade genética das raças de *M. enterolobii*. A variabilidade genética foi avaliada usando os primers RAPD e AFLP. A análise concatenada *neighbor-joining* agrupou duas populações de goiaba (raça 1) e duas de algodão (raça 2) com 95% e 100% de suporte de bootstrap, respectivamente. As duas populações de pimenta (raça 1) agruparam-se com outras populações da raça 1. A população de batata-doce (raça 1) foi a mais divergente e agrupou separadamente, mas relacionada a outras populações de raça 1. Este estudo enfatiza a importância de entender a variabilidade intraespecífica de *M. enterolobii* no manejo de estratégias de controle.

**Termos para indexação:** Nematóide das galhas, Raça, Variabilidade genética, Adequação de hospedeira.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## Ocorrência do Bean-associated *cytorhabdovirus* e Cowpea mild mottle virus em diferentes espécies de *Passiflora* no Brasil

Andreza Henrique Vidal <sup>(1,2)</sup>, Gustavo Pereira Felix <sup>(1,3)</sup>, Emanuel Felipe Medeiros Abreu <sup>(4)</sup>, Bruna Pinheiro-Lima <sup>(1,2)</sup>, Monique Jacob Xavier Vianna <sup>(1,3)</sup>, Jorge Flavio De Sousa Dantas-Filho <sup>(1,3)</sup>, Isadora Nogueira <sup>(1,2)</sup>, Ana Clara Rodrigues Abreu <sup>(1,3)</sup>, Marcio Martinello Sanches <sup>(5)</sup>, José Leonardo Santos-Jimenez <sup>(8)</sup>, Raul Castro Carriello Rosa <sup>(7)</sup>, Maite Freitas Silva Vaslin <sup>(8)</sup>, Fábio Gelape Faleiro <sup>(6)</sup>, Cristiano Lacorte <sup>(11)</sup>, Rosana Blawid <sup>(7)</sup>, Fernando Lucas Melo <sup>(2)</sup>, Arvind Varsani <sup>(10)</sup> e Simone Graça Ribeiro <sup>(1,2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(2)</sup> PPG BIOMOL, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil, <sup>(3)</sup> Universidade de Brasília, Brasília, DF, <sup>(4)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(5)</sup> Pesquisador, Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, <sup>(6)</sup> Pesquisador, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, <sup>(7)</sup> Pesquisador, Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Rio de Janeiro, RJ, <sup>(8)</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, <sup>(9)</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, <sup>(10)</sup> Universidade do Arizona, Tempe, AZ, Estados Unidos.

**Resumo** - O bean-associated cytorhabdovirus (BaCV) é uma cepa da espécie *Cytorhabdovirus caricae* (Rhabdoviridae) identificada em várias culturas ao redor do mundo, e em maracujá, na China, foi descrito como citrus-associated rhabdovirus (CiARV). No Brasil, infecções mistas entre o BaCV e cowpea mild mottle virus (CPMMV, Carlavirus, Betaflexiviridae) foram reportadas em plantas de feijoeiro. O objetivo deste estudo foi investigar a ocorrência do BaCV e CPMMV em maracujazeiros no Brasil. O levantamento realizado seguiu as seguintes etapas: i) Extração do RNA total, ii) RT-PCR usando os primers BaCV-6491F/BaCV-7178R e CPMMVB22095F/CPMMVB22535R, iii) Sequenciamento de Sanger. As amostras avaliadas foram coletadas nas regiões produtoras de Cuité, Paraíba (n=24), Vitória de Santo Antão, Pernambuco (n=11), e Seropédica, Rio de Janeiro (n=51). No Distrito Federal foram avaliadas amostras coletadas em Brasília (n= 9), Planaltina (n=19) e Brazlândia (n=20), e de acessos de *Passiflora* spp. que fazem parte do Banco de Germoplasma Flor da Paixão- BAG-FP (n=55) localizado em Planaltina. O BaCV foi identificado em plantas de *P. edulis* (4/19) em um campo de Planaltina e em acessos de *Passiflora* spp. (4/55) do BAG-FP. O CPMMV foi identificado em *Passiflora* spp. (14/55) mantidas no BAG-FP. Além disso, usando um par de primers alternativo (CPMMV-4000F/CPMMV-4500R) foram identificadas plantas de *P. edulis* de Planaltina (1/19), Brasília (2/9), Cuité (2/24), Vitória de Santo Antão (1 /11), e Seropédica (1/51) com o CPMMV. Vírus descritos anteriormente em maracujazeiros no Brasil, como *lettuce chlorosis virus* (LCV, Crinivirus, Closteroviridae) e *cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV, Potyvirus, Potyviridae) também foram avaliados. Infecções mistas entre BaCV, CPMMV, CABMV, e LCV foram confirmadas. O BaCV foi identificado em maracujazeiros apenas na região centro-oeste, enquanto o CPMMV parece estar bem distribuído no país, tendo sido encontrado em maracujazeiros do Sudeste, Centro-oeste e Nordeste. Nossos estudos mostraram pela primeira vez a ocorrência desses dois vírus na cultura. Além disso alertamos para a elevada diversidade de vírus que infectam plantas de maracujazeiro e presentes em diferentes regiões do país.

**Termos para indexação:** BACV, CPMMV, Detecção, Maracujá.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Caracterização do Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV) de maracujazeiros no Brasil: evidências de um complexo de isolados de espécies de CABYV

Andreza Henrique Vidal <sup>1,2</sup>, Cristiano Lacorte<sup>1</sup>, Marcio Martinello Sanches <sup>1,9</sup>, Dione Mendes Teixeira Alves-Freitas <sup>1</sup>, Emanuel Felipe Medeiros Abreu <sup>1</sup>, Bruna Pinheiro-Lima <sup>1,2</sup>, Raul Castro Carriello Rosa <sup>4</sup>, Onildo Nunes de Jesus <sup>5</sup>, Magnólia Araujo Campos <sup>6</sup>, Gustavo Pereira Felix <sup>1,3</sup>, Ana Clara Rodrigues Abreu <sup>1,3</sup>, Yam de Souza Santos <sup>1,7</sup>, Ana Luiza Machado Lacerda <sup>1</sup>, Arvind Varsani <sup>8</sup>, Fernando Lucas Melo <sup>2</sup> e Simone Ribeiro <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil, <sup>2</sup>PPG BIOMOL, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil, <sup>3</sup> Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil, <sup>4</sup> Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, Brasil, <sup>5</sup> Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, Brasil, <sup>6</sup> Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB, Brasil, <sup>7</sup> Departamento de Microbiologia, Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil, <sup>8</sup>The Biodesign Center for Fundamental and Applied Microbiomics, School of Life Sciences, Center for Evolution and Medicine, Arizona State University, Tempe, AZ, USA, <sup>9</sup> Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, Brasil,

**Resumo** - Nos últimos anos diversos vírus têm sido identificados em maracujazeiros ao redor do mundo. Em 2015, sintomas típicos de infecção por vírus foram observados em várias regiões produtoras de maracujá no Estado da Bahia, Brasil. Usando tecnologias de sequenciamento em massa (high-throughput sequencing - HTS), ferramentas de bioinformática, RT-PCR, e sequenciamento de Sanger foi identificada e confirmada a identidade do Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV, *Polerovirus*, *Solemoviridae*) em maracujazeiros coletados em Seabra, Morro do Chapéu, Dom Basílio, Jussiape, e Lençóis, no estado da Bahia. Além disso, nestas mesmas plantas foram confirmadas a presença do Cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV, *Potyvirus*, *Potyviridae*) em infecção mista com o CABYV. Plantas utilizadas como adubo verde e plantas espontâneas encontradas no entorno ou dentro destes pomares foram também investigadas. *Macroptilium* sp., *Stylosanthes* sp., *Sida* sp., e *Bignonia* sp., estavam infectadas com o CABYV, e são novas hospedeiras para esse vírus. *Sida* sp. e *Bignonia* sp. também tinham infecção mista com CABMV. Neste estudo o genoma completo de vários isolados de CABYV de maracujá (CABYV-PF) também foram determinados. Baseado na relação filogenética, identidade par-a-par, e o critério de demarcação de espécies para o gênero *Polerovirus*, os isolados de CABYV-PF e isolados de CABYV descritos em trabalhos anteriores, revelaram ser um complexo de pelo menos dez diferentes espécies que antes foram descritos como sendo CABYV. Baseado nestes achados, nos propomos uma reclassificação dos isolados de CABYV, do qual, os isolados de CABYV-PF por serem mais relacionados com isolados da França (a espécie tipo do vírus) e Espanha compreenderiam a mesma espécie. Dessa forma, neste estudo além da caracterização dos isolados de CABYV de maracujazeiros, nossos achados sugerem uma diversidade viral dentro do gênero *Polerovirus* ainda maior do que já se conhece.

**Termos para indexação:** *Polerovirus*, CABYV, CABMV, Infecção mista, *Passiflora*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## Ocorrência de *Allexivirus* em *Vanilla planifolia*

Gustavo Pereira Felix <sup>(1)</sup>, Andreza Henrique Vidal <sup>(1)</sup>, Tayara Colins Nunes <sup>(1)</sup>, Marília de Castro Rodrigues Pappas <sup>(2)</sup>, Daniel Ardisson-Araújo <sup>(3)</sup> e Simone Ribeiro <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Professor, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

**Resumo** - A baunilha (*Vanilla* spp.) é uma orquídea comercializada mundialmente devido aos seus frutos aromáticos e de alto valor agregado. Das mais de 100 espécies descritas do gênero *Vanilla*, 30 ocorrem no Brasil, das quais 15 apresentam frutos aromáticos. Porém, o Brasil não tem tradição no cultivo de baunilha, apesar do mercado ser muito atrativo e com alto potencial comercial. Na Embrapa, existe atualmente um Banco Ativo de Germoplasma com mais de 150 acessos de diferentes espécies do gênero *Vanilla*. Um dos principais problemas fitossanitários em baunilhas é o surgimento de doenças causadas por vírus que podem causar grandes danos à cultura. Atualmente, não há registros de ocorrência de vírus em *Vanilla* spp. no Brasil. O presente trabalho tem como objetivo investigar a ocorrência de vírus de RNA em baunilhas coletadas no Brasil utilizando o método de sequenciamento de alto desempenho (HTS). Iniciamos com a análise com amostras de *Vanilla planifolia* coletadas em plantações comerciais, banco de germoplasma de baunilhas da Embrapa e coleções particulares. O RNA total foi extraído de folhas de *V. planifolia* e subsequente sequenciamento HTS de um conjunto de amostras foi realizado. Para análises de bioinformática, foi utilizado o programa CLC Genomics® para realização do *de novo assembly*, e a, partir dos contigs montados, foi realizada uma busca local em um banco RefSeq de vírus RNA no programa Geneious® utilizando a ferramenta BLAST. Cerca de 60 contigs apresentaram alta identidade com membros do gênero *Allexivirus*, família *Alphaflexiviridae*. Experimentos estão em andamento para completa caracterização molecular e biológica do vírus infectando *V. planifolia* e possíveis outras hospedeiras do gênero *Vanilla*.

**Termos para indexação:** *Alphaflexiviridae*, Baunilha, HTS.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## Identificação de quatro prováveis novas espécies de *Begomovirus* associados a *Hyptis* sp.

Ana Clara Rodrigues de Abreu <sup>(1)</sup>, Andreza Henrique Vidal <sup>(1)</sup>, Gustavo Pereira Felix <sup>(1)</sup>, Fernando Lucas Melo <sup>(2)</sup>, Adriana Flores Fusaro <sup>(1)</sup>, Rafaela S. Fontenele <sup>(1)</sup>, Rita de Cássia Pereira Carvalho <sup>(3)</sup> e Simone Ribeiro <sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Onsite Genomics, Brasília, DF.

<sup>(3)</sup> Professora, Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(4)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O gênero *Hyptis* (Lamiaceae) é composto por herbáceas perenes, encontradas em campos cultivados e áreas residenciais, que podem servir como reservatórios de vírus para plantas de interesse econômico. *Begomovirus* (*Geminiviridae*), que apresentam genoma de ssDNA circular, como *hyptis rugose mosaic virus 1*, *hyptis rugose mosaic virus 2* e *hyptis golden mosaic virus*, já foram identificados nestas plantas. Em 2009, uma amostra de *Hyptis* sp. que apresentava sintomas típicos de vírus foi coletada em Brasília, Distrito Federal. DNA foi extraído usando método CTAB, e em seguida, foi submetido ao enriquecimento do DNA viral por *Rolling Circle Amplification* (RCA). O produto da RCA foi sequenciado usando tecnologia de sequenciamento *Promethlon 2 Solo* (*Oxford Nanopore Technologies*), com o kit Rapid Barcoding 24 V14 para o preparo da biblioteca. Análise do sequenciamento identificou quatro sequências parciais, com tamanhos variando entre 271 e 1567 nucleotídeos. Essas sequências mostraram maiores identidades de nucleotídeos que variam entre 77,55% e 88,60% com o DNA-A de diferentes isolados de *Begomovirus* já descritos. O atual critério de demarcação de espécies para o gênero *Begomovirus* determina que sequências com identidade inferior a 91% com o DNA-A completo de membros de outras espécies já descritas serão consideradas espécies novas. Nossos resultados indicam a existência de quatro prováveis novas espécies de *Begomovirus* infectando *Hyptis* sp. no Brasil. Para obtenção da sequência completa desses vírus, foram desenhados *primers back-to-back* para amplificar o genoma completo e usados em ensaios de PCR inverso. *Amplicons* de aproximadamente 2,6 kb foram obtidos e estão em fase de sequenciamento. Nossos achados sugerem a ocorrência de pelo menos quatro novas espécies do gênero *Begomovirus* em *Hyptis* sp., resultados esses que, além de inéditos, ampliam o conhecimento atual sobre a diversidade de *Begomovirus* associados a *Hyptis*.

**Termos para indexação:** *Begomovirus*, *Hyptis*, Diversidade.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Identificação de vírus transmitidos por *Bemisia tabaci* em soja na safra de 2024

Jorge Flavio de Sousa Dantas-Filho <sup>(1)</sup>, Andreza Henrique Vidal <sup>(1)</sup>, Bruna Pinheiro-Lima <sup>(1)</sup>, Gustavo Pereira Felix <sup>(1)</sup>, Ana Clara Rodrigues de Abreu <sup>(1)</sup> e Simone Ribeiro <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) é um legume de alta importância econômica e valor cultural, sendo um dos grãos mais presentes na alimentação humana. Diversos vírus têm sido relatados na cultura, afetando sua produção negativamente, como por exemplo o bean golden mosaic virus (BGMV) e cowpea mild mottle virus (CPMMV), os quais são transmitidos por mosca-branca (*Bemisia tabaci*). Recentemente, foi relatado por produtores um surto de sintomas típicos de vírus em soja na região do Goiás. Além desses sintomas, uma alta população de mosca-branca foi observada nestes campos. Neste trabalho, investigamos a possibilidade de vírus conhecidamente transmitidos por mosca-branca estarem infectando essas plantas de soja. Plantas sintomáticas e com alta infestação de moscas brancas coletadas em um campo em Cristalina (GO) foram fornecidas pelo produtor. Folhas de uma parte dessas plantas foram coletadas para extração de ácidos nucleicos. Todas as plantas foram então, colocadas em gaiolas entomológicas onde foram introduzidas plantas de feijão e soja saudáveis para que houvesse transmissão dos possíveis vírus pelas moscas brancas. Após 30 dias, DNA e RNA foram extraídos e usados em ensaios de PCR e RT-PCR com primers específicos para diferentes vírus. As plantas de soja iniciais testaram positivo para o CPMMV, BGMV e negativas para bean-associated cytorhabdovirus (BaCV). As plantas saudáveis introduzidas na gaiola com as sojas apresentaram resultado positivo para CPMMV e negativo para BGMV e BaCV. Portanto, pode-se inferir que o CPMMV e BGMV estão associados ao surto de virose observado na região de Cristalina em 2024 e que houve uma transmissão horizontal experimental entre plantas de soja do campo e soja e feijão por meio de mosca-branca. Ainda vale destacar a importância da identificação da infecção por CPMMV e BGMV nessas culturas. Como após a colheita da soja, normalmente são cultivados feijoeiros na mesma área, pode haver uma infecção precoce com a soja servindo de fonte de inóculo de vírus para o feijoeiro.

**Termos para indexação:** Soja, Feijão, Vírus, Transmissão, Mosca-branca, Biotecnologia, Virologia.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# ***Recursos Genéticos Vegetais***



# Criopreservação de ápices caulinares de acessos de batata por droplet vitrification

Thayane Pereira da Silva <sup>(1)</sup>, Alina Guimarães Furtado <sup>(1)</sup>, Inaê Mariê de Araújo Silva-Cardoso <sup>(1)</sup> e Jonny Everson Scherwinski-Pereira <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A espécie *Solanum tuberosum* (batata) é conhecida por sua alta diversidade genética e pela grande quantidade de cultivares. Diante da importância de manter e prevenir a perda da biodiversidade dessa espécie, ações de conservação são prioritárias. Como estratégia, a criopreservação é a única técnica de preservação de material biológico a longo prazo, de relevante importância para espécies vegetais propagadas vegetativamente, a exemplo da batata. Assim, objetivou-se aprimorar o protocolo de criopreservação por Droplet vitrification (DV) desenvolvido pelo International Potato Center (CIP). Como modificação, é proposto que os ápices caulinares sejam individualmente transferidos para a gota de Plant vitrification solution (PVS2) resfriada, com auxílio de uma pinça, e imediatamente imersos em nitrogênio líquido (NL). Foram utilizados ápices caulinares (cerca de 3 mm) obtidos de quatro acessos de batata (B6, B49, B55 e B60), com 100 ápices cada. Inicialmente, grupos de 10 ápices foram imersos em Loading solution (LS) por 20 minutos, sob temperatura ambiente, seguido de imersão em PVS2 resfriada, por 50 minutos. Por fim, 10 ápices foram individualmente transferidos para uma gota de PVS2 disposta sobre tiras de alumínio previamente resfriadas e diretamente imersas em NL dentro de criotubos. Após 48 horas, o material foi descongelado pela imersão em Rewarming Solution (RS), por 20 minutos. Em seguida, transferidos para papel filtro em placas de Petri com meio de regeneração e avaliados aos 30 dias quanto ao percentual de regeneração (formação de brotos). Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado. O método de DV modificado proporcionou 30% de regeneração para os acessos B6 e B55, significativamente superior aos demais (B49 a B60), os quais não apresentaram regeneração. Tais resultados são aceitáveis, embora passíveis de melhorias futuras. Salienta-se que o método desenvolvido apresenta vantagens em comparação ao tradicional, como facilidade de execução e redução de custos (menor quantidade de PVS2), e, portanto, seu uso é promissor.

**Termos para indexação:** *Solanum tuberosum*, Criopreservação, Conservação.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.





## Identificação de proteínas-alvo para o controle da mosca minadora do melão (*Liriomyza sativae*)

Bruna de Oliveira Nascimento <sup>(1)</sup>, Ivonaldo Reis Santos <sup>(1)</sup>, Daiane Gonzaga Ribeiro <sup>(1)</sup>, Pollyana da Nobrega Mendes <sup>(1)</sup>, Wagner Fontes <sup>(3)</sup>, Isabelle Souza Luz <sup>(1)</sup>, Fernando Antonio Souza de Aragão <sup>(4)</sup> e Angela Mehta <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisador, Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(4)</sup> Pesquisador, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

**Resumo** - A região semi-árida brasileira é considerada a maior produtora de melão (*Cucumis melo* L.) do país. Essa cultura ganha destaque devido às características ideais desta área para a produção de frutas de alta qualidade. Contudo, estas mesmas características são favoráveis ao desenvolvimento de pragas agrícolas. Altamente adaptada às condições climáticas brasileiras, a mosca-minadora do melão (*Liriomyza sativae*) é considerada uma praga-chave da cultura do meloeiro desde os anos 2000. Esta praga causa grandes danos à cultura ao formar minas durante seu processo de desenvolvimento, reduzindo a área fotossintética da planta, expondo os frutos ao sol e permitindo a entrada de microrganismos patogênicos. Neste trabalho foi realizada a análise proteômica de folhas de dois genótipos de melão (56 e 915), com linhagens resistente (R) e suscetível (S), nas condições com (CI) e sem infestação (SI). Quatro comparações foram aplicadas à análise de Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS/MS), resultando em 882 grupos de proteínas identificados de maneira confiável. Após as análises qualitativa e quantitativa, foram identificadas 40 proteínas reguladas na condição 56R(CIxSI), onde 10 proteínas com Fold Change >1,5 apresentaram abundância positiva e 19 negativa. Na condição 56S(CIxSI), 41 proteínas diferenciais foram identificadas, sendo 25 aumentadas e 7 diminuídas. Para a condição 915R(CIxSI), foram obtidas 44 proteínas diferenciais, das quais 18 foram aumentadas e 24 diminuídas, enquanto na condição 915S(CIxSI), 20 proteínas diferenciais foram obtidas com 4 proteínas aumentadas e 13 diminuídas. A diminuição na abundância de proteínas envolvidas nos processos biológicos de fotossíntese e fosforilação se destaca nas linhagens resistentes, enquanto ocorre o aumento na abundância de proteínas envolvidas na resposta ao stress. Nas linhagens suscetíveis, principalmente no genótipo 56, a relação de abundância das proteínas de fotossíntese e fosforilação é inversa. Nas linhagens suscetíveis, há redução da abundância proteica para processos como expressão gênica e síntese de ATP. Este estudo oferece uma importante contribuição sobre a dinâmica da interação planta-praga, mostrando-se uma ferramenta útil para o desenvolvimento de novas tecnologias de controle biotecnológicas.

**Termos para indexação:** *Cucumis melo*, *Liriomyza huidobrensis*, Proteômica, Biotecnologia.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Caracterização de extratos vegetais de acessos de Bancos Ativos de Germoplasma da Embrapa para medida da atividade antioxidante e compostos fenólicos totais

Maria Luíza Soccio Bezerra <sup>(1)</sup>, Karen Chrockatt de Sá Dantas <sup>(1)</sup>, Ila Niz Veiga <sup>(1)</sup>, Ananda de Oliveira Duarte <sup>(1)</sup>, André Felipe Amaral Câmara <sup>(2)</sup>, Gabriella Magarelli <sup>(2)</sup>, Luciano Paulino da Silva <sup>(3)</sup> e Vera Lucia Perussi Polez <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analistas, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) são unidades de conservação de material genético visando uso imediato ou futuro. A síntese verde (SV) de nanopartículas (NPs) utiliza metodologias que reduzem o impacto ambiental e os custos de produção. Os compostos antioxidantes presentes em extratos vegetais (EV) apresentam características redutoras relevantes para SV de NPs. Objetivou-se avaliar a atividade antioxidante total (AAT) e os compostos fenólicos totais (CFT) de EV aquosos (20 mg/mL) de acessos do BAG Caju (BAG-C1a42) e do BAG Pimenta (BAG-P1a46) da Embrapa. A medida dos CFT foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu adaptado, expressa em mg equivalentes de ácido gálico a cada 100 g de amostra (mg EAG/100 g). AAT foi medida pelo método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) adaptado, sendo expressa em porcentagem de inibição da reação. Quanto maior a porcentagem de inibição do radical DPPH, maior a atividade antioxidante da amostra. Os CFT variaram entre 36,02 a 1158,98 mg EAG/100 g entre todos os acessos. As maiores concentrações de mg EAG/100 g de acessos de cada BAG foram 1158,98 (BAG-C7) e 493,38 (BAG-P7) e as menores foram 145,69 (BAG-C29) e 36,02 (BAG-P42). As medidas de AAT variaram entre 0% e 100%. As maiores porcentagens de acessos de cada BAG foram 95,79% (BAG-C42) e 100% (BAG-P9) e as menores foram 41,22% (BAG-C14) e 0% (BAG-P2). Os gráficos de correlação entre os resultados de CFT e AAT dos acessos de cada BAG apresentaram coeficiente (r) igual à 0,40 (BAG Caju) e igual à 0,78 (BAG Pimenta). Nota-se uma correlação positiva fraca e moderada, respectivamente. A caracterização dos acessos conservados nos BAGs quanto à AAT e CFT contribuíram para a valorização dos recursos genéticos disponíveis nos BAGs, fornecendo informações importantes para a triagem de acessos visando a SV de NPs.

**Termos para indexação:** Banco ativo de germoplasma, Compostos fenólicos, Atividade antioxidante.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.



# Conservação in vitro de germoplasma de espécies de baunilha (*Vanilla phaeantha* Rchb.F. e *Vanilla planifolia* Jack ex. Andrews)

Mariana Oliveira Medeiros <sup>(1)</sup>, Inaê Mariê de Araújo Silva Cardoso <sup>(1)</sup> e Jonny Everson Scherwinski-Pereira <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Baunilha é uma espécie do gênero *Vanilla*, pertencente à família das orquídeas (*Orchidaceae*). A conservação de espécies de baunilha tem importância e interesse significativos dentro da comunidade científica. Isso se deve ao fato de que as culturas de baunilha consistem principalmente de clones com variabilidade genética limitada, tornando-os suscetíveis a fatores bióticos e abióticos. Certas espécies, como *Vanilla planifolia*, estão enfrentando a ameaça de extinção devido ao desmatamento e práticas inadequadas de manejo. Nesse contexto, a conservação in vitro surge como uma estratégia e alternativa viável para o estabelecimento de bancos de germoplasma para salvaguardar várias espécies de baunilha. Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo eficiente para a conservação in vitro de espécies de baunilha (*Vanilla planifolia* e *V. phaeantha*) em um banco de germoplasma, utilizando a técnica conhecida por crescimento lento. Para isso, foram testados: o tipo de carboidrato (sacarose e sorbitol) e suas concentrações (0, 43,8 e 87,6 mM L<sup>-1</sup>), várias combinações em meio MS, e três temperaturas (10, 20 e 25°C). Foram avaliados os seguintes fatores: percentual de sobrevivência e média de desenvolvimento (altura (cm), número de gemas e raízes formadas), além da média da quantidade de pigmentos fotossintetizantes (clorofila a, b e carotenóides (µg m L<sup>-1</sup>)). Verificou-se que a adição de 43,8 mM L<sup>-1</sup> de sacarose em combinação com 43,8 mM L<sup>-1</sup> de sorbitol ao meio de cultura, juntamente com o cultivo à 20°C, representa condição ideal para a conservação in vitro de espécies de baunilha, apresentando alta sobrevivência (83%) e crescimento lento, porém com médias satisfatórias (altura – 6,03 ± 0,69, número de gemas – 6,58 ± 0,81, e número de raízes – 5,25 ± 0,54). Apresentando boa quantidade de pigmentos fotossintetizantes (clorofila a – 28,28 ± 3,10, clorofila b – 9,57 ± 0,68, carotenóides – 230,53 ± 25,25), essas condições facilitam o crescimento lento sem comprometer a capacidade fotossintética das microplantas.

**Termos para indexação:** *Orchidaceae*, Banco de germoplasma, Conservação in vitro, Crescimento lento.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Ministério da Agricultura e Pecuária e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Síntese verde de nanopartículas de prata, cobre e prata-cobre utilizando acessos de pimentas

Marina Goulart Peres Nunes <sup>(1)</sup>, Luísa Costa <sup>(1)</sup>, Ana Luísa Mascarenhas Dos Santos <sup>(1)</sup>, Thalita Fonseca de Araujo <sup>(1)</sup> e Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Nanopartículas metálicas (NPMs) estão despertando um grande interesse devido às suas características singulares, com a possibilidade de oferecer soluções inovadoras e promissoras, especialmente no campo biomédico e na saúde pública. Essas nanopartículas podem apresentar alta condutividade, ressonância plasmônica de superfície, poder catalítico acentuado, ampla área superficial e notável atividade antimicrobiana. Este estudo visou realizar uma triagem de acessos de plantas conservadas no Banco Ativo de Germoplasma (BAGs) de Pimenta da Embrapa para identificar acessos que sejam potenciais candidatos para a produção de nanopartículas monometálicas de prata (AgNPs) e cobre (CuNPs) e bimetálicas de prata-cobre (AgCuNPs) por rota de síntese verde. Foram produzidos extratos aquosos das folhas de plântulas de 31 acessos de pimenta na concentração final de 20 mg/mL. Após, estes foram adicionados a soluções demitrato de prata, para síntese de AgNPs, sulfato de cobre, para síntese de CuNPs, e nitrato de prata e sulfato de cobre, para síntese de AgCuNPs na concentração de 1 mM (final). A caracterização das NPMs foi realizada utilizando espalhamento de luz dinâmico (DLS) e mobilidade eletroforética. Um acesso específico de pimenta resultou na formação de AgNPs com características mais atrativas do ponto de vista nanotecnológico dentre os analisados, com diâmetro hidrodinâmico (DH) de 217,8 nm e índice de polidispersividade (Pdl) de 0,288. Outro acesso destacou-se dentre as AgCuNPs, com DH de 8443 nm e Pdl de 0,38. Por fim, o acesso que apresentou melhor desempenho para as CuNPs exibiu diâmetro hidrodinâmico (DH) 8267 nm e índice de polidispersividade (Pdl) 0,337. Esses resultados contribuem para o avanço científico, demonstrando o potencial da diversidade de acessos de pimentas para produção de NPMs com possibilidade de aplicações em diversas áreas.

**Termos para indexação:** Nanopartículas metálicas, Nanotecnologia, Síntese verde, Triagem de plantas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Uso de recursos genéticos vegetais para a formulação de lipossomas

Luísa Morato Ribeiro <sup>(1)</sup>, Andreia Cristina Carvalho de Oliveira <sup>(1)</sup>, Eduarda Sayuri Yasuda <sup>(1)</sup>, Cíntia Caetano Bonatto <sup>(1)</sup> e Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A plataforma NanoRecVeg busca explorar recursos genéticos vegetais disponíveis em Bancos Ativos de Germoplasmas (BAGs) e Coleções da Embrapa para produzir nanomateriais, como lipossomas, nanoemulsões e nanopartículas lipídicas sólidas, com ênfase na triagem de acessos que ofereçam benefícios em sua aplicação. Lipossomas são vesículas esféricas formados por uma bicamada fosfolipídica que veiculam soluções aquosas em meio aquoso e por isso são amplamente utilizados como nanocarreadores. Para a formulação de lipossomas, fosfolipídeos foram extraídos de acessos de sementes de espécies de Curcubitaceae com solventes orgânicos. Posteriormente foram secos em evaporador rotativo à vácuo, resultando na formação de um filme fino lipídico que foi hidratado na proporção 1:1 e agitado no vórtex. Assim, foram obtidos lipossomas de 73 acessos pertencentes a 16 espécies diferentes da mesma família vegetal. Esses materiais foram caracterizados quanto ao diâmetro hidrodinâmico (DH), potencial Zeta (PZ) e índice de polidispersividade (Pdl) a partir da técnica de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e mobilidade eletroforética. Os DH dos lipossomas apresentaram valores menores que 1  $\mu\text{m}$  em 17 acessos, sendo que 3 tiveram DH menor que 500 nm. Em relação ao Pdl dos lipossomas, somente 2 acessos produziram vesículas que apresentaram valores menores que 0,500 (moderadamente polidispersos), enquanto 26 acessos exibiram Pdl igual a 1,000 (altamente polidispersos). O pZ dos lipossomas apresentou valores indicativos de boa estabilidade coloidal (-40 a -50 mV) em 8 acessos. Dois acessos se destacaram com pZ de -63,87 mV e -62,97 mV, indicativos de excelente estabilidade coloidal. Os resultados indicam a variedade de propriedades físico-químicas observadas nos lipossomas formulados, enfatizando as potencialidades presentes em RG vegetais e a relevância da avaliação de múltiplos acessos para as aplicações futuras.

**Termos para indexação:** Lipossomas, Recurso genético vegetal, Síntese verde.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Bag Cucurbitaceae: avaliação da atividade antioxidante total e conteúdo fenólico total

Karen Chrockatt de Sá Dantas<sup>(1)</sup>, Maria Luíza Soccio Bezerra<sup>(1)</sup>, Ila Niz Veiga<sup>(1)</sup>, André Felipe Amaral Câmara<sup>(2)</sup>, Luciano Paulino da Silva <sup>(3)</sup> e Vera Lucia Perussi Polez<sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O Banco Ativo de Germoplasma de cucurbitáceas (BAGC) da Embrapa Clima Temperado conserva uma grande variedade inter e intraespecífica de acessos de variedades crioulas de cucurbitáceas, que são cultivadas principalmente no Sul e representam importante patrimônio genético e cultural brasileiro. Sua caracterização, como a medição da atividade antioxidante total (AAT) e conteúdo fenólico total (CFT), é relevante para sua valorização e uso em aplicações futuras, como na indústria alimentícia, nanotecnologia (síntese verde de nanopartículas), entre outras. Objetivou-se avaliar quantitativamente a AAT e o CFT de extratos aquosos de acessos do BAGC e verificar a correlação entre esses dois parâmetros. Foram analisados 72 acessos do BAGC correspondentes a 16 diferentes classificações (gênero/espécie). Para avaliar AAT e CFT, utilizou-se, respectivamente, os métodos de DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil) e Folin-Ciocalteu adaptado. Quantificou-se AAT em porcentagem de inibição do radical DPPH com extrato a 1,0 mg/mL. CFT foram quantificados em mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g de amostra, com extrato a 1,33 mg/mL. Foram calculadas correlações entre AAT e CFT considerando todos os acessos e em 5 espécies separadamente. Os extratos apresentaram CFT na faixa de  $20,23 \pm 0,80$  a  $399,40 \pm 10,79$  mg GAE/100 g, e AAT de 0,00% a  $80,20 \pm 0,58\%$ , com 28 amostras apresentando AAT. Os extratos com maior CFT e AAT foram dos acessos BAGC7 e BAGC63. O coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) entre CFT e AAT considerando os 72 acessos foi 0,804, indicando correlação positiva forte. Analisando a correlação dentro das espécies, foram encontrados valores de  $r$  entre 0,647 e 0,926, indicando desde correlações positivas moderadas até muito fortes. Observou-se uma considerável variação inter e intraespecífica da AAT e CFT entre acessos, ressaltando a relevância da manutenção e a riqueza dos acessos do BAGC. As correlações positivas indicam que compostos fenólicos contribuem consideravelmente para AAT dos extratos. A caracterização quanto à AAT e CFT contribui para a valorizar os acessos e elucidar potenciais aplicações industriais, alimentícias e/ou biotecnológicas.

**Termos para indexação:** Cucurbitaceae, Atividade antioxidante, Bioprospecção.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.



# Síntese de nanopartículas lipídicas sólidas a partir de recursos genéticos vegetais

Eduarda Sayuri Yasuda <sup>(1)</sup>, Luísa Morato Ribeiro <sup>(1)</sup>, Andreia Cristina Carvalho de Oliveira <sup>(1)</sup>, Cíntia Caetano Bonatto <sup>(1)</sup> e Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) são caracterizadas por promoverem estabilidade físico-química, solubilizar substâncias lipofílicas e apresentarem liberação controlada. O presente estudo teve como objetivo sintetizar e caracterizar NLS produzidas com acessos de duas famílias vegetais conservadas em bancos ativos de germoplasma (BAGs) e coleções da Embrapa, a fim de avaliar acessos que possam oferecer maior aplicabilidade em futuros projetos. Durante a síntese de NLS, foi realizado um processo de secagem e extração com solventes orgânicos, para obtenção de fosfolipídeos. Logo após a extração, foi realizada a secagem dos fosfolipídeos em rota- evaporador, possibilitando a formação de um filme lipídico o qual foi reconstituído com uma mistura formada por água, gordura vegetal e surfactantes. A suspensão formada foi homogeneizada por ultrasonicação, que resultou na formação de NLS. Posteriormente, as 33 NLS obtidas dos acessos vegetais foram caracterizadas por espalhamento de luz dinâmico e mobilidade eletroforética, respectivamente, para determinação do diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersividade (PDI), e do potencial Zeta (pZ). A primeira família de plantas avaliada apresentou o pZ que se destacou com média de -44,7 mV, DH entre 219 nm a 898,63 nm e PDI com valores entre 0,300 a 1,000. Já a segunda família indicou resultados de pZ que se destacou com média de -40 mV, DH entre 421,3 nm a 685,83 nm e PDI variando de 0,400 a 0,700. Conforme os dados obtidos, a variedade físico-química que os acessos apresentam torna possível a seleção de recursos vegetais que possam ser mais promissoras para futuras aplicações.

**Termos para indexação:** Nanopartículas lipídicas sólidas, Fosfolipídeos e Caracterização físico-química.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Seleção e triagem de recursos genéticos vegetais para o desenvolvimento de nanoemulsões

Andreia Cristina Carvalho de Oliveira <sup>(1)</sup>, Luísa Morato Ribeiro <sup>(1)</sup>, Eduarda Sayuri Yasuda <sup>(1)</sup>, Cíntia Caetano Bonatto <sup>(1)</sup> e Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Nanoemulsões óleo/água são dispersões coloidais nanométricas estáveis de gotículas de óleo dispersas em meio aquoso pela ação de surfactante. Este estudo tem como objetivo principal investigar o potencial de biomoléculas oriundas de recursos genéticos vegetais obtidos de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) para a produção de nanoemulsões com características físico-químicas adequadas para o desenvolvimento de novas aplicações. Os componentes oleosos foram extraídos utilizando os solventes orgânicos água, clorofórmio e metanol. O material seco em rota-evaporador foi hidratado com lecitina de soja em água. As misturas homogeneizadas em ultraturrax foram submetidas a banho de ultrassom com resfriamento. Com base em acessos de duas famílias vegetais diferentes, foram elaboradas 81 nanoemulsões. A caracterização das sínteses foi realizada por meio da determinação do diâmetro hidrodinâmico (DH), do índice de polidispersividade (Pdl) e do potencial Zeta (pZ) utilizando o equipamento Nano ZetaSizer para avaliar o sucesso das reações de síntese e garantir a qualidade das nanoemulsões obtidas. A primeira família com 72 acessos apresentou valores de pZ variando entre -71,9 mV, excelente indicativo de estabilidade coloidal, a -16,8 mV, Pdl indicativo de alta homogeneidade de 0,119 (monodispersão) a estruturas altamente polidispersas (1,000), e DH variando de estruturas nanométricas com 245,6 nm a estruturas micrométricas com 2.159 nm. Enquanto isso, a segunda família, com 9 acessos avaliados, foi menos promissora para a produção de nanoemulsões e apresentou pZ de -22,7 mV a -11,9 mV, Pdl entre 0,800 e 1,000, e DH entre 1.586 nm e 5.836nm. A rica diversidade físico-química dos compostos presentes nos recursos genéticos vegetais, combinada com estratégias eficientes de triagem e seleção, abre um leque de possibilidades para o desenvolvimento de nanoemulsões inovadoras com aplicações em diversos setores.

**Termos para indexação:** Nanoemulsões, Caracterização, Recursos genéticos vegetais, Bancos ativos de germoplasma, Triagem, Seleção.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.





## Genes de suscetibilidade de *Coffea arabica* identificados por análise proteômica durante a interação café *Hemileia vastatrix*

Ivonaldo Reis Santos <sup>(1)</sup>, Ana Caroline Alves de Araújo <sup>(1)</sup>, Milena da Mota Batista <sup>(1)</sup>, Pollyana da Nobrega Mendes <sup>(1)</sup>, Daiane Gonzaga Ribeiro <sup>(1)</sup>, Jonathan Dias de Lima Diana Fernandez <sup>(1)</sup>, Wagner Fontes <sup>(1)</sup>, Vívian Lucena <sup>(1)</sup>, Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire <sup>(2)</sup> e Angela Mehta <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - *Coffea arabica* é a espécie de café mais conhecida, especialmente, por ter maior produtividade e maior valor de mercado. Por outro lado, essa espécie é a mais suscetível à ferrugem do cafeeiro causada por *Hemileia vastatrix*. O controle dessa doença é feito principalmente com a aplicação de fungicidas à base de cobre, o que pode causar danos ao meio ambiente e à saúde humana. Portanto, buscar métodos alternativos é necessário para um controle mais abrangente e eficiente. Uma alternativa aos agroquímicos tem sido o silenciamento de genes de suscetibilidade (genes S). O knockdown ou knockout desses genes pode dificultar os primeiros estágios da colonização, impedindo que o patógeno induza a doença. Neste contexto, o presente estudo objetivou identificar proteínas em *C. arabica* potencialmente envolvidas na suscetibilidade a *H. vastatrix* usando uma abordagem proteômica. Plantas de café foram submetidas à infecção com *H. vastatrix* e 10 dias após a infecção, as plantas foram coletadas e submetidas à extração de proteína total, e os peptídeos foram avaliados por LC-MS/MS. No total, 288 proteínas diferencialmente abundantes foram identificadas quando a condição inoculada foi comparada com a condição não inoculada, sendo que 150 foram aumentadas e 138 diminuídas. As análises proteômicas revelaram processos-chave envolvidos na suscetibilidade do café, como fotossíntese, resposta ao estresse e compostos químicos. Várias proteínas diminuídas estavam envolvidas com o aparato fotossintético, que foi severamente afetado pela infecção. Curiosamente, houve um grande aumento na abundância de proteínas envolvidas no metabolismo de carboidratos, como a Beta-glicosidase, potencialmente envolvida na liberação de Beta-glucanos presentes nas paredes celulares dos fungos, favorecendo sua patogenicidade e colonização bem-sucedida. Alguns potenciais genes S foram analisados posteriormente por RT-qPCR. No geral, este trabalho contribui para uma melhor compreensão das vias metabólicas que são afetadas durante a interação *C. arabica* - *H. vastatrix*, revelando proteínas que podem ser alvos de estudos futuros voltados ao desenvolvimento de cultivares resistentes e novas estratégias para controlar a infecção por *H. vastatrix*.

**Termos para indexação:** *Coffea arabica*, Proteômica, Knockdown e Knockout.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## Estabelecimento in vitro de acessos de mandioca açucarada para criação de coleção e incorporação no Banco Genético

Jaine Gabriele da Silva <sup>(1)</sup>, Alina Guimarães Furtado <sup>(1)</sup>, Inaê Mariê de Araújo Silva Cardoso <sup>(1)</sup> e Jonny Everson Scherwinski-Pereira <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), da família Euphorbiaceae, é uma importante fonte de calorias nos trópicos, com raízes transformadas em diversos produtos. Essa espécie possui facilidade de propagação, tolerância à seca e baixo custo de produção. Recentemente, variedades de mandioca açucarada têm atraído atenção pelo seu potencial para a produção de etanol, com potencial de reduzir custos energéticos no processo final. Assim, é de significativa importância o desenvolvimento de estratégias para fins de melhoramento genético e conservação da variabilidade genética existente. Diante do exposto, este estudo visou estabelecer e multiplicar in vitro acessos de mandioca açucarada visando à criação de uma coleção e sua incorporação no Banco Genético, além de subsidiar experimentos futuros de criopreservação. O estudo foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Conservação de Germoplasma Vegetal in vitro da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Microestacas de 92 acessos de mandioca foram coletadas e desinfetadas com hipoclorito de sódio 2,5% e álcool 70% (v/v) + Tween 20, e, posteriormente, foram inoculadas em meio semissólido de MS. O experimento foi composto por 18 tubos de cada acesso. Ao final de uma semana, avaliaram-se o percentual de contaminação e regeneração. Para identificação de contaminação bacteriana, utilizou-se o método de ágar nutriente e análise microscópica. Após 7 dias, observou-se um percentual de contaminação variando de 30-90%, com destaque para a contaminação fúngica. De maneira geral, cerca de 20% dos explantes regeneraram plantas saudáveis, enquanto 10% apresentaram desfolhamento e aspecto amarelado. Dos 92 acessos estabelecidos, 80 encontram-se em desenvolvimento na sala de crescimento a 25°C e estão próximos de serem incorporados como coleção no Banco Genético. Os acessos de mandioca açucarada foram estabelecidos com sucesso in vitro, apesar dos desafios de contaminação. O protocolo de assepsia demonstrou-se eficaz no estabelecimento in vitro, representando um avanço significativo para condicionar futuros estudos de criopreservação desses acessos.

**Termos para indexação:** Mandioca açucarada, Micropropagação, Cultura in vitro.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Caracterização fitoquímica das folhas de acessos de pimenta *Capsicum* cultivados em ambiente controlado

Ila Niz Veiga <sup>(1)</sup>, André Felipe Amaral Câmara <sup>(2)</sup> e Luciano Paulino da Silva <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Recursos genéticos vegetais oferecem fitoquímicos úteis para nanotecnologia, com extratos seguros e eficazes como redutores e estabilizadores de nanomateriais. Pimentas são ideais para o estudo pela sua diversidade fitoquímica rica em capsaicínoides, flavonóides e antioxidantes, que favorecem a síntese de nanomateriais. O projeto visa criar uma plataforma para triagem fitoquímica de materiais vegetais e realizar testes qualitativos de carboidratos, flavonóides, lipídeos, proteínas, saponinas e taninos. As sementes do BAG de *Capsicum* foram germinadas em tubetes com substrato e vermiculita (2:1) e depois transferidas para vasos maiores. Quando atingiram cerca de 10 cm, as folhas foram coletadas em tubos Falcon e triadas imediatamente. Para isso, foram então higienizadas com solução de Extran 1% em água ultrapura. Para os extratos aquosos e etanólicos, o material foi seco, pesado e submetido à decocção (0,7 g / 35 mL / 2 min) em água ou etanol fervente. Na detecção de carboidratos, são realizadas as reações de Molish, Fehling e Benedict. Para a identificação de flavonóides, foram realizadas as reações de Shinoda, cloreto de alumínio, cloreto férrico e antocianinas. A análise de saponinas incluiu agitar os extratos para observar a espuma persistente. Cloreto férrico, proteínas, precipitação de alcalóides, acetato de cobre e antocianinas foram usados para detectar taninos. O teste de Biureto foi usado para proteínas, e para lipídeos, foram aplicados testes de abaixamento de tensão superficial e precipitação de ácidos graxos, sabões de cálcio e sabão por excesso de eletrólitos. No parecer fitoquímico, foi necessário que 75% dos testes em cada metabólito fosse positivo. A triagem mostrou a presença de carboidratos (12 acessos), flavonóides (3 acessos), saponinas (41 acessos) e taninos (14 acessos) nos extratos das folhas dos acessos de pimenta. Dois acessos apresentaram todos os metabólitos, 29 testaram positivo para pelo menos um e 13 para dois ou mais. O estudo demonstrou que as pimentas são viáveis como fonte de compostos bioativos para a síntese de nanomateriais, incentivando futuras pesquisas e aplicações científicas.

**Termos para indexação:** Triagem fitoquímica.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Identificação e caracterização de isolados de *Xanthomonas* spp. causadoras da mancha bacteriana do tomateiro por meio de técnicas moleculares

Ruth Hellen Oliveira Rodrigues <sup>(1)</sup>, Alice Maria Quezado Duval <sup>(2)</sup> e Angela Mehta <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O plantio de tomate, uma das hortaliças mais economicamente importantes do Brasil, é de comum ocorrência entre os produtores em razão de sua adaptabilidade e rentabilidade. Entretanto, a cultura, tanto do segmento para mesa como para o processamento industrial, é frequentemente afetada por patógenos, como as bactérias do gênero *Xanthomonas* causadoras da Mancha Bacteriana do Tomateiro (MBT): *Xanthomonas vesicatoria*, *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans* e *Xanthomonas hortorum* pv. *gardneri*. A doença é de fácil disseminação e reduz a produtividade pela redução da área fotossintética em função dos sintomas foliares e em frutos. Caracterizar esses organismos e acompanhar a sua variabilidade ao longo dos anos pode ajudar a compreender sua evolução nos diferentes segmentos produtivos. Para tanto, este estudo buscou identificar as espécies associadas a ocorrências recentes (2023-2024) em mudas comerciais de tomate para processamento industrial. Foram analisados isolados pertencentes à coleção de trabalho do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Hortaliças, Brasília, DF. O DNA bacteriano foi extraído e a diferenciação no nível de espécie foi realizada a partir do protocolo de PCR Multiplex ajustado no referido laboratório. Para a detecção da presença do gene *avrBs2* foram desenhados iniciadores específicos e, para traçar a dinâmica populacional e a variabilidade intra-específica, a técnica de BOX-PCR. Muitos dos isolados analisados foram identificados como *X. euvesicatoria* pv. *perforans*, espécie que vem ocorrendo em mudas comerciais desse segmento nos últimos anos e a frequência da presença do gene *avrBs2* nos mesmos aponta uma função na patogenicidade dessas bactérias. Espera-se sequenciar esse gene em diferentes isolados para avaliar as possíveis mutações presentes que têm direta influência na patogenicidade dos isolados representantes da variabilidade das espécies encontradas. Esses isolados poderão ser utilizados para a identificação de plantas e genótipos resistentes nos programas de melhoramento do tomateiro.

**Termos para indexação:** *Xanthomonas*, Tomateiro, *Avrbs2*, Box PCR, Multiplex.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Avaliação da atividade antioxidante total de acessos de pimenta do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa pelo método de redução do ferro

Luna Silva Peixoto <sup>(1)</sup>, André Felipe Amaral Câmara <sup>(2)</sup>, Ila Niz Veiga <sup>(3)</sup>, Luciano Paulino da Silva <sup>(4)</sup> e Vera Lucia Perussi Polez <sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Estudante de graduação, Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília. <sup>(4)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - As pimentas são frequentemente consumidas como vegetal e tempero em diversas partes do mundo, sendo consideradas uma importante fonte de antioxidantes, apresentando-se como um alimento funcional, com propriedades que auxiliam na prevenção e no tratamento de diversas doenças. Os antioxidantes desempenham um papel essencial na proteção das células contra os danos causados pelos radicais livres no organismo. O presente estudo objetivou avaliar a atividade antioxidante total (AAT) de extratos aquosos de pimenta (EAP) de acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa. As AATs dos EAPs (20 mg/mL) dos acessos BAG Pimenta (BAG-P1 a 20) foram aferidas pelo método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) adaptado, utilizando como controle o ácido gálico. Os resultados expressos em mg de Equivalente de ácido gálico/100 g de amostra (mg EAG/100 g). As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ). As maiores AATs foram BAG-P5 ( $3164,72 \pm 77,92$  mg EAG / 100 g) e BAG-P17 ( $2806,62 \pm 110,61$  mg EAG / 100 g), e as menores foram BAG-P14 ( $869,68 \pm 64,92$  mg EAG / 100 g) e BAG-P19 ( $885,45 \pm 52,48$  mg EAG/100 g). Foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) das AAT entre os acessos, indicando a importância da caracterização dos BAGs. Nos BAGs podem ser encontradas fontes de variabilidade genética para a obtenção de genótipos de interesse. Neste caso, os resultados obtidos podem resultar em diversas aplicações, tais como o uso de antioxidantes na indústria alimentícia (conservantes e fontes contra radicais livres em humanos e animais), agropecuária (proteção de plantas contra pragas), nanobiotecnologia (síntese verde de nanopartículas metálicas), entre outras.

**Termos para indexação:** Banco ativo de germoplasma, Antioxidantes, Método FRAP.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.



# Modulação transcricional e traducional via Crispr-Cas visando a tolerância da soja a nematoides de galhas

Nayara Sabrina de Freitas Alves <sup>(1)</sup>, Clídia Eduarda Moreira Pinto <sup>(1)</sup>, Lorena Sousa de Loiola Costa <sup>(1)</sup>, Carolina Vianna Morgante <sup>(2)</sup>, Daniele Heloisa Pinheiro <sup>(1)</sup>, Valdeir Junio Vaz Moreira <sup>(1)</sup>, Maria Eugênia Lisei-De-Sá <sup>(1)</sup>, Fabrício Barbosa Monteiro Arraes <sup>(1)</sup>, Bruno Paes de Melo <sup>(1)</sup>, Janice de Almeida Engler <sup>(1)</sup>, Yiping Qi <sup>(3)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisador, Universidade de Maryland, College Park, MD, EUA.

**Resumo** - O nematoide *Meloidogyne incognita* é um patógeno que causa perdas significativas na produção mundial de soja (*Glycine max*). Neste contexto, as tecnologias de melhoramento genético surgem como ferramentas para acelerar o desenvolvimento de novas cultivares tolerantes. O objetivo deste estudo, portanto, foi validar os genes Expansina A (*GmEXPA*) e Expansina Like-B (*GmEXPLB*) quanto a tolerância de *G. max* a *M. incognita* usando tecnologias de modulação transcricional e traducional. O gene *GmExpA* foi escolhido por ser regulado negativamente nos genótipos suscetíveis (BRS133) e tolerantes (PI 595099), enquanto o gene *GmExpLB* foi selecionado devido ao seu ortólogo em *Arachis duranensis*, o gene *AdEXLB8*, promover resistência a nematoides. A modulação transcricional dessas moléculas mediada pelo sistema CRISPR/dCas9 em *hairy roots* causou reduções de 58,7% e 67,4% no número de galhas, respectivamente. Análises de microscopia indicaram atrasos no desenvolvimento das galhas e a presença de células gigantes com conteúdo citoplasmático reduzido. Em seguida, identificamos três *upstream open reading frames* (uORFs) na região 5' UTR do gene *GmExpLB*. A região 5' UTR foi clonada em um sistema repórter de luciferase dupla contendo a luciferase firefly (LUC) e a renilla luciferase (REN). Os códons de iniciação das uORFs foram deletados por mutagênese sítio-dirigida. A deleção da uORF2 e uORFs1+2 aumentou a tradução da luciferase em 1,7 e 2,9 vezes em protoplastos de *Nicotiana benthamiana*, respectivamente. Posteriormente, três estratégias de edição foram desenvolvidas para o nocaute das uORFs 1 e 2. A estratégia 1 contendo o gRNA7 para a edição da uORF2, as estratégias 2 e 3 contendo os gRNAs1+7 e gRNAs6+7 para a depleção de ambas as uORFs via CRISPR/Cas9. A eficiência de edição variou de 12,5% a 25%, sendo as estratégias 1 e 2 as mais promissoras. Os experimentos em soja estável estão em andamento. Estes dados indicam que o método de depleção de uORFs apresenta potencial para modular a tradução do gene alvo e produzir plantas não transgênicas tolerantes a nematoides.

**Termos para indexação:** Ativação transcricional, Edição de genoma, *Meloidogyne incognita*, UORFs.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Banco de DNA vegetal da Embrapa: uma ferramenta de apoio à conservação

Samuel Dos Santos Costa <sup>(1)</sup>, Lorena Ramos da Mata <sup>(2)</sup> e Marília de Castro Rodrigues Pappas <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Coleções de referência constituem um instrumento extremamente valioso em diversos campos de estudo e no suporte à conservação de recursos genéticos, atividade fundamental diante das ameaças à biodiversidade e aos ambientes naturais. O banco de DNA vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia representa um exemplo dessas iniciativas. Seu objetivo é manter um reservatório de dados genômicos possibilitando o reuso de recursos humanos e financeiros dedicados a expedições de coleta e isolamento de DNA genômico. O rápido avanço em técnicas de sequenciamento e genotipagem, por exemplo, permite que material de coleta a campo seja revisitado para novas análises. A disponibilidade de DNA facilita a obtenção de novos dados sem a necessidade de novos esforços de coleta. O Laboratório de Genética Vegetal, o principal fornecedor de material para o Banco de DNA vegetal, usa protocolos de isolamento de DNA genômico robustos para atender à diversidade de espécies e materiais vegetais tratadas. De maneira geral, as metodologias baseiam-se, inicialmente, em lavagem do tecido macerado com tampão sorbitol para retirada de excesso de contaminantes, quando necessário, como no caso de espécies ricas em mucilagem, fibras e outros. Em seguida, adota-se um protocolo baseado em tampão de lise CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) 2%, garantindo alta qualidade e pureza do DNA isolado. Após quantificação e avaliação de pureza, por espectrofotometria, e de integridade por eletroforese em gel de agarose, as amostras de DNA são armazenadas a -80°C para preservação a longo prazo. A catalogação das amostras e informações disponíveis, como dados de procedência da amostra, qualidade e quantidade de DNA, é feita no Sistema Alelo - Embrapa. Atualmente, o banco de DNA Vegetal contém 12.877 acessos de DNA de plantas de 19 gêneros e 36 espécies documentados no sistema. A disponibilização de amostras de DNA é realizada por consulta à curadoria do banco e está sujeita a acordo com os doadores das amostras caso estas não estejam públicas.

**Termos para indexação:** Banco de DNA, Catalogação, Conservação, Plantas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Avaliação da integridade de transcritos de feijão (*Phaseolus Vulgaris* L.) Armazenados em sementes e envolvidos na germinação usando QPCR

Cristielly de Oliveira Silva Machado <sup>(1)</sup>, Alisson Ferreira Dantas <sup>(2)</sup>, Tayara Colins Nunes <sup>(2)</sup>, Rutiane Moreira de Jesus Costa <sup>(2)</sup>, Mario Alfredo de Passos Saraiva <sup>(3)</sup>, Solange Barrios Roveri José <sup>(4)</sup>, Antonieta Salomão <sup>(4)</sup>, Juliano Gomes Pádua <sup>(4)</sup>, Rosana Pereira Vianello <sup>(5)</sup>, Priscila Grynberg <sup>(4)</sup>, Marília de Castro Rodrigues Pappas <sup>(4)</sup>, Ana Cristina Miranda Brasileiro <sup>(4)</sup> e Marcos Aparecido Gimenes <sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Colaboradora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(4)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(5)</sup> Pesquisadora, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

**Resumo** - A conservação de sementes em bancos de germoplasma é uma maneira eficaz de manter a variabilidade genética de espécies de plantas cultivadas. Isso leva a uma redução significativa no metabolismo e na velocidade do envelhecimento, que acontece lentamente. A perda da capacidade de germinação é precedida pela perda da integridade do RNA. Estudos indicaram que existe uma correlação linear entre a degradação dos transcritos armazenados nas sementes e o tempo de envelhecimento avaliados pela técnica de qPCR. Este estudo teve como objetivo identificar mRNAs de longa vida em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e avaliar seu potencial como marcador de envelhecimento em acessos conservados por longo prazo no Banco Genético da Embrapa. Os mRNAs de longa vida em sementes de feijão foram identificados usando genômica comparativa com arroz (*Oryza sativa* L.) e comparados entre lotes de sementes em diferentes níveis de poder de germinação (100%, 45%, 30%, 3% e 2%) usando qPCR. Foram identificados 90 genes de feijão ortólogos a genes de arroz. As extremidades 3' e 5' de cada transcrito foram amplificadas usando pares de primers selecionados pela equipe. Em sementes de feijão secas, foram encontrados 30 transcritos utilizando ambos os pares de primers. O *Cycle threshold* (Ct) no 3' foi tipicamente menor que no 5'. Por exemplo, no gene *clp*, a amostra com PG 100% teve um Ct na extremidade 3' de 24,74, na extremidade 5' de 29,94, a amostra com PG 30% teve um Ct na extremidade 3' de 29,42, extremidade 5' de 34,06, com PG 3%, a amostra teve um Ct na extremidade 3' de 31,50, extremidade 5' de 37,12. Esses dados indicam que o número de ciclos necessários para amplificar os transcritos é maior em amostras degradadas e com menor poder de germinação, evidenciando a degradação dos mRNAs. Os dados sugerem que o Ct é inversamente proporcional ao poder de germinação. Portanto, houve uma associação entre PG e degradação de RNA.

**Termos para indexação:** Integridade, RNA, Germinação, Banco.

Trabalho realizado com apoio financeiro da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.





# Identificação de tempos de envelhecimento artificial pré e pós quedas abruptas do poder de germinação em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

Tamara Silva Dantas <sup>(1)</sup>, Cristielly De Oliveira Silva Machado <sup>(1)</sup>, Tayara Colins Nunes <sup>(1)</sup>, Antonieta Salomão <sup>(2)</sup>, Solange Barrios Roveri José <sup>(2)</sup>, Ana Cristina Miranda Brasileiro <sup>(2)</sup>, Priscila Grynberg <sup>(2)</sup>, Marília de Castro Rodrigues Pappas <sup>(2)</sup>, Juliano Gomes Pádua <sup>(2)</sup> e Marcos Aparecido Gimenes <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A conservação adequada dos recursos genéticos é importante para a manutenção da variabilidade genética e do alto poder de germinação do material conservado. Com o teste de germinação, é possível avaliar somente o final do processo de deterioração da semente, no qual pode acontecer a perda de alelos e de genótipos. A obtenção de materiais do mesmo genótipo em diferentes níveis de envelhecimento e com diferentes porcentagens de Poder de Germinação (PG) são essenciais para estudos sobre o processo de envelhecimento de sementes. O objetivo deste trabalho foi identificar os tempos do envelhecimento artificial em que ocorrem as maiores quedas do poder de germinação (acima de 20%) de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). O teste de envelhecimento artificial foi realizado com o cultivar Brutus, por períodos de 0 a 192 horas. O teste de germinação foi realizado com 100 sementes e ao final do 5º dia, foram avaliadas a quantidade de plântulas normais e o resultado foi expresso em porcentagem. O PG do controle foi de 97%, a 24 e 48 horas de envelhecimento as quedas foram discretas (95 % e 91%, respectivamente). Com 96 horas, o PG caiu para 80% e, com 120 horas, o resultado foi de 52%. Após 144 horas de experimento, o poder de germinação foi de 18%, nesta etapa foi observada a queda mais brusca deste teste. Em ambos os períodos de 168 e 192 horas, o poder de germinação foi de 1%. Com estes resultados, foi possível identificar os períodos em que ocorrem quedas bruscas do poder de germinação das sementes de feijão e, portanto, definir o foco de caracterização molecular mais detalhada. A caracterização molecular das fases de envelhecimento de sementes de feijão, enfatizando os períodos pré e pós quedas abruptas no poder de germinação será realizada com ferramentas moleculares desenvolvidas pela equipe de autores.

**Termos para indexação:** Banco de germoplasma, Caracterização molecular, Degradação de sementes, Recursos genéticos.

Trabalho realizado com apoio financeiro da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## Efeitos da embebição de sementes de *Phaseolus vulgaris* na integridade e concentração do RNA

Tayara Colins Nunes <sup>(1)</sup>, Cristielly de Oliveira Silva Machado <sup>(1)</sup>, Alisson Ferreira Dantas <sup>(1)</sup>, Solange Barrios Roveri José <sup>(2)</sup>, Antonieta Salomão <sup>(2)</sup>, Juliano Gomes Pádua <sup>(2)</sup>, Rosana Pereira Vianello <sup>(3)</sup>, Marília de Castro Rodrigues Pappas <sup>(2)</sup>, Priscila Grynberg <sup>(2)</sup>, Ana Cristina Miranda Brasileiro <sup>(2)</sup> e Marcos Aparecido Gimenes <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

**Resumo** - O processo de germinação das sementes é dependente de uma série de fatores, dentre eles é fundamental a preservação da integridade de RNAs armazenados no embrião. Os RNAs mensageiros de vida longa armazenados em sementes maduras podem permanecer viáveis por longos períodos, sendo traduzidos em proteínas no início da germinação, mesmo em sementes que sofreram dessecação severa. O objetivo deste trabalho foi analisar a integridade e quantidade de RNA armazenado em sementes de *Phaseolus vulgaris*, após diferentes tempos de embebição, para selecionar os mais adequados para identificação dos RNAs de vida longa. Foram utilizadas três réplicas de 17 sementes para cada tempo. As sementes foram escarificadas para uniformização do processo de embebição e os tempos utilizados foram: 30 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h e 8h. Logo após a embebição, as sementes foram congeladas em nitrogênio líquido. A extração de RNA foi realizada com kit comercial (Aurum total RNA fatty and fibrous tissue kit, BioRad) com pequenas alterações. O RNA total isolado das sementes foi analisado por eletroforese de alta performance (Bioanalyzer, Agilent), que gera um índice de integridade do RNA (RIN) variando de 1 a 10. Neste experimento, o RIN variou de 7,73 a 9,57, indicando alta integridade das moléculas de RNA nas sementes analisadas. Foi observado que não ocorreu um padrão de aumento da degradação com o tempo de embebição, mas foi possível notar que houve um decréscimo no RIN a partir do tempo de quatro horas e, nos tempos seguintes, este se manteve estável. Conforme esperado, a quantidade de transcritos apresentou um aumento após embebição, a partir do tempo de duas horas. No entanto, não foi possível observar um padrão crescente da concentração de RNA, com o aumento do tempo de embebição (a média da concentração de todas as amostras no tempo inicial foi de 146 ng/μl e, ao final, 142 ng/μl).

**Termos para indexação:** Escarificação, Germinação, RIN, RNA de vida longa.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Nova estratégia para aumento da tradução gênica via CRISPR/Cas9: o gene *GmPR10* como estudo de caso visando a tolerância a *Meloidogyne incognita* em soja

Lorena Sousa de Loiola Costa <sup>(1)</sup>, Nayara S Freitas-Alves <sup>(1)</sup>, Clídia Eduarda Moreira Pinto <sup>(1)</sup>, Lilian Hasegawa Florentino <sup>(2)</sup>, Fabrício Barbosa Monteiro Arraes <sup>(1)</sup>, Elíbio Rech <sup>(3)</sup>, Carolina Vianna Morgante <sup>(3)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Os nematoides formadores de galhas (RKN), *Meloidogyne* spp., são um dos principais patógenos que afetam o rendimento e a qualidade da soja. Um estudo ômico anterior, comparando genótipos contrastantes de soja quanto à suscetibilidade a *Meloidogyne incognita* identificou a proteína relacionada à patogênese de classe 10 (*GmPR10*), que interfere nas enzimas digestivas e na cutícula dos nematoides, como relacionada à tolerância a esses fitonematoides. O gene *GmPR10* foi superexpresso em plantas transgênicas de tabaco, resultando em uma redução no número de galhas (51,6-57,8%), no número de ovos (41,9-43,5%) e no fator de reprodução de nematoides (40,4-48,7%), em comparação com plantas do tipo selvagem. Esses resultados validam o envolvimento de *GmPR10* no aumento da tolerância a *M. incognita*. Recentemente, a edição de uORFs (quadros de leitura abertos upstream) surgiu como uma estratégia para superexpressão gênica utilizando a tecnologia CRISPR/Cas9, já que uORFs podem regular negativamente a tradução dos ORFs primários downstream (pORFs). Nesse estudo, identificamos *in silico* duas uORFs putativas na sequência 5'-UTR de *GmPR10*. Esta região foi clonada em um sistema repórter duplo contendo luciferase/renilla (LUC/REN) e os primeiros ATGs das uORFs foram mutados. Nos resultados da expressão da proteína repórter LUC em protoplastos, mutações únicas nos uORFs 1 ou 2 não resultaram em diferenças significativas em comparação com sequências não mutadas. No entanto, simultâneas das duas uORFs aumentaram a atividade de LUC em aproximadamente 3,5 vezes, indicando que ambos os uORFs devem ser mutados para aumentar os níveis da proteína *GmPR10*. Foi então delineada uma estratégia para a mutação simultânea das uORFs 1 e 2 de *GmPR10* em plantas via CRISPR/Cas9. Os sgRNAs foram clonados em vetores do sistema CRISPR2.0 e estão em fase de validação em raízes em cabeleira (*hairy-roots*) de soja. A estratégia de deleção de uORF utilizando CRISPR/Cas9 para aumento da tradução gênica é inovadora em soja e permite a produção de plantas não transgênicas tolerantes a RKNs.

**Termos para indexação:** *Glycine max*, Nematoides formadores de galhas, UORFs, Edição de genoma.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Análise da expressão diferencial de genes envolvidos na interação de *Musa acuminata* subsp. *burmannicoides* var. *Calcutta 4* e *Fusarium oxysporum* F. sp. *cubense* raça STR4

Erica de Castro Costa <sup>(1)</sup>, Lucas Santos Bastos <sup>(1)</sup>, Priscila Grynberg <sup>(2)</sup>, Roberto Coiti Togawa <sup>(3)</sup> e Robert Neil Gerard Miller <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Cultivares comerciais de bananas (*Musa* spp.) apresentam variabilidade genética limitada, tornando-as suscetíveis a diversas pragas e doenças. A murcha de *Fusarium* é uma doença vascular causada pelo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc). Foc possui três raças patogênicas para diferentes cultivares de bananeira. O método mais eficaz de controlar Foc é através da resistência genética. Este estudo tem como objetivo identificar genes-alvo envolvidos na resposta de resistência em *Musa acuminata* durante a interação com o patógeno Foc raça STR4. A análise de RNAseq foi realizada em *M. acuminata* subsp. *burmannicoides* var. 'Calcutta 4' aos 1, 2 e 4 dias após a inoculação (DAI) com Foc STR4. O sequenciamento Illumina Novaseq 6000 PE100 gerou 437.740.123 reads das quais aproximadamente 88% foram mapeadas contra o genoma de referência de *M. acuminata* ssp. *malaccensis* var. 'DH-Pahang' v.4. A comparação com o controle (sem inoculação com Foc) revelou 1.416 genes diferencialmente expressos (DEGs), com 1.223 DEGs regulados positivamente e 193 DEGs regulados negativamente (FDR <0,05 e Log2FC >2 ou <-2). Destes, 270, 872 e 81DEGs foram regulados positivamente, e 150, 33 e 10 DEGs foram regulados negativamente em 1, 2 e 4 DAI, respectivamente. A análise de ontologia gênica (GO) relevou que a expressão dos DEGs relacionada a reconhecimento e ligações (*binding*), atividade catalítica, processos celulares, de desenvolvimento e metabólicos, função molecular, resposta a estímulos, tradução de sinais e transporte. Os DEGs regulados positivamente estavam envolvidos, em 1DAI, na biossíntese de parede celular, na sinalização de receptores de membrana e na ativação das vias de fitormônios. Aos 2DAI, em vias de respostas a estímulos a estresses bióticos e abióticos, bem como na regulação de respostas de defesa e de fitormônios. Em 4DAI, na atividade de sinalização de receptores, respostas a estresses bióticos e no reconhecimento e atividade catalítica de quitina. Estas informações são base para a compreensão dos mecanismos moleculares da resposta de defesa na interação de Calcutta 4 e Foc STR4.

**Termos para indexação:** Transcritômica, Resistência, RNA-seq, Banana, Fungo, Fitopatologia.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Identificação e caracterização funcional de genes e vias metabólicas envolvidas na germinação de sementes de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*)

Rutiane Moreira de Jesus Costa <sup>(1)</sup>, Thifany Purcena <sup>(1)</sup>, Alisson Ferreira Dantas <sup>(1)</sup>, Roberto Coiti Togawa <sup>(2)</sup>, Marcos Aparecido Gimenes <sup>(3)</sup> e Priscila Grynberg <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Bancos de germoplasma de sementes são essenciais para conservar a variabilidade genética dos recursos genéticos a longo prazo. Sementes podem tolerar secagem extrema e baixas temperaturas mantendo sua viabilidade, o que é crucial para a agricultura. A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia possui o quarto maior banco de sementes do mundo, com capacidade para 700 mil acessos de plantas e atualmente armazena 1.082 espécies de 428 gêneros. Teste de Germinação é o método recomendado para avaliar a viabilidade das sementes, mas não detecta estágios iniciais de deterioração. Portanto, a identificação de marcadores moleculares para esses estágios iniciais é desejável. O objetivo do estudo foi identificar genes candidatos a marcadores moleculares de envelhecimento e perda de poder germinativo em sementes armazenadas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e proteínas de ligação ao RNA envolvidas na germinação. Inicialmente, genes candidatos foram buscados na literatura sobre arroz (*Oryza sativa*) e *Arabidopsis thaliana*. Utilizando o programa OrthoFinder, foram encontrados 30 genes ortólogos de feijão, cuja expressão foi confirmada via qPCR. Análises de vias metabólicas foram realizadas com os sites BlastKoala e KEGG Pathways, e o script BLASTp comparou as sequências de proteínas do feijão com dados de soja (*Glycine max*). Foram representadas 10 vias metabólicas pelos 30 genes selecionados, incluindo degradação de ácidos graxos, metabolismo do amido e da sacarose, e biossíntese de flavonoides. Ao todo, 780 genes de feijão foram encontrados nessas vias, dos quais 21 são expressos exclusivamente em sementes. Proteínas de Ligação ao RNA (RBPs) foram identificadas em 36 genes de feijão ortólogos de arroz e *A. thaliana*, destes, 25 genes ortólogos de soja expressos significativamente em sementes. De 470 genes anotados como RBPs, cinco podem estar envolvidos na germinação. Os genes identificados estão sendo testados em materiais com diferentes poderes germinativos para melhor entendimento do processo de envelhecimento de sementes e avaliar seu potencial como marcadores de envelhecimento, complementando o teste de germinação que detecta apenas as fases finais.

**Termos para indexação:** Genes, Germinação, Ortologia, *Phaseolus vulgaris*, Semente, Vias metabólicas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Variáveis que afetam o grau de dificuldade de conservação *ex situ* dos recursos genéticos de espécies silvestres de *Arachis* (Fabaceae)

Hugo Cantelmo de Souza Peñalosa <sup>(1)</sup>, Larissa de Araújo Menezes Monteiro <sup>(1)</sup> e José Francisco Montenegro Valls <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O gênero *Arachis*, popularmente conhecido por incluir a espécie cultígena *Arachis hypogaea*, é um importante componente da flora do Brasil, onde ocorrem, naturalmente, 46 espécies endêmicas e 18 compartilhadas com a Bolívia, Paraguai, Argentina ou Uruguai. Os ambientes naturais das espécies de *Arachis* vêm sofrendo degradação crescente, que ameaça sua perpetuação. A conservação de parentes silvestres de plantas cultivadas é objetivo da Embrapa e, apenas quando *ex situ*, garante estoques de propágulos para usos variados, seja para incorporação ao melhoramento genético de *A. hypogaea*, seja para fins forrageiros, de cobertura do solo, ornamentais, ou outros. Porém, o grau de dificuldade de conservação *ex situ* das espécies silvestres de *Arachis* varia, em função de fatores diversos, como a ocorrência natural de cada espécie no Brasil ou só em países vizinhos, sua distribuição geográfica no país e distância da área de ocorrência ao Banco Ativo de Germoplasma, adaptabilidade ao cultivo *ex situ*, incluindo aí a propagação *in vitro*, perenidade ou ciclo anual, produção de rizomas, estolhos e/ou sementes, capacidade diferenciada de produção de sementes, persistência ou não das sementes em conservação em câmaras frias, e a existência de duplicatas dos acessos em instituições com objetivos similares. Neste ponto, a atual legislação de acesso aos recursos genéticos dificulta o intercâmbio de espécies de *Arachis*, mesmo entre os próprios países onde elas ocorrem naturalmente, e a ausência do gênero no Anexo 1 do Tratado Internacional sobre Recursos Fitogenéticos para a Alimentação e Agricultura bloqueia sua distribuição pelo Sistema Multilateral de Acesso Facilitado e Repartição de Benefícios desse Tratado. Entre as espécies de mais difícil conservação *ex situ*, destaca-se *A. guaranítica*, com raras populações remanescentes em áreas hoje tomadas pela agricultura mecanizada, de difícil manutenção em vasos e com escassa produção de sementes, sendo essas recalcitrantes, ao contrário das prolíferas espécies anuais da secção *Arachis*, com sementes ortodoxas e muitos acessos bem conservados em diferentes bancos de germoplasma, incluindo a Global Seed Vault, em Svalbard.

**Termos para indexação:** América do Sul, Biodiversidade, Leguminosa, Preservação, Longo prazo, Pré-melhoramento.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.



## Extratos botânicos: potencial no controle sustentável de pragas

Nádila Sabrine Leite Florentino <sup>(1)</sup>, Cristiane Brauna <sup>(1)</sup>, Rebeca Vieira Câmara <sup>(1)</sup> e Thales Lima Rocha <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

**Resumo** - Um dos grandes desafios para a produção global de alimentos nas próximas décadas está relacionado ao ataque de pragas e patógenos, especialmente os fitonematóides. Os nematóides formadores de galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne* spp., se destacam por parasitar uma vasta gama de espécies vegetais, incluindo grandes *commodities*. Dessa forma, o Laboratório de Prospecção de Compostos Bioativos (LPCB) vem caracterizando extratos crus aquosos (ECAs) de origem vegetal, visando encontrar compostos bioativos eficientes no controle de nematóides, como alternativa ao uso de químicos sintéticos que podem causar problemas à saúde humana, animal e ao meio ambiente. O presente trabalho teve como objetivo avaliar ECAs de sementes, raízes e folhas de três acessos, pré-selecionados no LPCB, pertencentes à família Poaceae, contra J2 de *Meloidogyne incognita*. A atividade nematotóxica dos ECAs foi confirmada por bioensaios in vitro, além de serem avaliadas a termoestabilidade e a curva de concentração mínima de cada um. Os resultados dos bioensaios demonstraram que todos os ECAs dos acessos pré-selecionados, na concentração de 1000µg/mL, paralisaram mais de 90% dos J2 de *M. incognita*. Apenas o ECA de raiz proveniente do acesso 3 perdeu a ação nematotóxica após ser mantido a 50°C por 24 horas, enquanto os demais se mantiveram efetivos após o aquecimento. Em relação à curva de concentração, ficou evidente que a menor concentração exibindo atividade nematotóxica para os ECAs de sementes foi 250µg/mL, para o acesso 1. Nos ECAs de raízes, a menor concentração foi 100µg/mL, para o acesso 2, e nos ECAs de folhas, a menor concentração com efeito nematotóxico foi de 100µg/mL, também para o acesso 2. Os resultados deste estudo demonstram que os extratos aquosos de sementes, raízes e folhas provenientes das espécies dos gêneros *Brachiaria* e *Paspalum* da família Poaceae são potenciais candidatos para o controle de *Meloidogyne incognita*, sendo os ECAs de semente e folhas do acesso 1 os que apresentaram maior potencial no controle de J2 de *M. incognita*.

**Termos para indexação:** *Meloidogyne incognita*, Extrato, Fitonematóide, Poaceae.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.



# Otimização do protocolo da dissecação de estruturas florais e extração de RNA de *Bertholletia excelsa* e *Couroupita guianensis*

Maria Verônica Souza Nogueira <sup>(1)</sup>, Tayara Colins Nunes <sup>(1)</sup>, Gabrieli Eduarda Correia Soares <sup>(1)</sup> e Marília de Castro Rodrigues Pappas <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A castanheira (*Bertholletia excelsa*) e a abricó-de-macaco (*Couroupita guianensis*) são espécies pertencentes ao domínio fitogeográfico amazônico, também com distribuição no Centro-oeste. Pertencem à família Lecythidaceae, que inclui, majoritariamente, árvores e arbustos com maior diversidade de espécies na região neotropical, comumente em florestas não inundáveis. A castanheira se destaca pela comercialização de suas amêndoas, enquanto a abricó-de-macaco é valorizada pelo uso ornamental e medicinal, ambas com potencial para reflorestamento. Este trabalho teve o objetivo de otimizar a dissecação floral e a extração de RNA, como parte de estudos de autoincompatibilidade. As flores de *B. excelsa* foram coletadas com estrutura completa no Campo Experimental da Embrapa Rondônia, envolvidas em papel toalha umedecido com água gelada e armazenadas sob refrigeração. Flores de *C. guianensis* foram coletadas em área urbana (Brasília-DF). Foi realizado teste de viabilidade do pólen a partir de estaminódios e estames férteis de flores de *C. guianensis*, coletadas de sua inflorescência caulinar localizadas abaixo da copa. As flores das duas espécies foram dissecadas, com intuito de separar o estame do pistilo. No processo de separação do estame, foram feitos cortes na base para separar a antera e o filete. O pistilo foi cortado em fatias do estigma até o ovário. As amostras foram armazenadas em microtubos de 1,5 ml e congeladas com nitrogênio líquido. Após maceração, 100 mg de material foram utilizados para testes usando diferentes protocolos de isolamento de RNA. Foram testados protocolos caseiros e kits comerciais e os melhores resultados de rendimento e pureza de RNA foram obtidos com protocolo a base de tampão CTAB e precipitação com cloreto de lítio. A avaliação do RNA total isolado foi realizada pela quantificação e avaliação de pureza por espectrofotometria em NanoDrop, os melhores resultados apresentaram rendimento de cerca de 15 microgramas por amostra e razões de absorvância a 260 e 230 nm, bem como a razão 260/280 acima de 2,0, indicando alta pureza com relação a polissacarídeos e proteínas, respectivamente.

**Termos para indexação:** Abricó-de-macaco, Autoincompatibilidade, Castanheira, Lecythidaceae.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.





# Metanálise de dados transcritômicos de cultivares suscetíveis de *Solanum lycopersicum* para seleção de genes candidatos à edição por CRISPR/Cas9

Marcela Gomes Rodrigues <sup>(1)</sup>, Abner Reurisson <sup>(1)</sup>, Guilherme Henrique Moss Barreto Corrêa de Oliveira <sup>(1)</sup>, Bruna Pena Sollero <sup>(2)</sup>, Miguel Mesquita Tavares <sup>(1)</sup>, Roberto Coiti Togawa <sup>(3)</sup>, Angela Mehta <sup>(2)</sup> e Priscila Grynberg <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O tomate (*Solanum lycopersicum*) é uma das principais hortaliças cultivadas do mundo, mas tem sido acometido por diversas doenças como a mancha bacteriana do tomateiro (MBT), causada por bactérias do gênero *Xanthomonas* que representam um fator limitante da produção e os begomovírus, transmitidos pela mosca branca. Este estudo teve como objetivo prospectar genes candidatos à edição genômica por CRISPR/Cas9 comumente expressos na interação tomate-patógeno visando o desenvolvimento futuro de uma cultivar com resistência a múltiplos patógenos. Para isso genes de tomate relacionados com a suscetibilidade foram elencados através de busca na literatura, totalizando 50 candidatos. Para confirmar se estes genes podem estar envolvidos com a suscetibilidade do tomate a patógenos, uma metanálise de cinco conjuntos de dados brutos de RNA-Seq sequenciados por Illumina depositados no SRA (Sequence Read Archive) do NCBI que utilizaram cultivares suscetíveis de tomate inoculado com patógenos de interesse foi realizada utilizando os seguintes programas: Fastp, para controle de qualidade, STAR (State of the Art through Systematic Review) para o mapeamento no genoma de referência SL4.0 release ITAG4.0 do SolGenomics, Htseq-count para a contagem dos reads mapeados e o EdgeR para a análise da expressão gênica diferencial, com parâmetros estatísticos de  $FDR < 0,05$  e  $-1 < \text{Log}_2FC = 1$ . Dos cinco projetos selecionados, apenas o PRJNA639037, que analisou tomates suscetíveis cultivar Ailsa Craig inoculados com o actinomiceto *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* com dados de dois tempos (8 e 24 horas) apresentou resultados. Um total de 3.652 e 1909 genes diferentemente expressos foram significativos nos tempos 8 e 24 horas, respectivamente. Os genes suppressor of sialicilic acid insensitivity, RING-type E3 ubiquitin transferase e um Helix-loop-helix DNA-binding domain são induzidos frente à inoculação bacteriana, e os genes Programmed Cell Death suppressor e U-box domain-containing family protein foram reprimidos. Análises funcionais sobre o possível papel desse genes na resposta do tomate à infecção ainda precisam ser realizadas.

**Termos para indexação:** Tomate, RNA-Seq, Patógenos.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## Comparação de transcriptomas de amostras de feijão conservadas em longo prazo

Guilherme Henrique Moss Barreto Corrêa de Oliveira <sup>(1)</sup>, Rutiane Moreira de Jesus Costa <sup>(1)</sup>, Tayara Colins Nunes <sup>(1)</sup>, Cristielly de Oliveira Silva Machado <sup>(1)</sup>, Alisson Ferreira Dantas <sup>(1)</sup>, Roberto Coiti Togawa <sup>(2)</sup>, Priscila Grynberg <sup>(3)</sup> e Marcos Aparecido Gimenes <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A manutenção do poder de germinação (PG) de sementes é fundamental à agricultura, à manutenção de populações naturais e à conservação de recursos genéticos. Sementes são adequadas para a conservação porque são o meio natural de propagação de várias espécies e permitem a manutenção de alta variabilidade genética. O envelhecimento das sementes ocorre mesmo em conservação em longo prazo (baixa umidade, -20º C) pela oxidação de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Níveis de envelhecimento de sementes em conservação são estimados pelo PG de amostras individuais, o que não permite detectar os diferentes estágios do envelhecimento, indicando apenas os finais desse processo. O desafio é contribuir para a monitoração dos recursos genéticos, identificando estágios intermediários de envelhecimento, principalmente aqueles que precedem quedas bruscas do PG. A detecção precoce de níveis críticos de envelhecimento possibilitaria a regeneração dos acessos em momentos em que há possibilidade de se obter amostras com o mesmo nível de variabilidade genética da amostra original. O objetivo deste trabalho é identificar RNAs armazenados em sementes de feijão fundamentais ao início da germinação e avaliar o potencial desses como marcadores de envelhecimento. Para tanto, RNAs armazenados em sementes de feijão foram identificados e comparados, por meio de bioinformática e qPCR, entre lotes de sementes em diferentes níveis de envelhecimento. Para ter uma variedade de amostras, foram selecionados 7 grupos de sementes com níveis de PG alto, médio e baixo. Foram analisados os genes diferencialmente expressos (DEGs) de cada grupo e foi identificado um gene em comum que estava up-regulado em todas as amostras, além de 35 genes comuns a 6 grupos de sementes, estando 27 up-regulados e 8 down-regulados. Com isso, será possível analisar a importância desses genes e seu possível papel na conservação do PG, assim como ajudar a entender possíveis estresses sofridos pelas plantas-mãe de cada acesso, que podem ter impactado na longevidade das sementes dos acessos em conservação no Banco Genético.

**Termos para indexação:** *Phaseolus vulgaris*, Feijão, RNA-seq, Envelhecimento, Semente.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# *Quarentena Vegetal*



# Artrópodes associados a mudas de cacau, café e citros em viveiros em Rolim de Moura, Rondônia

Mayara Siqueira Messias <sup>(1)</sup>, Marcos Antônio de Aguiar <sup>(1)</sup> e Elisangela Gomes Fidelis <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Os cultivos de cacau, café e citros têm importância econômica e social para o estado de Rondônia. A presença de ácaros fitófagos em mudas em viveiros podem comprometer o desenvolvimento das plantas, e também é um risco de dispersão de pragas quarentenárias. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi realizar o levantamento de ácaros em mudas de cacau, café e citros em três viveiros de mudas em Rolim de Moura-RO, de maio de 2022 a abril de 2023. Amostras de folhas foram coletadas mensalmente, em cada dia de amostragem foram retiradas duas folhas por planta, de um número total de 20 plantas por viveiro. O material foi acondicionado em sacos de papel devidamente identificados, e encaminhados ao laboratório para o processo de triagem, montagem e identificação. Foram encontrados 772 artrópodes (ácaros e insetos), sendo, fitófagos, predadores e onívoros. A maior abundância foi de fitófagos, distribuídos entre os ácaros das ordens: Mesostigmata e, especialmente, Prostigmata (85,6% dos artrópodes coletados), e insetos da ordem Hemiptera (Aphididae e Pseudococcidae) (1,60%). Os predadores representam artrópodes, todos ácaros da ordem Mesostigmata, famílias Phytoseiidae 11,27% dos e e Cunaxidae. Os onívoros encontrados pertencem às ordens Astigmata (ácaros da família Oribatidae) e Mesostigmata (ácaros da família Ascidae), representando 1,41% da pesquisa. Os artrópodes de maior abundância foram os ácaros da família Eriophyidae (40%), os ácaros Tetranychidae (23%) e os predadores Phytoseiidae (11%). As famílias de ácaros presentes simultaneamente nas três culturas estudadas foram: Phytoseiidae, Tarsonemidae, Tetranychidae. Nenhum ácaro quarentenário foi encontrado nos levantamentos, como o ácaro-hindustânico-dos-citros, *Schizotetranychus hindustanicus*, praga quarentenária presente em Roraima. A grande diversidade e abundância de ácaros nas mudas de cacau, café e citros comercializadas em Rolim de Moura-RO revela uma importante preocupação em relação aos viveiros, que podem de fato representar um risco de disseminação de pragas para cultivos agrícolas de importância econômica em Rondônia.

**Termos para indexação:** Fitossanidade, Phytoseiidae, Eriophyidae, Tetranychidae.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Percevejo-das-gramíneas, *Blissus* spp. (Hemiptera: Blissidae): revisão de literatura e apontamentos de soluções para o manejo sustentável

Kamila Carvalho da Silva <sup>(1)</sup>, Paula D. de Paulo <sup>(1)</sup>, Mayara Siqueira Messias <sup>(1)</sup> e Elisangela Gomes Fidelis <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Os percevejos-das-gramíneas *Blissus* spp. (Hemiptera: Blissidae), são pragas importantes de Poaceae forrageiras. Existem poucos estudos sobre esses insetos associados às pastagens no Brasil. Dessa forma, esse trabalho aborda uma revisão de literatura com foco nas espécies de *Blissus* relatadas no país. No Brasil, o primeiro relato desse gênero ocorreu no Rio Grande do Sul em 1945, *Blissus bosqi*, atacando a grama *Stenotaphrum secundatum*. A segunda espécie, *Blissus brasiliensis*, foi relatada em 1951, de espécimes coletados no Pará e Mato Grosso do Sul. Em 1975, houve um relato equivocado de *Blissus leucopterus* em Minas Gerais, que mais tarde, em 2000, verificou-se que na verdade se tratava de *Blissus antillus*, espécie que possivelmente foi introduzida no Brasil a partir de mudas do capim Tanner grass (*Brachiaria arrecta*) importadas dos Estados Unidos. Posteriormente, a espécie *B. antillus* foi relatada também nos demais estados na região Sudeste, Nordeste, Centro-Oeste e Norte. Em 2015, uma nova espécie foi relatada em Roraima (*Blissus pulchellus*) causando danos severos em *Brachiaria brizantha* e *Panicum maximum*. Os ataques de *B. pulchellus* parecem estar relacionados a períodos de longas estiagens causadas pelo El Niño em Roraima, visto que, altas densidades foram observadas novamente em 2024. Desde 2022, ataques de percevejos do gênero *Blissus* em pastagens com *B. brizantha* e *Brachiaria humidicola*, também são observados em Rondônia e Mato Grosso, respectivamente. Os ataques têm sido reportados durante períodos longos de estiagem, indicando que esses insetos, podem ameaçar o cultivo de pastagens durante os eventos climáticos extremos. *Blissus insularis* está na lista de pragas quarentenárias ausentes do Brasil e tem risco de entrada no país. Sabendo das dificuldades de identificação das espécies, uma revisão taxonômica desse grupo de praga no Brasil é necessária e urgente. Estudos para o desenvolvimento de estratégias de manejo desses insetos são necessários. Pesquisas para identificação de fungos para o controle biológico, identificação de semioquímicos e resistência de plantas estão sendo desenvolvidos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

**Termos para indexação:** Poacea, Taxonomia, Pecuária.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Metodologia para criação massal de percevejos *Blissus* sp. (Hemiptera: Blissidae)

Juliano Vilardi Gavoçi Tenente Prendi <sup>(1)</sup>, Mayara Siqueira Messias <sup>(1)</sup>, Paula D. de Paulo <sup>(1)</sup>, Paulo Costa Pratesi <sup>(2)</sup> e Elisangela Gomes Fidelis <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Colaborador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O percevejo-das-gramíneas *Blissus* spp. (Hemiptera: Blissidae) é uma praga de grande importância para pastagens. Nos anos 70 e 80, *Blissus antillus* causou danos em capim Tangola, em vários estados Brasileiros. Mais recentemente, a partir de 2015, há relatos de ataques severos em Roraima, Rondônia e Mato Grosso. Tendo em vista que ainda não existem estratégias eficientes de manejo para esses percevejos, estudos para o desenvolvimento de ferramentas para o controle biológico, químico, comportamental e de resistência de plantas são necessários. Assim, este trabalho possui como objetivo o estabelecimento de uma metodologia para criação massal de *Blissus* sp. A criação massal foi realizada no sistema de cultivo indoor da Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, a partir de colônias coletadas em pastagem de *Brachiaria humidicola*, no município de Barra do Bugres, Mato Grosso. Foram obtidas condições ideais de temperatura, fotoperíodo e tipo de hospedeiro. Verificou-se que é possível a criação massal de *Blissus* sp. em sala de cultivo indoor iluminada com lâmpadas de LED de 240 Watts, em fotoperíodo de 14:10 h. A temperatura ideal para criação foi de 28 e 32 °C, sendo 30°C a ideal. Os hospedeiros ideais são *B. humidicola* cv. *humidicola* e *B. ruzizensis*. Os insetos foram mantidos em mudas de 20-30 dias após a germinação, produzidas em bandejas plásticas de 40x30x10 (comprimento, largura, altura), com substrato orgânico. Neste sistema, foi possível fornecer até 500 insetos por bandeja semanalmente para realização de estudos.

**Termos para indexação:** *Brachiaria*, Percevejo-das-gramíneas, Pastagens.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Risco de introdução de pragas quarentenárias em cultivos da videira no Distrito Federal

Giovanna Raiane Lucena de Sousa<sup>(1)</sup>, Alexandre Specht<sup>(2)</sup>, Norton Porto Benito<sup>(2)</sup> e Elisangela Gomes Fidelis<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A viticultura é diversificada no Brasil, com destaque para as regiões do Sul e Nordeste. Entretanto, recentemente, essa atividade vem sendo introduzida no Distrito Federal, com potencial significativo para produção de vinhos, devido as condições climáticas favoráveis. No entanto, como todo cultivo em desenvolvimento em uma nova região, a análise de risco de introdução de pragas é essencial para prevenir impactos sociais, econômicos e ambientais. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo identificar os principais artrópodes quarentenários que ameaçam cultivos de videira no Distrito Federal. Após realizar uma busca na literatura dos principais artrópodes-praga que ocorrem em vinhas em todo o mundo, e também nas legislações brasileiras relacionadas a pragas quarentenárias. Os artrópodes quarentenários com maior risco para a videira no DF foram: ácaro *Brevipalpus chilensis* (Acari: Tenuipalpidae) e a traça-europeia-dos-cachos-da-videira *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Brevipalpus chilensis* é uma praga quarentenária ausente priorizada pelo Ministério da Agricultura e Pecuária brasileiro. Ele é reportado somente no Chile e Argentina e ataca cerca de 40 plantas hospedeiras, sendo a uva um dos principais. *Lobesia botrana* também é uma praga quarentenária ausente priorizada para o Brasil. Até 2008, essa praga ocorria em países da África, Ásia e Europa, quando foi detectada no Chile, aumentando assim sua probabilidade de introdução no Brasil. No Brasil, outras lagartas muito semelhantes a *L. botrana* ocorrem em uvas, podendo dificultar a detecção no campo. O monitoramento assíduo dessas pragas é necessário para detecção precoce e tomada de medidas fitossanitárias. Levantamentos para detecção de *B. chilensis* e *L. botrana* em cultivos de videira estão sendo realizados no DF. Em cada propriedade, são amostrados pelo menos 10 pontos, onde coletadas pelo menos cinco folhas e cinco brotos e observados flores e cachos de uva. As amostras foram triadas na Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal do Cenargen. Cinco propriedades já foram amostradas e nenhuma praga quarentenária foi detectada. Estão previstos levantamentos em pelo menos 20 propriedades até agosto de 2024.

**Termos para indexação:** *Brevipalpus chilensis*, *Lobesia botrana*, Fitossanidade, Monitoramento.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## Biologia e desenvolvimento de *Blissus antillus* (Hemiptera: Blissidae) em diferentes gramíneas forrageiras

Paula D. de Paulo <sup>(1)</sup>, Mayara Siqueira Messias <sup>(1)</sup>, Kamila Carvalho da Silva <sup>(1)</sup>, Giovanna Raiane Lucena de Sousa <sup>(1)</sup>, Juliano Vilardi Gavoçi Tenente Prendi <sup>(1)</sup> e Elisangela Gomes Fidelis <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O ataque de insetos-praga em áreas pastagens afeta negativamente a pecuária brasileira. Atualmente, um dos desafios enfrentados pelos pecuaristas é o controle de pragas, como os percevejos do gênero *Blissus* (Hemiptera: Blissidae), uma praga emergente de pastagens no Brasil. Há uma lacuna significativa nos estudos relacionados a esse grupo de insetos. Este trabalho apresenta a biologia e o desenvolvimento de *Blissus antillus* em diferentes gramíneas forrageiras de relevância econômica no contexto brasileiro. Os ensaios foram conduzidos na Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Investigamos a biologia e o desenvolvimento do percevejo-das-gramíneas em quatro espécies forrageiras: *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria brizanta* cv. Marandu e *Brachiaria dictyoneura*. As plantas foram infestadas *in vivo* com um casal recém-emergido (até 48h). Os insetos foram isolados em gaiolas do tipo clip-cages, e parâmetros como a fecundidade e fertilidade avaliados diariamente até a morte das fêmeas. Ninfas recém-eclodidas foram individualizadas em plantas *in vivo* para avaliação do tempo de desenvolvimento, e após emergência dos adultos, avaliou-se razão sexual. A fecundidade (número de ovos por fêmea) foi significativamente afetada pela espécie de póacea forrageira. Em *B. humidicola* a quantidade de ovos postos por fêmea foi significativamente maior. O tempo de desenvolvimento das ninfas foi significativamente menor em *B. humidicola* e *B. dictyoneura*. A razão sexual foi semelhante em *B. ruziziensis* e *B. humidicola*. Nosso estudo mostrou que parâmetros da biologia (e.g., número de ovos postos e tempo de desenvolvimento) do percevejo-das-gramíneas *Blissus* spp. foram significativamente afetados pelas espécies forrageiras. Os resultados dessa pesquisa contribuirão para desenvolvimento de ferramentas para o manejo da praga, com indicação de variedades de forrageiras menos susceptíveis, determinação dos impactos deste inseto em potenciais hospedeiros, e para trabalhos futuros em programas de melhoramento de forrageiras.

**Termos para indexação:** Interação inseto-plantas, Percevejo-das-gramíneas, Manejo integrado de pragas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.





# Abordagem múltipla na análise fitossanitária para verificação da presença de *Xylella fastidiosa* em mudas de Jacarandá-mimoso

Yasmin Ferreira de Moura <sup>(1)</sup>, Philippe Spezia Silva <sup>(1)</sup>, Leila Maria Gomes Barros <sup>(2)</sup> e Abi Soares dos Anjos Marques <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - As quarentenas vegetais se inserem em processos quarentenários globalizados e são normatizadas por uma organização supranacional. Baseiam-se em fundamentos biológicos e preconizam a segurança que deve reger os deslocamentos de plantas ao redor do mundo, para diversas finalidades. A Estação Quarentenária do Cenargen realiza análises fitossanitárias em germoplasma vegetal importado, tendo em vista minimizar o risco de introdução e disseminação de pragas agrícolas no Brasil. Eventualmente, é solicitada a colaborar em análises para subsidiar a Defesa Fitossanitária Brasileira a emitir a Declaração Adicional que deve constar no Certificado Fitossanitário para a exportação de material vegetal. Em 2023, um lote de mudas de jacarandá-mimoso (*Jacaranda mimosifolia*), árvore ornamental da família Bignoniaceae, nativo da Argentina, Bolívia e Sul do Brasil, foi encaminhado à EQ para análise fitossanitária, visando verificar sua sanidade quanto à contaminação por *Xylella fastidiosa*, em atendimento à exigência da Índia, país importador. As plantas foram mantidas em câmara de crescimento e, em inspeção inicial, não foram identificadas anormalidades que pudessem ser atribuídas a sintomas causados pela bactéria em questão. Entretanto, considerando a possibilidade de contaminação assintomática, foram coletados limbo foliar e pecíolos os quais foram utilizados para os testes moleculares e sorológicos. Tendo como controle positivo DNA purificado de *X. fastidiosa*, foi realizada PCR convencional em extrato aquoso das plantas, utilizando-se os primers RST31/RST33. Adicionalmente, foram feitas alterações no protocolo, como adição de PVP ao tampão de extração e diluição do extrato da planta, visando superar a inibição da amplificação do DNA no extrato puro e concentrado. Complementarmente, foi realizado teste ELISA. Os resultados para contaminação por *X. fastidiosa* foram negativos por PCR, ao passo em que foi inconclusivo pelo teste ELISA, tendo sido positivo em uma das repetições. Assim, na impossibilidade de atestar a ausência da bactéria, no prazo solicitado, a exportação das mudas foi suspensa, sendo que testes complementares deverão ser conduzidos, para se verificar a condição de viveiros em relação a *X. fastidiosa* em *J. mimosifolia*.

**Termos para indexação:** Quarentena vegetal, *Xylella fastidiosa*, Jacarandá, ELISA, PCR.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Análise fitossanitária de germoplasma de *Agave tequilana* identifica contaminação por bactérias fitopatogênicas

Thainá Ramon de Castro <sup>(1)</sup>, Yasmin Ferreira de Moura <sup>(1)</sup>, Gabriel Miranda da Silva <sup>(1)</sup> e Abi Soares Dos Anjos Marques <sup>(2)</sup>.

<sup>1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Análises fitossanitárias são sistematicamente realizadas em material genético vegetal em processos de importação no Brasil, pela Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal do Cenargen. Esse procedimento visa assegurar a sanidade e minimizar o risco de introdução e disseminação de pragas agrícolas no país. A análise bacteriológica faz parte do complexo de testes aos quais os materiais são submetidos, tendo como objetivo a interceptação de fitobactérias quarentenárias para o país. Realiza-se o diagnóstico por métodos biológicos, sorológicos, bioquímicos e moleculares. Neste ano, foi autorizada a introdução de germoplasma de agave (*Agave tequilana*), destinado a um programa de melhoramento genético. Agave é um gênero de plantas suculentas originárias, majoritariamente, do México e agrupa mais de 100 espécies. *A. tequilana*, amplamente cultivada, é usada para a produção de tequila (a bebida tradicional mexicana). Considerando o avançado estágio de desenvolvimento das mudas recebidas na EQ, fez-se inspeção visual, observando-se a presença de manchas foliares. Após plantio em quarentenário, foram feitas inspeções periódicas, quando se observou intenso apodrecimento localizado, principalmente, na base das folhas onde havia, exsudação superficial, formando gotas de líquido opaco. Foi feito plaqueamento do extrato das lesões foliares e dos exsudatos. As colônias bacterianas resultantes, foram purificadas e submetidas aos seguintes testes de identificação: reação de hipersensibilidade, coloração de Gram, oxidação/fermentação da glicose, atividade pectinolítica em fatias de batata, fluorescência, crescimento a 37 °C, assim como produção de catalase, reação de oxidase e motilidade. As colônias selecionadas são brancas, de aproximadamente 2 mm, elevadas e brilhantes com bordos regulares. Os resultados dos testes de patogenicidade, bioquímicos, fisiológicos e culturais, somados aos sintomas apresentados, permitiram constatar a ocorrência de *Pectobacterium* sp. nas plantas de *A. tequilana*. Teste de PCR com primers específicos para as espécies e subespécie (*P. carotovorum* ssp. *carotovorum* e *P. cacticidum*), será utilizado para confirmação do diagnóstico. Providências subsequentes serão tomadas, visando resguardar a integridade do germoplasma, pois relatos indicam que contaminação dessa natureza pode acarretar a morte das plantas infectadas.

**Termos para indexação:** Quarentena vegetal, Agave, *Pectobacterium*, Caracterização Bioquímica.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## Primeiro relato de *Wolbachia* em percevejo-das-gramíneas (*Blissus* sp.)

Guilherme Martins Dortzbacher <sup>(1)</sup>, Philippe Spézia Silva <sup>(1)</sup>, Juliano Vilardi Gavoçi Tenente Prendi <sup>(1)</sup>, Mayara Siqueira Messias <sup>(1)</sup>, Renata Santos de Mendonça <sup>(1)</sup>, Elisângela Gomes Fidelis <sup>(2)</sup> e Leila Maria Gomes Barros <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O percevejo-das-gramíneas *Blissus* sp. (Hemiptera: Blissidae) vem causando severos danos em pastagens nos estados de Mato Grosso (MT), Roraima (RR) e em Rondônia (RO). No Brasil, são reportadas quatro espécies: *B. bosqi*, *B. brasiliensis*, *B. antillus* e *B. pulchellus*, e uma espécie está na lista de pragas quarentenárias ausentes: *B. insularis*. Entretanto, a identificação da espécie pela morfologia tem sido desafiadora, uma vez que são muito semelhantes. Para auxiliar a identificação das espécies que estão ocorrendo em MT, foram realizadas análises moleculares. O DNA foi isolado de adultos inteiros, ou apenas do tórax, utilizando o kit DNeasy Blood and Tissue® (QIAGEN). Em seguida, procedeu-se a PCR para amplificação do fragmento barcode localizado no gene mitocondrial citocromo c oxidase (COI) com os primers LCO1490/HCO2198 e dois novos primers In-LCO1390/In-HCO2089 foram desenhados com base na sequência do genoma mitocondrial de *Ischnodemus noctulus* (Blissidae) (GenBank NC\_065819), visto que o genoma mitocondrial de *Blissus* não foi ainda sequenciado. Os produtos de PCR obtidos de aproximadamente 700 pb foram sequenciados. As sequências foram tratadas para eliminação de regiões de baixa qualidade e geração dos consensos por meio do software Benchling. As sequências consenso foram então submetidas aos bancos de dados públicos Genbank e BOLD-Systems para comparação (Blast). O resultado foi surpreendente, pois as sequências amplificadas, com ambos os pares de primers, tiveram identidades superiores a 98% com as sequências da bactéria Endossimbionte *Wolbachia*. Este é o primeiro relato da presença de *Wolbachia* em *Blissus*. Apenas o Endossimbionte *Burkholderia* havia sido relatado em *B. insularis*. *Wolbachia* deve ter um papel importante na nutrição de *Blissus*, uma vez que muitos compostos essenciais que eles não conseguem sintetizar, nem obter da sua dieta (floema da planta), são frequentemente fornecidos pelo metabolismo dessas bactérias. Estudos são necessários para compreender como *Wolbachia* influencia na biologia e reprodução de *Blissus* sp. e como essa informação pode ser usada no seu manejo no campo.

**Termos para indexação:** Pastagens, Endossimbionte, Biologia molecular.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# Espécies de *Fusarium* interceptadas na Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal em 2024

Anna Caroline da Silva Nogueira <sup>(1)</sup>, Lucas Benedetti <sup>(1)</sup>, Enzo Cardoso <sup>(1)</sup>, Leila Maria Gomes Barros <sup>(2)</sup> e Eudes Carvalho <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Praga quarentenária ausente é todo organismo vivo exótico (insetos, ácaros, vegetal, fungo, vírus ou bactéria) de importância econômica e que não se encontra em território nacional. A lista de pragas quarentenárias ausentes do Brasil, consta com 14 espécies do gênero *Fusarium*, incluindo 7 formaes especiais de *F. oxysporum*. O gênero *Fusarium* engloba espécies saprófitas, habitantes do solo e patógenos de plantas que, sob condições favoráveis, podem causar principalmente a murcha de plantas. A Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal (EQGV) é a responsável pela análise de amostras destinadas à pesquisa. O objetivo deste trabalho foi identificar as espécies de *Fusarium* interceptadas em processos de importação, no primeiro semestre do ano de 2024. As amostras de sementes recebidas foram analisadas pelo método de “Blotter Test”, sob temperatura de 25°C, em câmara de incubação (“B.O.D.”). Após 14 dias, foram confeccionadas lâminas para identificação morfológica dos fungos. Posteriormente, procedeu-se ao isolamento em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e repicagens para obtenção de cultura pura. Em seguida, realizou-se a extração de DNA, reação de PCR seguido de sequenciamento e análises das sequências. Foram avaliados 04 processos distintos, com 700 acessos no total. Foram identificadas espécies de *Fusarium* spp. em milho (*Zea* sp.) e agave (Agave), a partir das análises morfológicas por microscopia de luz. As sequências resultantes das ampliações foram alinhadas (“Blast”) com sequências de espécies quarentenárias disponíveis no GenBank. A partir deste alinhamento foi possível construir uma árvore filogenética que demonstrou que as espécies de *Fusarium* interceptadas na EQGV são geneticamente distintas das espécies quarentenárias.

**Termos para indexação:** Fungos, Murcha vascular, Podridão de espiga.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



# ***Biotechnología***



# Comparação das atividades antimicrobianas de nanopartículas metálicas sintetizadas por rotas verde e química

Thalita Fonseca de Araujo<sup>(1)</sup> e Luciano Paulino da Silva<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Dentre as abordagens para síntese de nanopartículas (NPs) metálicas, os métodos químicos são bastante empregados, porém podem acarretar prejuízos tanto para o meio ambiente quanto para o ser humano. De forma a sobrepujar tais desafios, a síntese verde surge como uma alternativa viável, sendo que esta utiliza, principalmente, recursos biológicos para sintetizar tais materiais. Este trabalho objetivou sintetizar NPs monometálicas de prata e ferro e bimetálicas de cobre-prata e prata-ferro por rotas química e verde e comparar a sua possível atividade antimicrobiana contra bactérias e levedura. Para as NPs produzidas por rota verde, extrato aquoso de chá mate foi adicionado ao sal precursor em cada caso ( $\text{AgNO}_3$ , para NPs contendo prata,  $\text{FeSO}_4$  e  $\text{FeCl}_3$ , para as NPs contendo ferro,  $\text{CuSO}_4$ , para NPs contendo cobre). Para as NPs produzidas por rota química, os mesmos sais precursores foram adicionados a soluções de citrato sódico e/ou borohidreto de sódio. As NPs produzidas foram analisadas por espalhamento dinâmico de luz e mobilidade eletroforética. Ademais, foram realizados testes de concentração inibitória mínima (CIM) contra as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e contra a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Para avaliação da CIM, as NPs foram incubadas com as bactérias ou levedura em concentrações decrescentes de 256 a 8  $\mu\text{M}$ . As NPs foram caracterizadas com base no diâmetro hidrodinâmico, que variou entre 27,8 e 871,5 nm, indicando estruturas nanométricas e submicrométricas, índice de polidispersividade (Pdl), que variou entre 0,239 e 0,600, sugestivo de baixa a moderada polidispersividade, e potencial Zeta, que variou entre -0,565 e -32,9 mV, indicativos de instabilidade incipiente a moderada estabilidade coloidal. Com relação à atividade antimicrobiana, apenas as AgNPs produzidas por rota verde inibiram o crescimento de *E. coli* em 128  $\mu\text{M}$  e de *S. aureus* em 256  $\mu\text{M}$ . Nenhuma das NPs estudadas inibiram o crescimento de *S. cerevisiae* em nenhuma das concentrações. Conclui-se, que os processos de síntese foram efetivos, porém apenas NPs produzidas pela rota verde apresentou atividade contra bactérias.

**Termos para indexação:** Eco-amigável, Síntese verde, Antimicrobiano.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Embalagem biodegradável para mudas de morangueiro produzida com compósito à base de casca de arroz

Vitória Araujo Martins <sup>(1)</sup> e Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - É evidente que muitos materiais utilizados na agricultura são de origem não sustentável, como observa-se nas embalagens de mudas. Por outro lado, nesse mesmo setor, nota-se a geração abundante de coprodutos vegetais com alto potencial para o desenvolvimento de produtos sustentáveis, como por exemplo as cascas de arroz. Observando essas duas problemáticas, a utilização das cascas de arroz na fabricação de embalagens biodegradáveis para mudas de diversas plantas, incluindo morangueiros, é uma maneira eficiente e sustentável para evitar poluição desnecessária e desperdício de matéria prima. Tais embalagens podem ser produzidas por meio da mistura sob aquecimento de componentes variados com intuito de desenvolver materiais compósitos, como cascas de arroz, biopolímeros, ceras e até mesmo bioestimulantes, condicionadores de solo, adubos e fertilizantes. No presente estudo, o objetivo é obter um compósito multifuncional formado por variadas proporções de materiais sustentáveis que apresente a capacidade de se decompor quando colocado no solo e que, ao mesmo tempo, libere substâncias importantes para a muda em desenvolvimento, como nitrogênio, fósforo e corretivo de acidez. Após revisão literária, foram testadas 34 formulações compósitas, dentre as quais a mais adequada foi escolhida com base na aderência, resistência ao toque, viscosidade, extrudabilidade e formação de camadas. A formulação escolhida passou por testes de resistência mecânica, capacidade de absorção de água e adequação ao uso pretendido em câmara climática e em casa de vegetação. Após tais testes, o compósito produzido poderá ser utilizado em processo de impressão 3D por microextrusão para obter protótipos de embalagem em formato de tubete, preferencialmente. Além disso, uma cera natural foi utilizada para revestir a parte externa da embalagem com vistas não apenas de reduzir a solubilidade em água, mas também para conferir atividade antibacteriana e antifúngica. Por fim, pode-se concluir que, por meio dos testes de composição e propriedades mecânicas, a casca de arroz agregada com outros materiais sustentáveis apresenta resultados satisfatórios para ser utilizada como matéria prima de embalagens biodegradáveis.

**Termos para indexação:** Casca de arroz, Biodegradável, Morangueiro, Biocompósito.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Edição genômica utilizando a ferramenta CRISPR/Cas9 em células e embriões para inserção do gene repórter EGFP no locus H11 no genoma bovino

Melissa Shizue de Almeida Yamashita<sup>(1,2)</sup>, Bruna Martins da Silva<sup>(1,2)</sup>, Jéssica Müller, J.<sup>(1,3)</sup>, Ethel Sofia Moreno Martinez<sup>(4)</sup>, M. Sofia Ortega<sup>(4)</sup>, Ky G Pohler, K.G.<sup>(5)</sup> e Eduardo de Oliveira Melo<sup>(1,2,3)</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Biotecnologia Animal, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. <sup>2</sup>Programa de pós graduação em Biologia Animal, Universidade de Brasília – UnB, <sup>3</sup>Programa de pós graduação em Biotecnologia, Universidade do Tocantins – UFT, <sup>4</sup>Department of Animal and Dairy Science, University of Wisconsin-Madison, USA, <sup>5</sup>Pregnancy and Developmental Programing Area of Excellence, Department of Animal Science, Texas A&M University, USA.

**Resumo** - O Brasil possui o maior rebanho comercial bovino do mundo com mais de 210 milhões de cabeças de gado, além de ser atualmente o maior exportador de carne bovina. Com o crescimento dessa atividade econômica também é crescente a demanda para o emprego de tecnologias avançadas, entre elas a produção de animais geneticamente modificados (AGM) que venham a abordar problemas desde aumento da produtividade até sanidade animal. Com esse projeto, intencionamos investigar o uso do sistema CRISPR/Cas9 como modelo para estabelecimento de uma metodologia de edição genômica visando a inserção (knockin) direta de genes de interesse biotecnológico, agropecuário, ou industrial no locus H11 do genoma bovino (*Bos taurus*). Esse estudo analisou em células bovinas a capacidade do sistema CRISPR/Cas9 em inserir cassetes de expressão de um gene repórter (eGFP) em um sítio específico e seguro do genoma, denominado locus H11. Diversos RNA guias foram testados e avaliados quanto sua capacidade de gerar INDELS por meio do ensaio com T7E1 e confirmados com sequenciamento do tipo Sanger. Em uma segunda fase, as melhores condições do funcionamento do sistema CRISPR/Cas9 avaliados nas células foram empregados para a eletroporação do sistema CRISPR/Cas9 diretamente em zigotos bovinos, com o objetivo de editar diretamente o genoma de embriões bovinos, inserindo o gene repórter em um local seguro e predeterminado do genoma dessa espécie de grande importância zootécnica. Os embriões eletroporados foram avaliados quanto a expressão do gene eGFP, taxa de clivagem e taxa de blastocisto.

**Termos para indexação:** Biotecnologia, Biologia animal, Genética molecular, Edição genômica.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.





## Transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) como alternativa para a maturação de ovócitos bovinos

Otávio Augusto Costa de Faria<sup>(1)</sup>, Nayara Ribeiro Kussano<sup>(2)</sup>, Lucas Costa de Faria<sup>(2)</sup>, Letícia Prates Martins<sup>(1)</sup>, José Felipe Warmling Sprícigo<sup>(3)</sup> e Margot Alves Nunes Dode<sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Doutorando, Universidade de Brasília, Brasília, DF, <sup>(2)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Professor, Universidade Federal de Goiás, Goiania, GO, <sup>(4)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Estudos têm demonstrado que ovócitos maturados no folículo pré-ovulatório pela Transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) apresentam maturação nuclear e acúmulo de gotas lipídicas semelhantes aos maturados *in vivo*. No entanto, ainda não sabe se há a capacidade de formar um embrião pela FIV e suas características. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar se a TIFOI melhora a maturação, afeta a produção e a qualidade embrionária. Para isso, ovócitos maturados pela TIFOI foram comparados com maturados *in vitro* (MIV) e com maturados por superestimulação ovariana (FSH). Após a seleção, 25-30 CCOs foram alocados nos sistemas MIV ou TIFOI. Para o grupo FSH, as doadoras foram superestimuladas com 100mg de Folltropin. Após a recuperação dos respectivos sistemas, os ovócitos maduros foram fecundados e cultivados *in vitro*. No sétimo dia, blastocistos expandidos foram corados para análise da atividade mitocondrial, quantificação de lipídios e número total de células ou criopreservados pelo método DT. Os dados foram analisados pelos testes Qui-quadrado e ANOVA. O grupo FSH apresentou maior ( $P < 0,05$ ) clivagem (97,10%) e taxa de blastocisto (40,58%) que os grupos MIV (83,07%, 28,85%) e TIFOI (85,88%, 29,88%), que, por sua vez, foram semelhantes ( $P > 0,05$ ). Os três grupos foram semelhantes quanto ao número total de células e atividade mitocondrial. Por outro lado, a área média ocupada por lipídios nos embriões dos grupos MIV (12,9%) foi maior ( $P < 0,05$ ) do que os embriões dos grupos FSH (5,81%) e TIFOI (5,32%). Embora os embriões difiram em relação aos lipídios intracelulares, tiveram resposta semelhante à criopreservação em 6 horas ( $P > 0,05$ ) e 24 horas ( $P = 0,0621$ ), após o descongelamento. Portanto, os resultados sugerem que os efeitos do sistema de maturação podem afetar a produção embrionária pela FIV e sua qualidade. Além disso, o sistema TIFOI fornece embriões com semelhanças com aqueles produzidos *in vivo*. Considerando que o conteúdo lipídico pode refletir no metabolismo embrionário, a maturação pela TIFOI, traz novas possibilidades para tecnologias reprodutivas que requerem maturação *in vitro* de ovócitos.

**Termos para indexação:** Lipídios, Criopreservação, MIV, fsh, Ovócitos, Embriões, TIFOI

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Produção de análogos de pescados pela utilização de farinha da polpa de baru por meio de impressão 3D

Gabriela Vieira Carvalho <sup>(1)</sup>, Brenno Martinz Barroso Gondim <sup>(1)</sup>, Gabriela Mendes da Rocha Vaz <sup>(1)</sup> e Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A impressão 3D no setor alimentício oferece diversas possibilidades para a personalização de alimentos convencionais. Nesse cenário, o baru, fruto do Cerrado brasileiro, surge como um ingrediente promissor, pois, com a utilização de sua polpa que é pouco aproveitada, é possível incorporá-la em formulações alimentícias que podem ser empregadas em processos de impressão 3D, contribuindo para a sustentabilidade da indústria alimentícia. Portanto, com o objetivo de valorizar os seus resíduos, o estudo propõe a produção de análogos de pescado à base da farinha da polpa de baru por meio da impressão 3D. Para o desenvolvimento do estudo, foi utilizada a farinha da polpa de baru, que passou por 3 etapas de separação granulométrica, onde foram obtidas três granulósidades de farinha, sendo eles: grãos menores que 150 µm, entre 150 até 500 µm e maiores que 500 µm, respectivamente. A farinha com granulometria menor que 150 µm foi escolhida para ser utilizada por apresentar extrudabilidade aprimorada pela seringa utilizada na impressão 3D. Para isso, ela foi combinada com carboximetilcelulose (CMC), um espessante alimentício que proporcionou maior viscosidade. A proporção de farinha de polpa de baru para CMC foi de 1:1,6 (m/v). Após o preparo da formulação alimentícia, a partir da utilização de modelos 3D obtidos por desenho assistido por computador (CAD) com o uso de softwares como Tinkercad e Pronterface, estes foram impressos com formatos similares aos de cortes de pescados. Os modelos apresentaram boa viscosidade, aderência e sustentação durante todo o experimento. Foi possível enriquecer de forma proteica os protótipos de pescados com formulações alimentícias através da adição de farinha de isolado de soja. Para acrescentá-lo, a proporção foi de 1:1:3 (m/v/m), de farinha de baru, CMC e isolado de soja, respectivamente. Conclui-se que a abordagem contribui para a redução do desperdício de resíduos oriundos do baru, a promoção da sustentabilidade e o desenvolvimento de novas opções de produtos plant-based no mercado brasileiro.

**Termos para indexação:** Baru, Plant-based, Valorização, Impressão 3D.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Como a impressão 3D pode revolucionar o aproveitamento da farinha da polpa do baru na criação de alimentos saudáveis e saborosos?

Brenno Martinz Barroso Gondim <sup>(1)</sup>, Gabriela Vieira Carvalho <sup>(1)</sup>, Gabriela Mendes da Rocha Vaz <sup>(1)</sup>, Renato Manzini <sup>(1)</sup> e Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A indústria alimentícia tem o interesse em produzir alimentos inovadores aliados com sustentabilidade, nutrição e sabor. A utilização do baru, *Dipteryx alata*, oleaginosa do Cerrado que apresenta alta composição nutricional, junto à impressão 3D de alimentos, surge como uma tecnologia de fabricação aditiva de alimentos com alto grau de personalização nutricional e apelo sensorial. O estudo objetivou a confecção de alimentos saudáveis por meio de impressão 3D, utilizando formulação à base de farinha da polpa do baru. O processamento da polpa, realizado pela equipe da Embrapa Agroindústria Tropical, gerou uma pasta e uma farinha. A farinha foi submetida a um processo de separação granulométrica utilizando diferentes aberturas de peneiras. Com as diferentes granulometrias da farinha foram testadas formulações alimentícias utilizando a farinha antes e depois do processo, e com variados polímeros espessantes (PE). Os impressos 3D confeccionados em bioimpressora 3D, utilizando a melhor formulação alimentícia e seringas com agulhas de diferentes calibres, remetem à estrutura de pescados de água doce. A formulação com a farinha de menor tamanho granulométrico em junção com um PE à base de carboximetilcelulose apresentou características adequadas para a fabricação, junto às melhores configurações de impressão possibilitou a confecção de protótipos detalhados e complexos. Também permitiu a implementação de suplementos nutricionais em sua composição. A impressão 3D utilizando a farinha da polpa do baru representa um exemplo emblemático de como pode-se aproveitar de forma sustentável os recursos naturais do Brasil para a produção de alimentos saudáveis.

**Termos para indexação:** Impressão 3D, Sustentabilidade, Baru.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Otimização de protocolo para transformação de diferentes variedades de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.)

Ana Caroline Alves de Araújo<sup>(1)</sup>, Ivonaldo Reis Santos<sup>(1)</sup>, Gláucia Barbosa Cabral<sup>(2)</sup>, Jonny Everson Scherwinski-Pereira<sup>(2)</sup>, Leonardo S. Boiteux<sup>(3)</sup> e Angela Mehta<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisador, Embrapa Hortaliças.

**Resumo** -O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma cultura bastante suscetível ao ataque de doenças e pragas, sendo um dos fatores limitantes para o aumento da produtividade. Desta forma, a transformação genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* aliada à cultura de tecidos é um dos métodos mais utilizados para obtenção de plantas resistentes aos fitopatógenos. O objetivo deste estudo foi otimizar um protocolo de transformação genética mediada por Agrobactérias para as variedades de tomate Santa Cruz e LAM 374. Sementes foram desinfestadas com etanol 70% e hipoclorito 2% e foram germinadas em meio contendo sais de MS 1/2 força e vitamina B5, sacarose 1,5% e ágar 0,6% em pH 5,8. A germinação foi conduzida na geladeira sob escuro por dois dias, em seguida, as sementes foram para sala de cultura, no escuro, por mais 6 dias, após os quais foram transferidas para a luz. Para cocultura, cotilédones foram cortados em suspensão de agrobactérias EHA105 contendo o vetor pCambia2301 (contém o gene da  $\beta$ -glucuronidase e o gene de seleção nptII) por 15 minutos, e foram secos em papel filtro e inoculados em meio de cocultura sólido por 2 dias/escuro. Posteriormente, os explantes foram transferidos para meio de indução de brotos: Sais de MS e vitaminas B5, sacarose 2%, ágar 0,6%, ácido lipóico 100 mg/L, zeatina 1,8 mg/L, ácido naftalenoacético 0,1 mg/L, canamicina 100 mg/L, timetina 100 mg/L, cefotaxima 200 mg/L. Os genótipos testados foram avaliados pela expressão da GUS através de ensaios histoquímicos, que revelaram que havia atividade nos cotilédones logo após a cocultura, assim como, nas gemas oriundas das variedades Santa Cruz e LAM 374. Foi observado que após a transformação genética e a indução dos reguladores de crescimento vários explantes cotiledonares apresentaram expansão e também surgimento de gemas. Embora, os explantes transformados não tenham formado brotos, a otimização deste protocolo está em curso e possibilitará a introdução de genes em variedades comerciais de tomate, visando a resistência aos fitopatógenos.

**Termos para indexação:** Tomate, Variedades comerciais, Transformação genética, Ensaio histoquímico, Atividade da GUS.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia - INCT.



## Validação de resistência de população do bicho mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) ao clorantraniliprole

Vívian Lucena <sup>(1,2)</sup>, Erick Santos Lustosa de Queiroz <sup>(1,2)</sup>, Aline Arrorellas Holanda de Melo <sup>(1)</sup> e Erika Valéria Saliba Albuquerque Freire <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Aluno do Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular da Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O café é produzido por aproximadamente 25 milhões de produtores em mais de 60 países, sendo o Brasil o maior produtor e exportador mundial do grão. A demanda crescente de desenvolvimento de tecnologias para assegurar a qualidade dos grãos, inclusive reduzindo o uso de agrotóxicos para pragas como o bicho-mineiro do cafeeiro (BMC) (*Leucoptera coffeella*). A infestação por BMC diminui a capacidade fotossintética das plantas, provocando a desfolha e perdas de até 87% da produtividade. O controle do BMC é feito essencialmente por inseticidas químicos sintéticos, como o clorantraniliprole. Como existe incidência de resistência a este inseticida no campo, o Comitê de Ação à Resistência à Inseticidas-IRAC preconiza que uma janela de aplicação deve ser respeitada antes de aplicar novamente um inseticida de mesmo grupo químico. Visando o estudo de soluções biotecnológicas para o diagnóstico da resistência, foram feitos testes com população de propriedade cafeeira com ocorrência de BMC teste de falha de controle. Minas desenvolvidas, sem sinais de parasitismo, foram coletadas em propriedade no Distrito Federal e as larvas coletadas foram desafiadas em papel de filtro com Altacor<sup>®</sup>. Foram testadas 10 larvas por tratamento, com 3 repetições experimentais para tratamento e controle com água. As larvas são avaliadas como viva ou morta nos tempos de 2, 6, 12, 24, 48 e 96 h após o início do experimento. Os dados foram corrigidos e a eficiência determinada pela fórmula de Abbott. A estimativa de risco de falha de controle também foi determinada. A média de eficiência do inseticida das repetições foi de 15,4%, e pelo tempo a maior eficiência foi de 61,5% em 96h. Consequentemente, em 96 h foi o que apresentou o maior risco de falha de controle, matando mais indivíduos, porém mais de 80% da população sobreviveu, indicando que a população testada é resistente.

**Termos para indexação:** Teste falha de controle, *Coffea arabica*, Inseticida.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Expressão de genes de suscetibilidade em tomateiro durante o processo de infecção por *Sclerotinia sclerotiorum*

Abner Reurisson de Medeiros Palhares <sup>(1)</sup>, Bruna de Oliveira Nascimento <sup>(1)</sup>, Ivonaldo Reis Santos <sup>(1)</sup>, Ruth Hellen Oliveira Rodrigues <sup>(1)</sup>, Luiz Eduardo Bassay Blum <sup>(1)</sup> e Angela Mehta <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Os genes de suscetibilidade (genes-S), ao contrário de genes de resistência, são genes que podem auxiliar os patógenos, facilitando a infecção ou suportando sua compatibilidade. Patógenos podem, portanto, utilizar estes genes para se estabelecerem nos seus diversos hospedeiros. Como exemplo, o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, causador do mofo branco em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), que é um dos principais patógenos para esta cultura, possui ferramentas para se utilizar destes genes. A perda da função de genes-S, seja naturalmente ou por técnicas biotecnológicas, como *knockout* e *knockdown*, pode conferir resistência duradoura e de amplo espectro às doenças, sendo, portanto, alvos ideais para programas de melhoramento. Isto posto, o objetivo desse trabalho é prospectar genes de suscetibilidade em tomateiro com potencial para uso nesses programas. Para tal, genes-S foram selecionados a partir da literatura e seus ortólogos foram buscados no genoma de tomate. Para verificar a expressão diferencial, uma análise de RT-qPCR foi realizada, utilizando folhas de plantas de tomate da variedade Santa Cruz inoculadas com discos (?=8,6mm) de meio BDA contendo micélios de *S. sclerotiorum*. As plantas foram mantidas em câmara úmida até a coleta nos tempos 0h, 6h, 12h e 48h após a inoculação. O material vegetal foi macerado em nitrogênio líquido para a extração de RNA total, utilizando o protocolo com Trizol. Em seguida, foi realizado o tratamento com a DNase TURBO DNA-free™ (Invitrogen™) e a síntese de cDNA com o kit GoScript™ Reverse Transcription System (Promega®). A qualidade do cDNA foi avaliada realizando-se uma RT-PCR para o gene Methylated histone binding (PHD). Ao todo foram escolhidos 15 genes para análise de expressão diferencial por RT-qPCR e os genes com expressão diferencial mais promissores serão selecionados para os experimentos de *knockout* e/ou *knockdown*, visando a obtenção de uma planta de tomate resistente ao mofo branco.

**Termos para indexação:** Suscetibilidade, RT-qPCR, Interação, Patógeno, Tomate.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Efeitos da transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) no ambiente folicular bovino – resultados preliminares

Nayara Ribeiro Kussano <sup>(1)</sup>, Otávio Augusto Costa de Faria <sup>(2)</sup>, Laryssa Ketelyn Lima Pimenta <sup>(3)</sup>, José Felipe Warmling Sprícigo <sup>(4)</sup> e Margot Alves Nunes Dode <sup>(5)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Estudante de doutorado Universidade de Brasília, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Estudante de mestrado da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO <sup>(4)</sup> Professor, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, <sup>(5)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Apesar da TIFOI ser uma técnica promissora, os resultados obtidos até o momento não são satisfatórios para uso em escala comercial. Portanto, este estudo objetivou avaliar o impacto da injeção e do número de ovócitos no perfil bioquímico do fluido folicular (FF) dos folículos injetados. Grupos de 25 e 50 CCOs recuperados de ovários de abatedouro foram utilizados para TIFOI e, o FF foi recuperado por OPU 18 horas após o momento de TIFOI. Os animais com folículos maiores que 10mm foram distribuídos em quatro tratamentos: 1)TIFOIC:FF controle (n=7), 2)TIFOIO: FF após injeção com PBS (n=7), 3)TIFOI25: FF após injeção com PBS e 25 CCOs (n=8), 4)TIFOI50: FF após injeção com PBS e 50 CCOs (n=8). Após a recuperação, o FF foi centrifugado e armazenado a -80°C. Posteriormente, o FF de todos os tratamentos foi avaliado quanto à concentração de progesterona, estradiol, testosterona, cortisol, glutatona (GPx) e atividade antioxidante total. Os dados foram analisados por ANOVA ou teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ). Dos quatro hormônios analisados, apenas a progesterona apresentou menor concentração ( $P < 0,05$ ) no TIFOIC (107,06ng/mL) em relação ao TIFOIO (172,37ng/mL), que foi semelhante aos demais grupos. Quanto ao estradiol, observou-se maior concentração ( $P < 0,05$ ) no TIFOIC (300,23ng/mL) em relação ao TIFOIO (68,92ng/mL), os demais grupos não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). Os níveis de cortisol (de 5,56 a 9,21ng/mL) e de testosterona, (de 9,96 e 23,15ng/mL), foram semelhantes para todos os grupos ( $P > 0,05$ ). A atividade antioxidante total foi semelhante ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos pelas análises de FRAP, mas uma maior atividade de GPx ( $P < 0,05$ ) foi detectada no grupo IFTIO25 em relação ao IFTIO50, sendo semelhante entre os demais grupos ( $P > 0,05$ ). Embora tenham sido observadas algumas alterações entre os tratamentos nos parâmetros bioquímicos, não houve efeito claro da injeção ou do número de CCOs sobre essas alterações. Portanto, mais parâmetros devem ser analisados para melhor esclarecer esse efeito sobre o perfil bioquímico do FF.

**Termos para indexação:** Ambiente folicular, Ovócitos bovinos, TIFOI, Perfil bioquímico.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Manipulação molecular do genoma sintético JCVI-SYN1.0 com DCAS9

Mariana Mathias Conroy Araujo<sup>(1)</sup>, Daniela Matias de Carvalho Bittencourt<sup>(2)</sup> e Elíbio Rech<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A célula JCVI-Syn1.0 é um marco na Biologia Sintética. Seu DNA foi desenhado *in silico* com base no genoma natural do *Mycoplasma mycoides*. Esta célula foi o ponto de partida para a concepção de novas células e posterior minimização do genoma em direção ao objetivo de compreender o conjunto mínimo de genes necessários para a vida. Apesar dos avanços na biologia molecular obtidos com o Syn1.0, as ferramentas genéticas para a engenharia do genoma destes organismos ainda são limitadas. Para superar esta lacuna, propomos a introdução de um sistema CRISPR devido à sua alta eficiência e precisão na edição genética, em oposição às mutações aleatórias de transposons. Neste trabalho, utilizamos um plasmídeo com sistema de expressão de editor de base induzível dCas9 e citosina deaminase desenvolvido pelo Dr. Ipoutcha e colaboradores em 2022 para avaliar a possibilidade de introdução de mutações guiadas no JCVI-Syn1.0. Para avaliar se este sistema é viável em células sintéticas, escolhemos o gene repórter fluorescente mCherry. Projetamos RNA guia (sgRNA) que poderiam levar o editor de base a trocar um códon de aminoácido por um códon de parada TAA. Para analisar se o sistema induzível causou alguma alteração na expressão da proteína, medimos a fluorescência do mCherry após a indução por 48h. A partir desta análise, pudemos notar uma redução na fluorescência do mCherry em dois clones após 24h de indução. Nossos resultados até agora demonstraram que o sistema está funcionando, mas deve ser otimizado para células sintéticas. Mais investigações estão sendo realizadas para entender quais mutações estão sendo causadas, como análise do DNA com dPCR para quantificar as mutações. Para avaliar outros usos práticos, escolhemos o gene *ksgA*, uma rRNA metiltransferase, que quando interrompida leva à resistência ao antibiótico Kasugamicina. Este é um projeto em andamento e faz parte de um doutorado que tem como objetivo inserir múltiplas proteínas CRISPR em células de genoma sintético para a expansão de ferramentas genéticas nessas células.

**Termos para indexação:** JCVI-Syn1.0, *Mycoplasma mycoides*, dCas9, CRISPR.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.





# Efeito do enraizamento e do comprimento da parte aérea na aclimação de brotos de tabaco transformados por *Agrobacterium tumefaciens*

Hugo Teixeira Gomes<sup>(1)</sup>, Erick Bernardes Souza Santos<sup>(1)</sup>, Maria Fernanda Matos Medeiros<sup>(1)</sup>, Larissa Boaz de Lima<sup>(1)</sup>, Ana Cristina Miranda Brasileiro<sup>(2)</sup> e Patricia Messenberg Guimaraes<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A transformação genética de discos foliares de tabaco (*Nicotiana tabacum*) por *Agrobacterium tumefaciens* é o método mais utilizado para a obtenção de plantas transgênicas estáveis para análise funcional e seleção de potenciais genes de resistência a estresses bióticos e abióticos. O trabalho objetivou avaliar a relação do enraizamento e do comprimento da parte aérea na aclimação de brotos de tabaco transformados por *A. tumefaciens* 'GV3101' contendo o gene de resistência BBE isolado de *Arachis stenosperma*. Para tanto, plântulas potencialmente transgênicas crescidas em meio seletivo com aproximadamente 150 dias após a cocultura foram classificadas em: Classe 1= brotos com cinco raízes ou mais e altura inicial de 4 cm, Classe 2= plantas com pelo menos uma raiz e altura média de 2,5 cm, Classe 3= plantas com ausência de raiz e altura de 1,8 cm, Classe 4= plantas sem raízes com altura de apenas 0,7 cm. Após a classificação, os brotos foram transferidos para substrato com terra (3:1) e aclimatizados por 30 dias, em sala de crescimento, dentro de caixas transparentes, fechadas até o surgimento de folhas expandidas. Após esse período, as variáveis altura, número de folhas e sobrevivência foram avaliadas. Verificou-se que, independente do desenvolvimento, brotos de tabaco transformados in vitro não apresentaram significativos índices de mortalidade após transplante para condições ex vitro. Contudo, em brotos Classe 1 e 2 observou-se que o crescimento inicial foi consideravelmente maior. Neles, ao final da aclimação, em geral, já se observavam de 15 a 19 folhas e alturas entre 16 e 28 cm, respectivamente. Já na Classe 3, apesar da ausência de raiz no momento da aclimação, observou-se também que a maioria dos brotos conseguiu se desenvolver. Todavia, brotos Classe 4, apesar de inicialmente terem sobrevivido ao transplante, praticamente não se desenvolveram no ambiente ex vitro. Na transformação genética de tabaco, se preciso antecipar a aclimação, a rizogênese in vitro não é totalmente necessária, desde que os brotos tenham pelo menos 1,8 cm.

**Termos para indexação:** Transformação genética, Biotecnologia vegetal, Planta modelo, *Nicotiana tabacum*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Efeito da melatonina nos meios de produção in vitro de embriões bovinos

Hallya Beatriz Sousa Amaral <sup>(1)</sup> e Margot Alves Nunes Dode <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Estudante de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Considerando que a composição dos meios utilizados é um fator chave para o sucesso na produção de embriões bovinos, as condições durante a maturação in vitro (MIV) e o cultivo in vitro (CIV) determinam a eficácia da técnica. Uma alternativa para melhorar essa eficácia é o uso de antioxidantes, que regulam as espécies reativas de oxigênio (EROS). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação dos meios de MIV e CIV com melatonina (Mel) na concentração de  $10^{-9}$  mol. Ovócitos e zigotos foram maturados e cultivados na presença ou ausência de Mel, em quatro tratamentos: T1: Controle, T2: MIV + Mel, T3: CIV + Mel, T4: MIV e CIV + Mel. Os embriões foram avaliados no D2 para clivagem e no D6 e D7 para formação de blastocistos e cinética de desenvolvimento. Blastocistos do D7 foram corados para contagem total de células e medição de EROS. A produção de embriões e a cinética foram avaliadas pelo Qui-quadrado, a contagem de células pelo Kruskal-Wallis e ROS pela ANOVA. A clivagem, a produção e a cinética de desenvolvimento de embriões no D6 foram semelhantes ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. Entretanto, no D7 os tratamentos com melatonina apresentaram maiores taxas de blastocisto ( $p < 0,05$ ) do que o controle [T1: 38% (181/403), T2: 45% (217/478), T3: 49% (236/484), T4: 43% (205/477)] e [T1: 0,6% (1/181), T2: 4,1% (9/217), T3: 3,4% (8/236), T4: 5,9% (12/205)]. Os tratamentos com melatonina também apresentaram menor ( $p < 0,05$ ) concentração de EROS do que o controle (T1:  $78,1 \pm 9,7$ , T2:  $43,2 \pm 4,5$ , T3:  $41,8 \pm 4,4$ , T4:  $41,4 \pm 4,1$ ). O número total de células (T1=  $158 \pm 8$ , T2=  $162 \pm 11$ , T3=  $161 \pm 8$ , T4=  $164 \pm 11$ ) foi semelhante ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. Conclui-se que a presença de melatonina na MIV e CIV melhora a produção e cinética de blastocistos em D7 e reduz as concentrações de EROS nos embriões produzidos in vitro

**Termos para indexação:** Suplementação, Maturação, Cultivo, Antioxidantes, EROS.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Otimização da germinação e do crescimento inicial de tomateiros (*Solanum lycopersicum* L.) em condições controladas de cultivo

Erick Bernardes Souza Santos <sup>(1)</sup>, Hugo Teixeira Gomes <sup>(1)</sup>, Andressa da Cunha Quintanda Martins <sup>(1)</sup>, Patricia Messenberg Guimaraes <sup>(2)</sup> e Ana Cristina Miranda Brasileiro <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A importância econômica do tomate (*Solanum lycopersicum*) deve-se a sua versatilidade culinária, podendo ser consumido *in natura* ou utilizado para processamento agroindustrial. Na biotecnologia vegetal, o tomateiro tornou-se também uma importante planta-modelo devido ao ciclo de vida curto e alta eficiência de transformação genética, em particular a cultivar 'MicroTom'. O objetivo do trabalho foi otimizar a germinação e o crescimento inicial de tomateiros da cultivar 'MicroTom' em condições controladas de cultivo. Para tanto, sementes de tomate foram semeadas em formas de silicone com duas misturas: substrato (Carolina Soil®) + vermiculita (1:1) e substrato + terra (3:1). Após a semeadura, o material foi cultivado com fotoperíodo de 12 horas em três condições de sala de crescimento: (1) temperatura de 25±2°C com intensidade de luz de 65 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, (2) temperatura de 25±2°C com intensidade de luz de 110 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, (3) temperatura de 21±2°C com intensidade de luz de 210 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Ao final de 30 dias, foram avaliados a percentagem de germinação e o crescimento das plântulas. Verificou-se que, para a germinação, independentemente da intensidade de luz e da temperatura, os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou substrato com vermiculita. Nessa mistura, na média, foi averiguado 92,1% de germinação, que foi estatisticamente superior aos 79,7% observados quando o substrato com terra foi utilizado. Apesar disso, verificou-se que após 21 dias, em substrato com terra as plântulas apresentaram crescimento levemente superior. Quanto ao desenvolvimento, observou-se também que transcorridos 10 dias da semeadura, já era possível se notar que as plântulas germinadas na condição 3 tinham maior pigmentação, crescimento e área foliar. Características estas que ficaram ainda mais acentuadas ao final dos 30 dias de cultivo. Conclui-se que a germinação e o crescimento inicial de tomate (cv. MicroTom) podem ser otimizados com a combinação de substrato e vermiculita (1:1) e com condições de crescimento controladas em salas de cultivo com fotoperíodo de 12 horas, temperatura de 21±2°C e intensidade de luz de 210 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

**Termos para indexação:** Solanaceae, Cultivo ex situ, Germinação de sementes, Planta modelo.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Protocolo para aumentar a segurança do diagnóstico da anemia infecciosa equina

Jéssica Müller <sup>(1-3)</sup>, Eduardo de Oliveira Melo <sup>(2-3)</sup> e Paulo Sergio Ribeiro de Mattos <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade do Tocantins – UFT, Gurupi-TO.

**Resumo** - Nos últimos anos, a equideocultura no Brasil apresentou um crescimento expressivo, gerando mais de 3 milhões de empregos e impulsionando significativamente o agronegócio nacional. No entanto, o desenvolvimento deste setor é prejudicado por doenças infecciosas e parasitárias, sendo a Anemia Infecciosa Equina (AIE), causada pelo Vírus da AIE, uma das mais relevantes. A infecção por AIE é persistente e sem tratamento, necessitando de controle rigoroso por meio da eutanásia de animais soropositivos. O diagnóstico é realizado por testes laboratoriais oficiais, como Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) e Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), e, em alguns casos, a PCR é utilizada como teste confirmatório. Contudo, o protocolo atual é suscetível a fraudes, onde proprietários podem fornecer sangue de animais saudáveis para testes de indivíduos suspeitos, evitando a eutanásia de animais de alto valor econômico ou afetivo. Adicionalmente, testes sorológicos podem falhar devido ao tempo de soroconversão. A PCR para detecção molecular do vírus seria relevante para confirmar a doença e reduzir as fraudes. A fim de aumentar a segurança no diagnóstico, este trabalho teve como objetivo viabilizar a identificação genética do animal, utilizando DNA extraído da mesma amostra biológica submetida aos testes de IDGA e ELISA, o soro, ou do coágulo do tubo que contém o soro, assegurando que os resultados de diagnóstico e genotipagem sejam provenientes de uma única amostra, reduzindo a margem para fraudes. Foram realizados três métodos de extração de DNA genômico avaliando tipos de tubo, condições de preparo e armazenamento, os quais tiveram sua aplicabilidade confirmada com ensaios de PCR e posteriormente enviados a laboratórios de genotipagem equina. Os resultados mostraram que o método caseiro Salting Out foi o mais eficiente, apesar das extrações por coluna e magnética também terem funcionado. No entanto, amostras extraídas do coágulo puderam ser melhor avaliadas quanto à concentração e qualidade de DNA. Ademais, as amostras de soro e coágulo também foram testadas para diagnóstico molecular do vírus e confirmados com sequenciamento.

**Termos para indexação:** AIE, Diagnóstico, Genotipagem.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Ministério da Agricultura e Pecuária - MAPA.



# Uma abordagem trans-espécies para validação funcional in root e seleção de genes candidatos para resistência a fitopatógenos em leguminosas

Bruna Medeiros Pereira <sup>(1)</sup>, Júlia Maria Silva Martins <sup>(1)</sup>, Larissa Boaz de Lima <sup>(1)</sup>, Patrícia Messenberg Guimaraes <sup>(2)</sup> e Ana Cristina Miranda Brasileiro <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A transformação genética mediada por *Agrobacterium rhizogenes* tem sido explorada há muitos anos pela comunidade científica como uma ferramenta confiável, rápida e versátil para validação da função biológica de genes candidatos em muitas espécies de plantas. Nesse contexto, nosso grupo desenvolveu uma metodologia ex vitro de indução de raízes transgênicas do tipo “hairy root” (HR) em folhas destacadas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) que tem sido amplamente utilizada para análises eficientes, simples, rápidas e em larga escala de caracterização funcional de genes candidatos para resistência aos nematoides da galha (gênero *Meloidogyne*). O objetivo do trabalho é ampliar o uso do protocolo de indução de raízes HR em folhas destacadas de outras espécies de leguminosas, tendo como base o protocolo já desenvolvido para amendoim. Após algumas modificações e adaptações, como materiais e genótipos utilizados, idade da folha, assim como sua posição no caule, foi possível desenvolver protocolos de indução de HR em folhas destacadas de mais três espécies de leguminosas de importância econômica, como soja (*Glycine max* L.), feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.). Esses protocolos são uma excelente alternativa para uma triagem rápida, prática e eficiente de validação in planta de genes candidatos trazendo economia de espaço, tempo e recursos. Os protocolos permitem que apenas os genes com os melhores resultados de redução da infecção pelo patógeno sejam selecionados para sua futura exploração nestas espécies usando diferentes abordagens biotecnológicas, incluindo superexpressão de cis/transgenes, nocaute e silenciamento gênico ou edição do genoma.

**Termos para indexação:** *Agrobacterium rhizogenes*, Genes de resistência, Transformação genética, Leguminosas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Estabelecimento e otimização de protocolo de cultivo *in vitro* de raízes do tipo “hairy root” de espécies silvestres de *Arachis* visando a produção de resveratrol

Matheus Nascimento de Aguiar <sup>(1)</sup>, Andressa da Cunha Quintanda Martins <sup>(1)</sup>, Mario Alfredo de Passos Saraiva <sup>(2)</sup>, Patricia Messenberg Guimaraes <sup>(3)</sup> e Ana Cristina Miranda Brasileiro <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O grupo de pesquisa “genômica de *Arachis*” da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia vem estudando ao longo dos últimos anos a resposta transcricional de genes associados à resistência a estresses bióticos e abióticos em duas espécies silvestres de *Arachis*, *A. stenosperma* e *A. duranensis*. Um desses genes codifica a Estibeno Sintase (STS), enzima catalizadora da última etapa de biossíntese do resveratrol que é uma fitoalexina envolvida na resposta da planta a diferentes tipos de estresses e tem propriedades antioxidantes que são de grande interesse para a indústria farmacêutica e de cosméticos. Entretanto, as tecnologias atuais de extração e produção de resveratrol com alto grau de pureza utilizando diferentes tipos de extratos naturais de videira (*Vitis* spp.) e de *Polygonum* spp. ainda são pouco eficientes e onerosas. Assim, devido à demanda mundial pelo resveratrol ter aumentado consideravelmente nos últimos anos, sua oferta atual é insuficiente para suprir o mercado. Neste contexto, torna-se estratégico buscar novas fontes naturais de produção de resveratrol como, por exemplo, pelo cultivo *in vitro* de raízes transgênicas do tipo “hairy root” de espécies silvestres de *Arachis*. O presente trabalho se propõe a estabelecer e otimizar um protocolo de cultivo *in vitro* raízes transgênicas do tipo “hairy root” a partir da transformação via *Agrobacterium rhizogenes* de espécies silvestre *A. stenosperma* e *A. duranensis*. Para tanto, diferentes parâmetros foram avaliados: esterilização de sementes, linhagem de *A. rhizogenes* utilizada, tempo de cocultivo e composição do meio de cultivo. Ao final do trabalho foram estabelecidas as bases de um protocolo de transformação genética e cultivo de raízes transgênicas de espécies silvestre de *Arachis*, ainda não descrito nem na literatura científica nem patentária.

**Termos para indexação:** Resveratrol, *Arachis*, “Hairy Root”, *Agrobacterium rhizogenes*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Desinfestação de explantes foliares de *Piper aduncum* L. para cultivo in vitro

Natalia Barros de Souza <sup>(1)</sup>, Inaê Mariê de Araújo Silva Cardoso <sup>(1)</sup>, Frederico Henrique da Silva Costa <sup>(1)</sup>, Rennan Oliveira Meira <sup>(1)</sup> e Jonny Everson Scherwinski-Pereira <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - *Piper aduncum* L. possui o dilapiol como composto predominante em seu óleo essencial. Esse composto possui alta atividade inseticida, inibindo o desenvolvimento de diversos fitopatógenos. O presente estudo teve o propósito de avaliar a viabilidade do fungicida Benlate na desinfestação de explantes foliares de *P. aduncum* visando à sua introdução em estudos de calogênese e embriogênese somática. Folhas novas do ápice, 1º e 2º nós de *P. aduncum* cultivadas em casa de vegetação foram coletadas e submetidas a três tratamentos de desinfestação (T1: 2 minutos em álcool 70% + 10 minutos em hipoclorito de sódio 2,4%, T2: 24h em solução com 100 mg/L de Benlate, seguidas de assepsia padrão e, T3: 2 minutos em álcool 70% + 10 minutos em hipoclorito de sódio 2,4% + 100 mg/L de Benlate no meio de cultura). Os explantes foram inoculados em meio de MS contendo sacarose, ácido naftalenoacético e N6-benzilaminopurina. O delineamento foi inteiramente casualizado com dez repetições por tratamento, sendo cada parcela constituída por uma placa de petri (15 x 90 mm) com seis explantes. A contaminação bacteriana, fúngica e a oxidação dos explantes foram avaliadas ao longo de três semanas. As médias obtidas foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A contaminação bacteriana não diferiu estatisticamente entre os tratamentos. Quanto à contaminação fúngica, o T1 apresentou 58,33% de contaminação após 21 dias, enquanto o T2 teve 85% e o T3 apenas 16,66%. A oxidação foi mais alta em T2 (98,33%), seguida por T3 (61,66%) e T1 (60%). O T3 demonstrou eficácia na redução da contaminação fúngica, porém a adição do fungicida Benlate ao meio de cultura inibiu o desenvolvimento dos explantes, sugerindo efeito de toxicidade sobre o tecido foliar. Explantes submetidos ao T1 apresentaram intumescimento do tecido e início de formação de calos durante a avaliação do experimento. O fungicida não demonstrou efetividade na desinfestação de explantes foliares.

**Termos para indexação:** Cultura de tecidos, Embriogênese, Estabelecimento.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Otimização do processo de desinfestação de explantes foliares de *Piper aduncum* L. para estudos de calogênese e embriogênese somática

Natalia Barros de Souza <sup>(1)</sup>, Inaê Mariê de Araújo Silva Cardoso <sup>(1)</sup>, Frederico Henrique da Silva Costa <sup>(1)</sup>, Rennan Oliveira Meira <sup>(1)</sup> e Jonny Everson Scherwinski-Pereira <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - *Piper aduncum* L. é uma espécie nativa da floresta Amazônica e reconhecida economicamente pelo alto rendimento em óleo essencial rico em dilapiol. Esse composto possui ampla aplicação na farmacologia, além de alta atividade inseticida, agindo contra diversos fitopatógenos. O objetivo deste estudo foi otimizar um protocolo de descontaminação de explantes foliares de *P. aduncum* cultivados em casa de vegetação, objetivando à sua introdução em estudos de calogênese e embriogênese somática. Foram testadas três concentrações de hipoclorito de sódio (T1: 2,5% por 20 min, T2: 2,7% por 20 min, T3: 3% por 15 min) combinadas com álcool 70% (v/v) por 2 minutos. Os explantes obtidos após a desinfestação foram inoculados em placas de Petri (15 x 90 mm) contendo 25 mL de meio MS, contendo 30 g/L de sacarose, 5 mg/L de ácido naftalenoacético e 2,5 mg/L de N6-benzilaminopurina. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e quinze repetições, sendo cada parcela constituída por uma placa de petri com seis explantes. Após 15 dias da inoculação foram avaliadas as porcentagens de explantes contaminados por fungos e bactérias e a porcentagem de oxidação dos explantes. As médias obtidas foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Verificou-se que os tratamentos T1 e T3 não diferiram estatisticamente em relação à contaminação bacteriana. Os três tratamentos não apresentaram diferença estatística quanto à porcentagem de explantes contaminados por fungo. Apesar disso, o tratamento com menor índice de explantes contaminados foi o T3, com apenas 2,22% de contaminação, seguido pelo T2, com 12,22% e o T1 com 23,33%. Foi observada uma elevada taxa de oxidação nos explantes dos tratamentos 1 e 2, apresentando 94,44% de explantes oxidados em ambos os tratamentos. O Tratamento 3 apresentou 59% de explantes oxidados, demonstrando ser o melhor tratamento entre os testados para a descontaminação de fungos e bactérias de explantes foliares em *P. aduncum*.

**Termos para indexação:** Desinfestação, Cultura de tecidos, Embriogênese.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.





## Caracterização do perfil de metilação de DNA da ilha CPG abrangendo o 5'UTR até o íntron 1 do gene OCT4/POU5F1 em gametas bovinos, embriões e células somáticas

Amanda Oliveira Moura <sup>(1)</sup>, Thainara Christie Ferreira Silva <sup>(1)</sup>, Nayara Ribeiro Kussano <sup>(1)</sup>, Alexandre Rodrigues Caetano <sup>(2)</sup>, Margot Alves Nunes Dode <sup>(2)</sup> e Mauricio Franco <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Células-tronco são células indiferenciadas que apresentam um estado de cromatina bivalente, prontas para se diferenciarem. Essas células têm um amplo potencial para aplicações, tanto na saúde humana e animal quanto na produção pecuária. A Transferência Nuclear de Células Somáticas (TNCS), ou simplesmente clonagem, está sendo utilizada atualmente para produzir animais geneticamente editados. Um genoma altamente diferenciado é o principal obstáculo para uma reprogramação epigenética correta realizada pelo ovócito enucleado na clonagem. Assim, a ativação de genes de pluripotência no genoma somático é uma estratégia promissora para contribuir para uma reprogramação epigenética mais eficiente, melhorando a eficiência da técnica. Recentemente, a edição do epigenoma surgiu como uma nova geração da tecnologia CRISPR-Cas9, visando modificar o epigenoma celular para ligar ou desligar genes sem modificar o DNA. Neste trabalho, caracterizamos o perfil de metilação de DNA da Ilha CpG abrangendo o 5' UTR até o íntron 1 do gene OCT4 bovino em gametas, embriões e fibroblastos. A metodologia utilizada envolveu o tratamento do DNA extraído das células com bissulfato de sódio, seguido de sequenciamento. Todo experimento foi realizado no Laboratório de Reprodução Animal (LRA) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Espermatozoides e embriões mostraram um padrão hipometilado ao longo da Ilha CpG, enquanto ovócitos exibiram um padrão de metilação de hipo a moderado. Fibroblastos de pele fetal e adulta foram hipometilados e moderadamente metilados, respectivamente. Esses resultados são essenciais para subsidiar estudos futuros que visem manipular, através de modificações epigenéticas, o controle do gene pluripotente OCT4. Nesse sentido, o uso da edição do epigenoma pode ser utilizado para ligar o OCT4 em células somáticas, gerando assim células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC). Essa estratégia poderia potencialmente converter uma célula totalmente diferenciada em uma célula com certo grau de pluripotência, facilitando a reprogramação nuclear pelo ovócito enucleado, melhorando assim as taxas de sucesso da clonagem.

**Termos para indexação:** Bovinos, epigenética, Metilação de DNA, OCT4, Pluripotência celular.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Edição gênica em gene de suscetibilidade e superexpressão de gene de defesa visando resistência a doenças do tomateiro

Lucas José de Sousa <sup>(1)</sup>, Ivonaldo Reis Santos <sup>(1)</sup>, Ana Carolina Mendes Bezerra <sup>(1)</sup>, Osmundo Brilhante de Oliveira Neto <sup>(1)</sup>, Luiz Eduardo Bassay Blum <sup>(1)</sup> e Angela Mehta <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O controle de doenças do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) faz o uso de produtos químicos nocivos ao meio ambiente, além de aumentar o custo de produção. Dessa maneira, este estudo objetivou aplicar ferramentas biotecnológicas para o controle da mancha bacteriana (*Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*, *Xep*) e do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*). Nesse sentido, estudou-se a expressão de genes de suscetibilidade do tomateiro a *Xep*, bem como o silenciamento do gene *Transcription initiation factor IIA subunit 2 (gamma) (SITFIIA $\gamma$ )* por meio de ASO (short antisense deoxyoligonucleotide). Os resultados de silenciamento demonstraram que o tratamento com SITFIIA $\gamma$  ASO promoveu melhor desempenho das plantas desafiadas com *Xep*, e portanto, esse gene foi selecionado para avaliação do seu nocaute por meio de CRISPR/Cas9. A análise das plantas de tomateiro transformadas revelou que houve edição gênica em sete linhagens T0, sendo cinco apresentando mutações bialélicas e duas quiméricas. Outra estratégia de controle estudada foi a superexpressão em tomateiro de um gene de defesa de *Brassica oleracea* que codifica para uma endoquitinase (*BoCHB4*). As plantas foram desafiadas com o fungo *S. sclerotiorum*, e foi observado que duas linhagens transgênicas demonstraram maior capacidade de suportar o crescimento inicial do fungo. Isso pode estar relacionado com o efeito da superexpressão heteróloga da endoquitinase *BoCHB4* na parede celular fúngica, bem como na ativação das vias de defesa. Além disso, o trabalho buscou por novos potenciais genes relacionados com a suscetibilidade que colaboram para o desenvolvimento da mancha bacteriana por meio de uma abordagem proteômica. Foram identificadas nove proteínas que potencialmente contribuem para o desenvolvimento da doença. As proteínas diferencialmente abundantes foram principalmente relacionadas com o transporte de açúcar, resposta a estresses e geração de metabólitos e energia. O aprofundamento do estudo destas proteínas poderá proporcionar novos alvos para silenciamento e/ou nocaute gênico visando a resistência a múltiplas doenças do tomateiro, uma vez que os genes de suscetibilidade podem colaborar para o desenvolvimento de mais de uma doença.

**Termos para indexação:** Genes S, Nocaute, Proteínas PR, Superexpressão, *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *perforans*, *Sclerotinia sclerotiorum*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia - INCT.



# Busca de genes para controle interno em análises de expressão diferencial de genes de interesse por PCR tempo real em *Leucoptera coffeella*

Leonardo de Amorim Vidal <sup>(1,2)</sup>, Erick Santos Lustosa de Queiroz <sup>(1,2)</sup>, Eliza Bellard do Nascimento <sup>(1)</sup>, Vívian Lucena <sup>(1,2)</sup>, Aline Arrorellas Holanda de Melo <sup>(1)</sup>, Camila Ivo Conceição Vilarinho Fernandes Junqueira <sup>(1)</sup>, Natalia Martins <sup>(3)</sup>, Andrea Queiroz Maranhão <sup>(4)</sup> e Érika Valéria Saliba Albuquerque <sup>(5)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Aluno do Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular da Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE. <sup>(4)</sup> Professora, Universidade de Brasília, Brasília DF. <sup>(5)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Bicho mineiro do cafeeiro (BMC) (*Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae)) é a principal praga nos cafezais de *Coffea arabica* brasileiros. Apesar do impacto econômico causado, as informações em níveis moleculares sobre este inseto são escassas. Com o objetivo de auxiliar o desenvolvimento de ferramentas biotecnológicas na busca de soluções mais sustentáveis de controle desta praga, esse trabalho objetivou o estabelecimento de genes para serem utilizados como genes de referência em experimentos com reações de PCR em tempo real (qPCR). Com base no genoma do BMC, foram desenhados iniciadores de reações de qPCR para nove candidatos (Proteína Ribossomal L10, Proteína Ribossomal L 18, Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, Acetilcolinesterase, Fator de alongação 1 Beta, Beta-tubulina, 116 kDa U5 Small nuclear ribonucleoprotein component, 1 Fosfoglicerato quinase, Fator de alongação 1 Beta gamma). Em seguida, foram realizadas reações para curvas padrão com um *pool* de amostras de cDNA de sete diferentes estádios de desenvolvimento do BMC (L1, L2, L3, L4, pupa, macho e fêmea). Os iniciadores que apresentaram eficiência na amplificação dos testes com *pool* foram utilizados em reações sobre as amostras de cDNA dos sete estádios separadamente. As análises das reações evidenciaram dois genes que amplificaram os fragmentos esperados com eficiência semelhante nos diferentes estádios de desenvolvimento. O tamanho esperado dos fragmentos foi confirmado por eletroforese em gel de agarose. Pudemos concluir que os genes RPL10 e RPL18 podem ser usados como controle interno em reações qPCR para analisar a expressão relativa de diferentes genes de interesse (GOI) para diferentes experimentos, como alvos para silenciamento de genes.

**Termos para indexação:** QPCR, Inseto, Bicho mineiro do cafeeiro.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Avanços biotecnológicos para redução da suscetibilidade da soja a nematoides formadores de galhas

Náttany Souza Costa <sup>(1)</sup>, Raíre Dos Santos Cavalcante <sup>(1)</sup>, Nayara Sabrina de Freitas Alves <sup>(1)</sup>, Lorena Sousa de Loiola Costa <sup>(1)</sup>, Maria Eugênia Lisei de Sá <sup>(2)</sup>, Carolina Vianna Morgante <sup>(2)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A produção de soja no Brasil é notável, porém enfrenta desafios significativos, especialmente o parasitismo por nematoides formadores de galhas (NFG), do gênero *Meloidogyne*. Estes endoparasitas se alimentam das raízes de culturas economicamente importantes, formando aglomerados de células gigantes conhecidos como galhas, que prejudicam a absorção de água e nutrientes pelas plantas. Os NFG são tradicionalmente controlados por nematicidas altamente tóxicos e pouco eficazes, rotação de culturas e através do uso de cultivares moderadamente resistentes, que em soja, são derivadas de uma única fonte genética. Portanto, o uso de abordagens biotecnológicas para incorporar novas fontes de resistência em cultivares de elite é promissor. Sendo assim, este trabalho objetivou empregar duas estratégias biotecnológicas simultaneamente para controlar os NFG na soja: (1) Superexpressão do gene *AdEXLB8*, associado à resistência de plantas a nematoides, e (2) Silenciamento induzido pelo hospedeiro, via RNAi, de genes essenciais para a sobrevivência e infecção do nematoide, incluindo aqueles que codificam cisteína protease, isocitrato liase, fator de splicing e efector 16D10. Plantas geneticamente modificadas (GM) foram obtidas utilizando o método de transformação baseado em *Agrobacterium*. A caracterização molecular foi realizada por PCR e por ELISA. Indivíduos de três eventos de transformação independentes na geração T2 foram selecionadas para bioensaio contra *Meloidogyne incognita*. Plantas de 15 dias de idade foram inoculadas com 1.000 juvenis J2 de *M. incognita*. Após 60 dias, as plantas GM demonstraram significativa redução no número de galhas por grama de raiz (22,0-34,0%), massas de ovos por grama de raiz (46,0-50,0%), ovos por grama de raiz (59,0-59,6%) e no fator de reprodução do nematoide (30,0-50,0%) comparado às plantas não transformadas (NT). A expressão do transcrito de *AdEXLB8* foi analisada e revelou-se mais elevada nas raízes de plantas transformadas em comparação com o controle NT. Até agora, a estratégia de piramidação parece ser eficaz no controle de *M. incognita* e pode ser aplicada a programas de melhoramento de soja como uma fonte complementar de resistência a NFG.

**Termos para indexação:** soja, *Meloidogyne incognita*, biotecnologia, RNAi.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Potencial biotecnológico de nanopartículas de prata obtidas pelo método de síntese verde no controle de bactérias fitopatogênicas

Ivonaldo Reis Santos <sup>(1)</sup>, Fabiano Touzdzian Pinheiro Kohlrausch Távora, <sup>(1)</sup>, Eduardo Andrade Franco Severo <sup>(1)</sup>, Daiane Gonzaga Ribeiro <sup>(1)</sup>, Pollyana da Nobrega Mendes <sup>(1)</sup>, Osmundo Brilhante de Oliveira Neto <sup>(1)</sup>, Wagner Fontes <sup>(1)</sup>, Isabelle Souza Luz <sup>(1)</sup>, Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup> e Angela Mehta <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A fim de controlar a podridão negra das brássicas causada por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc), o presente estudo objetivou a síntese verde de nanopartículas de prata (AgNPs) utilizando extratos aquosos de folhas de repolho, *Arabidopsis*, neem e noni, e frutos de noni (casca ou polpa/semente), como agentes redutores e estabilizantes. As reações de síntese de AgNPs foram realizadas em 6 diferentes concentrações de extratos em soluções aquosas de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) a 1 mM. No total, foram produzidas 42 amostras de AgNPs, das quais 14 foram selecionadas de acordo com seu diâmetro hidrodinâmico (DH), índice de polidispersidade (Pdl) e potencial Zeta (PZ) e posteriormente testadas in vitro para avaliar sua atividade antibacteriana contra Xcc. As AgNPs sintetizadas com extrato aquoso da casca do fruto de noni (EACFN) na concentração de 60 mg/mL, apresentaram o menor DH e maior efeito antibacteriano em uma concentração final de 64 µM. Além disso, plantas de *B. oleracea* foram tratadas com EACFN-AgNPs, e a modulação positiva de genes relacionados à defesa foi obtida por qRT-PCR. Plantas tratadas com EACFN-AgNPs a 64 µM quando desafiadas com Xcc apresentaram um fenótipo mais tolerante, indicando que a aplicação de AgNPs parece desencadear uma resposta efetiva de defesa da planta. Por fim, foi realizada uma análise proteômica para compreender os mecanismos de ação de AgNPs em Xcc tratada com AgNPs (32 µM), AgNO<sub>3</sub> (32 µM), ou sem tratamento (condição controle). Os resultados obtidos a partir da análise proteômica revelaram um total de 352 proteínas diferencialmente abundantes (DAPs). A análise de ontologia gênica mostrou que a maioria dessas proteínas reguladas positivamente estavam envolvidas em importantes processos biológicos, como homeostase de íons metálicos, desintoxicação, organização de membrana, processo metabólico lipídico, proteólise, entre outros. Os resultados obtidos trazem importantes contribuições para a melhor compreensão dos mecanismos de ação de AgNPs em Xcc e poderão contribuir para o desenvolvimento de estratégias de controle desta bactéria em brássica.

**Termos para indexação:** podridão negra, brássica, nanopartículas de prata e proteômica.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Síntese verde de nanopartículas de prata utilizando acessos do Banco Ativo de Germoplasma de pimenta

Ana Luísa Mascarenhas dos Santos <sup>(1)</sup>, Marina Goulart Peres Nunes <sup>(1)</sup>, Thalita Fonseca de Araujo <sup>(1)</sup> e Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Diferentes rotas podem ser conduzidas para síntese de nanopartículas metálicas (NPMs) a partir de sais metálicos precursores. Porém, muitas abordagens incluem a utilização de solventes potencialmente tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente. Sendo assim, o intuito da síntese verde é a utilização de rotas que empreguem componentes não tóxicos, biodegradáveis e de menor custo. O objetivo deste trabalho foi realizar a triagem de diferentes acessos de pimentas advindos do Banco Ativo de Germoplasma e analisar o potencial para a formação de nanopartículas de prata (AgNPs) em duas concentrações finais de extrato aquoso (1 mg/mL – AgNP1 e 10 mg/mL – AgNP10). As reações de síntese foram realizadas utilizando extratos aquosos produzidos a partir das folhas de plântulas dos acessos de pimentas cultivadas em casa de vegetação, que posteriormente foram adicionados à solução de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>). Posteriormente, as suspensões formadas foram caracterizadas utilizando as técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) para a determinação do diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersividade (PDI), e mobilidade eletroforética para o potencial Zeta. Até o presente momento, foram realizadas as triagens de 50 acessos de pimentas diferentes. Para AgNP 1, três tiveram destaque em relação ao tamanho das NPMs formadas com diâmetro hidrodinâmico (DH) de 103,2, 97,9, 111,4 nm, índice de polidispersão (PDI) de 0,661: 0,363, 0,437, potencial Zeta de -1,73, -4,13, -9,85 mV, respectivamente. Já para a AgNP 10 destacaram acessos com os quais foram produzidas NPMs com diâmetro hidrodinâmico (DH) de 125,7, 148,9, 171,1 nm, índice de polidispersão de 0,313, 0,290, 0,305, potencial Zeta -17,4, 22,1, -23,9 mV, respectivamente. Os resultados obtidos revelaram a importância de se avaliar uma diversidade de materiais biológicos para selecionar aqueles com maior potencial para síntese de NPMs, em particular AgNPs.

**Termos para indexação:** Síntese verde, Extrato aquoso, Diâmetro hidrodinâmico, Índice de polidispersividade, Potencial zeta.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Gene notch como alvo de silenciamento via dsRNA em *Leucoptera coffeella*

Erick Santos Lustosa de Queiroz <sup>(1,2)</sup>, Águeda Tavares Gonçalves <sup>(3)</sup>, Leonardo de Amorim Vidal <sup>(1,2)</sup>, Aline Arrorellas Holanda de Melo <sup>(1)</sup>, Vívian Lucena <sup>(1,2)</sup>, Gabriel Borges Raimundo <sup>(1)</sup>, Eliza Bellard do Nascimento <sup>(1)</sup>, Camila Ivo Conceição Vilarinho Fernandes Junqueira <sup>(1)</sup>, Andrea Queiroz Maranhão <sup>(4)</sup>, Natalia Martins <sup>(5)</sup> e Érika Valéria Saliba Albuquerque <sup>(6)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Aluno do Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular da Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ecologia na Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. <sup>(4)</sup> Professora da Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(5)</sup> Pesquisadora, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE. <sup>(6)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O bicho-mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) é uma mariposa (Lepidoptera) capaz de causar danos severos à cultura do café, se alimentando exclusivamente de plantas do gênero *Coffea*. A região produtora do Cerrado, que inclui 5 estados brasileiros, apresenta um clima propício para o cultivo mas que concomitantemente favorece o desenvolvimento do inseto, que age de forma severa nesse ambiente, causando perdas de até 87% de produtividade. O controle químico é a principal forma de reduzir os danos às plantações ao eliminar o bicho-mineiro do cafeeiro. No entanto, aplicações contínuas podem conferir resistência a inseticidas, fazendo-se necessária a existência de outros métodos de controle, como o mecanismo de RNA interferente (RNAi). O gene Notch, codificado pela proteína Neurogenic Notch Locus Protein, está envolvido em diversos processos metabólicos, desde o desenvolvimento até a morte celular. Relatos em organismos filogeneticamente próximos demonstram o Notch como um alvo efetivo para silenciamento gênico em outros lepidópteros. Diante disso, com o objetivo de validar a expressão gênica do Notch para uso em RNAi, foram feitos ensaios de PCR em tempo real (qPCR) em diferentes estádios de desenvolvimento do inseto e com diferenciação no dimorfismo sexual. O desenho de primers para o gene Notch foi feito a partir de dados do transcriptoma do bicho-mineiro do cafeeiro e alinhamento com sequências ortólogas de membros do clado Lepidoptera. Foi observada expressão em todas as fases do desenvolvimento, sendo maiores os valores de fold change nas amostras de indivíduos L4, Pupa, Macho e Fêmea. Assim, o gene se mostrou um candidato viável para o silenciamento via dsRNA para realizar bioensaios in vitro e, posteriormente in vivo com aplicação do dsRNA sintetizado.

**Termos para indexação:** *Leucoptera coffeella*, qPCR, RNAi, Lepidoptera, *Coffea*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Sistema de criação de *Leucoptera coffeella* em gaiolas em telados

Aline Arrorellas Holanda de Melo <sup>(1)</sup>, Vívian Lucena <sup>(1,2)</sup>, Leonardo de Amorim Vidal <sup>(1,2)</sup>, Erick Santos Lustosa de Queiroz <sup>(1,2)</sup>, Gabriel Borges Raimundo <sup>(1)</sup>, Águeda Tavares Gonçalves <sup>(3)</sup>, Eliza Bellard Do Nascimento <sup>(1)</sup> e Érika Valéria Saliba Albuquerque <sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Aluno do Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular da Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ecologia na Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. <sup>(4)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* (BMC) é uma das principais pragas da cafeicultura, podendo reduzir em até 87% da produtividade. Este inseto holometábolo possui um ciclo de vida de aproximadamente 30 dias, sendo os estágios larvais responsáveis pelos danos à planta. As larvas se alimentam do mesófilo foliar, diminuindo a superfície fotossintética e causando desfolha. Além disso, essa praga é exclusiva de plantas de *Coffea* spp., não tendo sido relatada dieta artificial compatível com os hábitos monófago e minador do BMC. O controle do BMC é predominantemente químico e requer pesquisas para o desenvolvimento de métodos de controle mais sustentáveis. Com a finalidade de fornecer material biológico para estudos diversos com biotecnologia, foram estabelecidas condições de criação em gaiolas e em telados. O resultado esperado é poder desenvolver pesquisas com o BMC durante todo o ano, mesmo na época das chuvas, quando o inseto é escasso em campo. As gaiolas antiafídicas possuem o dimensionamento de 2,5 m x 2,75 x 2 m e abrigam 20 plantas de café arábica cada. Para a manutenção da criação, 3 a 6 mudas sadias são repostas semanalmente em cada gaiola. Atualmente, estão sendo mantidas 180 plantas em 9 gaiolas em dois telados contendo insetos provenientes de diferentes localidades. Este sistema de criação permitiu: I) obter reprodução contínua, evitando a falta de material quando não há disponibilidade no campo, II) manter separadas populações de origens variadas, III) criar uma população monogâmica a partir de casal isolado, IV) poder acompanhar o ciclo e fazer coletas de estádios específicos do desenvolvimento, V) ter disponibilidade de material livre de inseticidas, VI) poder controlar os inseticidas eventualmente aplicados para controle de outras pragas, como cochonilha e ácaro, VII) fazer pressão de seleção e bioensaios in vivo com moléculas de inseticidas em estudo.

**Termos para indexação:** Café, Bicho-mineiro do cafeeiro, Lepidoptera, Lyonetiidae, Inseto.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.





## Padrão de expressão de transcritos de genes efetores candidatos em *Meloidogyne incognita* via hibridização in situ

Nathália Nascimento de Aguiar <sup>(1)</sup>, Danielle Assis de Faria <sup>(1)</sup>, Rafaela Schietti de Oliveira <sup>(1)</sup> e Ana Claudia Guerra de Araujo <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O nematoide das galhas *Meloidogyne* spp., fitopatôgeno de importância econômica mundial, traz prejuízos enormes para a agricultura, sendo seu controle bastante complexo. Dessa forma, é necessário o desenvolvimento de ferramentas e novas abordagens para o seu controle. O silenciamento de RNAs de secreções do nematoide essenciais ao parasitismo vem sendo aplicado com algum sucesso. Essas secreções são chamadas de efetores e podem reduzir as barreiras de defesa da planta. Assim, a identificação e validação de genes codificadores de efetores de *M. incognita* é uma importante estratégia para contribuir para os programas de melhoramento genético visando o controle desse parasita. Com o genoma completo de *M. incognita* disponível, diferentes sequências de DNA candidatas a codificadoras de efetores foram identificadas pela bioinformática e após uma seleção prévia realizada por análises de RNAseq *in silico* e RT-qPCR por parte desse grupo de pesquisa, dezenove sequências foram clonadas em pGemTeasy para serem validadas via hibridização in situ. Dez dessas sequências foram descartadas por não estarem no genoma ou apresentarem sequências parálogas em sentido oposto ao do gene candidato. Visando determinar a distribuição dos transcritos dessas sequências candidatas ao longo do desenvolvimento do nematoide, as demais sequências (9) foram utilizadas como moldes para obtenção de sondas de RNA marcadas. Experimentos de hibridização in situ foram realizados pelo menos duas vezes com cada sonda e utilizando a sonda no sentido senso como controle. Oito dessas sondas apresentaram sinais de hibridização em pelo menos algum estágio de desenvolvimento, sendo que seis dessas indicaram acúmulo de transcritos nas glândulas secretoras esofágicas em juvenis 2 (J2) pré infectivos. Acúmulo de transcritos também foram detectados no primórdio genital de J2 e nos ovários durante o desenvolvimento da fêmea. A detecção de transcritos nestas glândulas esofágicas, importantes na formação do sítio de alimentação do nematoide dentro da raiz, validam o seu caráter secretório em um estágio onde a estratégia de silenciamento gênico do efetor poderá reduzir a infecção.

**Termos para indexação:** Efetores, Glândulas esofágicas, Hibridização in situ, Microscopia.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Análise do transcrito da espécie silvestre *Arachis duranensis* sob condições recorrentes de seca

Adrien Charles Aurelien Speck <sup>(1)</sup>, Andressa Cunha de Quintana Martins <sup>(1)</sup>, Roberto Coiti Togawa <sup>(3)</sup>, Mario Alfredo de Passos Saraiva <sup>(3)</sup>, Priscila Grynberg <sup>(2)</sup>, Patricia Messenberg Guimaraes <sup>(2)</sup> e Ana Cristina Miranda Brasileiro <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O amendoim (*Arachis hypogaea*) é uma oleaginosa de grande importância econômica, cultivada em todo o mundo em regiões tropicais e subtropicais. Os principais fatores limitantes da produção de amendoim em climas semiáridos são a seca e a alta temperatura, que podem reduzir as perdas de rendimento dos grãos em cerca de 70%. Espécies silvestres do gênero *Arachis*, em particular *A. duranensis*, apresentam uma resposta fisiológica mais conservadora à deficiência hídrica e são mais moderadas no uso da água, em contraste com os genótipos cultivados. O objetivo principal deste estudo foi identificar genes de memória associados ao estresse recorrente de seca em *A. duranensis*. O estudo envolveu o sequenciamento do transcrito de plantas de *A. duranensis* submetidas à irrigação regular (grupo CTR) ou expostas a dois ciclos consecutivos de seca e reidratação (grupo STR). Um total de 2.611 genes diferencialmente expressos (DEGs) foram identificados no grupo STR em relação ao grupo CTR em pelo menos uma das quatro condições estudadas (Seca 1, Reidratação 1, Seca 2 e Reidratação 2). A análise da ontologia gênica revelou que o estresse recorrente de seca em *A. duranensis* induziu mudanças no perfil transcricional em vários processos biológicos, como respostas ao estresse oxidativo ou associados à organização da parede celular, fotossíntese e transporte transmembranar. A rede de interação proteína-proteína (PPI) dos DEGs regulados positivamente identificou três importantes hubs de interações protéicas associadas: (i) ao processo catabólico da pectina e à atividade da poligalacturonase, (ii) à biossíntese da peroxidase e (iii) ao complexo da DNA polimerase. Por outro lado, a rede PPI dos DEGs regulados negativamente destacou três hubs relacionados à atividade do sistema fotossintético, processos metabólicos da parede celular e atividade de xiloglucana. Os 2.611 DEGs identificados neste estudo serão utilizados como genes candidatos para a melhoria das espécies cultivadas de amendoim.

**Termos para indexação:** *Arachis*, Transcriptoma, Estresse hídrico.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## Obtenção de tomateiro superexpressando o gene SW5B que confere resistência a tospovírus

Henrique Sérgio Rocha de Melo <sup>(1)</sup>, Natália Lima de Sousa <sup>(1)</sup>, Lídia Nascimento Queiroz <sup>(1)</sup>, Bárbara Barros Messias <sup>(1)</sup>, Leonardo Silva Boiteux <sup>(1)</sup>, Maria Esther de Noronha Fonseca Boiteux <sup>(1)</sup> e Francisco José Lima Aragão <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O tomate é uma hortaliça amplamente consumida no Brasil e no mundo. A cultura gera diversos empregos impactando positivamente o mercado de trabalho, sendo o Brasil um dos principais produtores mundiais de tomate que tem uma safra estimada de 1,7 milhões de toneladas para 2024. Atualmente um grande desafio enfrentado na produção de tomate são as viroses que causam prejuízos econômicos, podendo levar à perda total da safra. No Brasil, vírus pertencentes ao gênero tospovírus se destacam como um dos principais responsáveis por tais perdas. Devido essa importância econômica, pesquisas na área de melhoramento genético são bem-vindas, com o objetivo de solucionar diversos problemas enfrentados por produtores. Um gene promissor, e alvo dessa pesquisa, é o Sw5b, que funciona como um gene de resistência contra tospovírus de amplo espectro. Com isso, o objetivo do trabalho é superexpressar o gene Sw5b, via transformação genética, realizada por *Agrobacterium tumefaciens*. Para isso, as sementes de tomate foram desinfestadas e colocadas em meio de germinação foram cultivadas in vitro por 5 dias no escuro, e dois dias na luz. As folhas cotiledonares das plântulas de tomate foram cortadas em pedaços de cerca de 0,5 centímetros e colocadas em meio de cocultura líquido (contendo *Agrobacterium tumefaciens* com o gene Sw5b) por 30 minutos. Logo em seguida, os cotilédones foram colocados em meio de cocultura sólida e cultivados no escuro em estufa a 20° C por 48 horas. Após esse período, os explantes foram transferidos para o meio de seleção contendo canamicina e foram cultivados em sala de cultivo até o aparecimento de brotos, que alongaram e enraizaram. Foram obtidas 11 plantas in vitro alongadas, que foram submetidas a testes de PCR para o transgene, das quais 6 foram positivas para a sua presença. As plantas positivas foram aclimatizadas e seguiram para casa de vegetação, onde estão produzindo frutos.

**Termos para indexação:** Sw5b, Tomate, Tospovírus.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Nova metodologia de microscopia de dissecação a laser visando a obtenção de RNA de células específico íntegro

Rafaela Schietti de Oliveira <sup>(1)</sup>, Danielle Assis de Faria <sup>(1)</sup>, Nathália Nascimento de Aguiar <sup>(1)</sup> e Ana Claudia Guerra de Araujo <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Uma das formas de controle de nematoides de galha *Meloidogyne* spp. envolve o uso de cultivares mais resistentes ao patógeno. Para aumentar a disponibilidade dessas cultivares, o conhecimento de genes cruciais na interação planta-patógeno é fundamental. Buscando identificar de forma assertiva alguns desses genes, propusemos isolar células gigantes (CGs) e vasculares (controle), de soja e amendoim, inoculadas com *Meloidogyne* spp. utilizando a Microscopia de Dissecação a Laser (MDL), e a partir dessas células, obter o RNA específico. A formação de CGs a partir de células vasculares da raiz da planta hospedeira é induzida por secreções do J2 e compõe o sítio de alimentação do parasita que permite a continuidade do seu ciclo de vida. O isolamento exclusivo desses tipos celulares permitirá a obtenção de transcritos células específicas, que poderão elucidar as alterações decisivas para o sucesso da infecção. Apesar de uma metodologia para MDL ter sido previamente estabelecida, o RNA obtido é fragmentado e de baixo peso molecular. Para superar essa dificuldade, foi estabelecido o uso de O.C.T. para criosecções, evitando altas temperaturas nas amostras, ajustes na montagem das criosecções na lâmina PEN, espessura das secções e método de remoção do O.C.T. e as células isoladas pelo feixe de laser são agora coletadas em tampão de extração de RNA contendo dithiothreitol e colocadas a - 80o C. Assim, foi possível formar pools de blocos de gelo contendo inúmeras diferentes células alvo, isoladas pelo MDL, cujo perfil dos RNAs vem sendo analisado em géis de agarose 0,8% corados com SYBR Gold. Amostras de todas essas etapas modificadas foram avaliadas e confirmaram a integridade dos RNAs. Porém, ainda não foi possível isolar um RNA de qualidade. Entretanto, RNA de células vasculares fragmentadas, mas com maior peso molecular sugere que o uso de pool de secções gera fragmentos de RNA com diversos tamanhos. Assim, continuamos a realizar ajustes para obtenção de RNAs de qualidade, sequenciados e seus transcriptomas.

**Termos para indexação:** Microscopia, Criosecções, Transcritos, Microdissecação a laser, Células gigantes, *Meloidogyne*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, e Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF.



## CRISPR como ferramenta para edição genica visando silenciamento da cis-preniltransferase

Bárbara Barros Messias <sup>(1)</sup>, Lídia Nascimento Queiroz <sup>(1)</sup>, Henrique Sérgio Rocha de Melo <sup>(1)</sup>, Natália Lima de Sousa <sup>(1)</sup> e Francisco José Lima Aragão <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma hortaliça folhosa de grande importância econômica e alimentar, sendo um dos vegetais mais consumidos no Brasil e no mundo. Na região Centro-Oeste, o Distrito Federal teve uma produção destacada, com a safra de 2023 atingindo uma quantidade de 22.794 toneladas em uma área plantada de 1.415 hectares. Um dos principais desafios dessa cultura é o florescimento precoce, que é estimulado em temperaturas superiores a 25°C. Durante esta etapa ocorre o pendoamento da planta, que resulta no crescimento e modificação do caule, redução do tamanho das folhas, e o estímulo à produção de látex, substância que confere o gosto amargo à alface. Alfaces com grande acúmulo de látex se tornam impróprias para consumo, o que leva a perdas na produtividade, além da diminuição da janela para colheita. Portanto, a busca por métodos que reduzam o teor de látex nas plantas é uma alternativa para aumentar a vida útil e reduzir as perdas no campo. Assim, o objetivo deste trabalho é reduzir ou suprimir a produção de látex nas estruturas e tecidos foliares da planta em todas as fases de desenvolvimento, através da edição do gene LsCPT2 (que codifica para a cis-prenil transferase 2 de *Lactuca sativa*) utilizando a técnica de CRISPR. Para tanto, foi realizada transformação genética de alface via *Agrobacterium* com vetor de DNA para edição do gene LsCPT2. Após transformação, foram obtidos cinco eventos positivos para a edição do gene LsCPT2. Análises de PCR indicaram, em todos os eventos, um padrão de hemizigose para edição. Os amplicons obtidos foram clonados e sequenciados, indicando deleções com valores de 213 a 303 pares de base. Estão sendo conduzidas análises para quantificação do teor de látex na progênie das alfaces editadas, em comparação com as alfaces *wild type*.

**Termos para indexação:** Alface, Edição de genoma, Látex.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Expressão transiente de três genes STS oriundos de diferentes espécies de *Arachis* em folhas de *Nicotiana benthamiana* via agroinfiltração

Larissa Boaz de Lima <sup>(1)</sup>, Bruna Medeiros Pereira <sup>(1)</sup>, Maria Fernanda Medeiros Matos <sup>(1)</sup>, Patricia Messenberg Guimaraes <sup>(2)</sup>, Ana Cristina Miranda Brasileiro <sup>(2)</sup> e Cristiano Lacorte <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A expressão transiente é a expressão temporária de um transgene, que, ao contrário da expressão estável, não envolve sua transferência para gerações futuras. Nesse contexto, a agroinfiltração é uma das abordagens mais usadas para a detecção da expressão transiente em plantas e consiste na infiltração de tecidos foliares com *Agrobacterium* spp..O gene STS codifica a enzima Estilbeno Sintase responsável pela síntese do resveratrol que é um poderoso antioxidante encontrado em um número limitado de plantas, incluindo espécies silvestres do gênero *Arachis*. Utilizando a metodologia da agroinfiltração, o objetivo do trabalho é determinar o conteúdo de resveratrol produzidos em folhas de *Nicotiana benthamiana* agroinfiltradas com três construções contendo distintos genes STS oriundos de três espécies de *Arachis* e compará-las com a construção controle (vetor *empty*). Para isso, sementes de *N. benthamiana* foram germinadas em substrato e crescidas em sala de cultura sob condições controladas. Três semanas após a semeadura, as plântulas foram transplantadas para recipiente plástico contendo solo estéril e transferidas para casa de vegetação. Quatro linhagens desarmadas de *Agrobacterium tumefaciens* 'GV30101' contendo cada uma os genes AsSTS2, AiSTS3 e AcSTS4 ou GFP (Green Fluorescent Protein), foram cultivadas em meio LB líquido e posteriormente infiltradas em folhas de *N. benthamiana* por meio da câmara de vácuo do acelerador de micropartículas, utilizado para que a infiltração ocorresse em todas as folhas de forma rápida e uniforme. Posteriormente, as folhas foram avaliadas em microscópio com filtro UV quanto à expressão de GFP. Dessa forma, a expressão transiente do gene GFP 3 dias após a agroinfiltração se mostrou eficiente como indicador da expressão temporária dos três genes STS que estavam no mesmo vetor pPZP e para a seleção daquele com maior potencial de produção de resveratrol.

**Termos para indexação:** Expressão transiente, Agroinfiltração, Resveratrol, *Agrobacterium tumefaciens*, Gene STS, Gênero *Arachis*, *Nicotiana benthamiana*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Produção de espidroínas utilizando a levedura metilotrófica *Komagataella phaffii* como sistema de expressão heteróloga

Fábio Correia Carneiro <sup>(1)</sup>, Gleiciane Pinheiro Sousa <sup>(1)</sup>, João Pedro Oliveira de Souza Ribeiro <sup>(1)</sup>, Estefânia Faria da Silva <sup>(1)</sup>, Juliana Davies de Oliveira <sup>(1)</sup>, Grácia Maria Soares Rosinha <sup>(1)</sup>, João Ricardo Moreira de Almeida <sup>(1)</sup>, Elíbio Rech <sup>(2)</sup> e Daniela Matias de Carvalho Bittencourt <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - As espidroínas são proteínas de seda de aranha, caracterizadas por possuírem regiões N- e C-terminal não repetitivas e conservadas, e uma região central repetitiva composta por módulos de aminoácidos ricos em alanina, glicina e prolina. Essas proteínas são produzidas e secretadas, naturalmente, por glândulas específicas do abdômen das aranhas e possuem um extenso potencial biotecnológico, sendo ideais para diferentes aplicações biomédicas, e para a indústria de higiene pessoal e cosméticos, trazendo a vantagem de ser um produto biodegradável. Nesse contexto, levando em consideração a pequena produção dessas proteínas em fontes naturais, e a sua natureza modular, que proporcionou, por meio da biologia sintética, a engenharia de módulos para a produção de proteínas sintéticas com características específicas, torna-se necessário aprimorar a produção de espidroínas em sistemas heterólogos de expressão. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo a produção heteróloga de espidroínas sintéticas da aranha do Cerrado *Parawixia bistriata* (PI 0701826-6) e da aranha *Nephilengys cruentata*, utilizando a levedura *Komagataella phaffii* como sistema de produção heteróloga. Para isso foi inserido ao genoma da levedura o vetor de expressão pPICZaA contendo os genes que codificam as espidroínas MaSp2(8x), MaSp1+2(4x) e Flag2222. Análises de PCR mostraram que os vetores recombinantes foram integrados aos genomas das leveduras e que todos os clones obtidos possuíam genótipo Mut+. A indução da expressão foi realizada durante 96 horas por meio da adição de metanol à 1% à cultura celular. A análise qualitativa de proteínas presentes no sobrenadante da cultura das cepas recombinantes, por meio de SDS-PAGE e Western blot, confirmou a produção das espidroínas sintéticas. Apesar de ser amplamente utilizada como hospedeira para a produção de proteínas heterólogas, estudos da produção de espidroínas em *K. phaffii* ainda são muito limitados. Até o momento existem poucos relatos de otimização da produção de espidroínas em *K. phaffii*, sendo essa pesquisa essencial para o início do processo de produção e escalonamento dessa tecnologia.

**Termos para indexação:** Espidroína, *K. phaffii*, Produção heteróloga.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Expressão do gene MdoDHN11 de maçã (*Malus domestica*) em soja visando aumento da tolerância ao estresse hídrico

Juliane Costa Cabral <sup>(1)</sup>, Layza Miranda, Natália Lima de Sousa <sup>(1)</sup>, Luís Fernando Revers <sup>(1)</sup> e Francisco José Lima Aragão <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a leguminosa mais importante do mundo. O Brasil lidera o *ranking* mundial de maior produtor da espécie. A importância econômica da soja se dá pela versatilidade dos seus grãos, que são ótimas fontes de óleo e proteína vegetal. A produção de soja é altamente sensível à seca, estiagem prolongada diminui a produtividade, causando perdas financeiras substanciais aos agricultores. O desenvolvimento de novas cultivares tolerantes a períodos de estresse hídrico podem ser produzidos através de técnicas de engenharia genética. Plantas transgênicas de *Arabidopsis thaliana* expressando MdoDHN11 confirmaram a relevância protetora de DHNs durante o déficit hídrico de longo prazo. Considerando a importância da soja para a agricultura brasileira e os riscos que mudanças nos padrões de precipitação representam para a cultura, o objetivo deste trabalho foi transformar soja geneticamente para expressar o gene MdoDHN11 com intuito de aumentar a tolerância ao estresse hídrico. O sistema biobalístico foi usado para a transformação direta, isso consiste na inserção de micropartículas contendo o DNA exógeno de MdoDHN11 no meristema do embrião de soja. Foi construído um vetor de transformação, visando a expressão de MdoDHN11, sob controle do promotor 35S (Cauliflower mosaic virus - 35 SCaM), o gene *Atahas* que confere resistência aos herbicidas da classe imidazolinonas foi usado como controle seletivo. A integração do transgene no genoma da planta, confirmado por ampliações de PCR. O vetor desenvolvido foi eficiente para transformar geneticamente embriões de soja. Análises de PCR confirmaram a presença do transgene MdoDHN11. A análise da progênie confirmou a presença do inserto na F1 segregando em proporção mendeliana 3:1. Plantas transgênicas F2 expressando MdoDHN11 foram submetidas a um ensaio preliminar de estresse hídrico. As plantas tipo selvagem não conseguiram se recuperar após o período de estresse hídrico, enquanto as que expressaram o transgene MdoDHN11, foram capazes de sobreviver, sugerindo um efeito protetor do gene a seca.

**Termos para indexação:** Seca, Engenharia genética, *Glycine max*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.





## Expressão do gene MdoDHN11 de maçã (*Malus domestica*) em tomate visando aumento da tolerância ao déficit hídrico

Layza Alves Miranda Leite <sup>(1)</sup>, Juliane Costa Cabral <sup>(1)</sup>, Natália Lima de Sousa <sup>(1)</sup>, Luís Fernando Revers <sup>(1)</sup> e Francisco José Lima Aragão <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mil.) é o segundo vegetal mais importante e consumido do mundo, sendo produzido mais de três milhões de toneladas por ano, só no Brasil, sendo uma importante fonte de emprego e renda para o país. O tomate é um alimento funcional com nutrientes e substâncias capazes de prevenir doenças, é rico em licopeno, atuando como um agente antioxidante. A produção de tomate é impactada diretamente pelo fornecimento de água, no qual exerce maior influência nas características do tomate. Mudanças climáticas com longos períodos de estiagens impactam no lucro dos agricultores, carecendo de uma maior irrigação e assim elevando o preço do tomate no mercado. Buscando alternativas para diminuir os custos com irrigação nas lavouras de tomate, a engenharia genética traz a possibilidade de desenvolver novas cultivares tolerantes a períodos de estresse hídrico. Desidrininas (DHNs) são proteínas protetoras relacionadas a várias respostas de desenvolvimento em macieira (*Malus × domestica* Borkh) que envolvem desidratação, como dessecação de sementes e estresses abióticos. Plantas transgênicas de *Arabidopsis* expressando MdoDHN11 sob um severo estresse hídrico confirmaram sua relevância protetora de DHNs durante o déficit hídrico de longo prazo. O objetivo deste trabalho foi transformar o tomate geneticamente para expressar o gene MdoDHN11, com intuito de aumentar a tolerância ao estresse hídrico. Vetores de transformação foram construídos para expressão de MdoDHN11 em explantes cotiledonares de tomate da cultivar Micro-Tom via *Agrobacterium tumefaciens* EHA105, sob controle do promotor do 35S cauliflower mosaic virus (35SCaMV), o gene nptII, que codifica para a enzima Neomicina Fosfotransferase tipo II (NPTII) e confere resistência à canamicina, utilizada para selecionar plantas transformadas. O vetor desenvolvido, foi eficiente para transformar geneticamente explantes de folhas de tomate. A integração do transgene no genoma da planta de tomateiro, foi confirmado por ampliações de PCR. Análises de PCR confirmaram a presença MdoDHN11. A análise da progênie confirmou a presença do inserto na T1 segregando em proporção mendeliana 3:1.

**Termos para indexação:** Déficit hídrico, Micro-tom, *Lycopersicon esculentum*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Mycoplasmas sem cromossomos como receptores de construções genéticas funcionais

Igor de Oliveira Santos <sup>(1)</sup>, Marco Oliveira <sup>(1)</sup>, Pedro Henrique Bürgel <sup>(1)</sup>, Mariana Mathias Conroy Araujo <sup>(1)</sup>, Grácia Maria Soares Rosinha <sup>(1)</sup>, Sage Glass <sup>(1)</sup>, John Glass <sup>(1)</sup>, Elibio Rech <sup>(2)</sup> e Daniela Matias de Carvalho Bittencourt <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A JCVI-Syn3B, célula mínima que codifica os genes essenciais da *Mycoplasma mycoides* subespécie capri, com um genoma contendo menos de 500 genes. O estudo e o desenvolvimento de genomas mínimos são fundamentais para uma compreensão mais aprofundada da organização estrutural e funcional do genoma, além de possibilitar sua manipulação para desempenhar funções específicas em resposta a estímulos externos. Desta forma, o desenvolvimento de células sintéticas e de ferramentas eficazes para sua montagem é crucial para o controle genético refinado e para o surgimento de novos processos e produtos. Neste estudo, relatamos o desenvolvimento de células livres de cromossomos com base na célula mínima JCVI-Syn3B, como um protótipo para o projeto de células sintéticas capazes de atuar como biossensores e executar funções específicas em resposta a estímulos externos. Projetamos um circuito genético usando serina-integrases (INT9) para iniciar a expressão da endonuclease I-Ceul, que, em conjunto com endonucleases nativas, erradica o genoma da célula hospedeira. A I-Ceul tem como alvo uma sequência exclusiva de 26 pares de bases (5'-TAACTATATAACGGTCCTAAGGTAGCGA-3'), onipresente em genomas bacterianos e situada dentro do gene conservado 23S rRNA rrl. Para avaliar a eficiência da I-Ceul na degradação do genoma na célula hospedeira, usamos qPCR e citometria de fluxo. A qPCR foi realizada com primers específicos para a região de corte da enzima I-Ceul no genoma JCVI-Syn3B. Na citometria de fluxo, coramos as células com DAPI para rastrear a degradação do genoma. Os resultados confirmaram a capacidade da I-Ceul de degradar o genoma e demonstrando sua atividade tempo dependente, com início de 6 horas após a indução, com um pico em 12 horas. A ausência de um cromossomo torna a SimCell\_JCVI-Syn3B incapaz de se replicar, mitigando os riscos de biossegurança associados a organismos geneticamente modificados. Esta estratégia pode promover a inovação de materiais biológicos seguros e econômicos para diversos setores, como agricultura, indústria e saúde, e oferece uma técnica alternativa para a preparação de receptores de genomas sintéticos.

**Termos para indexação:** Célula sintética, JCVI-Syn3b, Endonuclease, Serina-integrase.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Avaliação da resistência a *Verticillium dahliae* conferida pela superexpressão do gene ASTIR19 de *Arachis stenosperma* em linhagens transgênicas de tomate

Maria Fernanda Matos Medeiros <sup>(1)</sup>, Andressa Cunha de Quintana Martins <sup>(1)</sup>, Alisson Ferreira Dantas <sup>(1)</sup>, Ana Cristina Miranda Brasileiro <sup>(2)</sup> e Patricia Messenberg Guimaraes <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma cultura de importância econômica mundial, cuja produção e qualidade dos frutos podem ser severamente afetadas pela murcha de verticílio, uma doença vascular grave, causada pelo fungo *Verticillium dahliae*. O surgimento de novas cepas desse patógeno pode levar à quebra da resistência inata ou adquirida, fazendo-se necessário a seleção de cultivares mais resistentes. Em estudos anteriores, diversos genes potencialmente associados à resposta de defesa ao ataque de patógenos foram identificados, dentre eles, um NLR truncado (TNx) isolado de *A. stenosperma* (AsTIR19). O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da superexpressão de AsTIR19 na resistência a *V. dahliae* em seis linhagens transgênicas de tomate cv. 'Micro-Tom'. O progresso da doença na parte aérea das plantas foi avaliado diariamente e registrado por fotografia ao longo do bioensaio. O teor de clorofila e o índice de doença foram determinados 55 dias após a inoculação com o patógeno, quando o bioensaio foi finalizado. As análises demonstraram que quatro, das seis linhagens avaliadas, apresentaram um índice de doença significativamente menor em relação ao controle não transgênico, assim como um teor de clorofila maior em comparação às plantas WT inoculadas, indicando uma maior resistência à infecção pelo fungo. Estes resultados indicam que a superexpressão do gene AsTIR19 aumenta a resistência ao fungo causador do murcha de verticílio, *V. dahliae*, em plantas de tomate.

**Termos para indexação:** *Solanum lycopersicum*, *Verticillium dahliae*, Micro-tom, Astir19, Índice spad, Sintomas foliares de *V. dahliae*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Melhoria da digestibilidade da soja para alimentação via edição de genoma

Mateus Meira <sup>(1)</sup>, Maria Eugenia Lisei de As <sup>(1)</sup>, Nayara Sabrina de Freitas Alves <sup>(1)</sup>, Ana Cristina Pinto Juhaz <sup>(1)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O Brasil é o maior produtor mundial de soja e, devido ao seu elevado teor proteico, esta leguminosa se consolidou como principal fonte proteica de rações e alimentos. Apesar disso, a soja apresenta fatores antinutricionais como os inibidores de protease do tipo Bowman-Birk (BBI), que inibem a tripsina e a quimotripsina. A indústria usa tratamento térmico para eliminar esses fatores, mas o tratamento eleva o custo, causa perda de aminoácidos essenciais e alteração das propriedades da soja. Como alternativa, a edição gênica pode induzir mutações nos genes BBI, eliminando geneticamente esses compostos sem recorrer à transgenia. Utilizando o banco de dados do genoma da soja Williams82 (*Phytozome-Glycine max Wm82.a4.v1*) uma variedade modelo, foram identificados 14 loci que potencialmente codificam BBI, agrupados em 3 grupos monofiléticos distintos. Com base nessas análises, foram desenhados quatro RNAs-guias (sgRNAs) para dirigir a edição na região alvo, visando o silenciamento dos genes BBI. A validação dos sgRNAs foi feita por meio da indução de hairy root via *Agrobacterium rhizogenes* em folhas destacadas de soja e posterior sequenciamento. Dos 12 eventos de transformação selecionados, 10 apresentaram deleção no sítio alvo dos RNAs-guia. A construção gênica contendo todos os elementos necessários para a expressão do sistema CRISPR/Cas, os sgRNAs do gene BBI e do gene que confere resistência a higromicina, foram inseridos individualmente no genoma da soja (cultivar BRS 537) usando a técnica *half-seed/A. tumefaciens*. Atualmente, os eventos primários de transformação (T0) estão em aclimação em casa de vegetação para posterior confirmação da presença da maquinaria da Cas9 por testes moleculares de PCR e sequenciamento genético. Após a edição ser confirmada, os mutantes serão submetidos a ensaios de atividade da tripsina e quimotripsina. Este estudo oferece oportunidades promissoras para o desenvolvimento de cultivares por meio de Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão (TIMPs) e industrialmente relevantes.

**Termos para indexação:** *Glycine max*, Fatores antinutricionais, Bowman-Birk, CRISPR/Cas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Aquisição de memória de estresse na resposta de tolerância de *Arachis duranensis* a ciclos de seca e reidratação

Andressa da Cunha Quintanda Martins <sup>(1)</sup>, Adrien Charles Aurelien Speck <sup>(1)</sup>, Mario Alfredo de Passos Saraiva <sup>(2)</sup>, Patricia Messenberg Guimaraes <sup>(3)</sup> e Ana Cristina Miranda Brasileiro <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A exposição recorrente a diferentes tipos de estresses biótico e abióticos induz processos moleculares, celulares e fisiológicos para memorizar suas respostas de defesa, permitindo uma resposta mais rápida e eficiente a eventos futuros de estresse. Este processo de aquisição de memória do estresse e pré-ativação de defesa, conhecido como 'priming', constitui um enorme potencial a ser explorado no desenvolvimento de novas cultivares adaptadas às condições subótimas de crescimento. Estudos anteriores demonstraram que a espécie silvestre *Arachis duranensis*, um dos progenitores silvestres do amendoim, possui uma alta adaptabilidade à seca, caracterizada por um padrão de transpiração mais conservador e maior eficiência no uso da água em condições de déficit hídrico. Este estudo avaliou os efeitos de *priming* em plantas de *A. duranensis* submetidas a dois ciclos consecutivos de seca e reidratação, utilizando cinco tratamentos distintos. Os tratamentos incluíram plantas consecutivamente expostas a: um ciclo de seca (S1), seguida de reidratação (R1), um segundo ciclo de seca consecutivo (S2), seguida de reidratação (R2), além do controle com irrigação constante (CTR). Durante o ensaio foram realizados registros fotográficos diários, avaliações do teor relativo de água (TRA) e extravasamento eletrólitos (EE), além da coleta de raízes para análise transcricional por RT-qPCR. O primeiro ciclo de seca (S1) resultou em murcha severa e tombamento das plantas, enquanto os tratamentos subsequentes (R1, S2 e R2) mostraram fenótipo similar ao grupo CTR. Observou-se significativa redução no TRA e aumento no EE nas plantas estressadas (S1 e S2) em comparação ao controle. As análises de expressão por RT-qPCR mostraram que sete genes relacionados à resposta de tolerância à seca em espécies silvestres de *Arachis*, possuem um perfil de expressão durante os ciclos de seca/reidratação compatível com aqueles caracterizados como de genes de memória. Esses resultados indicam uma possível resposta adaptativa, em nível fisiológico e molecular, de *A. duranensis* para memorizar suas respostas de defesa durante eventos consecutivos de seca.

**Termos para indexação:** *Arachis* silvestre, Seca, Estresse recorrente, Genes de memória, Estado de *priming*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Desenvolvimento de organelas sintéticas sem membrana como ferramenta para o controle de funções celulares em plantas

Estefânia Faria da Silva <sup>(1)</sup>, Elibio Rech <sup>(2)</sup>, Grácia Maria Soares Rosinha <sup>(1)</sup>, Patrícia Verdugo Pascoal <sup>(1)</sup> e Daniela Matias de Carvalho Bittencourt <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - As células eucarióticas organizam seus componentes intracelulares em organelas que podem apresentar ou não membranas, para compartimentalização de seus componentes. Muitas organelas celulares são formadas por condensados de proteínas, ácidos nucléicos ou ambos. Notavelmente as proteínas de seda da aranha (espidroínas), possuem características propícias para a formação de condensados celulares, pois são proteínas desordenadas, de baixa complexidade e altamente repetitivas, formadas por um conjunto limitado de módulos de aminoácidos ricos em alanina, glicina e prolina. Além disso, a natureza modular da seda de aranha, a relação entre seus módulos e as suas propriedades físicas são elementos que possibilitam, por meio da biologia sintética, a engenharia de módulos para a produção de proteínas sintéticas com funções específicas e características similares às das espidroínas naturais. Assim, neste trabalho, destacamos o desenvolvimento de ativos biotecnológicos capazes de formar condensados proteicos funcionais em células vegetais, por meio da manipulação de suas propriedades físicas e funções biológicas, com efeitos sem precedentes na biologia sintética vegetal. Proteínas de seda de aranhas sintéticas podem gerar uma nova ferramenta para modular de maneira controlada e precisa as respostas celulares em plantas, formando uma variedade de estruturas complexas semelhantes a organelas para diversas aplicações, dentre elas destacamos as modificações de vias metabólicas específicas e a regulação da expressão genética, com o sequestro do RNAm, por exemplo, desempenhando assim um papel importante na expressão de proteínas. A incorporação deste ativo biotecnológico no processo a ser desenvolvido contribui positivamente para a bioeconomia brasileira, pois traz uma nova aplicação biotecnológica para esta proteína.

**Termos para indexação:** Condensados de proteínas, Proteínas de seda da aranha, Biologia sintética, Vegetal.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) para a maturação in vivo de ovócitos bovinos vitrificados

José Eduardo Vieira Chaves <sup>(1)</sup>, Laryssa Ketelyn Lima Pimenta <sup>(1)</sup> Nayara Ribeiro Kussano <sup>(2)</sup>, Ana Caroline Chaves Vall Nicolás <sup>(3)</sup>, Margot Alves Nunes Dode <sup>(4)</sup> e José Felipe Warmling Sprícigo <sup>(5)</sup>.

<sup>(1)</sup> Estudante de mestrado, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, <sup>(2)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Estudante de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(4)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(5)</sup> Professor, Universidade de Goiás, Goiânia, GO.

**Resumo** - A criopreservação de ovócitos tem grande potencial para a multiplicação e conservação animal. Este estudo avaliou se a maturação pela TIFOI aumenta o desenvolvimento embrionário de complexos cumulus-ovócito (CCOs) imaturos vitrificados. CCOs foram divididos em quatro grupos: 1) CCOs frescos maturados in vitro (MF, n=210), 2) CCOs frescos maturados in vivo por TIFOI (TF, n=236), 3) CCOs imaturos vitrificados/aquecidos e maturados in vitro (MV, n=216), e 4) CCOs imaturos vitrificados/aquecidos e maturados in vivo por TIFOI (TV, n=215). A vitrificação e aquecimento seguiram a metodologia Cryotop<sup>®</sup>, e a TIFOI o protocolo TIFOI-Embrapa<sup>®</sup>. Os ovócitos maturaram por 20-22h em incubadora (in vitro) e ambiente folicular (TIFOI). Após a maturação, todos os grupos foram submetidos a FIV e CIV. As taxas de clivagem foram avaliadas no dia 2 (D2), e as taxas de blastocisto no D6 e D7. Blastocistos expandidos (Bx) do D7 foram avaliados quanto ao diâmetro, número total de células e porcentagem de células apoptóticas (TUNEL<sup>®</sup>). As análises estatísticas foram realizadas por Qui-quadrado, ANOVA e teste de Tukey (SAS, P=0.05). A taxa de clivagem foi menor nos grupos vitrificados (MV = 22,6% e TV = 21,8%) do que nos frescos (MF = 90,0% e TF = 86,0%). A taxa de blastocisto no D6 diferiu entre os grupos, entretanto, no D7 diferiu apenas entre frescos e vitrificados (MF = 44,2%, TF = 47,0%, MV = 2,3%, TV = 4,6%). Quanto à qualidade embrionária, os grupos vitrificados não produziram embriões suficientes para análise. O grupo TF apresentou maior diâmetro [ $192 \pm 16,4$  (n=48) vs.  $179 \pm 16,3\mu\text{m}$  (n=26)], maior número de células [ $165 \pm 11,4$  (n=38) vs.  $156 \pm 11,3$  (n=24)] e menor proporção de células apoptóticas [ $2,8 \pm 0,01$  (n=38) vs.  $4,2\% \pm 0,01$  (n=24)] do que os do MF. Conclui-se que a maturação pela TIFOI não melhorou o desenvolvimento embrionária de ovócitos vitrificados, mas para os frescos aumentou o desenvolvimento embrionário no D6 e a qualidade dos blastocistos no D7.

**Termos para indexação:** Blastocistos, CCOs, Criopreservação.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# A suplementação de melatonina em meios de pré-maturação não afeta o resultado da produção in vitro de embriões bovinos

Laryssa Ketelyn Lima Pimenta <sup>(1)</sup>, Nayara Ribeiro Kussano <sup>(2)</sup>, Ana Caroline Chaves Vall Nicolás <sup>(3)</sup>, José Eduardo Vieira Chaves <sup>(1)</sup>, Margot Alves Nunes Dode <sup>(4)</sup> e José Felipe Warmling Sprícigo <sup>(5)</sup>.

<sup>(1)</sup> Estudante de mestrado, Universidade Federal de Goiás, Universidade de Goiás, Goiânia, GO, <sup>(2)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Estudante de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, DF, <sup>(4)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(5)</sup> Professor, Universidade de Goiás, Goiânia, GO.

**Resumo** - O uso de inibidores da retomada meiótica, durante o período de pré-maturação (pré-MIV), proporciona ao ovócito tempo adicional para sofrer alterações citoplasmáticas. A melatonina (MTn), por sua vez, tem sido avaliada durante a maturação in vitro (MIV) devido à sua ação antioxidante. Para minimizar o estresse oxidativo e proporcionar melhores condições para a aquisição da competência ovocitária, avaliou-se o efeito do MTn durante a pré-MIV. Complexo cumulus-ovócito (CCOs) (n=1752) foram distribuídos em três grupos: 1) Controle MIV: os CCOs foram MIV por 24h, 2) controle pré-MIV: os CCOs foram pré-maturados por 6h na presença de 100nM de NPPC, seguido de 24h de MIV e 3) pré-MIV+MTn: os CCOs foram pré-maturados por 6h na presença de 100nM de NPPC e MTn [10<sup>-9</sup> M], seguido de 24h de MIV. Após a MIV, os CCOs foram co-incubados com espermatozoides por 18h. Os zigotos foram então transferidos para meio de cultivo in vitro (CIV), onde permaneceram por sete dias. A taxa de clivagem foi avaliada no dia 2 após a fertilização (D2) e a taxa de blastocistos nos D6 e D7. Para MIV, FIV e CIV a atmosfera foi fixada em 5% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>, a 38,5 °C. Os dados foram analisados pelo teste qui-quadrado (p= 0,05). A taxa de clivagem foi maior (p= 0,05) nos grupos pré-MIV controle (79,4%) e pré-MIV+MTn (75%) em comparação ao controle MIV (66,0%). No D6, pré-MIV+MTn (14,1%) apresentou menor taxa de blastocistos (p= 0,05) em comparação ao controle MIV (18,5%) e pré-MIV controle (20,8%). Porém, no D7, as taxas de blastocistos dos pré-MIV controle (35,9%) e pré-MIV+MTn (30,8%) foram superiores às observadas em o grupo controle MIV (25,8%). Conclui-se que um tratamento de pré-maturação suplementado com MTn por 6h não tem efeito suficiente para aumentar a produção de embriões bovinos PIV. Pesquisas em nosso laboratório estão em andamento para avaliar o impacto sinérgico da suplementação de MTn durante a pré-MIV e durante a MIV.

**Termos para indexação:** Reprodução animal, Biotecnologia, Pré-maturação, Ovócitos.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.





# Desenvolvimento de tecnologia multifuncional empregando hidrogel como carreador de biofertilizante agrícola com efeito nematicida

Gabriel Vieira Tiago <sup>(1)</sup>, Livia Cristina de Souza Viol <sup>(1)</sup>, Jadir Borges Pinheiro <sup>(2)</sup> e Thales Lima Rocha <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Hortaliças, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Fitonematoides são pragas que causam perdas significativas em diversas culturas agrícolas. Dentre os principais, o nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.), o nematoide-das-lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.) e o nematoide dos cistos (*Heterodera glycines*) se destacam por causar prejuízos anuais de milhões de reais à economia brasileira. Hidrogeis, compostos por redes poliméricas tridimensionais, retêm e armazenam água em centenas de vezes seu próprio peso. Sua aplicação na agricultura visa o manejo do solo pelo aumento da capacidade de retenção de água, o que reduz a necessidade de irrigação. Além disso, estudos recentes demonstram o potencial de hidrogeis sintéticos e naturais como carreadores de insumos agrícolas, como fertilizantes e extratos biocidas, para o controle de pragas de forma controlada e sustentável. Assim, este estudo propôs a utilização de hidrogeis como carreadores de um produto multifuncional fornecido pela empresa parceira Carbom Brasil Fertilizantes, contendo biofertilizante e extrato botânico nematicida. Para isso, formulações compostas por hidrogel e o produto multifuncional foram preparadas e lavadas com água. As frações liberadas foram avaliadas por bioensaio *in vitro* contra juvenis de segundo estágio (J2) de quatro tipos de fitonematoides: *Meloidogyne incognita*, *Pratylenchus brachyurus*, *Heterodera glycines* e *Meloidogyne enterolobii*. As formulações preparadas apresentaram efeito nematicida entre 73,2% e 97,4% nos bioensaios *in vitro* e ausência de fitotoxicidade nas sementes de soja, o que demonstra efetividade contra as quatro espécies avaliadas. Frente à problemática dos fitonematoides, o uso de extratos botânicos com atividade nematotóxica e biofertilizante associados à hidrogel pode favorecer a obtenção de novas tecnologias efetivas tanto para o controle desses fitoparasitas, quanto à potencialização da produtividade.

**Termos para indexação:** Fitonematoides, Hidrogel, Biofertilizante, Extrato botânico, Controle de pragas, Produtividade agrícola.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA e Carbom Brasil Fertilizantes Ltda.



# Criação de um banco de extratos para valorização de recursos genéticos vegetais e desenvolvimento de novos ativos biológicos

Monniky Sabrinny Pereira Ribeiro <sup>(1)</sup>, Gilberto Hiragi <sup>(2)</sup>, Renato Sales <sup>(2)</sup>, Juliano Gomes Pádua<sup>(3)</sup> e Thales Lima Rocha <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analistas, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Estima-se que existam cerca de 400.000 espécies de plantas, cada uma com uma variedade de metabólitos ainda pouco explorados. O Brasil, com sua vasta biodiversidade, abriga mais de 46.000 espécies vegetais conhecidas. Na Embrapa, essa diversidade genética é conservada por meio de um sistema de recursos genéticos, incluindo bancos, coleções e núcleos de conservação registrados na Plataforma Alelo. Os Bancos Ativos de Germoplasma Vegetal (BAGs) são cruciais para a bioprospecção, caracterização fenotípica, molecular e identificação taxonômica dos recursos genéticos, beneficiando tanto a Embrapa quanto o Brasil. Este trabalho focou na criação, enriquecimento e manutenção de um Banco de Extratos Vegetais para promover a bioprospecção de compostos úteis à agropecuária e aumentar a utilização dos bancos de germoplasma. As atividades incluíram a seleção de espécies e acessos, catalogação no sistema Alelo, obtenção e liofilização dos extratos crus aquosos (ECAs) de sementes, e acondicionamento na Extratoteca. A estruturação resultou em uma extratoteca de 50 m<sup>2</sup> com 10 estantes de aço, com capacidade para até 12 mil frascos de 50 ml. Foram gerados, liofilizados e armazenados com sucesso 140 ECAs das famílias Fabaceae, Solanaceae e Poaceae, com frascos contendo de 300 a 500 mg. Bioensaios *in vitro* mostraram que pelo menos 20 ECAs tiveram atividade nematotóxica variando de 70% a 98% contra o nematoide *Meloidogyne incognita*. Todo o processo, incluindo coleta, protocolos e resultados, foi registrado no Portal Alelo, facilitando a gestão e padronização das informações e proporcionando uma base sólida para futuras pesquisas e desenvolvimento de novos ativos biológicos.

**Termos para indexação:** extratos vegetais, substâncias derivadas de plantas, propriedades bioativas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Superexpressão dos genes GMGLB1-1 E GMEXPA-1 aplicada ao aumento da tolerância do algodoeiro a *Meloidogyne incognita*

Gabriele Louise Trindade Araújo <sup>(1)</sup>, Marcos Fernando Basso <sup>(1)</sup>, Thuanne Pires Ribeiro <sup>(1)</sup>, Maria Eugênia Lisei de Sá <sup>(1)</sup>, Carolina Vianna Morgante <sup>(2)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Nematoides do gênero *Meloidogyne* representam um desafio para culturas economicamente relevantes. Eles induzem sítios de alimentação nas raízes das plantas que prejudicam a absorção de água e nutrientes, levando à redução do rendimento das culturas. Os métodos de controle atuais são ineficazes e o desenvolvimento de cultivares menos suscetíveis é a estratégia mais eficiente e sustentável para o manejo desse fitopatógeno. Os genes de *Glycine max*, *GmGlb1-1*, relacionado ao metabolismo do óxido nítrico, e *GmEXPA1*, relacionado com processos de lignificação da parede celular, são responsivos ao parasitismo por *Meloidogyne incognita*. A superexpressão independente desses genes resultou na suscetibilidade reduzida de plantas modelo ao *M. incognita*. Com o objetivo de desenvolver plantas menos suscetíveis a *Meloidogyne*, utilizando técnicas avançadas de melhoramento, foi realizada a superexpressão simultânea dos genes *GmGlb1-1* e *GmEXPA1* em algodão. Plantas de cinco eventos transgênicos independentes na geração T2, caracterizadas por PCR e ensaios imunoenzimáticos com alto acúmulo das proteínas transgênicas, foram inoculadas com 2.000 ppJ2 de *M. incognita* 15 dias após a germinação, em ensaio realizado em casa de vegetação. Após 90 dias, as raízes foram avaliadas quanto à incidência de galhas, usando uma escala de classificação qualitativa, e à incidência de ovos por grama de raiz. As progênies de dois eventos transgênicos se sobressaíram demonstrando redução significativa de até 82% no número de ovos por grama de raízes, em comparação a plantas não transformadas. Os três eventos com maior redução no número de ovos foram, também, aqueles com maiores níveis de expressão dos transgenes, reforçando a relação da superexpressão dos transgenes com a redução de suscetibilidade. Dessa forma, a superexpressão dos genes *GmGlb1-1* e *GmEXPA1* pode ser apontada como estratégia potencial no desenvolvimento de cultivares biotecnológicas com suscetibilidade reduzida aos nematoides formadores de galhas para uma agricultura mais sustentável, menos dependente de pesticidas.

**Termos para indexação:** *Gossypium hirsutum*, nematoides formadores de galhas, transgenia, plantas geneticamente modificadas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Plataforma para edição livre de DNA em soja por bombardeamento de ribonucleoproteínas do sistema CRISPR/Cas9 ligadas a partículas de ouro

Gustavo Ruffo <sup>(1)</sup>, Carolina Vianna Morgante <sup>(2)</sup>, Isabela Tristan Lourenço Tessutti <sup>(2)</sup>, Fabrício Barbosa Monteiro Arraes <sup>(1)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A soja (*Glycine max* [(L.) Merrill]) é uma das principais *commodities* agrícolas, sendo a maior fonte de proteína vegetal e matéria-prima para biodiesel. A tecnologia CRISPR/Cas9 tem sido utilizada para melhorar a produtividade e qualidade da soja, permitindo modificações genéticas rápidas e precisas. Metodologias livres de DNA, que utilizam ribonucleoproteínas (RNP) ou mRNAs, não são reguladas como organismo geneticamente modificado (OGM), reduzindo custos e o tempo para inserção plantas editadas no mercado. No entanto, esse recurso tem pouca representatividade para edição de genoma de soja. Neste trabalho, foi desenvolvido um protocolo de edição de genomas livre de DNA, por bombardeamento de RNPs carregadas por partículas de ouro em eixos embrionários de soja. A Cas9 utilizada, oriunda de *Staphylococcus aureus* (SaCas9), teve sua expressão otimizada em *E. coli* BL21(DE3) pLysS. Foram desenhados sgRNAs tendo como alvo o gene fitoeno desaturase (*GmPDS*), visto que seu nocaute resulta em um fenótipo albino. O modelo utilizado para otimização da expressão da SaCas9 findou-se com um rendimento máximo de 25 mg por litro de expressão. Testes de clivagem *in vitro* para validação das RNPs indicaram uma eficiência de edição próxima de 90%, após otimização dos parâmetros do teste. Baterias de experimento com diferentes condições de bombardeamento foram realizadas, com alterações na pressão do tiro, no número de tiros e o tempo de sonicação. Os embriões regenerados a partir do bombardeamento foram mantidos em cultura até o surgimento das primeiras folhas. Uma pré-seleção de indivíduos foi realizada por meio da presença de clorose, potencialmente causada pelo silenciamento do *GmPDS*. Na somatória de três baterias, A.1, 2 e 3, foram bombardeados com RNPs 275 embriões. Análises de alinhamento e sequenciamento de Sanger apontaram um total de dois indivíduos com deleções no sítio de ligação ao sgRNA no evento A.3, resultando em uma eficiência de edição *in vivo* de 2,6%. De forma conclusiva, este protocolo se apresenta alternativa viável para acelerar a geração de cultivares de soja editadas.

**Termos para indexação:** RNP, soja, melhoramento genético, biolística, fitoeno desaturase.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Efeito da quantidade de CCOS e da qualidade da injeção na recuperação de embriões após a TIFOI

Ana Caroline Chaves Vall <sup>(1)</sup> Nicolás Otávio Augusto Costa de Faria <sup>(2)</sup>, Marcelo Sant'ana Borges <sup>(2)</sup>, Nayara Ribeiro Kussano <sup>(3)</sup>, Ivo Pivato <sup>(4)</sup>, Carlos Frederico Martins <sup>(5)</sup> e Margot Alves Nunes Dode <sup>(6)</sup>.

<sup>(1)</sup> Estudante de mestrado da Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Estudante de doutorado da Universidade de Brasília, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF <sup>(4)</sup>, Professor, Universidade de Brasília, Brasília, DF, <sup>(5)</sup> Pesquisador, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, <sup>(6)</sup> Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI) surgiu como uma alternativa para a produção de embriões bovinos, mas ainda tem resultados insatisfatórios para uso comercial. Este estudo avaliou se a quantidade de complexos cumulus-ovócitos (CCOs) injetados no folículo pré-ovulatório e a qualidade da injeção afetam a recuperação final de embriões. Vinte e duas vacas previamente sincronizadas foram submetidas à TIFOI utilizando 25 (tratamento T25, n = 9) ou 50 CCOs (T50, n = 8) em 10 µl de PBS. A qualidade da injeção foi classificada em graus 1 (n = 12) ou 2 (n = 5). Imediatamente após, as ovuladoras foram inseminadas artificialmente. Simultaneamente, grupos de 25 a 30 CCOs foram alocados para produção in vitro de embriões (PIV). Nove dias após a TIFOI, foi realizada lavagem uterina das ovuladoras, sendo avaliada taxa de recuperação de estruturas e de blastocistos por tratamento e por qualidade da injeção. Blastocistos expandidos produzidos por TIFOI e PIV foram avaliados quanto ao diâmetro e número total de células. Os dados foram analisados por análise de variância (SAS, 9.4). A taxa de recuperação de estruturas não foi afetada ( $P > 0,05$ ) pela quantidade de CCOs (T25 - 21,69%, T50 - 19,83%) ou pela qualidade da injeção (grau 1 - 24,66%, grau 2 - 16,86%). A taxa de recuperação de embriões também não foi afetada pela quantidade de CCOs (T25 - 3,77%, T50 - 3,56%) ou pela qualidade da injeção (grau 1 - 6,83%, grau 2 - 0,50%). Além disso, não houve interação entre a quantidade de CCOs e a qualidade da injeção para os parâmetros analisados ( $P > 0,05$ ). Os embriões TIFOI e PIV apresentaram diâmetro e número de células semelhantes ( $P > 0,05$ ). Conclui-se que a recuperação de embriões após a TIFOI não é afetada pela qualidade da injeção ou quantidade de CCOs. Além disso, embriões TIFOI e PIV apresentaram qualidade semelhante, considerando os parâmetros avaliados.

**Termos para indexação:** embriões bovinos, folículo, injeção.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.



# Nanocristais: síntese a partir de recursos vegetais oriundos de Bancos Ativos de Germoplasma

Nicole dos Santos Bolzan Gonçalves<sup>(1)</sup>, Luciano Paulino da Silva<sup>(2)</sup> e Cíntia Caetano Bonatto<sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Nanocristais formados a partir de polímeros naturais derivados de fontes biológicas oferecem vantagens como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixo impacto ambiental, proporcionando soluções sustentáveis para diversos setores. Os nanocristais de celulose destacam-se por suas propriedades mecânicas excepcionais e têm aplicações potenciais em compósitos, embalagens e dispositivos biomédicos. Com dimensões na escala nanométrica, apresentam comprimentos variados entre algumas dezenas e centenas de nanômetros, já seu diâmetro é menor na faixa de 5 a 20 nm. Os nanocristais de celulose, conhecidos como *whiskers*, apresentam morfologias variadas que influenciam suas propriedades e aplicações. Bancos ativos de germoplasma (BAGs) são coleções de material genético utilizadas para pesquisa e conservação da diversidade genética. Os BAGs fornecem acesso a materiais biológicos com propriedades desejáveis para a síntese de nanocristais, sendo especialmente valiosos aqueles com alto teor de celulose e baixo teor de lignina e hemicelulose. Este estudo analisou o potencial de acessos dos BAGs da Embrapa para o desenvolvimento de nanocristais, utilizando o protocolo Albernaz et al. (2015) para hidrólise ácida de materiais vegetais. Sementes de cucurbitáceas e sabugos de milho foram processados de acordo com o protocolo citado, sofrendo singelas mudanças para melhores resultados. As amostras foram submetidas a caracterização por espalhamento de luz dinâmico (DLS). Os resultados mostraram que as amostras de sabugo de milho apresentaram maior potencial para a formação de nanocristais de alta pureza, com melhor dispersão e uniformidade. A importância do pH neutro para resultados mais promissores foi evidenciada. A caracterização por DLS revelou valores de Pdl entre 0,1 e 0,5 (monodispersos a moderadamente polidispersos), considerados ideais para diversas aplicações. Conclui-se que os acessos de BAGs de cucurbitáceas e sabugos de milho são promissores para a formação de nanocristais de celulose, embora estudos adicionais sejam necessários para validar a viabilidade do uso desses materiais em variadas aplicações.

**Termos para indexação:** nanocristais, BAGs, celulose, hidrólise.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Desenvolvimento de um spin-coater de baixo custo e avaliação da produção de filmes de alginato

Alessandra Maia Freire <sup>(1)</sup> e Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Filmes finos, camadas com espessuras nanométricas a micrométricas, apresentam aplicações que incluem desde dispositivos eletrônicos, embalagens da indústria alimentícia até aplicações biomédicas, adicionando diversas características relevantes a superfícies de interesse. Dentre várias técnicas de deposição para produção de filmes, *spin-coating* é considerada rápida e fácil para produzir filmes homogêneos. Ela é realizada por meio do espalhamento de um material em rotação sobre um substrato. O controle da densidade e espessura do revestimento pode ser implementado ajustando a concentração do material depositado, a velocidade e o tempo de rotação do substrato. Este estudo focou no desenvolvimento de um equipamento de *spin-coating* de baixo custo para a produção desses filmes, utilizando componentes eletrônicos comerciais, peças impressas em 3D e materiais reutilizados. O equipamento permite controlar aceleração, tempo de deposição, tempo e velocidade de rotação, oferecendo versatilidade na produção de filmes em laboratório. Com o equipamento desenvolvido, foram fabricados filmes finos de alginato de cálcio, um material biocompatível com potencial aplicação em áreas como medicina e alimentos. A técnica de *spin-coating* foi utilizada para depositar o biopolímero alginato de sódio em diferentes concentrações sobre substratos, seguido de reticulação com cloreto de cálcio. Isso possibilitou obter informações dos efeitos das concentrações do filme de alginato nas topografias e rugosidades dos filmes. A análise dos filmes por microscopia de força atômica revelou que concentrações mais baixas de alginato de sódio resultaram em filmes mais homogêneos. Posteriormente, um delineamento experimental foi realizado para avaliar a influência da velocidade e do tempo de rotação nos parâmetros dos filmes, como rugosidade e distribuição. Os resultados indicaram que o tempo de rotação tem um impacto maior na rugosidade dos filmes do que a velocidade. Foram também realizadas comparações e análises do spin-coater desenvolvido com outros equipamentos e estudos semelhantes. O estudo concluiu que o equipamento de *spin-coating* desenvolvido é uma alternativa acessível e eficiente para a produção de filmes finos em laboratório, com potencial para aplicações em diversas áreas.

**Termos para indexação:** filmes finos, microscopia de força atômica, revestimento.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Avaliação de risco de nanopartículas de dsRNA/Quitosana/TPP em abelhas do gênero *Scaptotrigona postica*

Lays Antunes Teixeira <sup>(1)</sup>, Rangel F Alves <sup>(1)</sup>, Raíre Dos Santos Cavalcante <sup>(1)</sup>, Daniele Heloisa Pinheiro <sup>(1)</sup>, Clídia Eduarda Moreira Pinto <sup>(1)</sup>, Leonardo Lima Pepino Macedo <sup>(2)</sup>, Maria Cristina Silva <sup>(3)</sup>, Carmen Silvia Soares Pires <sup>(3)</sup>, Daniel David Noriega Vasquez <sup>(1)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O agronegócio brasileiro tem sido responsável por quase metade das vendas externas e um quarto do produto interno bruto (PIB) do País. Os altos patamares atingidos se devem principalmente ao uso de tecnologias Biotech, que culminam no aumento da produção, melhoria da tolerância à déficit hídrico e de estresses bióticos, incluindo a ação de insetos-praga. O seu controle é feito, em sua expressiva maioria, por aplicação de agrotóxicos. Devido à crescente preocupação internacional com um manejo sustentável e seguro de pragas, uma técnica de controle baseada no mecanismo de RNA interferente (RNAi), que atua na regulação pós-transcricional da expressão de genes a partir da produção de RNA de fita dupla (dsRNA), apresenta grande potencial de controle. Entretanto, ainda existem algumas limitações que podem comprometer a eficiência da técnica, como por exemplo a sua estabilidade em meio externo. Em frente a estes desafios, a nanotecnologia vem sendo explorada com a produção de nanopartículas a partir de biopolímeros, encapsulando moléculas de dsRNA para potencializar sua entrega. O presente estudo teve como objetivo validar a especificidade e biossegurança de nanopartículas de dsRNA/CS/TPP desenhadas para o controle da praga de algodão *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). A análise foi feita por meio da realização de testes de toxicidade oral aguda (96h) (OECD/OCDE 213) e utilizando como modelo uma espécie de abelha polinizadora do Cerrado, *Scaptotrigona postica* (Hymenoptera: Apidae), para avaliação da taxa de mortalidade. Além da concentração equivalente utilizada na lagarta do algodoeiro (1 $\mu$ g), foram entregues também dosagens elevadas e reduzidas em 10x, com o objetivo de avaliar um possível efeito em organismos não alvo (off-target). Quando comparado ao controle positivo (Imidacloprid Nortox), que atingiu seu LC50 com 24h de exposição, demonstrou que a nanopartícula utilizada para o controle da *H. armigera* não foi capaz de causar mortalidade e efeitos subletais. A etapa é crucial antes da comercialização de um produto de aplicação tópica no meio ambiente.

**Termos para indexação:** RNAi, dsRNA, nanopartículas, biopolímeros, *off-target*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.





## Validação funcional de novos putativos efetores de *Meloidogyne incognita* via RNAi, em *Nicotiana tabacum*

João Pedro Abreu Sousa <sup>(1)</sup>, Thuanne Pires Ribeiro <sup>(1)</sup>, Lays Antunes Teixeira <sup>(1)</sup>, Luanna Pinheiro de Albuquerque Freitas Bezerra <sup>(1)</sup>, Julia Moura do Rosário <sup>(1)</sup>, Valdeir Junio Vaz Moreira <sup>(1)</sup>, Maria Eugênia Lisei de Sá <sup>(1)</sup>, Isabela Tristan Lourenço Tessutti <sup>(2)</sup>, Leonardo Lima Pepino Macedo <sup>(2)</sup>, Carolina Vianna Morgante <sup>(3)</sup>, Maria Cristina Silva <sup>(1)</sup>, Paolo Lucas Rodrigues Silva <sup>(1)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - Os nematoides parasitas de plantas representam um problema fitossanitário significativo para o cultivo de plantas de interesse agrônômico no Brasil e no mundo, causando grandes perdas econômicas. Entre as ferramentas modernas de controle de pragas, destaca-se a tecnologia de RNA interferente (RNAi), que permite o silenciamento de genes essenciais à sobrevivência dos parasitas ou de suas moléculas efectoras. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de quatro potenciais genes efectoras em modificar os estágios de desenvolvimento e o sucesso reprodutivo do nematoide *Meloidogyne incognita* em plantas de tabaco, utilizando RNAi. As plantas de tabaco foram geneticamente modificadas com quatro diferentes construções de RNAi: dsMinc\_25253, dsMinc\_21700, dsMinc\_21793 e dsMinc\_9294, apresentando uma eficiência média de regeneração de 3,60%. Na geração T0, 19 eventos de transformação foram selecionados por PCR. Na geração T1, bioensaios com herbicida glufosinato de amônio permitiram a obtenção de eventos T2, que foram posteriormente desafiados contra *M. incognita*. Os resultados foram promissores e destacam a eficácia da tecnologia de RNAi. Observou-se uma redução significativa no número de galhas e massas de ovos nas plantas transformadas: até 55,79% e 54,66% para dsMinc\_25253, 50,54% e 54,21% para dsMinc\_21700, 65,44% e 63,90% para dsMinc\_21793, e 86,79% e 86,71% para dsMinc\_9294, em comparação com as plantas não transformadas. Além disso, a expressão relativa dos quatro genes efectoras em *M. incognita* demonstrou uma redução significativa nos níveis de expressão desses genes quando os nematoides se alimentaram das plantas GM, com reduções variando entre 48% e 78% em comparação com os transcritos do controle negativo. Esses dados confirmam o silenciamento eficaz dos genes alvo. Ao reduzir significativamente a capacidade reprodutiva e o desenvolvimento dos nematoides, as plantas geneticamente modificadas mostram-se uma estratégia promissora para serem incluídas em programas de melhoramento genético e transformação de cultivares comerciais. Este avanço pode contribuir substancialmente para a proteção das culturas agrícolas, melhorando a produtividade e reduzindo as perdas econômicas associadas a esses parasitas.

**Termos para indexação:** tabaco, nematoide, resistência, dsRNA, parasitas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Expressão do gene sintético PG-PGIP, em soja, visando maior tolerância ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum*

Renan Miguel dos Anjos <sup>(1)</sup>, Júlio Carlyle Macedo Rodrigues <sup>(2)</sup>, Jessica Carrijo de Souza <sup>(1)</sup>, Monica Teresa Veneziano Labate <sup>(1)</sup>, Francisco José Lima Aragão <sup>(3)</sup>, Felice Cervone <sup>(1)</sup>, Carlos Alberto Labate <sup>(1)</sup> e Giovanni Rodrigues Vianna <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A soja (*Glycine max*), uma das principais culturas do mundo, é muito utilizada para alimentação animal e humana por ser uma grande fonte de óleo e proteína. No entanto, é susceptível a diversos fitopatógenos que causam prejuízos e exigem aplicações constante de pesticidas, aumentando os custos de produção e os danos ao meio ambiente. Dessa maneira, o desenvolvimento de plantas mais tolerantes a patógenos é uma demanda da agroindústria. Diante disso, desenvolvemos plantas transgênicas de soja expressando níveis maiores de oligogalacturonídeos (OGs), moléculas produzidas a partir da degradação da pectina capazes de ativar vias da imunidade inata das plantas, funcionando como padrões moleculares associados a danos (DAMPs). Estudos anteriores evidenciaram que uma enzima quimérica formada por uma poligalacturonase (PG) fúngica (*Fusarium phyllophilum*) fusionada com uma enzima inibidora de PGs proveniente da planta *Phaseolus vulgaris* (PGIP) é capaz de produzir OGs e induzir resistência a diferentes fitopatógenos em *Arabidopsis*. Para avaliar a hipótese de que esse gene pode induzir resistência em plantas de soja, foi construído um vetor contendo o gene sob o controle do promotor constitutivo CaMV35S. Tal vetor foi utilizado para obtenção de plantas de soja transgênicas. Um evento transgênico denominado PME-C foi selecionado (T2), análises moleculares por PCR e Southern Blot confirmaram a presença do gene quimérico. Dados de RT-PCR semi-quantitativa indicou maior expressão do transgene. Os efeitos da expressão do gene PGIP-PG no aumento a resistência à infecção fúngica foi avaliado na progênie desse evento (T3). Folhas destacadas foram inoculadas com plugues do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causador da doença mofo-branco. A área das lesões foram fotografadas em 3 diferentes tempos (24, 48 e 72 h). As áreas infectadas foram medidas com auxílio do software ImageJ. Os resultados preliminares indicaram que as plantas transgênicas apresentaram um desenvolvimento da doença reduzido se comparadas ao controle, apresentando cerca de 50% de redução da infecção. Tais eventos serão utilizados para bioensaios in vivo, e para detecção e quantificação dos OGs.

**Termos para indexação:** mofo branco, oligogalacturanóides, doenças fúngicas, tolerância a microrganismos.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Plantas de soja tolerantes ao déficit hídrico por meio da modulação da via de controle de morte celular programada induzida por estresses utilizando CRISPR/DCAS9

Luanna Pinheiro de Albuquerque Freitas Bezerra <sup>(1)</sup>, Bruno Paes de Melo <sup>(1)</sup>, Gisele Pereira Domiciano <sup>(1)</sup>, Isabela Tristan Lourenço Tessutti <sup>(2)</sup>, Fabrício Barbosa Monteiro Arraes <sup>(1)</sup>, Naiara Cordeiro Santos <sup>(1)</sup>, Nelson Geraldo de Oliveira <sup>(1)</sup>, Rosângela Vieira de Andrade <sup>(1)</sup>, Carolina Vianna Morgante <sup>(3)</sup>, Elizabeth Pacheco Batista Fontes <sup>(1)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O entendimento dos mecanismos moleculares associados à tolerância à seca são cruciais para o melhoramento genético de plantas em um cenário de mudanças climáticas. Nesse sentido, este estudo objetivou reduzir a sensibilidade de plantas ao déficit hídrico pela modulação negativa da via de morte celular programada mediada por proteínas ricas em asparagina contendo domínios de desenvolvimento e morte celular (DCD/NRP). O gene da chaperona *GmBiP*, regulador negativo dessa via, foi superexpresso em plantas de soja utilizando a tecnologia CRISPR/dCas9. Três guias de RNA (sgRNA) foram testados em sistemas de transformação transiente de folhas de tabaco e discos foliares de soja, identificando o sgRNA mais próximo ao sítio de iniciação da transcrição como o mais eficaz. Foram obtidas plantas de soja transgênicas superexpressando *GmBiP* estavelmente ao longo das gerações. Nessas plantas, houve a repressão dos genes do circuito DCD-NRP. Plantas da geração T3, em estágio R1, foram expostas a três níveis hídricos: 100%, 50% e 25% de capacidade de campo (CC). Plantas superexpressando *GmBiP* sob regulação do promotor constitutivo *pUceS8.3* (*GmBiPox*) e *wild type* (WT) foram usadas como controle. Plantas superexpressando *GmBiP* via dCas9, sob 25% de CC, apresentaram aumentos significativos de assimilação de CO<sub>2</sub> (147%), condutância estomática (57%), transpiração (45%), eficiência no uso da água (73%) e eficiência intrínseca no uso da água (59%), em comparação a plantas WT. Quando comparadas a plantas *GmBiPox*, plantas superexpressando *GmBiP* via dCas9 também apresentaram valores superiores das variáveis analisadas e ainda um perfil mais refinado na modulação dos genes do circuito DCD-NRP, com maior repressão associada ao aumento da expressão de *GmBiP*. Portanto, a superexpressão de *GmBiP*-dCas9 mostra-se promissora para mitigar os efeitos do déficit hídrico severo, reforçando, de forma inédita, o potencial da tecnologia CRISPR/dCas9 na melhoria da tolerância à seca em culturas como a soja.

**Termos para indexação:** *Glycine max*, CRISPRa, seca, estresse do retículo endoplasmático, *GmBiP*.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Perfil de metilação do DNA em células doadoras de núcleo para a clonagem por transferência nuclear

Amanda Oliveira Moura<sup>(1)</sup>, Alexandre Rodrigues Caetano<sup>(2)</sup>, Rodolfo Rumpf<sup>(3)</sup> e Mauricio Machaim Franco<sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisador Diretor, Empresa General Genética e Biotecnologia Animal, Uberaba, MG.

**Resumo** - A TNCS (Transferência Nuclear de Células Somáticas) ou clonagem é uma importante biotécnica da reprodução que possui uma baixa eficiência, cerca de 1-2% dos embriões transferidos nascem a termo. Isso se deve a uma incorreta reprogramação epigenética no desenvolvimento embrionário inicial. Nessa janela do desenvolvimento as duas ondas de reprogramação da metilação do DNA estão comprometidas, afetando a qualidade do embrião. Algumas células doadoras possuem maior sucesso na clonagem do que outras. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar o padrão de metilação do DNA de genes importantes no desenvolvimento embrionário e fetal em células doadoras com alta e baixa eficiência na clonagem. Foram avaliados quatro genes em fibroblastos de pele de três animais doadores de cada grupo (alta e baixa eficiência na clonagem), utilizando metodologia previamente descrita pelo nosso grupo no Laboratório de Reprodução Animal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Encontramos diferenças no padrão de metilação dos genes IGF2R e em parte de uma ilha CpG do gene OCT4, para os quais as células com alta eficiência na clonagem estavam mais metiladas em comparação com as células de baixa eficiência. Nossos resultados confirmam que a eficiência da clonagem está relacionada ao perfil de metilação do DNA das células doadoras de núcleo e que os perfis de metilação para os genes IGF2R e OCT4 são candidatos a marcadores moleculares para a eficiência da clonagem.

**Termos para indexação:** clonagem, bovinos, metilação de DNA.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Avaliação da fisiologia ovariana em diferentes categorias de ovelhas Santa Inês utilizando protocolo curto de sincronização de estro

Jéssica Drechmer <sup>(1,3)</sup>, Ana Flávia Neves de Souza Alves <sup>(1)</sup>, Lucas Bernardes da Fonseca <sup>(1)</sup>, Alexandre Floriani Ramos <sup>(2)</sup> e Bianca Damiani Marques Silva <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Pós-graduando, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

**Resumo** - Os protocolos de sincronização de estro, amplamente utilizados em programas de IATF, devem sincronizar a ovulação da maioria das fêmeas para obter boas taxas de prenhez, desta forma tornando-se necessário compreender a fisiologia ovariana das ovelhas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a fisiologia ovariana de diferentes categorias de ovelhas Santa Inês submetidas a protocolo curto de sincronização de estro, para determinar o melhor horário para IATF. Foram realizados dois experimentos. Experimento 1 (n=37): foi observado o comportamento da fisiologia ovariana em três categorias de fêmeas (solteiras, borregas e desmame), utilizando o protocolo de sincronização de estro com 7 dias de permanência do dispositivo de progesterona (P4), na retirada foi aplicado prostaglandina e gonadotrofina coriônica equina. As avaliações da fisiologia ovariana foram realizadas com auxílio de ultrassonografia. As ovelhas foram avaliadas no dia da retirada do dispositivo de P4 (D7) identificando os folículos com diâmetro = 3 mm e a presença de corpo lúteo (CL), a partir do D8 as avaliações ocorreram de 8 em 8 horas até a ovulação. Experimento 2 (n=59): foi realizado o protocolo curto semelhante ao experimento 1 para sincronização de estro em duas categorias de ovelhas borregas (n=15) e múltiparas (n= 44), IATF por laparoscopia com sêmen congelado ocorrendo com 56 horas. O resultado do experimento 1 as ovelhas tiveram a maior constância da ovulação em todas as categorias com média de 56 horas, por isso foi determinado que a IATF ocorresse com 56 horas. O diagnóstico de gestação ocorreu 30 dias após a IATF, obteve-se a taxa geral de prenhez de 47,45% (28/59), a categoria de borregas obtiveram a maior taxa de prenhez (80%, 12/15) comparado com as múltiparas (36,36%, 16/44). O conhecimento do momento de maior ocorrência da ovulação em protocolos de sincronização de estro nas diferentes categorias demonstrou que, ajustando o horário da IATF com sêmen congelado foi possível obter maiores taxas de prenhez.

**Termos para indexação:** ovulação, taxa de prenhez, ultrassonografia.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Análise da expressão gênica diferencial de *Spodoptera frugiperda* em resposta a diferentes plantas hospedeiras de relevância na agricultura

Raíre Dos Santos Cavalcante <sup>(1)</sup>, Daniel David Noriega <sup>(1)</sup>, Priscila Grynberg <sup>(2)</sup>, Roberto Coiti Togawa <sup>(3)</sup>, Fabrício Barbosa Monteiro Arraes <sup>(1)</sup>, Muhammad Faheem <sup>(1)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, <sup>(3)</sup> Analista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) é uma praga agrícola de grande relevância para a economia do Brasil, especialmente em plantações de milho, mas também afetando sorgo, arroz, algodão e gramíneas. Métodos de controle atuais incluem inseticidas sintéticos, baculovírus e plantas GM que expressam toxinas de *Bacillus thuringiensis* (Bt), mas enfrentam limitações como sustentabilidade limitada, ação lenta, e populações resistentes, respectivamente para cada método. Uma alternativa promissora é a tecnologia de RNA interferente (RNAi), que é capaz de reduzir a expressão de genes essenciais para a sobrevivência do inseto de forma altamente específica. A seleção e validação de genes letais e com potencial de se tornar bioativos é uma etapa fundamental do RNAi aplicado ao controle de pragas. Este estudo visa identificar algumas das bases moleculares que permitem à lagarta-do-cartucho infestar múltiplas culturas. Analisando a *S. frugiperda* alimentada com milho e algodão, identificamos famílias gênicas e processos fisiológicos que sustentam seu comportamento polífago, além de genes alvo para RNAi e receptores de toxinas Bt, oferecendo alternativas para desenvolver soluções biotecnológicas sustentáveis e eficazes. Ovos de *S. frugiperda* foram incubados em condições controladas, e larvas de segundo instar foram alimentadas com milho, algodão e dieta artificial. RNA total foi extraído e sequenciado na plataforma Illumina HiSeq 4000. As leituras de cDNA foram filtradas e alinhadas ao genoma de *S. frugiperda*, disponível no NCBI. Depois, a análise de expressão diferencial foi realizada usando os softwares Kallisto e EdgeR. Finalmente, mediante anotação e análise de enriquecimento de termos de Gene Ontology (GO), genes alvo com potencial para o controle da praga foram identificados avaliados estruturalmente *in silico*.

**Termos para indexação:** expressão gênica diferencial, *Spodoptera frugiperda*, plantas hospedeiras, relevância agrícola, análise genética, lagarta-do-cartucho, praga agrícola, resistência a inseticidas.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Plantas de algodão geneticamente modificadas com redução da suscetibilidade a nematoides formadores de galhas e à seca

Sara Vitorino da Rocha Lemes <sup>(1)</sup>, Joaquin Paixao <sup>(1)</sup>, Raíre dos Santos Cavalcante <sup>(1)</sup>, Maria Eugenia Lisei de Sa <sup>(1)</sup>, Carolina Vianna Morgante <sup>(2)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - As plantas, como organismos sésseis, estão expostas a diferentes estresses simultaneamente. Neste trabalho, desenvolvemos uma estratégia biotecnológica como solução para dois estresses que causam grandes perdas econômicas ao agronegócio: o ataque por nematoides formadores de galhas (NFG), do gênero *Meloidogyne*, e a seca. Ao infectarem as raízes, NFG interferem na translocação de água e nutrientes causando menor desenvolvimento e, conseqüentemente, menor produtividade. Já o atual cenário de mudanças climáticas vem acentuando a ocorrência de fenômenos climáticos extremos como a seca, o principal fator ambiental que causa perda de produtividade. Neste estudo, uma forma constitutiva do gene de *Arabidopsis thaliana* AtAREB1, (Abscisic acid-Responsive Element Binding protein 1), um regulador positivo da resposta ao déficit hídrico em plantas, foi superexpressa em plantas de algodão, também transformadas para a produção de moléculas de dsRNA, tendo como alvo o gene essencial que codifica o fator de *splicing* (*Mi-fs*) de *Meloidogyne incognita*, para silenciamento via RNAi. Selecionamos três eventos independentes de transformação que, na geração T3, foram desafiados à seca. Essas plantas apresentaram menor perda de biomassa e menor redução na fotossíntese sob déficit hídrico, em comparação a plantas não transformadas (NT). Já quando desafiadas com *M. incognita*, apresentaram uma redução de 42,0 a 56,0% do fator de reprodução e de 32,0% a 54,0% no número de ovos dos nematoides, comparados às NTs. O silenciamento de *Mi-fs* em nematoides infectando as plantas transgênicas foi de até 67,0%. Os resultados demonstram, de forma inédita, o sucesso na piramidação de fatores contra o déficit hídrico e ao ataque de fitonematoides em plantas de algodão, evidenciando o potencial da biotecnologia agrícola para o melhoramento genético de plantas.

**Termos para indexação:** RNAi, *Gossypium hirsutum*, *Meloidogyne incognita*, nematoide, seca.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Método diagnóstico para influenza aviária e programa para processamento automatizado de dados fluorimétricos

Pedro Felipe de Sousa Queiroz <sup>(1,2)</sup>, Sophia Garcia de Resende <sup>(2)</sup>, Miguel Cunha Nunes <sup>(2)</sup>, Guilherme Barbosa Miranda Grijó <sup>(2)</sup>, Thiago Rabelo Lima <sup>(2)</sup>, Ernesto Breciani dos Santos Marques Taveira <sup>(2)</sup>, Priscila Grynberg <sup>(3)</sup>, Roberto Coiti Togawa <sup>(4)</sup> e Cintia Marques Coelho <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Laboratório de Biologia sintética, Universidade de Brasília, Brasília, DF. <sup>(3)</sup> Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(4)</sup> Analisa, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A gripe aviária, causada pelo vírus H5N1 da família Orthomyxoviridae, tem afetado gravemente tanto humanos quanto aves, resultando em altas taxas de mortalidade. Mamíferos também estão suscetíveis à infecção. O Brasil, como o segundo maior produtor mundial de frango, está em estado de alerta declarado pelo MAPA após a confirmação de casos da doença. O monitoramento e diagnóstico precoce são cruciais para a implementação de medidas de controle eficazes. Métodos tradicionais, como PCR e ELISA, embora eficazes, são caros e exigem equipamentos complexos, limitando a testagem em massa, especialmente em países com grandes populações, como o Brasil. O método diagnóstico proposto utiliza ribozimas e FRET-HCR e visa superar as limitações anteriores ao proporcionar um teste rápido, eficiente e de fácil manuseio, livre de enzimas. Facilitando sua distribuição em um país de dimensões continentais como o Brasil. O método já foi testado e está em validação, demonstrou capacidade de identificar partículas virais em concentrações abaixo de picomoles, com perspectivas de redução do limiar de especificidade. Todavia é necessário desenvolver um programa computacional capaz de analisar de forma automatizada os dados gerados por espectrofotômetros, simplificando a interpretação dos resultados obtidos. O programa computacional em desenvolvimento é essencial para a análise automatizada dos dados gerados por espectrofotometria, simplificando a interpretação dos resultados. Este programa é escrito na linguagem de programação Python. A interface utiliza a biblioteca gráfica Streamlit, guiando o usuário passo a passo e minimizando erros no processamento. As análises estatísticas são realizadas com as bibliotecas Pandas e Numpy, permitindo cálculos precisos de proporcionalidade entre curvas, permitindo analisar se há diferenças significativas entre o controle e as amostras. Atualmente, o programa está em fase final de desenvolvimento e será distribuído para testagem entre os pesquisadores e colaboradores. Essa inovação tem um potencial significativo para melhorar o rastreamento de animais contaminados e o controle da dispersão viral, facilitando a adoção de medidas profiláticas governamentais.

**Termos para indexação:** gripe aviária, diagnóstico rápido, ribozimas, programação, python, monitoramento viral.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.





# Biobalística como sistema de entrega integrases expressas por vetor viral baseado no *Potato virus X* (PVX) para ativação do gene GFP em plantas de *Nicotiana benthamiana* geneticamente modificadas

Nicole Vieira Prado <sup>(1)</sup>, Mariana Martins Severo de Almeida <sup>(1)</sup>, Marco Antônio de Oliveira <sup>(1)</sup>, Cristiano Castro Lacorte <sup>(2)</sup> e Elibio Rech <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A investigação das interações entre vírus e hospedeiros tem impulsionado significativos avanços na biotecnologia aplicada à edição de genomas vegetais, abrindo novas perspectivas para a engenharia genética de plantas. Entre essas inovações, destacam-se as recombinases do grupo das serinas integrases, associadas a funções biológicas em vírus, bactérias, cianobactérias e leveduras. Essas recombinases, por serem sítio-específicas, realizam a recombinação de sequências de DNA através do reconhecimento de sítios específicos (40-60 bp). Quando esses sítios de reconhecimento flanqueiam uma sequência genética é possível ativar ou desativar genes, o que torna as integrases ferramentas essenciais para a regulação de circuitos genéticos in vivo. Neste projeto, foi testada a ativação de um circuito genético no cromossomo de plantas de *Nicotiana benthamiana* geneticamente modificadas, que contêm sítios de reconhecimento de integrases flanqueando o gene GFP em orientação invertida. Utilizou-se a biobalística para a entrega da integrase 9, expressa por um vetor viral baseado no *Potato virus X* (PVX), para flipagem do gene GFP no cromossomo da planta. A detecção da flipagem foi realizada através de microscopia, para visualizar a fluorescência do GFP e por meio de PCR. A confirmação dos resultados será feita por sequenciamento dos fragmentos de PCR. Este estudo visa demonstrar a eficácia das serinas integrases na modulação de circuitos genéticos em plantas, utilizando sistema de biobalística para entrega de gene e expressão por meio de vetor viral, fornecendo uma base sólida para futuras aplicações em biotecnologia vegetal e edição de genomas. O próximo passo do trabalho é testar a ativação do gene GFP pela integrase 13, utilizando o mesmo processo de entrega e expressão do gene.

**Termos para indexação:** engenharia genética, *potato virus x*, vetor viral, GFP, integrases.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Validação in planta do gene GmNBS no controle de fitonematoides formadores de galhas na cultura da soja

Naiara Cordeiro Santos <sup>(1)</sup>, Isabela Tristan Lourenço-Tessutti <sup>(2)</sup>, Luanna Pinheiro de Albuquerque Freitas Bezerra <sup>(1)</sup>, Carolina Vianna Morgante <sup>(2)</sup> e Maria Fátima Grossi de Sá <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadoras, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A soja ocupa papel de destaque na agricultura global, com o Brasil liderando sua produção. A aplicação de biotecnologia e técnicas avançadas de melhoramento genético é essencial para resolver desafios agrícolas, como o manejo de pragas, como os nematoides formadores de galhas (NFG) do gênero *Meloidogyne*. NFG são altamente danosos à soja, comprometendo severamente o sistema radicular ao induzir a formação de células gigantes de alimentação especializada. Estudos de mapeamento genético com populações biparentais identificaram uma região no cromossomo 13 com genes altamente homólogos aos principais genes de resistência (NBS-LRR). O gene *Glyma.13g194700* (*GmNBS*), contendo domínios completos TIR-NBS-LRR (TIR, NB-ARC e LRR), mostrou regulação negativa no genótipo PI 595099 altamente tolerante e positiva no genótipo suscetível BRS 133 um dia após a infecção por *M. javanica*, sugerindo sua associação com suscetibilidade a NFG. Isso motivou a validação funcional do gene *GmNBS* como um fator de suscetibilidade em soja, utilizando um sistema de transformação de raízes *in planta* induzidas por *Agrobacterium rhizogenes*, a partir de folhas destacadas, para a superexpressão ou silenciamento do gene alvo. Neste estudo, foi empregada a técnica CRISPR/dCas9 para a superexpressão do gene *GmNBS* endógeno. Foram desenhados RNAs guias (gRNAs) com alvos na região promotora do gene e clonados no sistema CRISPR Act3.0. Após confirmadas por sequenciamento, as construções gênicas foram usadas para a transformação de raízes, resultando em uma eficiência de transformação de 78%. As raízes induzidas foram coletadas uma a uma para a extração de RNA total e síntese de cDNA. Está em avaliação da expressão de *GmNBS* nas raízes transformadas. O sistema de validação funcional de genes aqui em desenvolvimento tem grande potencial para oferecer dados robustos para o avanço no desenvolvimento de variedades de soja menos suscetíveis a fitonematoides.

**Termos para indexação:** *Meloidogyne* spp, Genes NBS-LRR, CRISPR/dCas, Expressão gênica, Soja.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



## Avaliação da puberdade em ovinos macho Santa Inês e Bergamácia

Ana Flávia Neves de Souza Alves <sup>(1)</sup>, Jéssica Drechmer <sup>(1)</sup>, Lucas Bernardes da Fonseca <sup>(1)</sup>, Alexandre Floriani Ramos <sup>(2)</sup> e Bianca Damiani Marques Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - A puberdade é o processo pelo qual um indivíduo adquire a capacidade de se reproduzir, influenciada por diversos fatores, porém o mais importante é o peso corporal. Autores afirmam que é necessário atingir entre 50 e 70% do peso adulto para entrar em puberdade. Indivíduos de raças utilizadas no rebanho brasileiro, Santa Inês e Bergamácia Brasileira, possuem características diferentes de conformação e peso corporal do macho adulto. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o início da puberdade em machos ovinos da raça Santa Inês e Bergamácia Brasileira. Foram utilizados 16 machos ovinos, 6 Bergamácia Brasileira e 10 da raça Santa Inês, aos 90 dias de vida eram apartados das mães iniciavam-se as avaliações: peso corporal, circunferência escrotal, largura e altura de testículo e coleta de sêmen. Ao apresentar espermatozoides no ejaculado, iniciava-se a avaliação do sêmen incluindo motilidade, vigor, concentração e patologia espermática. Obteve-se os seguintes resultados, na raça Santa Inês: média para idade à puberdade de  $250 \pm 29,66$  dias, peso corporal  $32,8 \pm 1,78$  kg e  $28,3 \pm 2,64$  cm de circunferência escrotal. Nos parâmetros espermáticos a motilidade foi  $75,00 \pm 16,83$  %, vigor  $2,78 \pm 0,63$ , e patologias espermáticas  $0,33 \pm 0,94$ %. Nos animais da raça Bergamácia Brasileira a média para a idade a puberdade foi de  $263,17 \pm 57,55$  dias, peso corporal médio de  $31,17 \pm 3,42$  kg, circunferência escrotal média de  $24,42 \pm 1,97$  cm e nos parâmetros espermáticos motilidade  $66,67 \pm 8,98$  %, vigor médio de  $2,50 \pm 0,50$ , concentração média  $108,33 \pm 51,99 \times 10^6$  e patologia de  $3,80 \pm 4,66$ %. Quando se comparou as duas raças Bergamácia Brasileira e Santa Inês, a única diferença que foi possível identificar foi a circunferência escrotal. Portanto animais da raça Santa Inês e Bergamácia Brasileira no Distrito Federal atingem a puberdade em média com 8 meses de idade e peso aproximado de 32 kg. Em ambas as raças os animais atingiram a puberdade sem atingir pelo menos 50% do peso de um animal adulto.

**Termos para indexação:** Carneiro, Maturidade sexual, Sêmen.

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.



# Manejo de insetos-praga: nanoemulsões de óleos essenciais como potenciais bioinsumos agrícolas sustentáveis

Alice Gonçalves Vieira <sup>(1)</sup>, e Luciano Paulino da Silva <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

**Resumo** - O aumento da população humana é acompanhado do consumo vertiginoso de agrotóxicos que possibilitam a produção de alimentos nessa escala. Desde a Revolução Verde, compostos químicos têm sido incorporados na produção agrícola mundial, comumente de forma indiscriminada. Enquanto esses agentes garantem a produção de produtos agrícolas em maior quantidade, eles podem ser nocivos à saúde humana e ao meio ambiente. Ingestão de resíduos de agrotóxicos, intoxicação de trabalhadores do campo, contaminação de solo e corpos d'água e seleção de insetos resistentes são alguns dos ônus ocasionados pelo uso desregrado dessas substâncias. A ocorrência desses fatores fomenta a demanda por soluções tecnológicas sustentáveis. Dentro desse contexto, a nanobiotecnologia é um campo de pesquisa inovador e com possibilidades múltiplas para a solução dessa problemática. Este estudo visa formular nanoemulsões (NEs) à base de óleos essenciais (OEs) que apresentam ação repelente de insetos conhecida. Para o desenvolvimento deste estudo, foram escolhidos os OEs de alecrim e de melaleuca por suas atividades biológicas contra diversos insetos-praga. Para favorecer a formação de gotículas nanométricas, o método empregado foi o de alta energia, por meio do uso do ultrassonicador de ponteira. Formulações compostas por OE (excetuando-se na NE controle), óleo de cártamo, surfactantes e água ultrapura foram acondicionadas em diferentes temperaturas (4°C e 25°C) e por diferentes períodos de tempo (1, 3, 7 e 15 dias). Em geral, os parâmetros avaliados não infringiram diferenças significativas no diâmetro hidrodinâmico (DH) médio (DH<100 nm) e no índice de polidispersividade (Pdl) médio (Pdl<0,400) das amostras. O tempo e a temperatura de acondicionamento afetaram o potencial Zeta das formulações, contudo, esse apresentou a tendência de diminuir após 15 dias, atingindo até -57,7 mV, indicativo de excelente estabilidade coloidal. As NEs obtidas são de monodispersas a levemente polidispersas, de tamanho nanométrico e coloidalmente estáveis. Devido às suas características nanotecnológicas satisfatórias, as NEs formuladas se apresentam como soluções inovadoras e promissoras na aplicação como bioinsumos para controle de pragas agrícolas.

**Termos para indexação:** Repelente natural, *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus Officinalis*, Insetos-praga, Nanoemulsão, Bioinsumo sustentável,

Trabalho realizado com apoio financeiro do Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal - FAPDF, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.







MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA E  
PECUÁRIA