

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE**  
**QUEIROZ"**

**PROGRAMA ESPECIAL DE TREINAMENTO EM**  
**AGRONOMIA - BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**  
**SECRETARIA DE ENSINO SUPERIOR DO**  
**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**

**RELATÓRIO ANUAL XIII**  
**DEZEMBRO/2000**

# **RELATÓRIO ANUAL DE ATIVIDADES PET-BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**PERÍODO: 01 / Janeiro a 31 / Dezembro de 2000**

**Tutor: Flavio Cesar Almeida Tavares**

**Bolsistas:**

**Adriano Reis Lucheta**

**Alessandra Regina Staffocker**

**Aline Silva Romão**

**André de Sousa e Silva**

**Carlos Armando Soncin**

**Dalton Luís Ribeiro dos Santos**

**Daniel Macedo Abbud**

**Eric Franchi Leonardo**

**Raquel Arantes Ferracuti**

**Ricardo Kazuo Yamamoto**

**Rodrigo Mendes**

**Simeire Aparecida Manarin**

**Colaboradores:**

**Aline Vitti**

**Ana Paula Matoso Teixeira**

**Carmo Augusto Lara Poloni**

**Éverton Yoshiaki Hiraoka**

**Fábio Henrique Bicudo da Silva**

**Leonardo Rangel Carraro**

**Marcus Vinícius Furlan Brioni**

**Maria Carolina Quecine**

**Max Francisco Fernandes**

**Oscar César Müller Queiroz**

**Vanderlei Aparecido Varisi**

**Zayame Vegette Pinto**

# ÍNDICE

1. IDENTIFICAÇÃO DO GRUPO PET.....	3
RESUMO DAS ATIVIDADES REALIZADAS PELO GRUPO: .....	3
ESTRUTURA FÍSICA .....	4
2. INFORMAÇÕES SOBRE OS BOLSISTAS .....	4
2.1. DESEMPENHO NO CURSO DE GRADUAÇÃO .....	4
2.2. DESEMPENHO NAS ATIVIDADES DO PROGRAMA ESPECIAL DE TREINAMENTO - PET ..	5
2.3. DESLIGAMENTOS E INSERÇÕES DE NOVOS BOLSISTAS .....	6
BOLSISTAS DESLIGADOS .....	6
BOLSISTAS SUBSTITUTOS .....	6
2.4. PERÍODO DE FÉRIAS DAS ATIVIDADES DO PET .....	7
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS PELO GRUPO PET .....	8
3.1. REUNIÕES ADMINISTRATIVAS .....	8
3.2. SEMINÁRIOS/CONFERÊNCIAS/PALESTRAS .....	177
<i>Tema: Mecanismo de variabilidade genética em fitopatógenos</i> .....	199
3.3. PARTICIPAÇÃO EM CONGRESSOS .....	20
3.4. PESQUISA .....	21
3.5. CURSOS EXTRA CURRICULARES.....	23
3.6. VISITAS A INSTITUTOS, CENTROS DE PESQUISA, EMPRESAS. ETC. ....	233
3.7. PUBLICAÇÕES EM BOLETINS, PERIÓDICOS, ANAIS E CONGRESSOS .....	244
3.8. ESTUDO DE LÍNGUA ESTRANGEIRA .....	244
3.9. LEITURAS EXTRA-CURRICULARES.....	266
3.10 .....	33
4. AVALIAÇÃO .....	333
4.1. APRECIÇÃO QUALITATIVA DO GRUPO SOBRE: .....	333
4.2. ACOMPANHAMENTO INTERNO DOS GRUPOS PET/CAPES.....	355
4.3. SUGESTÕES DO GRUPO PARA APRIMORAR A QUALIDADE DO DESEMPENHO DO PRÓPRIO GRUPO E DO PROGRAMA ESPECIAL DE TREINAMENTO, VISANDO TORNÁ-LOS MAIS EFICAZES E EFICIENTES. ....	366
5. INFORMAÇÕES SOBRE OS EX-BOLSISTAS .....	366
6. ANEXOS .....	388

## 1. IDENTIFICAÇÃO DO GRUPO PET

**IES:** Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ/USP - UF: SP

**GRUPO:** PET - Biotecnologia Agrícola

**IMPLANTAÇÃO DO GRUPO :** Fevereiro de 1988

**TUTOR:** Prof. Dr. Flavio Cesar Almeida Tavares

**RELATÓRIO :** XIII                    **PERÍODO:** Janeiro a Dezembro/2000

### RESUMO DAS ATIVIDADES REALIZADAS PELO GRUPO:

- a) Apresentação do grupo para os novos alunos – Semana de integração, no Anfiteatro do Departamento de Engenharia Rural, ESALQ/USP, dia <sup>03</sup>25/02/2000
- b) Organização da VI Reunião Pró - Aprendizagem Ativa: "Perspectivas Profissionais para o século XXI", no Anfiteatro do Maracanã, ESALQ/USP, no dia 27/05/2000.
- c) Apresentação da Área de concentração em Biotecnologia Agrícola – Anfiteatro da Genética, 7/06/2000.
- d) Seminários Internos do Grupo PET – Biotecnologia Agrícola, na Sala de Seminários do Departamento de Genética, Junho a Dezembro de 2000 .
- e) Seleção de novos bolsistas, setembro/2000.
- f) Participação no 16º Encontro Sobre Temas de Genética e Melhoramento, no Anfiteatro do Departamento de Genética, ESALQ/USP, dias 13 e 14/10/00
- g) Organização do IX CAB – Curso de Atualização em Biotecnologia, no Anfiteatro do Departamento de Genética, ESALQ/USP, dia 08/11/2000.

## ESTRUTURA FÍSICA

Três salas, sendo uma para reuniões e seminários, contendo mesa com 15 cadeiras, quadro negro, retro-projetor, ar condicionado, computador pentium e uma impressora, outra servindo como depósito de materiais e arquivo, e a terceira desativada temporariamente.

## 2. INFORMAÇÕES SOBRE OS BOLSISTAS

### 2.1. Desempenho no curso de Graduação

#### a) Quadro de Relação Nominal

Nome do Bolsista	Ingresso no PET		Semestre em curso	NOTA Média Geral
	Mês / Ano	Semestre/ Graduação		
Adriano Reis Lucheta	Mar/99	5º	9º	7,4
Alessandra Regina Staffocker	Set/00	2º	3º	7,4
Aline Silva Romão	Set/00	2º	3º	9,0
André de Sousa e Silva	Set/98	2º	5º	6,7
Carlos Armando Soncin	Set/00	2º	3º	7,4
Dalton Luís R. dos Santos	Set/00	2º	3º	6,4
Daniel Macedo Abbud	Mar/99	3º	7º	6,4
Eric Franchi Leonardo	Mar/99	3º	7º	6,6
Raquel Arantes Ferracuti	Set/00	2º	3º	6,7
Ricardo Kazuo Yamamoto	Set/00	2º	3º	7,1
Rodrigo Mendes	Set/98	2º	7º	7,8
Simeire Aparecida Manarin	Mai/99	3º	7º	6,2

a.1) Desempenho Acadêmico na Graduação

**Médias dos alunos**

Nome do Bolsista	Médias		
	1º 2000	2º 2000	Geral
Adriano Reis Lucheta	7,66	7,97	7,4
Alessandra Regina Staffocker	7.2	7,68	7,4
Aline Silva Romão	9.0	9,0	9,0
André de Souza e Silva	6,8	7,1	6,7
Carlos Armando Soncin	7.5	7,38	7,4
Dalton Luís R. dos Santos	6.3	6,4	6,4
Daniel Macedo Abbud	6,54	6,61	6,4
Eric Franchi Leonardo	6,49	7,0	6.8
Raquel Arantes Ferracuti	7.2	5,63	6,7
Ricardo Kazuo Yamamoto	7.8	6,48	7,1
Rodrigo Mendes	8,03	7,75	7,8
Simeire Aparecida Manarin	6,22	5,83	6,2

b) Justificativa para o declínio no rendimento do grupo e/ou de um bolsista em particular:

Não houve declínio significativo do rendimento dos bolsistas.

**2.2. Desempenho nas atividades do Programa Especial de Treinamento - PET**

a) Relatório de cada bolsista no período, em termos de participação/produção quantitativa nas atividades desenvolvidas pelo grupo.

<b>Nome do Bolsista</b>	<b>% de participação/produção</b>
Adriano Reis Lucheta	96
Alessandra Regina Staffocker	96
Aline Silva Romão	97
André de Souza e Silva	96
Carlos Armando Soncin	97
Dalton Luís R. dos Santos	97
Daniel Macedo Abbud	96
Eric Franchi Leonardo	97
Raquel Arantes Ferracuti	96
Ricardo Kazuo Yamamoto	96
Rodrigo Mendes	96
Simeire Aparecida Manarin	96

### 2.3. Desligamentos e inserções de novos bolsistas

Houve desligamento e seleção de novos bolsistas neste período, como ilustra o quadro abaixo.

a) Nomes dos bolsistas desligados e seus respectivos substitutos.

<b>Bolsistas Desligados</b>	<b>Bolsistas Substitutos</b>
Ana Paula Matoso Teixeira	Alessandra Regina Staffocker
Carolina Bueno de Abreu	Aline Silva Romão
Éverton Yoshiaki Hiraoka	Carlos Armando Soncin
Fábio Henrique Bicudo da Silva	Raquel Arantes Ferracuti
Juliana Abreu Giacomeli	Dalton Luis Ribeiro dos Santos
Zayame Vegette Pinto	Ricardo Kazuo Yamamoto

- b) Parecer do professor tutor sobre os benefícios e prejuízos para o rendimento acadêmico e a dinâmica do grupo.

O Grupo PET Agronomia – Biotecnologia Agrícola, diante da renúncia da CAPES em continuar patrocinando o Programa PET, adotou postura madura e de confiança em relação ao seu futuro. Posteriormente, depois de uma mobilização nacional, acreditou-se na continuidade do programa amparado pela SESU. Apesar do profundo efeito negativo causado pela incerteza e pela falta de resposta da SESU, as atividades foram conduzidas a contento, o que não quer dizer sem problemas. Estes foram muitos e demandaram um grande esforço do grupo para a sua superação. Alguns membros do grupo, pessoas que vinham participando a mais de dois anos e que conviveram com o problema criado pela CAPES, terminaram por desistir do Programa. Outros no entanto foram motivados, principalmente por acreditar no retorno que trás a participação no PET, para o incremento do capital intelectual, das vivências e oportunidade de desenvolvimento com o trabalho em grupo. Com isto, alguns alunos se destacaram, participando mais ativamente diante do desafio da autonomia para o gerenciamento das atividades, já que sem o patrocínio visível das instituições. Evidenciando os compromissos e as facilidades proporcionadas pela ESALQ, para a continuidade do grupo e atuando com os alunos mais experientes como “pontos de apoio” no auxílio da conscientização do grupo e na gestão das atividades, destacamos que o seu desempenho foi excepcional, evidenciando de modo cabal o valor do programa na formação de pessoal competente. A oportunidade de maior dada aos alunos, teve um reflexo muito positivo de agregação do grupo em defesa dos objetivos, dos ideais petianos e do reconhecimento do valor do programa, apesar das decepções causadas pela CAPES e indefinições da SESU.

#### **2.4. Período de férias das atividades do PET**

Início: 1 de janeiro de 2001.

Término: 1 de fevereiro de 2001.

### 3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS PELO GRUPO PET

#### 3.1. Reuniões Administrativas

#### JANEIRO

#### ATIVIDADES EM ANDAMENTO:

- a) rodada de idéias, sugestões e críticas, com discussão de sugestões quanto ao desempenho do grupo, avaliação de propostas visando o crescimento do grupo e o crescimento pessoal;
- b) atividades de organização do Reunião Pró – Aprendizagem Ativa (RPAA), seleção das equipes responsáveis (temas, convidados, datas para fechamento dos trabalhos das equipes), atividade com prioridade em abril, data da Reunião: 27/5/2000;
- c) revisão do relatório anual e compromisso com a data limite para seu envio;
- d) idéias para o trote educacional e participação na semana de integração (21 a 26/2);
- e) temas e textos indicados pelo tutor, para revisão no dia 17/2;
- f) organização da revisão de literatura, com seleção de temas e planejamento para organização de mini-curso de atualização em Biotecnologia;
- g) levantamento de empresas e instituições que se dedicam à Biotecnologia, para futuros contatos;
- h) agendamento de visitas técnicas;
- i) seminários semanais de fevereiro;
- j) organizar e discutir os temas do curso de oratória;
- k) reunião com alunos da pós – graduação em março;
- l) datas limite para revisão de resumos para participação em congressos;
- m) aproveitar temas de revisão de literatura das disciplinas de graduação e melhorar para publicação/divulgação, data limite: 30/6;
- n) congressos de julho: Simpósio de Iniciação Científica, Londrina e SBPC;
- o) semana de seminários de julho e agosto, concluir preparo do curso de Atualização em Biotecnologia (CAB) em julho;
- p) visitas técnicas de setembro, disciplina de conhecimentos básicos e visita técnica, sugestões para a programação 2001;

- q) outubro: atividade concentrada para realização do CAB em novembro;
- r) seminários de dezembro, relatório e planejamento 2001.

- 24/01/2000 Pauta: Sugestões para a Programação do ano 2000  
Participantes: Ana, Simeire, Juliana, Fábio, Carolina, Rodrigo, Daniel, Eric, André, Max, Adriano, Zayame, prof. Flávio  
Duração:2h.
- 25/01/2000 Pauta: Organização da Programação para o ano 2000  
Participantes: Ana, Simeire, Juliana, Fábio, Carolina, Rodrigo, Daniel, Eric, André, Max, Adriano, Zayame, prof. Flávio  
Duração:3h.

## FEVEREIRO

### ATIVIDADES EM ANDAMENTO:

- a) medidas para elaboração de questionário sobre Biotecnologia para a Semana de Integração e organização das equipes para apresentação do Grupo Pet Agronomia – Biotecnologia Agrícola;
- b) reunião e agendamento para 8/2 da reunião do Grupo no CIEE, oportunidades de estágio e cooperação, definições para atendimento do convite ao CIEE para participar da Reunião Pró Aprendizagem Ativa (RPAA);;
- c) início do ciclo de estudos e discussão dos textos indicados pelo tutor;
- d) orientação dos alunos para agendar visitas técnicas à Coopersucar, Usinas Iracema e Costa Pinto, Instituto de Citricultura Silvio Moreira;
- e) planejamento das atividades de participação no AgriShow, sugestões de atividades à comissão da ESALQ: fermentação, análises moleculares, anticorpos monoclonais e biotecnologia vegetal;
- f) horários individuais de disciplinas a cursar e tempo disponível, distribuição de estágios e atividades;
- g) detalhamento da participação na semana de integração;
- h) definição dos ciclos de estudo
- i) continuação dos contatos para informações quanto a bolsa de estudos, organização visando o atraso das bolsas e de recursos para as atividades.

- 27/01/2000 Pauta: Elaboração dos tópicos do roteiro para o Estudo Dirigido sobre: Bioquímica, Genética Geral, Genética Molecular e Biologia Celular.  
Participantes: Ana, Simeire, Juliana, Fábio, Carolina, Rodrigo, Daniel, Eric, André, Max, Adriano, Zayame.  
Duração:3h.
- 01/02/2000 Pauta: Elaboração de questionário sobre Biotecnologia para os alunos ingressantes na faculdade.  
Participantes: Fábio, Zayame, Adriano, André, prof. Flávio  
Duração:2h.
- 08/02/2000 Pauta: Reunião no CIEE-Piracicaba para a elaboração da VI RPAA  
Participantes: Todos os bolsistas e colaboradores.  
Duração:3h.
- 15/02/2000 Pauta: Elaboração de apresentação sobre o grupo PET-Biotecnologia Agrícola para a Semana de Integração  
Participantes: Simeire, Juliana, Fábio, Rodrigo, André, Adriano, prof. Flávio  
Duração:3h.

## **MARÇO**

### **ATIVIDADES EM ANDAMENTO:**

- a) avaliação da participação na semana de integração;
- b) revisão e envio do relatório anual;
- c) acompanhamento do ciclo de estudos (textos de revisão);
- d) avaliação e orientação de propostas para avaliação pelo CALQ para estudo da grade curricular e propostas para valorizar o tempo nos estágios de iniciação científica (algo como uma disciplina, com supervisão, nota, créditos, etc...);
- e) revisão de textos para o AgriShow e nomes dos participantes;
- f) discussão sobre formação profissional;
- g) definição do tema para o RPAA "Perspectivas profissionais para o Século XXI – Como encarar a globalização", e dos palestrantes, principalmente

para contornar dificuldades como cobrança de altos valores, dificuldades de contato, agendas, etc...;

h) re-definição de pautas, atividades e horários de reunião: Terça-feiras a partir das 19:30h e Sexta-feiras, a partir das 12:30h;

21/03/2000 Pauta: Organização da RPAA: Programação

Participantes: Todos os bolsistas e colaboradores.

Duração: 3h.

24/03/2000 Pauta: Elaboração de novas normas para as reuniões do grupo.

Participantes: Carolina, Juliana, Max, Fábio, Eric, Simeire, Zayame, Rodrigo, Daniel, Éverton, Ana, Aline.

Duração:3h.

28/03/2000 Pauta: Contatos com palestrantes para a RPAA.

Participantes: Simeire, Ana, Fábio, Rodrigo, Éverton, Eric, Carmo, Maria Carolina, André, Daniel, Adriano, Aline.

Duração:2h.

## **ABRIL**

### **ATIVIDADES EM ANDAMENTO:**

- a) discussões sobre as bolsas e participação dos alunos;
- b) acompanhamento e orientação dos preparativos da Reunião Pró Aprendizagem Ativa (RPAA), problemas com palestrantes, detalhamento de atividades do grupo;
- c) problemas com o desempenho de alguns alunos, indução à participação de novos alunos na forma de convidados;
- d) contatos formais com convidados, palestrantes e patrocinadores.

11/04/2000 Pauta: RPAA – Elaboração de folder para divulgação do evento

Participantes: Ana, Carmo, André, Éverton, Maria Carolina, Simeire, Adriano, Rodrigo, Daniel, Eric, Max.

Duração:2h.

25/04/2000 Pauta: Confeção e envio de cartas e convites para palestrantes da RPAA, contatos para divulgar a RPAA.

Participantes: Max, Fábio, Adriano, Zayame, André, Simeire, Eric, Rodrigo, Daniel, Éverton, Maria Carolina, Aline.

Duração:4h.

## MAIO

### ATIVIDADES EM ANDAMENTO:

- a) atividades de organização da RPAA e de divulgação ampla, providências formais específicas;
- b) integração do PET Agronomia – Biotecnologia com a comissão responsável pela Área de Concentração em Biotecnologia do Curso de Engenharia Agrônômica da ESALQ;
- c) programação de seminários de junho;
- d) Reunião Pró Aprendizagem Ativa.

02/05/2000 Pauta: Preparação e envio da carta para reservar o Maracanã para a RPAA e acerto de detalhes para a organização do evento.

Participantes: Rodrigo, Éverton, Juliana, Simeire, Eric, Carmo, André, Maria Carolina, Aline, Adriano, Ana .

Duração:1h.

23/05/2000 Pauta: Organização das Comissões da RPAA

Participantes: Ana, Juliana, Zayame, Carmo, Éverton, Daniel, Eric, Maria Carolina, Fábio, Rodrigo, Adriano, André, Aline, Simeire, Vanderlei.

Duração:2h.

26/05/2000 Pauta: Preparo dos últimos detalhes para a RPAA

Participantes: Fábio, Carmo, André, Rodrigo, Maria Carolina, Zayame, Ana, Juliana, Éverton, Aline, Daniel, Eric.

Duração:2h.

30/05/2000 Pauta: Organização dos seminários do Grupo e do seminário sobre a área de Concentração em Biotecnologia.

Participantes: Juliana, Maria, Simeire, Ana, Carmo, Eric, Adriano, Daniel, Rodrigo, Éverton, André, Fábio.

Duração:2h.

## JUNHO

### ATIVIDADES EM ANDAMENTO:

- a) avaliação da RPAA, sucessos e falhas, cartas de agradecimento, observações e propostas para o próximo evento, o Curso de Atualização em Biotecnologia (CAB);
- b) preparo e reunião do grupo com o Secretário de Agricultura do Município de Piracicaba, Dr. José O. M. Menten;
- c) preocupações quanto as definições das bolsas, contato com a SESU;
- d) propostas de re-estruturação do grupo devido a desistências e medidas visando a próxima seleção;
- e) reflexões sobre os objetivos do grupo, participação em estágios e o retorno para o aprendizado;
- f) ciclo de seminários;
- g) avaliação de participação de novos alunos e providências para a solicitação de bolsas de iniciação científica;
- h) sugestões para organização da página do grupo na internet;
- i) avaliação das condições para participação nos congressos em julho;
- j) programação da seleção de novos participantes.

02/06/2000 Pauta: Escolha de palestrantes e tema para o IX CAB

Participantes: Ana, Zayame, Eric, Fábio, Juliana.

Duração: 2h.

06/06/2000 Pauta: Elaboração da programação para o IX CAB

Participantes: André, Vanderlei, Aline, Éverton, Rodrigo, Ana, Adriano, Fábio, Simeire, Eric.

Duração: 2h.

## JULHO

### ATIVIDADES EM ANDAMENTO:

- a) reuniões regulares de programação, definição de datas e providências, tendo em pauta o Curso de Atualização em Biotecnologia (CAB), seleção de novos bolsistas e visitas técnicas (Faz. Copacabana, EMBRAPA);

- b) ciclo de seminários;
- c) avaliação da visita técnica.

- 07/07/2000 Pauta: Organização da estrutura do CAB  
Participantes: Leonardo, Daniel, Juliana, Fábio, Adriano, Rodrigo, Éverton, Eric, Max, Aline, Maria, Oscar.  
Duração:2h.
- 14/07/2000 Pauta: Preparativos para a visita técnica para a EMBRAPA e fazenda Copacabana  
Participantes: Rodrigo, Daniel, André, Vanderlei, Zayame, Aline, Maria, Ana, Éverton.  
Duração:2h.
- 20/07/2000 Pauta: Reunião com a Profa. Dra. Helaine Carrer no CEBTEC.  
Participantes: Todos  
Duração:2h.
- 25/07/2000 Pauta: Discussão sobre os estágios.  
Participantes: Todos  
Duração:2h.

## **AGOSTO**

### **ATIVIDADES EM ANDAMENTO:**

- a) programação de seminários para o semestre;
- b) avaliação do atraso de bolsas;
- c) preparo de material para o SICUSP
- d) fechamento da programação do CAB;
- e) organização da seleção de pessoal, previsão de cinco vagas (Edital, Divulgação, Reunião de informação aos interessados, Seleção);

- 01/08/2000 Pauta: Preparação de cartas e convites para palestrantes do IX CAB  
Participantes: Rodrigo, Aline, Vanderlei, Zayame, Fábio, Ana, Éverton, Maria Carolina, Simeire, Oscar.  
Duração:2h.
- 10/08/2000 Pauta: Organização dos seminários do grupo  
Participantes: Zayame, Aline

Duração:1h.

25/08/2000 Pauta: Organização das comissões para o IX CAB

Participantes: Zayame, Fábio, Adriano, Ana, Oscar, Aline, Maria, Leonardo, Daniel, Eric, Vanderlei, André, Carmo, Rodrigo, prof. Flavio

Duração:2h.

29/08/2000 Pauta: Organização do processo de seleção de novos bolsistas

Participantes: Oscar, Daniel, Fábio, Carmo, Eric, Simeire, Rodrigo, Adriano, Vanderlei, Éverton, Ana, Zayame.

Duração:2h.

## **SETEMBRO**

### **ATIVIDADES EM ANDAMENTO:**

- a) seleção de pessoal, envolvimento de ex-petianos do grupo;
- b) providências relativas ao CAB;

01/09/2000 Pauta: Preparação e envio do edital de seleção

Participantes: Todos

Duração:2h.

05/09/2000 Pauta: Preparação da prova para a seleção e reserva do anfi teatro da Genética para o CAB.

Participantes: Adriano, Vanderlei, Rodrigo, Éverton, Ana, Simeire, Zayame, Oscar, Fábio, Carmo, Max.

Duração:2h.

## **OUTUBRO**

### **ATIVIDADES EM ANDAMENTO:**

- a) providências relativas ao CAB;
- b) reunião do grupo com o Secretário de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo;
- c) revisão do manual do PET, informações aos novos;
- d) conclusão do relatório de seleção de bolsistas;
- e) elaboração de um projeto de aprendizagem e extensão para a Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

- 10/10/2000 Pauta: Confirmação de palestrantes para o CAB  
Participantes: Éverton, Marcos, Fábio, Rodrigo, Vanderlei, Oscar, Ricardo, Adriano, Ana, Dalton, Aline Vitti.  
Duração:2h.
- 14/10/2000 Pauta: Reunião com o secretário da Agricultura do Estado de São Paulo  
Participantes: Fábio, Simeire e Marcos  
Duração:2h.
- 20/10/2000 Pauta: Preparação dos últimos detalhes para o IX CAB.  
Participantes: Todos  
Duração:2h.
- 27/10/2000 Pauta: Divulgação do IX CAB nos colégios, cursos pré-vestibulares e faculdades de Piracicaba.  
Participantes: Todos  
Duração: 2h

**NOVEMBRO**  
**ATIVIDADES EM ANDAMENTO:**

- a) conclusão de preparativos e realização do CAB;
- b) providências visando o relatório anual;
- c) ciclo de seminários;
- d) avaliação da proposta enviada á Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

- 17/11/2000 Pauta: Discussão sobre a elaboração do relatório final  
Participantes: Todos os bolsistas e colaboradores  
Duração:2h.
- 21/11/2000 Pauta: Elaboração dos resumos individuais para o Relatório 2000  
Participantes: Todos os bolsistas e colaboradores  
Duração:2h.
- 24/11/2000 Pauta: Apresentação de seminários  
Participantes: Todos os bolsistas e colaboradores  
Duração:3h.
- 28/11/2000 Pauta: Apresentação de seminários  
Participantes: Todos os bolsistas e colaboradores  
Duração:3h.

## **DEZEMBRO**

### **ATIVIDADES EM ANDAMENTO:**

- a) ciclo de seminários;
- b) providências para o relatório anual;
- c) reflexões sobre estudos que definem o perfil ideal do profissional de ciências agrárias;
- d) programação de atividades para 2001;
- e) reunião e providências de curso no SEBRAE.

05/12/2000 Pauta: Apresentação de seminários

Participantes: Todos os bolsistas e colaboradores

Duração:4h.

06/12/2000 Pauta: Apresentação de seminário

Participantes: Todos os bolsistas e colaboradores

Duração:3h.

19/12/2000 Pauta: Programação 2001 e Reorganização das Comissões

Participantes: Todos

Duração:4h.

20/12/2000 Pauta: Programação 2001, Relatório e Reorganização das Comissões

Participantes: Todos

Duração:2h.

### **3.2. Seminários/Conferências/Palestras**

- a) Apresentados pelos bolsistas

### **SEMINÁRIOS APRESENTADOS POR BOLSISTAS E COLABORADORES**

20/06/2000

Evento: Seminário Interno dos Bolsistas

Tema: Teoria da Relatividade x Física Quântica

Apresentado por: Rodrigo Mendes

Participantes: Todos os bolsistas

- 20/06/2000      Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: HTML  
Apresentado por: Eric Franchi Leonardo  
Participantes: Todos os bolsistas
- 27/06/2000      Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Violência: Caos Urbano  
Apresentado por: Simeire Aparecida Manarin  
Participantes: Todos os bolsistas
- 04/07/2000      Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Agricultura de precisão  
Apresentado por: Everton Yoshiaki Hiraoka  
Participantes: Todos os bolsistas
- 11/07/2000      Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Biotecnologia e resistência a patógenos  
Apresentado por: Zayame Vegette Pinto  
Participantes: Todos os bolsistas
- 18/07/2000      Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Mecanismos de resistência vegetal a patógenos  
Apresentado por: Ana Paula Matoso Teixeira  
Participantes: Todos os bolsistas
- 18/07/2000      Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Linhas de pesquisa da Fazenda Experimental do  
Cenargen  
Apresentado por: Max Francisco Fernandes  
Participantes: Todos os bolsistas
- 20/07/2000      Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Regulação enzimática e biossíntese de lisina e treonina  
em arroz pela análise de genótipos comerciais e selvagens  
Apresentado por: Vanderlei Aparecido Varisi  
Participantes: Todos os bolsistas
- 20/07/2000      Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Origem da Vida  
Apresentado por: Maria Carolina Quecine  
Participantes: Todos os bolsistas
- 20/07/2000      Evento: Seminário Interno dos Bolsistas

- 20/07/2000  
Tema: Quantificação da enzima Gl em tecido adiposo  
Apresentado por: Oscar César Müller Queiroz  
Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas
- 29/08/2000  
Tema: Isolamento de fungos endofíticos em *Eucalyptus* spp.  
Apresentado por: Aline Silva Romão  
Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas
- 12/09/2000  
Tema: Conservação de germoplasma  
Apresentado por: Fábio Henrique Bicudo da Silva  
Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas
- 19/09/00  
Tema: Premunização  
Apresentado por: Zayame Vegette Pinto  
Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas
- 26/09/00  
Tema: Mecanismo de variabilidade genética em fitopatógenos  
Apresentado por: Ana Paula matoso Teixeira  
Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas
- 03/10/00  
Tema: Sistema de Sangria de Safra na Cultura da Seringueira (*Hevea Brasiliensis*)  
Apresentado por: Daniel Macedo Abbud  
Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas
- 17/10/00  
Tema: Biodegradação de herbicidas  
Apresentado por: Everton Yoshiaki Hiraoka  
Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas
- 24/10/00  
Tema: PCR  
Apresentado por: Adriano Reis Lucheta  
Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas
- Tema: RAPD  
Apresentado por: Eric Franchi Leonardo

- 31/10/00 Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Teoria da capa protéica  
Apresentado por: Vanderlei Aparecido Varisi
- 07/11/00 Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Soja transgênica Roundup Ready  
Apresentado por: Rodrigo Mendes
- 14/11/00 Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Max Francisco Fernandes  
Apresentado por: Metabolismo do tecido adiposo animal
- 28/11/00 Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Microencapsulação  
Apresentado por: Maria Carolina Quecine
- 28/11/00 Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Ética e Biotecnologia  
Apresentado por: Oscar César Müller Queiroz
- 06/12/00 Participantes: Todos os bolsistas  
Evento: Seminário Interno dos Bolsistas  
Tema: Mamão transgênico  
Apresentado por: Alessandra Regina Staffocker  
Participantes: Todos os bolsistas

### 3.3. Participação em Congressos

- 02/2000 Evento: Congresso Paulista de Fitopatologia  
Local: CATI-Campinas  
Participantes: Zayame Vegette Pinto
- 10/2000 Evento: 17º Encontro sobre temas de Genética e  
Melhoramento  
Local: Anfiteatro da Genética  
Participantes: Aline Vitti, Andriano Reis Lucheta, Oscar

### 3.4. Pesquisa

Cada um dos bolsistas e colaboradores trabalha em projetos de iniciação científica individuais nas diferentes áreas dentro de Biotecnologia.

TÍTULO: Produção de Anticorpos Monoclonais Aplicados à Agropecuária

OBJETIVO: Produzir anticorpos monoclonais para análises laboratoriais de alta especificidade em produtos agropecuários.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Flavio Cesar Almeida Tavares

LOCAL: Laboratório de Genética de Leveduras - Departamento de Genética - ESALQ/USP

BOLSISTA: Fábio Henrique Bicudo da Silva

INÍCIO: agosto/1997

FASE DA PESQUISA: Em andamento

TÍTULO: Isolamento de fungos endofíticos de Soja

OBJETIVO: Analisar o comportamento sexual do gênero

ORIENTADOR: Dra. Aline Pizzirani-Kleiner

LOCAL: Laboratório de Microorganismos - Departamento de Genética - ESALQ/USP

BOLSISTA: Rodrigo Mendes

INÍCIO: Maio/1999

FASE DA PESQUISA: Purificação dos isolados

TÍTULO: Diversidade genética e patogenicidade de isolados de *Phomopsis* a sementes de angico branco e ipê-amarelo.

OBJETIVO: Avaliar a Atual Classificação Taxonômica Destes Gêneros de Fungos Fitopatogênicos

ORIENTADOR: Luís Eduardo Aranha Camargo

LOCAL: Laboratório de Genética Molecular - Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola - ESALQ/USP

BOLSISTA: Ana Paula Matoso Teixeira

INÍCIO: Julho/1998

FASE DA PESQUISA: Final

TÍTULO: Estudo da interferência de potyvirus na transmissão do vírus do mosaico do pepino (CMV) por *Myzus persicae* em cucurbitáceas

OBJETIVO: Estudar a interferência de potyvirus na transmissão do vírus do mosaico do pepino (CMV) por *Myzus persicae* em cucurbitáceas

ORIENTADOR: Prof. Dr. Jorge A. M. Rezende

LOCAL: Laboratório de Virologia do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP.

BOLSISTA: Zayame Vegette Pinto

INÍCIO: 1999

FASE DA PESQUISA: andamento

TÍTULO: Projeto Genoma

OBJETIVO: Seqüenciamento de DNA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luis Eduardo Aranha Camargo

LOCAL: Departamento Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola – ESALQ/USP

BOLSISTA: Eric Franchi Leonardo

INÍCIO: 11/12/1999

FASE DA PESQUISA: Conclusão do seqüenciamento do genoma de dois organismos

TÍTULO: Isolamento do gene responsável pela síntese de als em *Bidens pilosa*

OBJETIVO: Estudo de resistência a Herbicidas em plantas de *Bidens pilosa*

ORIENTADOR: Prof. Dr. Helaine Carrer

LOCAL: CEBTEC/ESALQ

BOLSISTA: Adriano Reis Lucheta

INÍCIO: 02/08/99

FASE DA PESQUISA: Contrução biblioteca c-DNA

TÍTULO: Desempenho agrônômico e análise genética de cruzamentos contrastantes para resistência ao nematóide de cisto e cancro da haste da soja

OBJETIVO: Avaliar agronomicamente gerações F2 e F3 de cruzamentos com cultivares resistentes a NCS e/ou CHS para obtenção de parentais superiores.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Natal Antônio Vello

LOCAL: Laboratório de Plantas Autógamas - Departamento de Genética - ESALQ/USP

BOLSISTA: Éverton Yoshiaki Hiraoka

INÍCIO: 04/08/99

FASE DA PESQUISA: Intermediária

### 3.5. Cursos extra-curriculares

- 12-16/07/00      Título: Linux Módulo Básico  
Local: São Bernardo do Campo  
Carga Horária: 20h  
Participantes: Eric Franchi Leonardo
- 24-25/08/2000      Título: "III Curso de Aplicação de Anticorpos Monoclonais na Agricultura"  
Local: Piracicaba  
Carga Horária: 16h  
Participante: Fábio Henrique Bicudo da Silva
- 15/11/2000      Título: Curso de Criação Comercial de Avestruzes  
Local: Nova Odessa  
Carga Horária: 4h  
Participante: Fábio Henrique Bicudo da Silva
- 15/11/2000      Título: Microsoft Front Page 2000  
Local: Campinas  
Carga Horária: 3 h semanais/1mês  
Participantes: Oscar César Müller Queiroz

### 3.6. Visitas a Institutos, Centros de Pesquisa, Empresas. etc.

Visita: EMBRAPA

Objetivos: Conhecer as inovações tecnológicas em equipamentos que visam melhoria de produtividade e qualidade no setor agropecuário

Local: São Carlos

Participantes: Aline, Fábio, Maria Carolina, Éverton, André, Adriano, Vanderlei, Rodrigo.

Visita: Fazenda Copacabana

Objetivos: Conhecer instalações e funcionamento de uma unidade produtora e beneficiadora de leite.

Local: São Carlos

Participantes: Aline, Fábio, Maria Carolina, Éverton, André, Adriano, Vanderlei, Rodrigo.

### **3.7. Publicações em Boletins, Periódicos, Anais e Congressos**

PASCHOAL, J.A.R.; DUARTE, K.M.R.; GOMES, L.H.; SILVA, F.H.B.; TAVARES, F.C.A.; MEIRELLES, C.F. Produção de anticorpos policlonais contra progesterona em coelhos para diagnóstico em leite de bovinos. VI Encontro Científico dos Pós-Graduandos no CENA/USP. Piracicaba, 19 a 21/9/ 2000, **Resumos**, p.12.

GARUTTI, F.G.; SILVA, F.H.B.; DUARTE, K.M.R.; GOMES, L.H.; TAVARES, F.C.A. Caracterização de isolados de *Xanthomonas albilineans* por RAPD. 8o. SIIICUSP, Piracicaba, 7 e 8 /11/2000. **Resumos**, 3.76.

Lucheta, A.R.; clonagem do gene que confere resistência aos herbicidas inibidores da ALS em *bidens pilosa*: Departamento de Ciências Biológicas - ESALQ/USP - 8º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo.

LEONARDO, E. F.; ABBUD, D. M.; FERNANDES, M. F.; TAVARES, F. C. A. " O Uso de Marcadores Moleculares no Melhoramento de Plantas" Anais em CD do 8º Simpósio de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

ABBUD, D. M.; FERNANDES, M. F.; LEONARDO, E. F.; TAVARES, F. C. A. "Viabilidade da Utilização de Marcadores Genéticos Baseados em RAPD no Melhoramento Genético em *Hevea spp*" Anais em CD do 8º Simpósio de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

FERNANDES, M. F.; LEONARDO, E. F.; ABBUD, D. M.; TAVARES, F. C. A. " Uso De Anticorpos Monoclonais e Policlonais na Biotecnologia Agrícola" Anais em CD do 8º Simpósio de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

### **3.8. Estudo de língua estrangeira**

Nome: Marcus Vinicius F. Brioni

Curso: Inglês e Espanhol - Skil

Fase: Básico

Carga Horária: 3h semanais

Nome: Rodrigo Mendes

Curso: Inglês - BlueWave

Fase: Básico

Carga Horária: 2h semanais

Nome: Simeire Aparecida Manarin

Curso: Inglês (particular)

Fase: Básico

Carga Horária: 1,5h semanais

Nome: Ana Paula Matoso Teixeira

Curso: Inglês - FISK

Fase: Intermediária

Carga Horária: 2h semanais

Nome: Fábio Henrique Bicudo da Silva

Curso: Francês (Particular)

Fase: Intermediário

Carga Horária: 2h semanais

Nome: Fábio Henrique Bicudo da Silva

Curso: Inglês (Real Time)

Fase: Chat

Carga Horária: 2h semanais

Nome: Zayame Vegette Pinto

Curso: Inglês - New Company

Fase: Básico

Carga Horária: 1,5H semanais

Nome: Daniel Macedo Abbud

Curso: Inglês - Skill

Fase: Intermediário

Carga Horária: 3h semanais

Nome: Eric Franchi Leonardo

Curso: Inglês - CNA

Fase: Intermediário

Carga Horária: 2,5H semanais

Nome: Adriano Reis Lucheta

Curso: Inglês - New Company

Fase: Conversação

Carga Horária: 1,5h semanais

Nome: Andre de Sousa e Silva

Curso: Inglês - Yázigi

Fase: Básico

Carga Horária: 5h semanais

Nome: Éverton Yoshiaki Hiraoka

Curso: Inglês - FISK

Fase: Avançado

Carga Horária: 3h semanais

### **3.9. Leituras extra-curriculares**

a) Grupo de bolsistas:

Foram lidos e discutidos pelos bolsistas inúmeros textos de revistas como Veja, Exame, Isto É, Ciência Hoje, Biotecnologia: Ciência e Tecnologia .Também foram analisados artigos de jornais do estado: Folha de São Paulo, O Estado de São Paulo entre outros.

b) Individualmente:

**Bolsista: Fábio Henrique Bicudo da Silva**

- ARNOLD, S.H.; PRICE, R.J.; BROWN, W.D. Histamine formation by bacteria isolated from skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*. **Bulletin Jn. Soc. Sci. Fis**, v. 46, p. 991-995, 1980.
- DUARTE, K.M.R. Produção de anticorpos monoclonais contra o vírus do mosaico do tomateiro (ToMV). Mestrado-ESALQ/USP). 89p. 1995.
- FRANK, H.A.; BARANOWSKI, J.D.; CHONGIRIWATANA, M.; BRUST, P.A.; PREMARATNE, R.J. Identification and decarboxylase activities of bacteria isolated from decomposed mahimahi (*Coyphaena hippurus*) after incubation at 0 and 3°C. **Journal of Food Microbiology**, v.2, p.331-340, 1985.
- KÖHLER, G. & MILSTEIN, C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of pre-defined specificity. **Nature**, v.256, p.495-7, 1975.
- KOVÁCS, A.; SARKADI, L.S.; GANZLER, K. Determination of Biogenic amines by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 836, p. 305-313, 1999.
- LÜTEN, J.B.; BOUQUET, W.; SEUREN, L.A.J.; BURGRAAF, M.M.; RIEKWELBOOY, G.; RITCHIE, A.; LECLERCQ, M.; GUINET, R. Biogenic amines in fishery products: standardization methods with E.C. In: HUSS, H.H **Quality assurance in the fish industry**, Copenhagen: Elsevier Science Publ., 1992.
- RAWLES, d.d., and FLICK, G.J. (1996). Biogenic Amines in Fish and Shellfish. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 39, p. 329-365, 1996.
- SERRAR, D.; BREBANT, R.; BRUNEAU, S.; DENOYEL, G.A.. The development of a monoclonal antibody-based ELISA for the determination of histamine in food: application to fishery products and comparison with the HPLC assay. **Food Chemistry**, v. 54, p. 85-91, 1995.
- TAYLOR, S.L., SPECKHARD, M.W.. Isolation of histamine-producing bacteria from frozen tuna. **Mar. Fish**, v. 45, p. 35-39, 1983
- WENDAKOON, C.N., and SAKAGUUCHI, M. Effects of spices on growth and biogenic amine formation by bacteria in fish muscle. In: H.H.HUSS, M.JAKOBSEN, and J. LISTON, Eds. **Quality Assurance in the Fish Industry**, Amsterdam: Elsevier, 1999. v. 30, p. 305-313.
- YOSHINAGA, D.H. & FRANK, H.A. Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katusuwonis pelamis*). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 44, p. 447-452, 1982.

**Bolsista: Adriano Reis Lucheta**

- BERNASCONI, P. et al. A Naturally Occurring Point Mutation Confers Broad Range Tolerance to Herbicides That Target Acetolactate Synthase; *The Journal of Biological Chemistry*. Vol 270 ; nº 29 , 1995.
- DEKKER, J. ; DUKE, S. O. Herbicide resistance in crops. *Adv. In Agronomy*. 1995 . 54 : 69 – 116.
- DURNER, J., V. GAILUS, and P. BÖGER. . New aspects of inhibition of plant acetolactate synthase by chlorsulfuron and imazaquin. *Plant Physiol*. 1995: 1144-1149
- DEVINE, M. D., J. C. HALL, M. L. ROMANO, M. A. S. MARLES, L. W. THOMPSON, and R. H. SHIMABUKURO.. Diclofop and fenoxaprop resistance in wild oat is associated with an altered effect on the plasma membrane electrogenic potential. *Pestic. Biochem. Physiol.* . 1993 45: 167-177
- DYER, W.E. ; CHEE. P.W.; FAY, P.K. Rapid germination of sulfonylurea resistant *Kochia scoparia* is associated with elevated seed levels of branched chain amino acids. *Weed Science*, 1993. 41 18-22
- FISHER, A. J. ; RAMIREZ, H.V. ; CHAREEZ, A. L. ; GRANADOS, E. e IRUJILLO, D. Resistance to propanil in populations of junglerice (*Echinochloa colona*). In *Proceedings of the International Symposium on Weed and Crop Resistance to Herbicides*. University of Cordoba, Espanha , 1996, p 268.
- GOULD, F Comparisons between resistance management strategies for insects and weeds. *Weed Technology*, 1995, 9 830 - 839
- GRESSEL, J. e SEGEL, L.A.. Herbicide rotation and mixtures: effective strategies to delay resistance. *Managing Resistance to Agrochemicals, from Fundamental Research to Practical Strategies*. American Chemical Society. Washington, 1990 p 430-458.
- GUTTIERI, M. J. et al. Diverse Mutations in the Acetolactate Synthase Gene Confer Chlorsulfuron Resistance in *Kochia (Kochia scoparia)* Biotypes . *Weed Science*, vol 43 , 175 – 178 . 1995
- HEAP ; I. M. The occurrence of herbicide –resistant weeds worldwide. *Pesticide Science* V. 51 .p 235 –243 . 1997
- HOLT, J e LeBARON, H.M.. Significance and distribution of herbicide resistance. *Weed Technology* 4 : 141-149 ,1990.
- HOLT, J. fitness and ecological adaptability of herbicide resistant biotypes. *Managing*

- Resistance to Agrochemicals, from Fundamental Research to Practical Strategies. American Chemical Societ. 1995 Washington, p 419-429.
- JASENUIK, M. ; BRULÉ-BABEL, A. ; MORRISON, I. N. The evolution and genetics of herbicides resistance in weeds. *Weed Science*, 44 :176 – 193 1996.
- LANDSTEIN, D., S. M. ARAD, Z. BARAK, and D. M. CHIPMAN. Relationships among the herbicide and functional sites of acetohydroxy acid synthase from *Chlorella emersonii*. *Planta* 191: 1-6. 1993.
- LeBARON, H. M Distribution and seriousness of herbicide-resistant weed infestations worldwide. In *Herbicide Resistance in Weeds and Crops* (J. C. Caseley, G. W. Cussans, and R. K. Atkin, Eds.). Butterworth-Heinemann, Oxford, pp. 27-43. 1991.
- LEE, K. Y. et al. The Molecular Basis of Sulfonylurea Herbicide Resistance in Tobacco *The EMBO Journal*, vol 7, n. 5 ,pag 1241 – 1248, 1988.
- MAXWELL, B.D. ; M.L. ROUSH e S.R. RADOSE. Predicting the evolution and dynamics of herbicides resistance in weed populations. *Weed Technology*
- MAZUR, B.J. e FALCO, S. C. The Development of Herbicide Resistent Croops. *Ann. Ver. Plant Molec. Biol.* 40 , 441 – 470, 1989.
- PRESTON, C; HOLTUM, J. A. M.; POWLES, S. B. On teh mechanism of resistance to paraquat in *Hordeum glaucum* e *H. leporinum*. *Plant Physiology*, Palo Alto, 1992. V. 100 p 630 – 636.
- RUBIM, B. Herbicide resistance in weeds and croops, progrees and prospects. *Herbicide Resistance in Weeds and Croops*. Butterwoth-Heinemann Ed. Oxford p. 387- 414, 1991.
- SAARI, L. L., J. C. COTTERMAN, and D. C. THILL. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In *Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry*, (S. B. Powles and J. A. M. Holtum, Eds.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp. 83-139, 1994.
- TARDIF, F. J., J. A. M. HOLTUM, and S. B. POWLES. 1993. Occurrence of a herbicide-resistant acetyl-coenzyme A carboxylase mutant in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) selected by sethoxydim. *Planta* 190: 176-181.
- VARGAS, L.; SILVA,A.A.; ; BORÉM, A.; REZENDE,S.T.; FERREIRA, F.A., SEDIYAMA,T.; *Resistência de Plantas Daninhasa Herbicidas*,Viçosa, 1999, 131p.
- WARWICK, S.L. Herbicide resistance in weed plants: physiology and population biology. *Annu. Ver. Ecol. Syst.* 1991, 22, 95-114.

<http://www.weedscience.com>

<http://www.weedresearch.com>

**Bolsista: Eric Franchi Leonardo**

Alberts; Bruce. **Biologia Molecular da Célula**. Editora Artes Medicas Sul

**Manual de Fitopatologia** / editado por Armando bergamin Filho, Hiroshi Kimati, Lilian Amorim – 3ª edição. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1995. 919 p.

Azevedo, João Lúcio de. **Genética de microrganismos**. Goiânia, Editora da UFG, 1998. 490 p.

Júnior, César da S.; Sasson, Zesar. **Biologia**. Vol. 3 – 2ª edição. São Paulo, Editora Saraiva, 1996. 400 p.

De Robertis, E. D. P.; De Robertis, E. M. F. Junior. – 2ª edição. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S. A., 1993. 310 p.

**Bolsista: Zayame Vegette Pinto**

LECOQ, H., PITRAT, M. Specificity of the Helper- Component - Mediated Aphid transmission of Three Potyviruses Infecting muskmelon **Phytopathology**. p: 890-893, 1985.

MOWAT, W. P.; DAWSON, S. Detection of plant viruses by ELISA using crude sap extracts and unfractionated antisera. **Journal Virology. Meth.** 15: 233-247, 1987.

NAULT, L. R. Arthropod Transmission of Plant Viruses: A NeW Synthesis. **Entomological Society of America**. p: 521-541, 1997

REZENDE, J. A. M. Premunização de duas espécies e um híbrido de Cucurbita para o controle do mosaico causado pelo vírus do mosaico do mamoeiro - estirpe melancia. **Dissertação**. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1996.

SMITH, K. M. Insect Virology. **Academic press**. New York, 1967. p 195-214.

SMITH, K.M. Viruses. **Cambridge University Press**. New York, 1963 p. 74-76.

VAN DEN HEUVEL, J. F. J. M., BOERMA, T. M., PETERS, D. Transmission of Potato Leafroll virus from plants and artificial diets by *Myzus persicae*. **Phytopathology**. v. 81, n. 2, p: 150-154, 1991.

WANG, R. Y., POWELL, G., HARDIE, J., PIRONE, T. P. Role of the helper component in vector-specific transmission of potyviruses. **Journal of General Virology**. P 1519-1524, 1998.

- YUKI, V.A. Epidemiologia e controle do mosaico (VMM-ME) em abobrinha-de-moita. **Dissertação.** Escola Superior de agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 1990.
- CHAGAS, C.M. 1973. A associação do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) à mancha anular do cafeeiro. *O Biológico*39:229-32
- COSTA, G.L. Vetores de vírus de plantas-Insetos. *RAPP*. V6.p.103-171. 1998.
- HIRUKI, C. Plant diseases of viral, viroid, mycoplasma and uncertain etiology. P.128-56, 1992
- KITAJIMA, E.W.; REZENDE, J.A.M.; RODRIGUES, J.C.V.; CIAVEGATO, L.G.; PIZA JÚNIOR, C.T. & MOROZINI, W. 1997. Green spot of passion fruit, a possible viral disease associated with infestation by the mite *Brevipalpus phoenicis*. *Fitopatol. Bras.* 22 (no prelo).
- LEMMETTY, A.; LATVALA, S.; JONES, A.T.; SUSI, P.; MCGAVIN, W.J. & LETHTO, K. 1997. Purification and properties of a new virus from black currant, its affinities with nepoviruses, and its close association with black currant reversion disease. *Phytopathology* 87:404-13.
- OLIVEIRA, C.A.L. & DONADIO, L.C. Leprose dos citros. *Funep*.p.219, 1995
- MURPHY, F.A; FAUQUET, C.M.; BISHOP, D.H.L.; GHABRIAL, S.A.; JARVIS, A.W.; MARTELLI, G.P.; MAYO, M.A. & SUMMERS, M.D. (Ed.) 1995. *Virus taxonomy. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* New York, Springer-Verlag.
- MUSUMECCI, R.M.& ROSSETTI, V. 1963. Transmissão dos sintomas da leprose dos citros pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis*. *Ci. Cul.* 15:228.(abstr.)
- REIS, P.R. Onde está o ácaro?. *Cultivar* n 17. Ano II. p.8-10, 2000.
- ROBERTS, I.M. & JONES, A.T. 1997. Rhabdovirus-like and closterovirus-like particles in ultrathin section of *Ribes* species with symptoms of blackcurrant reversion and goodeberry veinbanding diseases. *Ann. Appl. Biol.* 130:77-89.
- RODRIGUES, J. C.V. & NOGUEIRA, N.L. 1996. Ocorrência de *Brevipalpus phoenicis* G. (Acari: Tenuipalpidae) em *Ligustrum lcidum* (Oleaceae)

associada a mancha anelar do Ligustre. Na. Soc. Entomol. Bras. 25: 343-44.

SLYKHUIS, J.T. Vectores of plant pathogens. p. 327-56, 1980.

**Bolsista: Rodrigo Mendes**

Bergamin, A Filho,. Hiroshi, K,. Amorin , L. **Manual de Fitopatologia**

3ª edição. São Paulo. Editora Agronômica Ceres, 1995. 919 p.

Azevedo, João Lúcio de. **Genética de microrganismos**. Goiânia,

Editora da UFG, 1998. 490 p.

Suzuki, D. T., Griffiths, A, J. F., Miller, J. H., Lewontin, R. C.,

**Introdução à Genética**. 4ª edição. Editora Guanabara Koogan.

**Bolsista: Ana Paula Matoso Teixeira**

Bergamin, A Filho,. Hiroshi, K,. Amorin , L. **Manual de Fitopatologia**

3ª edição. São Paulo. Editora Agronômica Ceres, 1995. 919 p.

Chitarra, G.S.. Deterioração de sementes e técnicas moleculares na identificação de microorganismos. 1994.

Foster, L.M.; Kojak. K.R.; Loftus, M.G.; Stevens, J.J.; Ross, K.J..1993. The polymerase chain reaction and its application to filamentous fungi. Mycology Research 97 (7):769-781.

Glienke,C.. Variabilidade genética do fungo endófito *Guignardia citricarpa* Kiely detectada por RAPD. ESALQ/USP. 1995.

GRATTAPAGLIA & FERREIRA. Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares na Agricultura.

Halloin, J.M.. Postha vest infection of cotton-seed by *Rhizopus arrhizus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*. Phitopathology.65: 1229-1232.

**Bolsista: Éverton Yoshiaki Hiraoka**

RAMALHO, M.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. B.. Genética na Agropecuária

GRATTAPAGLIA & FERREIRA. Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares na Agricultura.

MOLIN & BALASTREIRE. Agricultura de Precisão. ESALQ/USP. 1997

LEHNINGER, A. L.. Bioquímica Vol. I. 2º Ed. 1976. Editora Edgar Blücher Ltda.

LEHNINGER, A. L.. Bioquímica Vol. II 2º Ed. Editora Edgar Blücher Ltda

### **3.10. Outras Atividades**

#### **3.13.1. Organização de eventos:**

27/05/00	VI Reunião Pró-Aprendizagem Ativa. Tema: Perspectivas profissionais para o século XXI
08/11/00	IX CAB - Curso de atualização em Biotecnologia Tema: Alternativas para o futuro

## **4. AVALIAÇÃO**

### **4.1. Apreciação qualitativa do grupo sobre:**

#### **a) atividades realizadas no período:**

Na VI Reunião Pró- Aprendizagem Ativa realizada no Departamento de Engenharia Rural, no anfiteatro do "Maracanã", ESALQ/USP, estiveram presentes 200 alunos de graduação e pós-graduação da ESALQ/USP e diversas instituições do Estado de São Paulo.

Os Processos de Seleção para substituições de bolsistas realizados no primeiro e segundo semestres de 1999 existiram por motivo de desistência de bolsistas. Isso se deu em decorrência de problemas pessoais de um dos bolsista e por opção de outra bolsa de outro bolsista, este ainda continua como colaborador.

Foram selecionados, no primeiro semestre um bolsista para preenchimento imediato devido a desistência de um bolsista. No segundo semestre, foi selecionado um bolsista, para o preenchimento de uma vaga, sendo esta por desistência.

#### **b) articulação das atividades com os objetivos e o planejamento das atividades propostas inicialmente:**

A programação para o respectivo período foi devidamente cumprida, se destacando a realização dos eventos realizados como as melhores atividades do semestre, além do Ciclo de Seminários Interno de Nivelamento para os bolsistas selecionados.

c) possíveis mudanças de direcionamento de objetivos e atividades propostos:

A mudança de objetivos do programa PET não se faz necessária. Desta maneira, continuaremos a seguir a mesma linha de trabalho desenvolvida até o presente momento, pois julgamos ser esta linha de pensamento extremamente válida,

d) o relacionamento do grupo: entre si, com o tutor, corpo discente e docente da graduação e da IES como um todo:

#### **Do ponto de vista do grupo:**

##### **- Entre si:**

O Grupo avançou do ponto de vista de relações pessoais entre os integrantes, consideramos que as atividades propostas e realizadas pelo grupo contribuíram para o crescimento individual de seus integrantes durante o ano 2000. Esperamos e trabalharemos para que no ano 2001 o grupo possa continuar evoluindo neste sentido.

##### **Com o tutor:**

O relacionamento com o tutor tem sido proveitoso, tendo ocorrido até o momento, um maior entrosamento com os alunos e proporcionado um crescimento profissional significativo para ambas as partes.

##### **Com o corpo discente e docente e da IES como um todo:**

Neste período o grupo ganhou maior prestígio entre a comunidade acadêmica, principalmente com o IX CAB (Curso de Atualização em Biotecnologia) e com VI RPAA (Reunião Pró-Aprendizagem Ativa). Tais eventos trouxeram à comunidade acadêmica a participação efetiva de um número considerável de docentes, colocando o grupo em posição de destaque. Através da realização do Curso de Atualização em Biotecnologia, o corpo discente teve a oportunidade de tomar ciência da atual relevância das técnicas biotecnológicas dentro dos parâmetros da ciência e tecnologia nacionais, além de colocar em contato os pesquisadores, pós-graduandos e os alunos de graduação. Desta forma, podemos concluir que neste ano o grupo teve sua meta cumprida em se tratando das relações com os corpos docente, discente e com a IES como um todo.

## **4.2. Acompanhamento Interno dos Grupos PET/CAPEs**

Parecer do Grupo sobre algumas questões importantes para o Programa Especial de Treinamento - PET

Após as incertezas do primeiro semestre o início do segundo semestre foi animado pelas notícias de liberação do pagamento das bolsas. Contudo, a notícia foi recebida com cautelas, principalmente quanto à continuidade do Programa PET e efetiva administração pela SESU/MEC. Apesar disto, com satisfação, verifica-se que as atividades puderam ser desenvolvidas como programado, acrescido do fato de que a mobilização dos alunos contribuiu para aumentar o interesse pelo Programa PET Agronomia – Biotecnologia Agrícola, aumentando o número de participantes “colaboradores”. Alunos interessados passaram a acompanhar as atividades do programa, participando com assiduidade das reuniões, discussões, eventos, etc...

Este fato novo trouxe benefícios para o Programa, seja motivando os alunos mais experientes, que atuando como “pontos de apoio” puderam colocar em prática o que aprenderam no programa e reafirmar sua validade, transmitido o sucesso com as conquistas com na seleção de trainees em empresas multinacionais. Isto foi muito benéfico para o grupo, visto que foi uma experiência vivenciada por todos.

A saída de alguns alunos, estimularam a reflexão quanto aos requisitos para assegurar uma atitude positiva diante dos problemas de relacionamento e participação efetiva nas atividades, contribuindo para a valorização dos integrantes do grupo como um todo e dos objetivos do programa.

No início do segundo semestre procedeu-se à seleção de novos bolsistas, o que é um processo participativo, onde o grupo tem a liberdade de realizar várias provas e simular situações reais de seleção de pessoal em instituições governamentais e grandes empresas. Os selecionados passaram a integrar o Grupo com naturalidade e com elevado nível de envolvimento em todas atividades.

O ano letivo foi concluído com reuniões de programação, onde tudo foram feitas avaliações e discussões sobre o programa, incluindo-se a filosofia, objetivos, detalhes relativos à formação de pessoal qualificado em função das exigências atuais do mercado de trabalho e oportunidades para o desenvolvimento do capital intelectual. Como resultado, procedeu-se a uma revisão do modelo de gestão de atividades, estabelecendo-se novas comissões e modo de atuação, organizando-se

um processo de avaliação permanente dos participantes, com acompanhamento contínuo. As expectativas para os próximos anos, são portanto, muito estimulantes.

#### **4.3. Sugestões do Grupo para aprimorar a qualidade do desempenho do próprio grupo e do Programa Especial de Treinamento, visando torná-los mais eficazes e eficientes.**

- 1- Integrar o bolsistas e orientadores de estágios individuais para podermos ter maior amplitude do conhecimento de atividades individuais;
- 2- Montar a grade de aulas dos integrantes do Grupo, a fim de ser possível encontrá-los a qualquer momento do dia e saber como está o andamento de suas tarefas;
- 3- No final de cada Reunião, faremos a pauta da reunião seguinte a fim de tornar nossas reuniões mais produtivas;
- 4- Aumentar a integração com outros PETs da cidade e da região, para tornar o intercâmbio de idéias um meio de aprimorarmos nosso desenvolvimento.
- 5- No Estudo dirigido, cada bolsista elaborará um resumo do assunto que será apresentado aos integrantes do grupo, mediante sorteio.

#### **5. INFORMAÇÕES SOBRE OS EX-BOLSISTAS**

##### **Formados em:**

**1989**

Fernando Cesar Boscariol - Gerente de Produção - Usina São João

Goran Kuhar Jezovsek – Gerente/divisão de Biotecnologia, MONSANTO.

José Henrique Conti - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas, ESALQ / USP

Roberto Pedroso de Oliveira - EMBRAPA- Sete Lagoas

**1991**

Silvana Gomes Regitano - Promotora de Vendas - MONSANTO

**1992**

Haíssa Roberta Cardarelli -

Keila M. R. Duarte - Doutorado em Microbiologia Agrícola, ESALQ / USP

### 1993

Sandro Alves Lima - Contratado pela ICI

Juliana C. de Freitas - Doutorado Florida University - USA

### 1994

Claudia M. Ianelli - Gerente, Champion/produção de mudas

Luciana Viriato Saboya - Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial,  
ESALQ / USP

Mario Cesar Sesso - Contratado pela BAGISA S.A. (Pesquisa e  
Desenvolvimento)

### 1995

Elisabeth Bilsnand - Doutorado Gotemburgo University - Suécia

Jefferson Willians de Gaspari - Mestre em Microbiologia Agrícola,  
ESALQ/USP

Juan Lucas Argueso Gomes de Almeida – Doutorado Cornell University

Paula Marques Meyer – Mestrado em Ciência Animal e Pastagens –  
ESALQ/USP.

### 1997

Fernando de Mesquita Sampaio – Aperfeiçoamento - França.

Irving Joseph Berger – Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas –  
ESALQ/USP.

Patrícia Pompermayer – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas –  
ESALQ/USP.

### 1998

Elaine Cristina Castelhana - Mestrado em Ciência Animal e Pastagens -  
ESALQ/USP

Gildemberg Amorin Leal Junior - Mestrado em Ciências - CENA/USP

Leandra Maria Scarpari - Mestrado em Microbiologia Agrícola - ESALQ/USP

Mauricio Pires Machado Barbosa - Mestrado em Fitopatologia - ESALQ/USP  
e contratado pela Monsanto.

**2000**

Max Francisco Fernandes – Contratado pela Monsanto

## **6. ANEXOS**

1. Programação de atividades para o ano de 2001
2. Quadro de Acompanhamento Interno dos Grupos - PET / CAPES
3. Históricos escolares dos bolsistas
4. VI Reunião Pró Aprendizagem Ativa - Programação
5. IX Curso de Atualização em Biotecnologia - Programação



**GRUPO PET - BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**Prof. Dr. Flávio C. A. Tavares**

**TUTOR**

# ANEXOS

## **Programação 2001**

### **Fevereiro**

Organização e planejamento da semana de integração aos calouros  
Revisão bibliográfica sobre assuntos básicos  
Atividades de rotina

### **Março**

Estudo dirigido sobre DNA: estrutura e replicação  
Agendar uma visita  
Planejamento da VII Reunião Pró Aprendizagem Ativa  
Atividades de rotina

### **Abril**

Seminários dos bolsistas  
Organização da VII RPAA  
Contato com palestrantes e divulgação da RPAA  
Atividades de rotina

### **Mai**

25 – VII RPAA  
Atividades de rotina  
Seminários dos bolsistas

### **Junho**

Atividades de rotina  
Organização da viagem para Salvador (SBPC)  
Seminários dos bolsistas

### **Julho**

8-13 – 52<sup>a</sup>. Reunião da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência  
Atividades de rotina  
Seminários dos bolsistas

### **Agosto**

Palestra com professor convidado  
Planejamento do X Curso de Atualização em Biotecnologia  
Atividades de rotina  
Seminários dos bolsistas

### **Setembro**

Reunião para a programação de 2002  
Seminários dos bolsistas

Contato com palestrantes e divulgação do X CAB  
Curso de conhecimentos básicos  
Atividades de rotina

### **Outubro**

Semana "Luiz de Queiroz"  
Organização do X CAB  
Seminários dos bolsistas  
Atividades de rotina

### **Novembro**

X CAB  
Término do relatório de 2001  
Seminários dos bolsistas  
Atividades de rotina

### **Dezembro**

Ciclo de seminários dos bolsistas  
Atividades de rotina

**RESUMO ESCOLAR**

**Unidade 11** Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

**Aluno** 2335940 Adriano Reis Lucheta

**Programa 1** Ingresso Vestibular - 01/01/1997

**Situação Atual** Ativo

**Curso** 11110 Engenharia Agrônômica

**Habilitação** Engenharia Agrônômica **Período** 01/01/1997 -

		Créditos		FREQ	NOTA	RES
		AU	TR			
<b>1997</b>						
1 Semestre						
110113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	100	8,0	A
BO0103	Morfologia Vegetal	2	0	95	7,2	A
GN0114	Biologia Celular	4	0	89	6,7	A
ME0106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	96	5,2	A
QI0108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	94	6,9	A
SO0118	Mineralogia e Petrologia	4	0	100	7,8	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			
2 Semestre						
BO0204	Botânica Sistemática	2	0	100	7,1	A
ER0260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	93	6,9	A
FM0200	Física	4	0	94	7,7	A
GN0215	Genética Geral	4	0	93	7,0	A
ME0133	Processamento de Dados	2	0	100	7,2	A
ME0210	Estatística Geral	4	0	100	7,1	A
QI0208	Bioquímica	4	0	97	5,8	A
SO0218	Pedologia	4	0	84	8,4	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			
<b>1998</b>						
1 Semestre						
BO0311	Fisiologia Vegetal	4	0	97	6,9	A
RO340	Topografia Básica	6	0	100	6,8	A
ES0130	Ciência, Métodos e Técnicas de Pesquisa	2	0	94	9,2	A
EM0306	Meteorologia Agrícola	4	0	97	8,9	A
TO321	Microbiologia	4	0	97	7,2	A
NO313	Melhoramento Genético	4	0	94	7,7	A
SO0319	Fertilidade do Solo	4	0	97	7,1	A
SO0212	Zoologia Geral e Parasitologia	4	0	94	7,6	A
Créditos acumulados no semestre		32	0			
2 Semestre						
BO0402	Ecologia Vegetal	2	0	100	7,4	A
TO444	Tecnologia de Alimentos	4	0	100	7,8	A
TO458	Tecnologia Sucro-Alcooleira Básica	2	0	100	8,1	A
RO440	Hidrologia	2	0	100	8,4	A
TO322	Entomologia Geral	4	0	100	7,8	A
TO424	Fitopatologia	4	0	96	7,0	A
TO420	Nutrição Mineral das Plantas	4	0	100	6,9	A
TO409	Adubos e Adubação	4	0	100	8,2	A



RESUMO ESCOLAR

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 2335940 Adriano Reis Lucheta

Programa 1 Ingresso Vestibular - 01/01/1997

Situação Atual Ativo

Curso 11110 Engenharia Agrônômica

		Créditos		FREQ	NOTA	RES
		AU	TR			
<b>1998</b>						
2 Semestre						
ZO0313	Anatomia e Fisiologia Animal	4	0	97	7,1	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			
<b>1999</b>						
1 Semestre						
EF0430	Pragas das Plantas Cultivadas	4	0	89	8,4	A
ER0332	Mecânica e Máquinas Motoras	2	0	100	6,6	A
ES0129	Sociologia e Extensão	2	0	88	7,9	A
ES0213	Economia e Administração Agroindustrial	4	0	94	6,5	A
GN0477	Princípios Genéticos em Biotecnologia	4	0	94	7,0	A
PA0425	Zootecnia I (Não Ruminantes)	4	0	100	7,2	A
PV0501	Agricultura I	4	0	100	7,3	A
PV0505	Horticultura I	4	0	97	7,0	A
SN0623	Adubação e Nutrição de Plantas Cultivadas	4	0	94	8,0	A
Créditos acumulados no semestre		32	0			
2 Semestre						
ER0432	Máquinas e Implementos Agrícolas	4	0	94	7,4	A
ER0472	Hidráulica	4	0	100	7,9	A
ES0667	Administração Rural e Agroindustrial	4	0	83	7,1	A
GN0622	Genética Molecular	4	0	100	6,5	A
PA0532	Zootecnia II (Ruminantes)	4	0	88	6,1	A
PV0602	Agricultura II	4	0	94	6,6	A
PV0610	Horticultura II	4	0	94	6,6	A
Créditos acumulados no semestre		28	0			
<b>2000</b>						
1 Semestre						
BN0662	Biotecnologia de Alimentos e Bebidas	4	0	76	7,8	A
B0615	Estágio Supervisionado em Ciências Biológicas I	1	3	100	10,0	A
ER0418	Construções Rurais	4	0	90	6,6	A
ER0571	Irrigação e Drenagem	4	0	94	6,6	A
ES0452	Fundamentos de Agribusiness	4	0	100	7,3	A
PV0504	Plantas Estimulantes	4	0	100	7,6	A
PV0670	Controle das Plantas Daninhas	4	0	100	7,7	A
SN0515	Gênese e Classificação de Solos					T
Créditos acumulados no semestre		25	3			
2 Semestre						
EN0001	Cultura de Tecidos Vegetais	4	0	90	8,7	A
B0440	Biotecnologia Vegetal	5	0	94	8,3	A



**RESUMO ESCOLAR**

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 2335940 Adriano Reis Lucheta

Programa 1 Ingresso Vestibular - 01/01/1997

Situação Atual Ativo

Curso 11110 Engenharia Agrônoma

		Créditos		FREQ	NOTA	RES
		AU	TR			
<b>2000</b>						
2 Semestre						
CB0635	Estágio Supervisionado em Ciências Biológicas II	1	3	100	10,0	A
CE0602	Estatística Experimental	5	0	89	7,4	A
GN0430	Recursos Genéticos Vegetais	4	0	94	9,0	A
PA0691	Princípios de Aqüicultura I	4	0	100	5,5	A
PA0693	Técnicas Experimentais em Biotecnologia	4	0	94	7,8	A
PV0672	Biologia e Manejo de Plantas Daninhas	4	0	93	7,1	A
Créditos acumulados no semestre		31	3			

**TOTAIS ACUMULADOS**

Crédito Aula 230      Crédito Trabalho 6      Média Ponderada 7,4      Carga Horária 3630

AU - Crédito Aula    TR - Crédito Trabalho    RES - Resultado

MA - Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,

RN - Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Frequência, RA - Reprovado por Nota e Frequência

**Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).**



**RESUMO ESCOLAR**

**Unidade** 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

**Aluno** 3371615 Alessandra Regina Staffocker

**Programa** 1 Ingresso Vestibular Espera - 28/03/2000 **Situação Atual** Ativo

**Curso** 1110 Engenharia Agrônômica

<b>Habilitação</b>	Engenharia Agrônômica	<b>Período</b>	29/03/2000	-
--------------------	-----------------------	----------------	------------	---

		Créditos		FREQ	NOTA	RES
		AU	TR			
<b>2000</b>						
1 Semestre						
10113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	100	8,0	A
10103	Morfologia Vegetal	2	0	87	8,4	A
10106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	81	7,2	A
10108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	100	6,7	A
10114	Biologia Celular	4	0	93	7,2	A
10101	Ciência do Solo I	4	0	100	6,2	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			
2 Semestre						
10204	Botânica Sistemática	2	0	94	7,7	A
10208	Bioquímica	4	0	98	5,5	A
10133	Processamento de Dados	2	0	100	8,8	A
10200	Física do Ambiente Agrícola	4	0	97	7,5	A
10211	Estatística Geral	6	0	91	8,0	A
10260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	82	7,5	A
10129	Sociologia e Extensão	2	0	85	9,2	A
10215	Genética Geral	4	0	100	7,6	A
10201	Ciência do Solo II	4	0	100	8,4	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			

**TOTAIS ACUMULADOS**

<b>Crédito Aula</b>	56	<b>Crédito Trabalho</b>	0	<b>Média Ponderada</b>	7,4	<b>Carga Horária</b>	840
---------------------	----	-------------------------	---	------------------------	-----	----------------------	-----

J - Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado

M - Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado, N - Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Frequência, RA - Reprovado por Nota e Frequência

**Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).**



**RESUMO ESCOLAR**

**Unidade** 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

**Aluno** 3234241 Aline Silva Romão

**Programa** 1 Ingresso Vestibular - 02/02/2000

**Situação Atual** Ativo

**Curso** 11110 Engenharia Agrônômica

<b>habilitação</b>	Engenharia Agrônômica	<b>Período</b>	03/02/2000	-
--------------------	-----------------------	----------------	------------	---

		Créditos			NOTA	RES
		AU	TR	FREQ		
<b>2000</b>						
1 Semestre						
10113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	100	9,0	A
10103	Morfologia Vegetal	2	0	100	9,7	A
10106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	100	9,2	A
10108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	100	9,3	A
10114	Biologia Celular	4	0	100	9,5	A
10101	Ciência do Solo I	4	0	100	7,4	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			

2 Semestre						
10204	Botânica Sistemática	2	0	93	9,2	A
10208	Bioquímica	4	0	100	8,9	A
10133	Processamento de Dados	2	0	95	8,8	A
10200	Física do Ambiente Agrícola	4	0	97	9,8	A
10211	Estatística Geral	6	0	95	9,5	A
10260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	100	9,3	A
10215	Genética Geral	4	0	100	8,5	A
10201	Ciência do Solo II	4	0	100	8,2	A
Créditos acumulados no semestre		28	0			

TOTAIS ACUMULADOS			
Crédito Aula	54	Crédito Trabalho	0
Média Ponderada	9,0	Carga Horária	810

UJ - Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado

A - Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,  
 N - Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Freqüência, RA - Reprovado por Nota e Freqüência

**Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).**



**SUM O ESCOLAR**

Matrícula 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Número 2976844 Andre de Sousa e Silva

Curso 1 Ingresso Vestibular - 31/01/1998

Situação Atual Ativo

Código 111010 Engenharia Agrônômica

Disciplina	Engenharia Agrônômica	Período	31/01/1998	-
------------	-----------------------	---------	------------	---

		Créditos			NOTA	RES
		AU	TR	FREQ		

**1998**

1 Semestre

103	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	98	6,0	A
103	Morfologia Vegetal	2	0	94	8,2	A
114	Biologia Celular	4	0	94	8,0	A
106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	100	6,0	A
108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	88	6,9	A
118	Ciência do Solo I	4	0	94	5,7	A

Créditos acumulados no semestre 26 0

2 Semestre

204	Botânica Sistemática	2	0	100	6,2	A
260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	88	6,8	A
200	Física	4	0	100	5,0	A
215	Genética Geral	4	0	94	7,8	A
133	Processamento de Dados	2	0	75	7,2	A
210	Estatística Geral	4	0	90	5,7	A
108	Bioquímica	4	0	93	6,0	A
201	Ciência do Solo II	4	0	92	5,9	A

Créditos acumulados no semestre 26 0

**1999**

1 Semestre

311	Fisiologia Vegetal	4	0	93	6,0	A
306	Meteorologia Agrícola	4	0	83	6,5	A
312	Zoologia Geral e Parasitologia	4	0	94	6,0	A
321	Microbiologia	4	0	85	6,4	A
340	Topografia Básica	6	0	88	5,8	A
130	Ciência, Métodos e Técnicas de Pesquisa	2	0	88	7,9	A
313	Melhoramento Genético	4	0	89	8,2	A
301	Ciência do Solo III	4	0	88	6,0	A

Créditos acumulados no semestre 32 0

2 Semestre

458	Tecnologia Sucro-Alcooleira Básica	2	0	94	7,5	A
402	Ecologia Vegetal	2	0	81	6,4	A
322	Entomologia Geral	4	0	87	7,1	A
424	Fitopatologia	4	0	88	7,0	A
313	Anatomia e Fisiologia Animal	4	0	94	7,2	A
401	Ciência do Solo IV	4	0	100	9,0	A
420	Nutrição Mineral das Plantas	4	0	93	6,8	A



**RESUMO ESCOLAR**

Idade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Matrícula 2976844 Andre de Sousa e Silva

Programa 1 Ingresso Vestibular - 31/01/1998

Situação Atual Ativo

Curso 1110 Engenharia Agrônômica

		Créditos			NOTA	RES	
		AU	TR	FREQ			
<b>1999</b>							
2 Semestre							
Créditos acumulados no semestre		24	0				
<b>2000</b>							
1 Semestre							
N0444	Tecnologia de Alimentos	4	0	82	5,4	A	
F0430	Pragas das Plantas Cultivadas	4	0	81	6,6	A	
R0332	Mecânica e Máquinas Motoras	2	0	71	5,0	A	
S0213	Economia e Administração Agroindustrial	4	0	88	5,3	A	
N0477	Princípios Genéticos em Biotecnologia	4	0	93	8,8	A	
A0425	Zootecnia I (Não Ruminantes)	4	0	80	6,7	A	
V0501	Agricultura I	4	0	94	7,2	A	
V0505	Horticultura I	4	0	93	8,5	A	
Créditos acumulados no semestre		30	0				
2 Semestre							
A0532	Zootecnia II (Ruminantes)	4	0	88	6,0	A	
V0602	Agricultura II	4	0	88	7,3	A	
V0615	Estágio Supervisionado em Produção Vegetal I	1	3	100	8,0	A	
Créditos acumulados no semestre		9	3				
<b>TOTAIS ACUMULADOS</b>							
Crédito Aula	147	Crédito Trabalho	3	Média Ponderada	6,7	Carga Horária	2295

U - Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado

A - Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,  
 N - Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Freqüência, RA - Reprovado por Nota e Freqüência

Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).



## RESUMO ESCOLAR

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 3348320 Carlos Armando Soncin

Programa 1 Ingresso Vestibular 3 Lista - 17/02/2000 Situação Atual Ativo

Curso 1110 Engenharia Agrônômica

habilitação	Engenharia Agrônômica	Período	18/02/2000	-
-------------	-----------------------	---------	------------	---

		Créditos			NOTA	RES
		AU	TR	FREQ		
<b>2000</b>						
1 Semestre						
10113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	92	9,8	A
20103	Morfologia Vegetal	2	0	80	8,1	A
3E0106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	100	7,3	A
3E0108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	97	6,9	A
3N0114	Biologia Celular	4	0	100	7,1	A
3N0101	Ciência do Solo I	4	0	85	6,3	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			

2 Semestre						
20204	Botânica Sistemática	2	0	94	6,3	A
20208	Bioquímica	4	0	94	8,2	A
3E0133	Processamento de Dados	2	0	100	8,4	A
3E0200	Física do Ambiente Agrícola	4	0	94	7,5	A
3E0211	Estatística Geral	6	0	93	6,7	A
3R0260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	100	7,3	A
3S0129	Sociologia e Extensão	2	0	92	9,8	A
3N0215	Genética Geral	4	0	82	8,3	A
3N0201	Ciência do Solo II	4	0	88	5,4	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			

## TOTAIS ACUMULADOS

Crédito Aula	56	Crédito Trabalho	0	Média Ponderada	7,4	Carga Horária	840
--------------	----	------------------	---	-----------------	-----	---------------	-----

LJ - Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado

MA - Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,  
 N - Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Freqüência, RA - Reprovado por Nota e Freqüência

Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).



**RESUMO ESCOLAR**

Instituição 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 3293768 Dalton Luis Ribeiro dos Santos

Programa 1 Ingresso Vestibular - 02/02/2000 Situação Atual Ativo

Curso 11110 Engenharia Agrônômica

Matrícula	Engenharia Agrônômica	Período	03/02/2000	-
-----------	-----------------------	---------	------------	---

		Créditos		FREQ	NOTA	RES
		AU	TR			
<b>2000</b>						
1 Semestre						
110113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	85	7,8	A
110103	Morfologia Vegetal	2	0	87	5,4	A
110106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	92	5,8	A
110108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	91	5,7	A
110114	Biologia Celular	4	0	82	6,2	A
110101	Ciência do Solo I	4	0	85	6,9	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			

2 Semestre						
110204	Botânica Sistemática	2	0	88	5,5	A
110208	Bioquímica	4	0	90	6,9	A
110133	Processamento de Dados	2	0	93	6,3	A
110200	Física do Ambiente Agrícola	4	0	97	6,7	A
110211	Estatística Geral	6	0	85	7,2	A
110260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	94	6,9	A
110130	Ciência, Métodos e Técnicas de Pesquisa	2	0	88	5,1	A
110215	Genética Geral	4	0	87	6,3	A
110201	Ciência do Solo II	4	0	88	5,4	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			

TOTAIS ACUMULADOS			
Crédito Aula	56	Crédito Trabalho	0
Média Ponderada	6,4	Carga Horária	840

U - Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado  
 MA - Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,  
 RN - Reprova do por Nota, RF - Reprovado por Frequência, RA - Reprovado por Nota e Frequência

**Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).**



RESUMO ESCOLAR

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 2977098 Daniel Macedo Abbud

Programa 1 Ingresso Vestibular - 31/01/1998

Situação Atual Ativo

Curso 1110 Engenharia Agrônômica

habilitação	Engenharia Agrônômica	Período	31/01/1998	-
-------------	-----------------------	---------	------------	---

		Créditos		FREQ	NOTA	RES
		AU	TR			
<b>1998</b>						
1 Semestre						
110113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	100	7,0	A
100103	Morfologia Vegetal	2	0	88	5,6	A
10114	Biologia Celular	4	0	94	5,1	A
1E0106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	90	6,6	A
110108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	91	7,0	A
100118	Ciência do Solo I	4	0	100	7,3	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			
2 Semestre						
100204	Botânica Sistemática	2	0	100	5,7	A
1R0260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	81	7,9	A
1M0200	Física	4	0	81	7,1	A
10N0215	Genética Geral	4	0	100	7,6	A
11E0133	Processamento de Dados	2	0	87	8,1	A
1E0210	Estatística Geral	4	0	90	6,2	A
110208	Bioquímica	4	0	93	5,0	A
1O0201	Ciência do Solo II	4	0	95	5,1	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			
<b>1999</b>						
1 Semestre						
1B0311	Fisiologia Vegetal	4	0	80	5,4	A
1E0306	Meteorologia Agrícola	4	0	86	5,2	A
1F0212	Zoologia Geral e Parasitologia	4	0	91	5,5	A
1F0321	Microbiologia	4	0	85	5,8	A
1R0340	Topografia Básica	6	0	89	9,0	A
1N0313	Melhoramento Genético	4	0	88	6,1	A
1V0301	Ciência do Solo III	4	0	76	5,5	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			
2 Semestre						
1V0444	Tecnologia de Alimentos	4	0	76	5,7	A
1V0458	Tecnologia Sucro-Alcooleira Básica	2	0	82	5,0	A
1B0402	Ecologia Vegetal	2	0	75	5,7	A
1F0322	Entomologia Geral	4	0	82	6,1	A
1F0424	Fitopatologia	4	0	91	5,0	A
1V0313	Anatomia e Fisiologia Animal	4	0	94	6,1	A
1V0401	Ciência do Solo IV	4	0	94	8,0	A



RESUMO ESCOLAR

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 2977098 Daniel Macedo Abbud

Programa 1 Ingresso Vestibular - 31/01/1998

Situação Atual Ativo

Curso 11310 Engenharia Agrônômica

		Créditos			NOTA	RES
		AU	TR	FREQ		
<b>1999</b>						
2 Semestre						
N0420	Nutrição Mineral das Plantas			80	4,7	RN
Créditos acumulados no semestre		24	0			
<b>2000</b>						
1 Semestre						
N0658	Tecnologia de Alimentos de Origem Animal	4	0	82	6,3	A
F0430	Pragas das Plantas Cultivadas	4	0	87	5,9	A
R0332	Mecânica e Máquinas Motoras	2	0	88	6,0	A
S0129	Sociologia e Extensão	2	0	82	6,9	A
S0130	Ciência, Métodos e Técnicas de Pesquisa	2	0	100	7,0	A
S0213	Economia e Administração Agroindustrial	4	0	88	5,1	A
N0477	Princípios Genéticos em Biotecnologia	4	0	71	8,3	A
N0425	Zootecnia I (Não Ruminantes)	4	0	93	7,2	A
V0505	Horticultura I	4	0	90	6,3	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			
2 Semestre						
I0662	Biotecnologia de Alimentos e Bebidas	4	0	87	7,0	A
R0432	Máquinas e Implementos Agrícolas	4	0	79	6,5	A
R0440	Hidrologia	2	0	94	6,8	A
N0472	Hidráulica	4	0	70	7,6	A
I0449	Genética Quantitativa	4	0	82	7,3	A
N0532	Zootecnia II (Ruminantes)	4	0	82	6,1	A
R0610	Horticultura II	4	0	81	5,6	A
N0420	Nutrição Mineral das Plantas	4	0	78	6,1	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			

TOTAIS ACUMULADOS

Credito Aula 166      Crédito Trabalho 0      Média Ponderada 6,4      Carga Horária 2490

- Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado

- Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,

- Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Frequência, RA - Reprovado por Nota e Frequência

Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).



**RESUMO ESCOLAR**

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 3019382 Eric Franchi Leonardo

Programa 1 Ingresso Vestibular 4 Lista - 19/03/1998 Situação Atual Ativo

Curso 1110 Engenharia Agrônômica

Matrícula	Engenharia Agrônômica	Período	19/03/1998	-
-----------	-----------------------	---------	------------	---

		Créditos			NOTA	RES
		AU	TR	FREQ		
<b>1998</b>						
1 Semestre						
110113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	93	8,0	A
300103	Morfologia Vegetal	2	0	76	7,5	A
3N0114	Biologia Celular	4	0	94	5,5	A
ME0106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	88	5,7	A
210108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	97	6,5	A
300118	Ciência do Solo I	4	0	88	5,5	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			
2 Semestre						
300204	Botânica Sistemática	2	0	100	7,2	A
3R0260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	94	6,6	A
S0129	Sociologia e Extensão	2	0	81	6,6	A
S0130	Ciência, Métodos e Técnicas de Pesquisa	2	0	93	8,1	A
M0200	Física	4	0	100	6,0	A
N0215	Genética Geral	4	0	88	7,3	A
ME0133	Processamento de Dados	2	0	93	6,5	A
E0210	Estatística Geral	4	0	90	5,9	A
10208	Bioquímica	4	0	93	6,4	A
30201	Ciência do Solo II	4	0	79	5,1	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			
<b>1999</b>						
1 Semestre						
30311	Fisiologia Vegetal	4	0	80	6,7	A
30306	Meteorologia Agrícola	4	0	71	7,7	A
30212	Zoologia Geral e Parasitologia	4	0	83	6,4	A
30321	Microbiologia	4	0	82	7,1	A
30340	Topografia Básica	6	0	91	6,6	A
30313	Melhoramento Genético	4	0	75	6,1	A
10301	Ciência do Solo III	4	0	70	5,0	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			
2 Semestre						
10458	Tecnologia Sucro-Alcooleira Básica	2	0	88	8,3	A
10402	Ecologia Vegetal	2	0	75	5,7	A
10322	Entomologia Geral	4	0	80	7,9	A
10424	Fitopatologia	4	0	89	6,2	A
10622	Genética Molecular	4	0	85	7,4	A
10313	Anatomia e Fisiologia Animal	4	0	85	6,9	A
10401	Ciência do Solo IV	4	0	94	8,3	A



**RESUMO ESCOLAR**

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 3019382 Eric Franchi Leonardo

Programa 1 Ingresso Vestibular 4 Lista - 19/03/1998 Situação Atual Ativo

Curso 1110 Engenharia Agrônômica

		Créditos		FREQ	NOTA	RES	
		AU	TR				
<b>1999</b>							
2 Semestre							
SN0420	Nutrição Mineral das Plantas	4	0	73	6,1	A	
Créditos acumulados no semestre		28	0				
<b>2000</b>							
1 Semestre							
SN0444	Tecnologia de Alimentos	4	0	79	6,2	A	
SN0430	Pragas das Plantas Cultivadas	4	0	94	6,2	A	
R0332	Mecânica e Máquinas Motoras	2	0	82	5,0	A	
S0213	Economia e Administração Agroindustrial	4	0	82	6,2	A	
SN0477	Princípios Genéticos em Biotecnologia	4	0	93	8,0	A	
A0425	Zootecnia I (Não Ruminantes)	4	0	87	6,2	A	
V0501	Agricultura I	4	0	76	6,2	A	
V0505	Horticultura I	4	0	84	7,2	A	
Créditos acumulados no semestre		30	0				
2 Semestre							
J0662	Biotecnologia de Alimentos e Bebidas	4	0	73	7,3	A	
R0432	Máquinas e Implementos Agrícolas	4	0	85	6,0	A	
R0440	Hidrologia	2	0	94	4,4	MA	
R0472	Hidráulica	4	0	85	7,2	A	
R0532	Zootecnia II (Ruminantes)	4	0	88	6,1	A	
R0693	Técnicas Experimentais em Biotecnologia	4	0	94	8,0	A	
R0602	Agricultura II	4	0	88	6,9	A	
R0610	Horticultura II	4	0	75	5,9	A	
Créditos pretendidos no semestre		2	0				
<b>TOTAIS ACUMULADOS</b>							
Crédito Aula	172	Crédito Trabalho	0	Média Ponderada	6,6	Carga Horária	2580

- Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado  
 - Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,  
 - Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Frequência, RA - Reprovado por Nota e Frequência

Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).



**RESUMO ESCOLAR**

**Unidade 11** Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

**Aluno 3234706** Raquel Arantes Ferracuti

**Programa 1** Ingresso Vestibular - 02/02/2000

**Situação Atual** Ativo

**Curso 111010** Engenharia Agrônômica

<b>habilitação</b>	Engenharia Agrônômica	<b>Período</b>	03/02/2000	-
--------------------	-----------------------	----------------	------------	---

		Créditos		FREQ	NOTA	RES
		AU	TR			
<b>2000</b>						
<b>1 Semestre</b>						
10113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	78	9,1	A
2B0103	Morfologia Vegetal	2	0	93	8,4	A
3E0106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	98	7,2	A
3E0108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	90	6,3	A
3N0114	Biologia Celular	4	0	93	6,2	A
3N0101	Ciência do Solo I	4	0	78	7,3	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			
<b>2 Semestre</b>						
3B0204	Botânica Sistemática	2	0	85	7,2	A
3B0208	Bioquímica	4	0	79	5,5	A
3E0133	Processamento de Dados	2	0	77	5,5	A
3E0200	Física do Ambiente Agrícola	4	0	84	6,9	A
3E0211	Estatística Geral	6	0	96	5,0	A
3R0260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	100	6,3	A
3S0129	Sociologia e Extensão	2	0	71	8,2	A
3S0130	Ciência, Métodos e Técnicas de Pesquisa	2	0	72	5,7	A
3N0215	Genética Geral	4	0	82	7,4	A
3N0201	Ciência do Solo II	4	0	94	6,3	A
Créditos acumulados no semestre		32	0			

**TOTAIS ACUMULADOS**

<b>Crédito Aula</b>	58	<b>Crédito Trabalho</b>	0	<b>Média Ponderada</b>	6,7	<b>Carga Horária</b>	870
---------------------	----	-------------------------	---	------------------------	-----	----------------------	-----

J - Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado

A - Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,  
 I - Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Freqüência, RA - Reprovado por Nota e Freqüência

**Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).**



**RESUMO ESCOLAR**

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 3337745 Ricardo Kazuo Yamamoto

Programa 1 Ingresso Vestibular 2 Lista - 10/02/2000 Situação Atual Ativo

Curso 11010 Engenharia Agrônômica

Habilitação Engenharia Agrônômica Período 11/02/2000 -

		Créditos		FREQ	NOTA	RES
		AU	TR			
<b>2000</b>						
1 Semestre						
10113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	85	9,0	A
20103	Morfologia Vegetal	2	0	100	8,1	A
30106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	97	7,6	A
30108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	90	8,0	A
30114	Biologia Celular	4	0	87	8,2	A
30101	Ciência do Solo I	4	0	78	6,2	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			
2 Semestre						
30204	Botânica Sistemática	2	0	88	7,2	A
30208	Bioquímica	4	0	94	7,3	A
30133	Processamento de Dados	2	0	100	6,9	A
30200	Física do Ambiente Agrícola	4	0	88	6,8	A
30211	Estatística Geral	6	0	93	5,0	A
30260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	100	7,3	A
30130	Ciência, Métodos e Técnicas de Pesquisa	2	0	94	6,2	A
30215	Genética Geral	4	0	93	6,7	A
30201	Ciência do Solo II	4	0	94	6,5	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			

**TOTAIS ACUMULADOS**

Crédito Aula 56 Crédito Trabalho 0 Média Ponderada 7,1 Carga Horária 840

- Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado
- Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,
- Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Freqüência, RA - Reprovado por Nota e Freqüência

**Nota Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).**



RESUMO ESCOLAR

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 2976402 Rodrigo Mendes

Programa 1 Ingresso Vestibular - 31/01/1998

Situação Atual Ativo

Curso 1110 Engenharia Agrônômica

Matrícula Engenharia Agrônômica Período 31/01/1998 -

		Créditos			NOTA	RES
		AU	TR	FREQ		
<b>1998</b>						
1 Semestre						
10113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	100	7,0	A
100103	Morfologia Vegetal	2	0	94	9,5	A
10114	Biologia Celular	4	0	94	7,1	A
10106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	90	5,7	A
10108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	100	9,1	A
10118	Ciência do Solo I	4	0	100	6,4	A

Créditos acumulados no semestre 26 0

2 Semestre						
10204	Botânica Sistemática	2	0	100	6,3	A
10260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	94	7,7	A
10130	Ciência, Métodos e Técnicas de Pesquisa	2	0	100	8,3	A
10200	Física	4	0	100	8,0	A
10215	Genética Geral	4	0	94	9,2	A
10133	Processamento de Dados	2	0	100	8,4	A
10210	Estatística Geral	4	0	90	7,7	A
10208	Bioquímica	4	0	100	6,8	A
10201	Ciência do Solo II	4	0	92	7,2	A

Créditos acumulados no semestre 28 0

<b>1999</b>						
1 Semestre						
10311	Fisiologia Vegetal	4	0	100	7,3	A
10306	Meteorologia Agrícola	4	0	97	8,6	A
10212	Zoologia Geral e Parasitologia	4	0	97	8,0	A
10321	Microbiologia	4	0	91	6,9	A
10340	Topografia Básica	6	0	97	9,5	A
10313	Melhoramento Genético	4	0	94	8,0	A
10301	Ciência do Solo III	4	0	88	7,1	A

Créditos acumulados no semestre 30 0

2 Semestre						
10444	Tecnologia de Alimentos	4	0	94	7,5	A
10458	Tecnologia Sucro-Alcooleira Básica	2	0	94	8,4	A
10402	Ecologia Vegetal	2	0	88	8,2	A
10322	Entomologia Geral	4	0	93	7,3	A
10124	Fitopatologia	4	0	91	7,2	A
10129	Sociologia e Extensão	2	0	75	8,7	A
10313	Anatomia e Fisiologia Animal	4	0	100	7,6	A
10401	Ciência do Solo IV	4	0	94	8,8	A



**RESUMO ESCOLAR**

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 2976402 Rodrigo Mendes

Programa 1 Ingresso Vestibular - 31/01/1998

Situação Atual Ativo

Curso 11010 Engenharia Agrônômica

		Créditos		FREQ	NOTA	RES	
		AU	TR				
<b>1999</b>							
2 Semestre							
SN0420	Nutrição Mineral das Plantas	4	0	87	7,5	A	
Créditos acumulados no semestre		30	0				
<b>2000</b>							
1 Semestre							
EF0430	Pragas das Plantas Cultivadas	4	0	97	7,9	A	
ER0332	Mecânica e Máquinas Motoras	2	0	94	6,6	A	
ES0213	Economia e Administração Agroindustrial	4	0	88	6,8	A	
EN0477	Princípios Genéticos em Biotecnologia	4	0	100	9,3	A	
PA0425	Zootecnia I (Não Ruminantes)	4	0	100	7,7	A	
PV0501	Agricultura I	4	0	94	8,7	A	
PV0505	Horticultura I	4	0	97	8,5	A	
Créditos acumulados no semestre		26	0				
2 Semestre							
EN0001	Cultura de Tecidos Vegetais	4	0	90	8,5	A	
ER0432	Máquinas e Implementos Agrícolas	4	0	94	6,4	A	
ER0440	Hidrologia	2	0	94	7,5	A	
ER0472	Hidráulica	4	0	100	7,2	A	
EN0430	Recursos Genéticos Vegetais	4	0	94	9,0	A	
EN0622	Genética Molecular	4	0	100	7,9	A	
PV0602	Agricultura II	4	0	100	8,0	A	
PV0610	Horticultura II	4	0	97	7,4	A	
Créditos acumulados no semestre		30	0				
<b>TOTAIS ACUMULADOS</b>							
Crédito Aula	170	Crédito Trabalho	0	Média Ponderada	7,8	Carga Horária	2550

U - Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado

IA - Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,  
 N - Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Frequência, RA - Reprovado por Nota e Frequência

Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).



## RESUMO ESCOLAR

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 2976722 Simeire Aparecida Manarin

Programa I Ingresso Vestibular - 31/01/1998

Situação Atual Ativo

Curso 11110 Engenharia Agrônômica

Habilitação Engenharia Agrônômica

Período 31/01/1998

		Créditos			NOTA	RES
		AU	TR	FREQ		
<b>1998</b>						
1 Semestre						
0110113	Introdução à Engenharia Agrônômica	4	0	100	9,5	A
LBO0103	Morfologia Vegetal	2	0	100	5,5	A
LGN0114	Biologia Celular	4	0	89	5,6	A
LME0106	Cálculo Diferencial e Integral	6	0	100	7,1	A
LQI0108	Química Inorgânica e Analítica	6	0	94	5,8	A
LSO0118	Ciência do Solo I	4	0	88	5,8	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			

2 Semestre						
LBO0204	Botânica Sistemática	2	0	88	5,1	A
LER0260	Fundamentos de Engenharia Rural	2	0	94	5,9	A
LFM0200	Física	4	0	100	5,4	A
LGN0215	Genética Geral	4	0	88	6,4	A
LME0133	Processamento de Dados	2	0	79	5,0	A
LME0210	Estatística Geral	4	0	100	5,5	A
LQI0208	Bioquímica	4	0	93	5,0	A
LSO0201	Ciência do Solo II	4	0	94	5,9	A
Créditos acumulados no semestre		26	0			

<b>1999</b>						
1 Semestre						
LCB0311	Fisiologia Vegetal	4	0	93	7,2	A
LCE0306	Meteorologia Agrícola	4	0	97	6,4	A
LEF0212	Zoologia Geral e Parasitologia	4	0	94	6,0	A
LEF0321	Microbiologia	4	0	85	5,6	A
LER0340	Topografia Básica	6	0	94	8,5	A
LGN0313	Melhoramento Genético	4	0	94	6,7	A
LSN0301	Ciência do Solo III	4	0	94	7,1	A
Créditos acumulados no semestre		30	0			

2 Semestre						
LAN0444	Tecnologia de Alimentos	4	0	82	5,0	A
LAN0458	Tecnologia Sucro-Alcooleira Básica	2	0	94	5,1	A
LCB0402	Ecologia Vegetal	2	0	75	6,3	A
LEF0322	Entomologia Geral	4	0	100	5,1	A
LEF0424	Fitopatologia	4	0	94	5,0	A
LES0130	Ciência, Métodos e Técnicas de Pesquisa	2	0	86	8,0	A
LPA0313	Anatomia e Fisiologia Animal	4	0	94	5,4	A
LSN0401	Ciência do Solo IV	4	0	98	8,0	A
LSN0420	Nutrição Mineral das Plantas	4	0	80	6,3	A



## RESUMO ESCOLAR

Unidade 11 Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Aluno 2976722 Simeire Aparecida Manarin

Programa 1 Ingresso Vestibular - 31/01/1998

Situação Atual Ativo

Curso 11010 Engenharia Agrônômica

		Créditos			NOTA	RES	
		AU	TR	FREQ			
<b>1999</b>							
2 Semestre							
Créditos acumulados no semestre		30	0				
<b>2000</b>							
1 Semestre							
LAN0104	Estrutura e Funcionamento do Ensino de 1.º e 2.º Graus	4	0	70	7,6	A	
LAN0240	Psicologia da Educação	4	0	93	7,8	A	
LEF0430	Pragas das Plantas Cultivadas	4	0	100	5,0	A	
LER0332	Mecânica e Máquinas Motoras	2	0	82	5,0	A	
LES0213	Economia e Administração Agroindustrial	4	0	100	5,0	A	
LPA0425	Zootecnia I (Não Ruminantes)	4	0	100	5,3	A	
LPV0501	Agricultura I	4	0	100	6,7	A	
LPV0505	Horticultura I	4	0	87	6,8	A	
Créditos acumulados no semestre		30	0				
2 Semestre							
LAN0662	Zootecnia de Alimentos e Bebidas	4	0	87	6,3	A	
LCF0622	Tópicos de Educação Voltados à Questão Ambiental	4	1	87	7,5	A	
LER0432	Máquinas e Implementos Agrícolas	4	0	94	5,2	A	
LER0440	Hidrologia	2	0	94	5,3	A	
LER0472	Hidráulica	4	0	80	6,1	A	
LPA0532	Zootecnia II (Ruminantes)	4	0	100	5,0	A	
LPV0602	Agricultura II	4	0	100	5,3	A	
LPV0610	Horticultura II	4	0	94	5,7	A	
Créditos acumulados no semestre		30	1				
<b>TOTAIS ACUMULADOS</b>							
Crédito Aula	172	Crédito Trabalho	1	Média Ponderada	6,2	Carga Horária	2610

AU - Crédito Aula TR - Crédito Trabalho RES - Resultado

MA - Matriculado, P - Pendente, A - Aprovado, AE - Aproveitamento de Estudo, T - Trancado,  
RN - Reprovado por Nota, RF - Reprovado por Frequência, RA - Reprovado por Nota e Frequência

Média Ponderada das disciplinas em que o aluno obteve aprovação (não inclui notas de AE).



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"**  
**PET-BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**VI REUNIÃO PRÓ-APRENDIZAGEM ATIVA**

**"PROFISSIONAIS PARA O SÉCULO XXI"**

**PROGRAMAÇÃO**

8:00-8:30h: Inscrições

8:30-09:00h: Abertura e lançamento do 3º livro do Prof. Fermio Neto

09:00-10:00h: Dra. Luciana Guedes Pinto (Companhia de Talentos) Tema:

Perfil do Profissional e suas Variações

10:00-10:15h: Coffee break

10:15-12:00h: Prof. Dr. Mauro Pereira Viana Tema: Iniciativa e motivação

criadora

12:00-14:00h: Almoço

14:00-15:45h: Prof Dr. Fermio Neto Tema: Expressão Verbal

15:45-16:15h: Coffee break

16:15-18:00 Prof Dr. Fermio Neto. Continuação

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"**  
**PET-BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**IX CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**PROGRAMAÇÃO**

8:00h – Inscrições

8:30h – Abertura

9:00h – Palestra: “Utilização da Biotecnologia de Plantas na Agricultura Mundial : Situação Atual e Perspectiva para o Futuro.” – Dr. Goran Kuhar Jezovsek - Monsanto

10:00h – Coffee Break

10:30h – Palestra: “Biodegradação de Herbicidas” – Dr. Julieta Ueta – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP

12:00h – Intervalo para almoço

14:00h – Palestra: “Posição e Funcionamento da CTNBio” – Dra. Vania Moda Cirino – IAPAR

15:00h – Palestra: “Aplicações da Tecnologia de MicroArrays de DNA” – Profa. Dra. Aline Maria da Silva – Instituto de Química – USP

16:00h – Coffe break

16:30h – Palestra: “Biotecnologia, Nutrição e Manipulação de Metabolismo de Gordura” – Prof. Dr. Dante Pazzanese Duarte Lanna – ESALQ/USP

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**“Resistência de Plantas Daninhas à Herbicidas”**

**Adriano Reis Lucheta**

10/02

I) Nome

**Adriano Reis Lucheta**

II) Orientador

Prof.a. Dr. Helaine Carrer

III) Departamento

Departamento de Ciências Biológicas - ESALQ/USP

IV) Período do Estágio

Meados de Agosto 1999 até a presente data

V) Título

Resistência de Plantas Daninhas à Herbicidas

### 1 - Introdução:

O controle de plantas daninhas com herbicida vem ocorrendo de forma crescente. O mercado mundial de herbicidas em 1997 movimentou em torno de 15 bilhões de dólares, estando cerca de 12% na América Latina e de 5 a 7% no Brasil, Vargas *et al.*, (1999). Há uma grande expectativa de aumento no consumo, principalmente em países com grande potencial de expansão da área agrícola visto que os padrões agrícolas adaptaram-se, dirigidos pela possibilidade de avançar para o aumento da produção. A troca das antigas práticas pelas modernas técnicas de controle químico tem recompensado aos agricultores pela economia e eficiência que estas oferecem, porém, os agricultores tem depositado confiança excessiva nestas técnicas. Com isso o uso de controle químico das plantas daninhas tem sido indiscriminado, o que pode gerar algumas consequências negativas que poderão interferir na sustentabilidade da agricultura em um período de médio a longo prazo.

Como resultado da agricultura moderna e a confiança em herbicidas, estão aparecendo indivíduos, dentro das populações de plantas daninhas, que são resistentes a produtos desenvolvidos exclusivamente para o seu controle.

Populações de plantas daninhas naturalmente contêm plantas individuais resistentes a herbicidas ( biótipos resistentes ), o uso repetitivo de um herbicida colocará a população de plantas daninhas sob uma " pressão " de seleção que pode conduzir a um aumento no número de indivíduos resistentes sobreviventes na população. Como

consequência, a população de plantas daninhas resistentes fixam suas sementes podendo passar a dominar a população, ao ponto em que o controle adequado da planta daninha não possa ser alcançado pela aplicação daquele herbicida.

O primeiro caso de resistência a herbicidas em ervas daninhas foi identificado em 1964. Atualmente há registro de mais de 150 plantas resistentes em aproximadamente 50 países pelo mundo inteiro (Heap, 1997).

Resistência é essencialmente um fenômeno natural que acontece espontaneamente em populações de plantas daninhas, mas só é notado quando uma pressão de seleção é aplicada às plantas daninhas pela aplicação de um herbicida. A ocorrência de resistência e sua expansão dependem de características do herbicida e da planta daninha, como também na seletividade do herbicida.

## **2 - Resistência das Plantas Daninhas:**

Segundo, Heap 1997, é a habilidade natural de algum biótipos de plantas daninhas, dentro de uma determinada população, sobreviverem a um tratamento com doses normais de herbicidas que efetivamente controlariam aquela população de plantas daninha, sob condições de uso normais. A seleção de biótipos resistentes pode eventualmente resultar no fracasso do controle. Segundo, Holt & Lebaron, 1990, resistência ocorre quando uma planta sobrevive e cresce normalmente quando utilizadas doses efetivas do herbicida. A definição de resistência envolve o conceito de seleção e evolução do mecanismo que torna a população resistente devido a exposição repetida a um único herbicida.

### **2.1 - Tolerância:**

( Holt & Lebaron, 1990): é a ocorrência de espécies de plantas que possuem a habilidade natural de sobreviverem quando submetidas a altas dosagens de herbicidas, a partir de mecanismos pré-existentes.

### **2.2 - Resistência Cruzada:**

Segundo, Heap 1997, resistência cruzada existe quando uma população de plantas daninhas é resistente a dois ou mais herbicidas pela presença de um único mecanismo de resistência.

### 2.3 - Resistência Múltipla:

Segundo, Heap 1997, refere-se na situação onde uma planta daninha resistente possui dois ou mais mecanismos distintos de resistência. Os problemas mais difíceis de resistência a herbicidas agora e no futuro envolverão ervas daninhas que exibem resistência múltipla a herbicidas, segundo Mazur, 1989. Desconhecido em plantas até recentemente, (Rubim, 1991), o fenômeno de resistência múltipla é definido como a expressão (dentro de indivíduos ou populações) de mais de um mecanismo de resistência. Plantas resistentes múltiplas podem possuir de dois a muitos mecanismos de resistência distintos e podem exibir resistência a alguns ou muitos herbicidas. Os casos mais simples são onde uma planta individual (ou população) possui dois ou mecanismos de resistência mais diferentes que provêm resistência para um único herbicida, ou classe de herbicidas. Existem situações onde dois ou mais mecanismos de resistência distintos foram selecionados consecutivamente ou concorrentemente através de herbicidas diferentes e foram observados casos de resistência para as classes de herbicidas a qual as plantas tinham estado expostos. Os casos mais complicados e difíceis para controle das situações são onde vários mecanismos de resistência envolvendo local de ação e mecanismos de não resistência de local designados estão presentes dentro do mesmo indivíduo. Foram documentados casos simples de resistência múltipla para um número pequeno de espécie de erva daninha, a maioria de casos e as situações mais complicadas foram descritas para biótipos de *L. rigidum*.

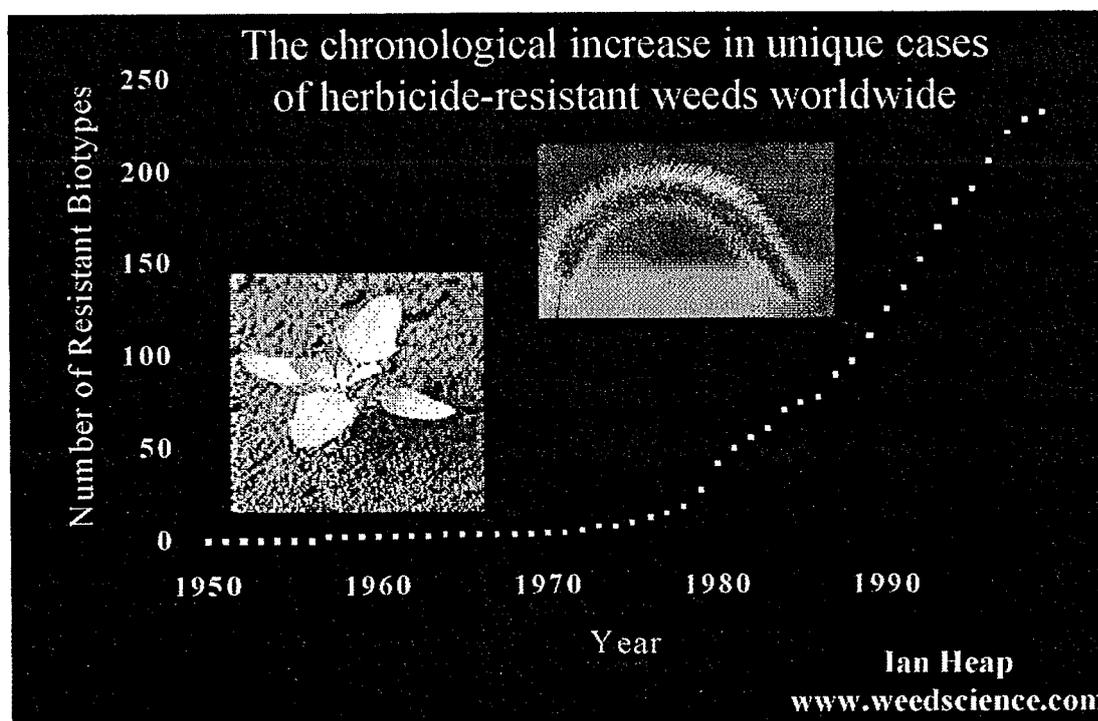
### 3 - Incidência de Plantas Daninhas no Mundo

PRINCIPAIS GRUPOS DE HERBICIDAS E NÚMERO DE BIÓTIPOS RESISTENTES.

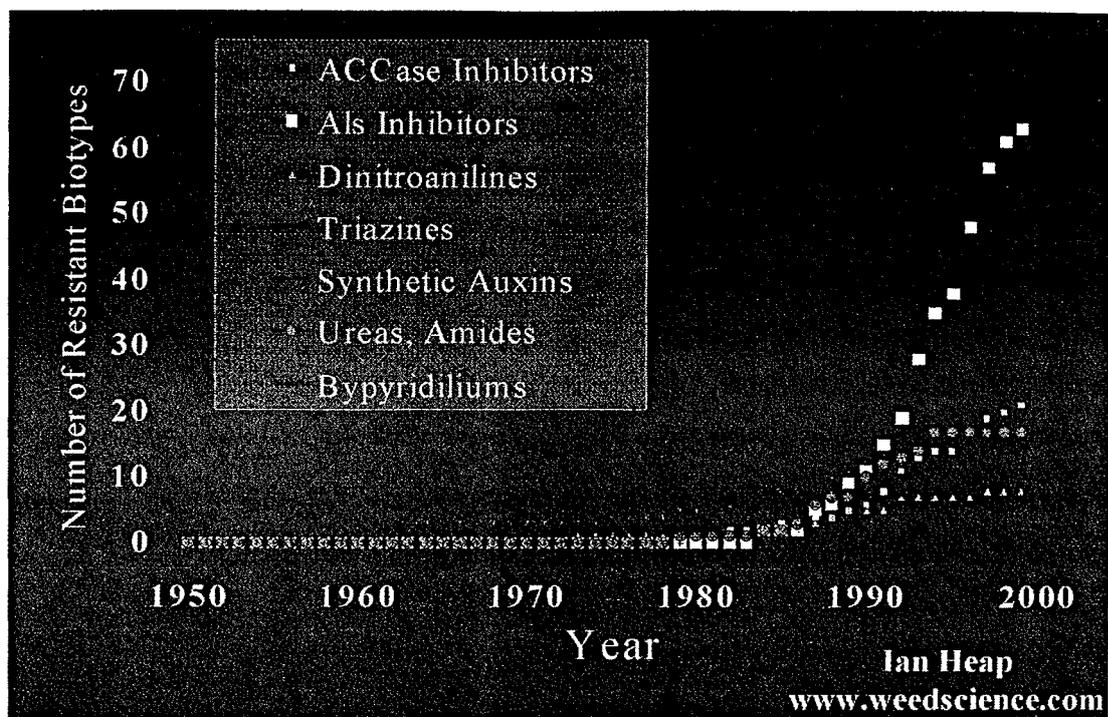
Grupo do Herbicida	Exemplo	Código HRAC	Dicotiledôneas	Monocotiledôneas
Inibidores da ALS	Chorsulfuron	B	43	20
Triazinas e outros	Atrazina	C1	43	18
Bipyridiliums	Paraquat	D	18	7
Inibidores de ACCase	Diclofob-methyl	A	0	21
Síntese de Auxinas	2,4 – D	O	15	4

Uréia e amidas	Chlorotoluron	C2	6	11
Dinitroanilinas	Trifuralina	K1	2	7
Triazolinas	Amitrole	F3	1	3
Chloroacetamidas	Metalochlor	K3	0	3
Thiocarbamatos	Trialleto	N	0	3
Glicinas	Glifosate	G	0	2
Benzofluram	Ethofumesate	N	0	1
ÁcidosClora-carbônicos	Dalapon	N	0	1
Nitrilas	Bromoxinil	C3	1	0
Organoarsênicos	MSMA	Z	1	0
Pyrazoliums	Difenzoquat	Z	0	1
Não conhecidos	Flamprop-methyl	Z	0	1
<b>TOTAL</b>			<b>129</b>	<b>104</b>

Fonte: Herbicide Resistance Action Committee, 2000



Número de biótipos resistentes ao longo dos anos



#### 4. Mecanismo de Resistência:

O mecanismo de resistência se refere ao método pelo qual uma planta resistente supera o efeito de um herbicida. O tipo de mecanismo presente influenciará no padrão de resistência, particularmente para o perfil de resistência cruzada e da resposta da dose. Os mecanismos mais comuns são:

- **MUDANÇA NO LOCAL DESIGNADO PARA A AÇÃO DO HERBICIDA DENTRO DE UMA PLANTA:** Significa que o herbicida já não se ligará no seu local normal de ação devido a uma mudança na estrutura do local designado, permitindo a planta assim sobreviver ao tratamento do herbicida que confia neste local para sua atividade (Warwick, 1991).
- **AÇÃO DO METABOLISMO:** É a capacidade da planta degradar o herbicida em substâncias não-tóxicas ou menos tóxicas antes que o produto alcance o sítio de atuação, sobrevivendo a um tratamento com o herbicida (Dekker e Duke, 1995). A hidrólise de herbicidas é uma reação comum nas

plantas e é importante na destoxificação de vários herbicidas, inclusive bromoxynil, cymazine e propanil (Fisher *et al.*, 1996).

- **COMPARTIMENTALIZAÇÃO DA MOLÉCULA DO HERBICIDA:** removendo de partes sensíveis da célula de planta para um local tolerante, como um vacúolo onde é efetivamente inofensiva para o crescimento da planta (Dyer *et al.*, 1993).

**MODO DE AÇÃO DO HERBICIDA:** Se refere ao mecanismo bioquímico pelo qual um herbicida causa a redução do crescimento ou morte da planta daninhas. Os herbicidas podem ser classificados em grupos de acordo com o local de atividade dentro da planta.

## **5- Alterações no Material Genético**

As informações genéticas de um organismo estão contidas em seu material genético (DNA). As alterações que ocorrem no DNA, mas não provocam a morte do indivíduo, são, na sua grande maioria repassadas aos seus descendentes. Alterações por mais mínimas que possam ser tem a capacidade de alterar a seqüência específica de nucleotídeos, responsáveis pela codificação de proteínas.

As etapas para produção de uma proteína são a transcrição, que é a cópia do DNA pela enzima RNA polimerase, formando o RNA mensageiro (mRNA); e a tradução do mRNA, com a montagem da proteína pelo ribossomo. Na tradução do mRNA, cada trinca de nucleotídeos (bases nitrogenadas) codifica um aminoácido que comporá a futura proteína. A seqüência linear de nucleotídeos em um gene determina a seqüência linear de aminoácidos de uma proteína (Suzuki *et al.* 1992).

A probabilidade de erros na replicação do DNA e na multiplicação do material genético durante o crescimento do indivíduo é de cerca de  $10^{-4}$ , diminuindo para  $10^{-9}$  pela ação das enzimas reparadoras (Suzuki *et al.* 1992), porém, mesmo que remota, a

possibilidade de erro existe. Os erros na replicação e as lesões espontâneas geram a maior parte das mutações por substituição de bases e mudança na matriz de leitura. A ocorrência de erros na replicação ou transcrição da fita do DNA e na tradução do mRNA, bem como a ocorrência de mutações que provoquem inserção, deleção ou substituição de uma base nitrogenada, pode alterar um ou mais aminoácidos da proteína a ser formada, resultando em uma proteína mutante.

A mutação é um processo biológico que vem ocorrendo desde que há vida no planeta, no entanto, a maioria delas é deletéria e a evolução só é possível porque algumas delas podem ser benéficas em determinadas situações.

Biótipos resistentes podem ocorrer em populações de plantas daninhas como resultado de mutações que provocam alterações no local de ação dos herbicidas (Heap, 1997). A atividade da enzima pode ou não ser modificada, estando na dependência de qual aminoácido foi alterado. Caso ele componha o centro ativo da enzima, a probabilidade da alteração de suas características cinética serem modificadas é grande. Já se o aminoácido alterado for o ponto ou um dos pontos de acoplamento de uma molécula herbicida, este produto pode perder a atividade inibitória sobre esta nova enzima, como aconteceu em plantas que adquiriram resistência ao herbicida atrazina. Pequenas alterações no polipeptídeo pode resultar em grande efeito sobre sua afinidade com a molécula de herbicida.

A alteração do local de ação significa que a molécula herbicida não consegue mais inibir este ponto, devido a uma ou mais alterações na estrutura deste local. Contudo, em uma população de biótipos resistentes existem diferentes níveis de resistência e susceptibilidade que podem estar relacionados com o tipo de mutação ocorrida, com as formas alélicas do gene, com o tipo de molécula e, ou com o tipo de mecanismo que está proporcionando resistência.

Fontes externas de radiação, como o sol, podem provocar mutações no DNA. A luz ultravioleta e oxigênio são altamente mutagênicos. Segundo Vargas *et al.* (1999), acredita-se que os herbicidas não sejam capazes de provocar mutações, já que estes produtos, antes de serem lançados no mercado, são avaliados quanto a sua capacidade mutagênica. Não há evidências e é muito improvável que mutações possam ocorrer pela ação de herbicidas. Porém, segundo Bettini *et al.* (1987) em Vargas *et al.* (1999) relatou-se que aplicações subletais em plantas sensíveis de *Chenopodium album* resultaram, em gerações subsequentes, progênies resistentes a triazinas. Isso indica que resistência a triazinas pode ser induzida por baixas doses deste herbicida.

## 6 – Principais Modos de Ação e Mecanismos de Resistência Susceptíveis a Mutações Genéticas

### HERBICIDAS INIBIDORES DA ALS:

Durante a última década foi muito importante a descoberta dos herbicidas inibidores da síntese de acetolactato (ALS), (Saari et al., 1994). A partir deste modo de ação, foram comercializados as sulfonilurea, imidazolinonas, e triazolopyrimidina de uso muito difundidos. A adoção de grande escala e uso persistente deste herbicidas conduziu o aparecimento de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores ALS. Segundo, Saari et al. 1994, há muitos biótipos, pelo menos 15 espécie de erva daninha (especialmente de *Kochia scoparia* e de *Lolium rigidum*) que desenvolveram resistência a herbicidas inibidores da ALS, principalmente por seleção com herbicidas sulfonilureas (presumivelmente porque eles estiveram disponíveis para uso comercial por período mais longo). Na maioria vasta de casos de resistência pela seleção com herbicidas sulfonilurea, o mecanismo de resistência é uma mudança na enzima de local designada ALS (revisou através de Saari et al., 1994). Na maioria dos casos, os biótipos sulfonilurea-resistentes exibem níveis variados de resistência local designado resistência cruzada para os princípios quimicamente similares.

A variação considerável no nível de resistência por e dentro de várias grupos químicos de herbicidas inibidores da ALS é provável devido a ligação do herbicidas particular na enzima de ALS e mutações diferentes de ALS. Evidência descritas em estudos mostram que as três classes de inibidores da ALS ligam-se no mesmo, ou sobrepondo locais do gene da ALS (Durner et al., 1991; Landstein et al., 1993). A variação larga em local designa resistência cruzada entre biótipos com enzima de resistência a ALS implicando com isso várias mutações funcionais diferentes do gene de ALS. O conhecimento de mutações específicas de ALS que provê resistência está emergindo agora.

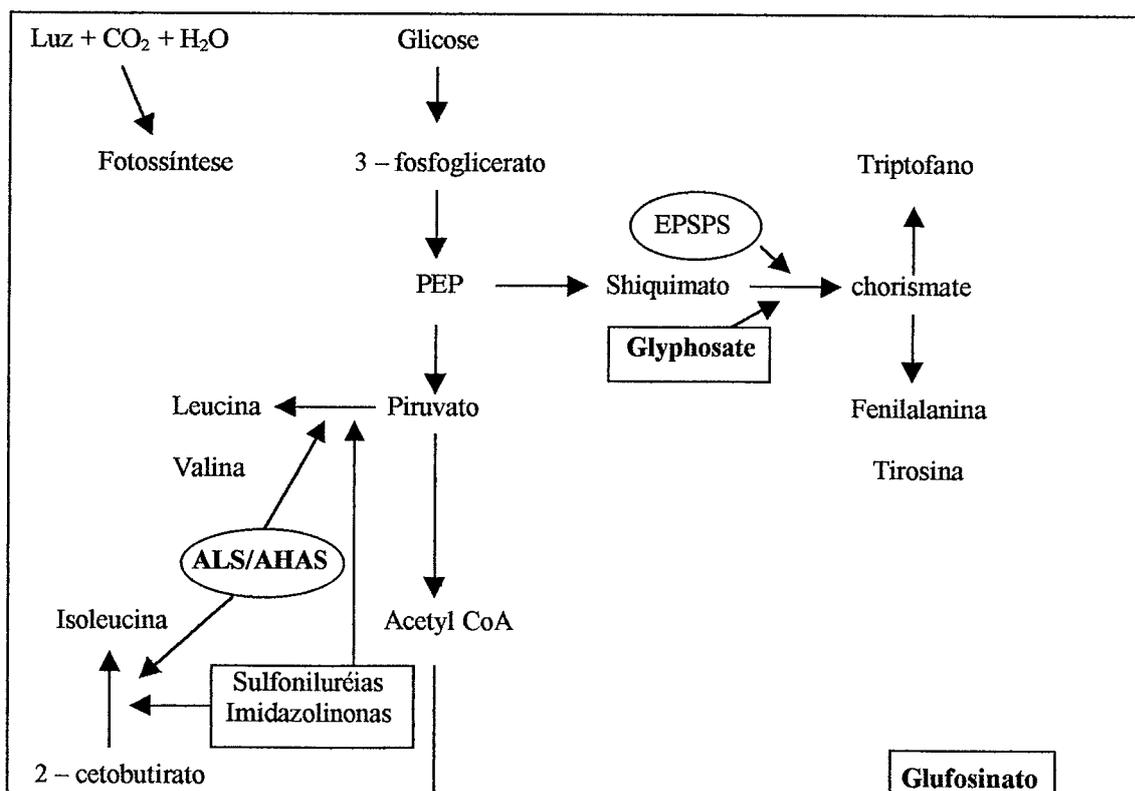
Segundo Guttiere *at al.* (1995), estudos de comparação entre biótipos resistentes e susceptíveis em *Kochia scoparia* indicaram uma substituição a um resíduo de prolina (173) em uma região altamente conservada da enzima, conhecido como domínio A. Porém, as substituições de prolina variam em substituições de threonina, alanina, serina, histidina, arginina e glutamina. Neste mesmo ponto foram encontradas mutações que

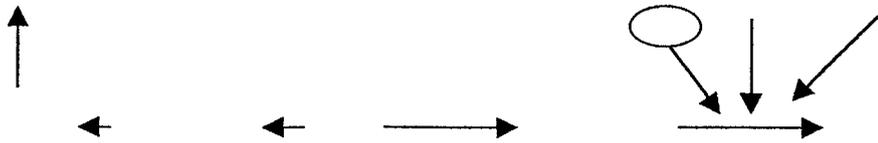
conferiram resistência em plantas de *Lactuca serriola* L. , tabaco (*Nicotiana tabaccum* L. e *Brassica napus* L. .

No caso das plantas de tabaco (*Nicotiana tabaccun* L. ), Lee *at. al.* (1988), sugere a existência de dois genes distintos responsáveis pela síntese da enzima ALS, decorrentes da hibridização de espécies diplóides ( *N. tomentosiformis* e *N. sylvestris* ). Ambas as espécies parentais teriam contribuído para a classe de genes da ALS, em *Nicotiana tabaccum* L.. Foram caracterizadas 2 mutantes resistentes a herbicida do gene da ALS, C3 e S4-Hra. Nos locais denominados C3 ocorreu uma única mutação, o aminoácido prolina foi substituído pelo aminoácido glicina na posição 153, esse gene tem o termo de classe I e é equivalente ao locus SuRA. Na região denominada S4-Hra, dois aminoácidos mudaram, prolina por alanina na posição 196 e triptofano por leucina na posição 573, este gene recebe o termo classe II ou locus SuRB.

Segundo Bernasconi *at. al* , ocorreu-se a substituição da serina na posição 653 por uma aspargina em biótipos resistentes de *Arabdopsis thaliana* , conseguiu-se também a indução de mutação em milho (*Zea mays*) da alanina 56 por uma tirosina originando um produto comercial denominado milho ICI 8532 IT.

No são encontrados biótipos resistentes em *Bidens pilosa* e *Bidens subalternans* e *Amaranthus quitensis* , os quais ainda estão sendo submetidos a estudo.





Herbicidas inibidores da síntese de aminoácidos e respectivos locais de ação. Nos retângulos constam os nomes comuns dos herbicidas e, nas elipses, as respectivas enzimas inibidas. PEP: fosfoenolpiruvato; C.K: Ciclo de Krebs; GS: Glutamina sintase.

## HERBICIDAS INIBIDORES DO FOTOSISTEMA II:

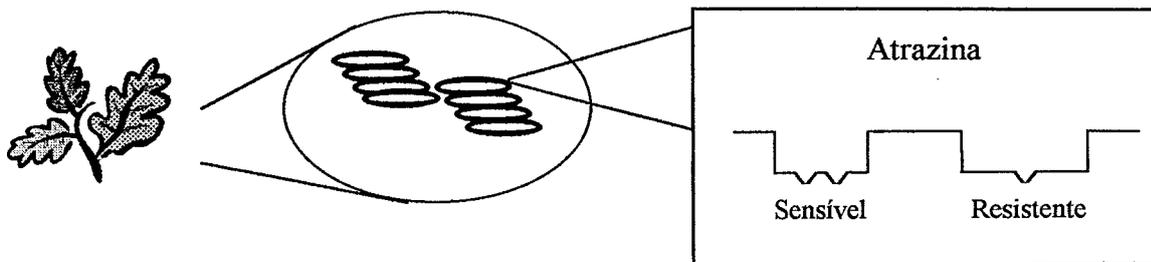
Os herbicidas pertencentes aos grupos triazinas e uréias substituídas, causam a inibição no fotossistema II ligando-se à proteína D1, no sítio onde se acopla a plastoquinona QB. Estes herbicidas competem com a plastoquinona QB, parcialmente reduzida (QBH) pelo sítio na proteína D1, ocasionando a saída da plastoquinona e interrompendo o fluxo de elétrons entre os fotossistemas.

A associação das moléculas dos herbicidas com a proteína se dá com aminoácidos diferentes do sítio, o que impede que plantas resistentes à determinado herbicida ou um grupo de herbicidas sejam resistentes aos demais herbicidas.

Atualmente existem 43 dicotiledôneas e 18 monocotiledôneas como espécies de plantas daninhas resistentes aos herbicidas triazinas. A maioria dos casos foram identificados na América do Norte e Europa. Foram divulgadas nove espécies de *Amaranthus*, cinco de *Polygonum* e quatro de *Chenopodium* segundo Holt, 1995.

É estimado que exista aproximadamente três milhões de hectares infestados com plantas daninhas resistentes à triazina. Em diversos países tem-se obtido sucesso no controle destas plantas com utilização de herbicidas alternativos.

Alterações na proteína D1 são as principais causas de resistência a estes herbicidas. Foi identificada apenas uma única mutação na proteína D1, a substituição da serina 264 por uma glicina no gene PseA, em várias plantas como: *Amaranthus cruentus*, *Raphanus raphanistrum* e *Sinapis arvensis*. Esta mutação afeta o fluxo de elétrons no Fotossistema II reduzindo a fixação de CO<sub>2</sub>, assim, biótipos resistentes apresentam menor crescimento que biótipos normais. A mutação responsável pela resistência as triazinas ocorreu no genoma do cloroplasto, dessa forma, a resistência não é transmitida hereditariamente via pólen, mas somente pela herança citoplasmática.



#### HERBICIDAS INIBIDORES DA ACCase:

Durante as décadas de 1970 e 1980, foram agrupados dois grupos de herbicidas quimicamente similares, o ácido de aryloxyphenoxypropionic (APP) e cyclohexanediona (CHD), desenvolvendo herbicidas que visam a enzima ACCase, amplamente adotado e comercializado. Estes herbicidas são letais a muitas Gramíneas mas é inocente a espécie de dicotiledôneas. Seu uso foi difundido seguindo na Austrália e América do Norte (Devine e Shimabukuro, 1994).

Estes herbicidas atuam inibindo a enzima acetyl-CoA carboxylase (ACCase) de forma reversível e não competitiva, na rota de síntese de lipídios.

Estudos para casos de resistência cruzada para o APP e herbicidas de CHD, demonstraram que o nível de resistência para APPs é maior que para CHDs. Tornando-se evidente que biótipos resistentes a ACCase possuem padrões diferentes de resistência ao nível de planta inteira e em ensaios de ACCase (Tardif e Powles, 1993). Em vários biótipos da espécie de aveia selvagem (*Avena fatua* e de *Avena sterilis*) resistentes aos herbicidas APP demonstram formas resistentes da enzima de ACCase, apresentando isoenzimas insensíveis ao herbicida.

Os padrões de resistência de ACCase para herbicidas podem ser até mesmo diferentes entre biótipos resistente da mesma espécie. Por exemplo, entre biótipos de *L. rigidum*, resistência para haloxyfop pode percorrer de moderado para alto, e resistência para sethoxydim pode variar de não existente a moderada. As diferenças em local designado para a ação do herbicida é o resultado de seleção para diferentes mutações do gene de ACCase em populações resistentes diferentes.

Não se sabe precisamente quais são os pontos de mutação, sabe-se somente que a ACCase mutante é comandada por um único gene parcialmente dominante.

## HERBICIDAS INIBIDORES DA ENZIMA EPSPs:

O Glifosate é considerado um herbicida de baixo risco na evolução de resistência. Seu modo de ação, estrutura química e limitada metabolização na planta são algumas razões pelo qual pode-se comprovar esta afirmação. Trabalhos demonstraram que não há diferenças de absorção, metabolismo e sensibilidade ao glyphosate entre biótipos resistentes e susceptíveis, observa-se apenas um maior nível de mRNA nos biótipos resistentes, podendo esta ser a causa de resistência.

Atualmente o Glifosate tem tido muita importância dada a resistência induzida em culturas comerciais através das técnicas da biotecnologia. O isolamento de genes de microorganismos que expressam um tipo de proteína resistente ao herbicida, possibilitaram a promoção de um tipo de resistência induzida as culturas comerciais.

## HERBICIDAS INTERRUPTORES DA DIVISÃO CELULAR:

Os herbicidas do grupo químico dinitroanilinas, como Trifuralin, Orizalyn e Pendimethalin, são usados em pré-emergência para controlar plantas daninhas gramíneas em culturas oleaginosas.

Estes herbicidas agem, ligando-se à tubulina, principal proteína componente dos microtubulos, os quais orientam os cromossomos durante a anáfase na mitose. Assim, durante a divisão celular não ocorre a divisão dos cromossomos e o resultado é a formação de células com número anormal de cromossomos. As plantas sensíveis germinam, mas muitas vezes não emergem, devido à inibição do crescimento do coleótilo e da radícula. Em plantas adultas e naquelas que conseguem emergir, observa-se pouca formação de raízes e engrossamento do colo da planta.

Apesar do tempo de uso e do seu longo período residual, somente cinco monocotiledôneas e uma dicotiledônea apresentam resistência a este grupo de herbicidas. A resistência a este tipo de herbicidas está associada a uma mutação na proteína tubulina, porém não se conhece precisamente quais os fatores que provocaram tal resistência.

## **7 - Atividades Desenvolvidas Durante o Período de Estágio Supervisionado**

Experimento de Estabelecimento de Curva de Dose / Resposta Para Biótipos Resistentes e Susceptíveis de *Bidens pilosa* aos Herbicidas Inibidores da ALS

O presente experimento tem como intenção determinar o grau de resistência entre biótipos diferentes de *Bidens pilosa*, submetidos a aplicações crescentes logarítmicas de herbicida. Tal comparação é possível através do estabelecimento de uma curva de dose/resposta, avaliando-se a ação do herbicida ao longo do tempo sobre os biótipos susceptíveis e resistentes. A análise final é feita através da comparação do DL 50 – dose capaz de controlar 50% da população – entre as curvas da população susceptível e resistente.

Foram utilizados herbicidas Inibidores da ALS, os quais foram responsáveis pela seleção dos biótipos em áreas agrícolas naturais. Foram utilizados no ensaio os herbicidas comerciais, Sanson (nicosulfuron), com dose recomendada de 1,0 l/há, Classic (chlorimuron ethyl), com dose recomendada 70 g/há e Pivot ( imazethapyr) , com dose recomendada de 1,0 l/há.

O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, com plantio de sementes originárias de plantas susceptíveis e resistentes, em vasos. Aos 14 dias após a emergência das sementes foram aplicados os herbicidas nos vasos contendo aproximadamente cinco indivíduos.

Foram estabelecidos os seguintes tratamentos:

Classic	Dose (g/há)	Sanson	Dose (l/há)	Pivot	Dose (l/há)
1*	0,0	1*	0,0	1*	0,0
2	0,7	2	0,0	2	0,0
3	7,0	3	0,1	3	0,1
4**	70,0	4**	1,0	4**	1,0
5	700,0	5	10,0	5	10,0
6	7000,0	6	100,0	6	100,0

\* Tratamento testemunha

\*\* Dose Recomendada

Foram realizadas 4 repetições para cada herbicida diferente e as avaliações foram feitas aos 7, 14 e 21 dias após aplicação. Tentou-se representar os danos causados pelas diferentes doses de herbicidas comparando-se os tratamentos com a testemunha e

estipulando-se notas variáveis de 0 a 100, onde 0 representava nenhum controle e 100 representava o controle total das plantas.

Após a coleta dos dados, necessita-se agora da análise das médias entre as repetições, por tratamento, para as plantas resistentes e susceptíveis e construção de um gráfico entre as doses logarítmicas aplicadas (tratamentos) e controle das plantas (0 a 100%). Como parâmetro de comparação será utilizado o DL 50, como descrito anteriormente.

#### Sequenciamento dos Fragmentos Clonados

Durante o período designado ao Estágio Supervisionado II, também foi realizado a continuação dos trabalhos de análise molecular com sequenciamento de fragmentos de *Bidens pilosa*, biótipos resistentes e susceptíveis, isolados por PCR e clonados.

Durante este período foram obtidas seqüências homólogas às do gene que codifica a proteína ALS em seis diferentes plantas, três delas resistentes aos herbicidas inibidores da ALS (BSC 13, BSC18 e BSC17) e outras três susceptíveis (BSC 04, BSC09, BSC18). Em algumas destas plantas tem-se mais de um clone seqüenciado, como é o caso das plantas BSC 13, BSC18, BSC 04, BSC09 e BSC 18 . Foi também extraído DNA das novas plantas submetidas ao teste de resistência e está sendo tentado a amplificação dos fragmentos para futura clonagem.

Total de plantas seqüenciadas até o momento:

PLANTA	- TIPO -	NÚMERO DE AMOSTRAS		TOTAL
		Primer R	Primer F	
BSB 06	Susceptível	02	03	05
BSB 07	Susceptível	02	02	04
BSC 09	Susceptível	--	01	01
BRC 13	Resistente	05	05	10
BRC 17	Resistente	--	01	01
BRC 18	Resistente	01	02	03
BSC 04	Susceptível	02	02	04
BSC 09	Susceptível	02	02	04

## 8 - Conclusão:

A dependência de controle químico de ervas daninhas tem aumentado na agricultura mundial, por vários motivos, como a necessidade de produção maior de alimento, maior facilidade e rapidez nas operações, entre outros.

Contudo esta dependência passa a ser prejudicial quando não tomadas as devidas providencias necessárias a redução da pressão de seleção e conseqüente aparecimento de biótipos resistentes. Várias medidas podem ser utilizadas em conjunto com o controle químico.

Já existem no mundo muitas espécies de plantas daninhas que se não forem controladas a tempo podem refletir de maneira muito prejudicial na agricultura futuramente. Vários tipos de mecanismos de resistência podem ser observados.

Muitos dos casos de resistência estão relacionados a mutações que ocorrem na seqüência de nucleotídeos, modificando o mRNA e sua conseqüente proteína codificada.

Tais mutações devem ser melhor estudadas, pois além do melhor entendimento dos mecanismos de resistência, estas se apresentam como uma importante fonte de recursos para a transformação de plantas e tranferência de resistência.

A sustentabilidade da agricultura no futuro depende das atitudes do presente como prevenção, controle e fomento a pesquisa contra a invasão das plantas daninhas resistentes.

A respeito do nosso projeto de pesquisa, conseguimos o estabelecimento do protocolo para sequenciamento e já temos pelo menos três plantas susceptíveis e três resistentes seqüenciadas, permitindo que iniciemos a etapa de extensão do gene da ALS.

## 10 - Bibliografia:

- BERNASCONI, P. et al. A Naturally Occurring Point Mutation Confers Broad Range Tolerance to Herbicides That Target Acetolactate Synthase; *The Journal of Biological Chemistry*. Vol 270 ; nº 29 , 1995.
- DEKKER, J. ; DUKE, S. O. Herbicide resistance in field crops. *Adv. In Agronomy*. 1995 .54 : 69 – 116.
- DURNER, J., V. GAILUS, and P. BÖGER. . New aspects of inhibition of plant acetolactate synthase by chlorsulfuron and imazaquin. *Plant Physiol*. 1995: 1144-1149
- DEVINE, M. D., J. C. HALL, M. L. ROMANO, M. A. S. MARLES, L. W. THOMPSON, and R. H. SHIMABUKURO.. Diclofop and fenoxaprop resistance in wild oat is associated with an altered effect on the plasma membrane electrogenic potential. *Pestic. Biochem. Physiol.* . 1993 45: 167-177
- DYER, W.E. ; CHEE. P.W.; FAY, P.K. Rapid germination of sulfonylurea resistant *Kochia scoparia* is associated with elevated seed levels of branched chain amino acids. *Weed Science*, 1993. 41 18-22
- FISHER, A. J. ; RAMIREZ, H.V. ; CHAREEZ, A. L. ; GRANADOS, E. e IRUJILLO, D. Resistance to propanil in populations of junglerice (*Echinochloa colona*). In *Proceedings of the International Symposium on Weed and Crop Resistance to Herbicides*. University of Cordoba, Espanha , 1996, p 268.
- GOULD, F Comparisons between resistance management strategies for insects and weeds. *Weed Technology*, 1995, 9 830 - 839
- GRESSEL, J. e SEGEL, L.A.. Herbicide rotation and mixtures: effective strategies to delay resistance. *Managing Resistance to Agrochemicals, from Fundamental Research to Practical Strategies*. American Chemical Society. Washington, 1990 p 430-458.
- GUTTIERI, M. J. et al. Diverse Mutations in the Acetolactate Synthase Gene Confer Chlorsulfuron Resistance in *Kochia (Kochia scoparia)* Biotypes . *Weed Science*, vol 43 , 175 – 178 . 1995
- HEAP ; I. M. The occurrence of herbicide –resistant weeds worldwide. *Pesticide Science* V. 51 .p 235 –243 . 1997
- HOLT, J e LeBARON, H.M.. Significance and distribution of herbicide resistance. *Weed Technology* 4 : 141-149 ,1990.
- HOLT, J. fitness and ecological adaptability of herbicide resistant biotypes. *Managing Resistance to Agrochemicals, from Fundamental Research to Practical Strategies*. American Chemical Society. 1995 Washington, p 419-429.

- JASENUIK, M. ; BRULÉ-BABEL, A. ; MORRISON, I. N. The evolution and genetics of herbicides resistance in weeds. *Weed Science*, 44 :176 – 193 1996.
- LANDSTEIN, D., S. M. ARAD, Z. BARAK, and D. M. CHIPMAN. Relationships among the herbicide and functional sites of acetohydroxy acid synthase from *Chlorella emersonii*. *Planta* 191: 1-6. 1993.
- LeBARON, H. M. Distribution and seriousness of herbicide-resistant weed infestations worldwide. In *Herbicide Resistance in Weeds and Crops* (J. C. Caseley, G. W. Cussans, and R. K. Atkin, Eds.). Butterworth-Heinemann, Oxford, pp. 27-43. 1991.
- LEE, K. Y. et al. The Molecular Basis of Sulfonylurea Herbicide Resistance in Tobacco. *The EMBO Journal*, vol 7, n. 5 ,pag 1241 – 1248, 1988.
- MAXWELL, B.D. ; M.L. ROUSH e S.R. RADOSE. Predicting the evolution and dynamics of herbicides resistance in weed populations. *Weed Technology* 4 : 2 - 13.
- MAZUR, B.J. e FALCO, S. C. The Development of Herbicide Resistent Croops. *Ann. Ver. Plant Molec. Biol.* 40 , 441 – 470, 1989.
- PRESTON, C; HOLTUM, J. A. M.; POWLES, S. B. On teh mechanism of resistance to paraquat in *Hordeum glaucum* e *H. leporinum*. *Plant Physiology*, Palo Alto, 1992. V. 100 p 630 – 636.
- RUBIM, B. Herbicide resistance in weeds and croops, progrees and prospects. *Herbicide Resistance in Weeds and Croops*. Butterwoth-Heinemann Ed. Oxford p. 387- 414, 1991.
- SAARI, L. L., J. C. COTTERMAN, and D. C. THILL. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In *Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry*, (S. B. Powles and J. A. M. Holtum, Eds.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp. 83-139, 1994.
- TARDIF, F. J., J. A. M. HOLTUM, and S. B. POWLES. 1993. Occurrence of a herbicide-resistant acetyl-coenzyme A carboxylase mutant in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) selected by sethoxydim. *Planta* 190: 176-181.
- VARGAS, L.; SILVA,A.A.; ; BORÉM, A.; REZENDE,S.T.; FERREIRA, F.A., SEDIYAMA,T.; *Resistência de Plantas Daninhasa Herbicidas*,Viçosa, 1999, 131p.
- WARWICK, S.L. Herbicide resistance in weed plants: physiology and population biology. *Annu. Ver. Ecol. Syst.* 1991, 22, 95-114.

<http://www.weedscience.com>

<http://www.weedresearch.com>



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA LUIZ DE QUEIROZ**

**PET-BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO**

**“DESEMPENHO AGRONÔMICO E ANÁLISE  
GENÉTICA DE CRUZAMENTOS  
CONTRASTANTES PARA RESISTÊNCIA AO  
NEMATÓIDE DE CISTO E CANCRO DA HASTE DA  
SOJA”**

**Éverton Yoshiaki Hiraoka**

10/02

# DESEMPENHO AGRONÔMICO E ANÁLISE GENÉTICA DE CRUZAMENTOS CONTRASTANTES PARA RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE DE CISTO E CANCRO DA HASTE DA SOJA

## 1. INTRODUÇÃO:

O cultivo da soja está em ampla ascensão no Brasil e estimativas indicam que se tornará a principal cultura em área cultivada no país na safra 2000/01. Os incentivos para o cultivo da soja, a expansão para as áreas do Cerrado, as melhorias no manejo e obtenção de cultivares mais adaptados e produtivos em diferentes ambientes do país têm sido decisivos para este incremento. Apesar disto, fatores de estresses bióticos estão limitando o desenvolvimento da cultura em muitas áreas, reduzindo os patamares de produtividade. Dentre esses, os principais têm sido o nematóide de cisto da soja (NCS; *Heterodera glycines* Ichinohe) e o cancro da haste da soja (CHS, *Diaphorte phaseolorum* f. sp. *meridionalis* Morgan-Jones).

No Brasil, o NCS está relacionado como um dos principais fatores que reduzem a produtividade de grãos em muitas áreas de cultivo da soja e já foi detectado nos estados no MT, MS, GO, RS, MG, SP e PR. Apesar do patógeno não ter sofrido pressão de seleção pelo uso de cultivares de soja resistentes, já foram detectadas as raças 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10 e 14, e as raças 4+ e 14+ (raças capazes de quebrar a resistência do cultivar Hartwig, até então resistente a todas as raças), demonstrando elevada variabilidade genética do nematóide no País (EMBRAPA, 1999).

Há estimativas de perdas anuais de 10,6% da produção mundial devido ao parasitismo causado pelo NCS, podendo ser superior, uma vez que frequentemente é confundido com deficiências nutricionais (Silva, 1998). No Brasil, apesar de ter sido introduzido recentemente, as perdas são estimadas em 1 a 3 % em média, podendo chegar a perda total nas áreas de grande infestação. Práticas de manejo, como rotação de culturas têm permitido conviver com a doença e possibilitado o cultivo da soja em áreas infestadas. Contudo, estas técnicas não são viáveis em muitas regiões e não são facilmente adaptadas a todos os produtores. Com isto, o desenvolvimento de cultivares resistentes ou tolerantes, aliado a práticas culturais deve ser a alternativa mais eficiente (Kiihl & Almeida, 1995).

A resistência ao NCS é controlada por muitos genes (Mansur et. al., 1993). Contudo, a resistência completa pode ser avaliada qualitativamente, pois para as diferentes raças a resistência é controlada por poucos genes (Webb et. al., 1995). Uma das maiores dificuldades encontradas para o melhoramento da resistência é o grande número de raças presentes. A raça 3, por ser a raça selvagem predominante e por conferir maior agressividade tem sido mais estudada.

Os estudos de herança envolvendo marcadores moleculares têm evidenciado que três genes respondem pela maior parte da variação para resistência a raça 3. Sendo a ação gênica preponderantemente recessiva. (Dong et. al., 1997). A seleção de genótipos

resistentes, como rotina, através de manutenção do patógeno e avaliações através da contagem do número de ovos presentes nas raízes (Vierling, 1996).

As fontes de resistência são normalmente genótipos muito pobres agronomicamente, com sementes pretas e não adaptadas às condições brasileiras de cultivo. No entanto, a identificação de resistência as NCS no germoplasma cultivado também têm sido pesquisada (Silva, 1999). Outra dificuldade encontrada tem sido o acúmulo de genes para resistência ao NCS e CHS em um único genótipo com desempenho agrônomo desejável.

O CHS é uma doença séria e que tem provocado grandes perdas na cultura da soja, principalmente em reigões ainda com deficiência em cultivares resistentes (Norte e Nordeste) (Yorinori, 1997; Silviero et. al., 1997). O fato de poucos genes (dois) estarem envolvidos na resistência e ação gênica ser dominante, assegura alta herdabilidade ao caráter e facilita os programas de pesquisa com o objetivo de transferir genes de resistência para cultivares suscetíveis (Hiromoto, 1996). Atualmente, a identificação e seleção de genótipos resistentes ao CHS têm sido condição primordial nos programas de melhoramento de soja.

Este trabalho faz parte de uma das linhas de pesquisa do Setor de Genética Aplicada às Espécies Autógamas do Departamento de Genética, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP). Este programa teve início em 1997 com a síntese de populações a partir de um dialelo completo, visando o desenvolvimento de genótipos de soja com alta produtividade de grãos e resistência a doenças (NCS e CHS).

O objetivo deste estudo é a incorporação de genes para resistência ao NCS e ao CHS em um único genótipo superior de soja, provenientes de cruzamentos biparentais entre linhagens USPs contrastantes para estas doenças e outros caracteres agrônômicos. Características de importância agrônômica como produtividade, altura da planta, ciclo e valor agrônômico, serão avaliadas para posterior estimação das correlações genéticas entre estes caracteres e a reação às doenças NCS e CHS.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material Experimental

O germoplasma pesquisado compreende cinco linhagens com a sigla USP (USP1-11, USP2-16, USP5-19, USP6-6 e USP11-14) desenvolvidas no Departamento de Genética da ESALQ/USP, além dos genótipos IAC-100, Hartwig, Conquista, MT-BR-95-123800 e MT-BR-95-123247.

As linhagens USP1-11 e USP2-16 são resistentes ao NCS e ao CHS. As linhagens USP5-19, USP6-6 e USP11-14 são resistentes ao NCS e suscetíveis ao CHS. Inicialmente, as cinco linhagens USPs antes relatadas foram cruzadas com linhagens irmãs suscetíveis ao NCS, porém resistentes ao CHS e promissoras para as demais características agrônômicas.

No ano agrícola de 1997/98 foram realizados 45 cruzamentos dialélicos envolvendo dez parentais (USP1-11, USP2-16, USP5-19, USP6-6, USP11-14, IAC-100, Hartwig, Conquista, MT-BR-95-123800 e MT-BR-95-123247) com este dialelo,

procurou-se adicionar, nas linhagens USPs, genes para resistência múltipla a diferentes raças de NCS presentes em Hartwig, MT-BR-95-123800 e MT-BR-95-123247; genes para período juvenil longo, alta produtividade e resistência ao CHS e outras doenças que causam danos à soja, presentes nos parentais Conquista, MT-BR-123800 e MT-BR-123247; genes para resistência ao CHS e tolerância a insetos, presentes em IAC-100.

As gerações F1, F2 forma avaliadas para desempenho agrônômico e campo. As gerações F3 deste cruzamentos serão avaliadas agronomicamente para os seguintes caracteres: número de dias para florescimento (NDF), Altura da Planta no Florescimento (APF), número de dias para a maturidade (NDM), altura da planta na maturidade (APM), acamamento (AC), valor agrônômico (VA), produtividade de grãos (PG), teor de óleo nas sementes (%OL), teor de proteína (%PR), produtividade de óleo (PO), produtividade de proteína (PP) e reação às doenças (NCS e CHS).

As análises estatísticas serão realizadas através do emprego do programa estatístico SAS.

## 2.2 Ambientes de condução dos experimentos

Os experimentos serão conduzidos em dois locais do município de Piracicaba, SP: Anhembi (localizado no campo experimental da ESALQ), situados a 22°45' de latitude Sul, 47°38' de longitude Oeste e altitude de 540 m. A área localizada na sede da ESALQ possui solo do tipo terra roxa estruturada, textura argilosa e relevo ondulado. Na Estação Experimental Anhembi, localizado a 60 km da sede, o solo é aluvial distrófico, textura médio-arenosa, relevo plano, com acidez neutralizada pela aplicação de calcário.

O delineamento utilizado será o de blocos casualizados, com três repetições por local. Cada repetição será constituída por 55 tratamentos, sendo 45 cruzamentos F3 e dez parentais. Cada parcela será representada por 12 covas de planta individual, espaçadas de 0,80 x 0,80 m. a semeadura será realizada no período normal de cultivo da soja para o Estado de São Paulo, ou seja, no mês de novembro no ano agrícola de 2000/01.

## 2.3 Etapas Futuras

Novos experimentos serão instalados no ano agrícola de 2001/02 para avaliar as progênies na geração F3:4 quanto a produtividade de grãos e interação genótipo x ambientes. Estes serão conduzidos em três locais (ESALQ, Anhembi e Areão). Posteriormente serão realizados experimentos visando identificar linhagens superiores e com resistência múltipla ao CHS e mais de uma raça do NCS.

## Referências Bibliográficas

DONG, K. E.; BARKER, K. R.; OPPERMAN, C. H. Genetics of soybean-*Heterodera glycines* interactions. Journal of Nematology, v. 29, n. 4, p. 509-522, 1997.

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. Soja: Recomendações técnicas para o Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. EMBRAPA Agropecuária Oeste - Dourados, 1999. 158 p. (Circular Técnica , 2).

HIROMOTO, D. M. Seleção de genótipos de soja para performance agronômica e resistência a *Heterodera glycines* Ichonhe e *Diaphorte phaseolorum f. sp. meridionalis* Morgan-Jones. Piracicaba, 1996. 84 p. (ESALQ/USP).

KIIHL, R. S. A. & ALMEIDA, L. A. Melhoramento de soja visando resistência ao nematóide do cisto *Heterodera glycines*. In: XIX CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA e XVII CONGRESSO DA ORGANIZAÇÃO DOS NEMATOLOGISTAS DA AMÉRICA TROPICAL. Rio Quente, 1995. Anas. P. 95-101.

MANSUR, L. M.; CARRIQUIRY, A. L.; RAO-ARELLI, A. P. Generations mean analysis of resistance raça 3 of soybean cyst nematode. *Crop Science*, Madison, 33:1249-1253, 1996.

SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; DIAS, W. P.; SILVA, E. A. Nematóides na cultura da soja. In: CÂMERA, G. M. S. (Editor). Soja: Teconologia da produção. Anais. Piracicaba, SP: ESALQ/USP - Departamento de Agricultura, 1998. P. 193-205.

SILVA, J. A. L.; SEDIYAMA, T.; CECON, P. R. Avaliação da resistência de 22 variedades e linhagens americanas e nacionais de soja à *Heterodera glycines*, raça 3. *Nematologia Brasileira*, v.23, n.2, p. 15-19, 1999.

SIVIERO, A.; MENTEN, J. O. M.; VELLO, N. A. Herança da resistência da soja a *Diaphorte phaseorum f. sp. meridionalis*. *Suma Phytopathologica*. Vol. 23, n. 2, p. 139-142.

VIERLING, R. A.; FAGHIHI, J.; FERRIS, V. R.; FERRIS, J. M. Associations to RFLP markers with loci conferring broad-based resistance to th soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). *Theoretical and Applied Genetics*. 92:83-86, 1996.

WEBB, D. M.; BALTAZAR, B. M.; RAO-ARELLI, A. P.; SHUPP, J. Genetic mapping of soybean cyst nematode race-3 resistance loci in the soybean PI 437654. *Theoretical and Applied Genetics*, 91:574-581, 1995.

YORINORI, J. T. Cancro da Haste da Soja. Lndrina: EMBRAPA-CNPSO, 1990. 7 p. (Comunicado Técnico, 44).

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA LUIZ DE QUEIROZ**

**PET-BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO**

**“DESEMPENHO AGRONÔMICO E ANÁLISE  
GENÉTICA DE CRUZAMENTOS  
CONTRASTANTES PARA RESISTÊNCIA AO  
NEMATÓIDE DE CISTO E CANCRO DA HASTE DA  
SOJA”**

**Éverton Yoshiaki Hiraoka**

10/02

## DESEMPENHO AGRONÔMICO E ANÁLISE GENÉTICA DE CRUZAMENTOS CONTRASTANTES PARA RESISTÊNCIA AO NEMATÓIDE DE CISTO E CANCRO DA HASTE DA SOJA

### 1. INTRODUÇÃO:

O cultivo da soja está em ampla ascensão no Brasil e estimativas indicam que se tornará a principal cultura em área cultivada no país na safra 2000/01. Os incentivos para o cultivo da soja, a expansão para as áreas do Cerrado, as melhorias no manejo e obtenção de cultivares mais adaptados e produtivos em diferentes ambientes do país têm sido decisivos para este incremento. Apesar disto, fatores de estresses bióticos estão limitando o desenvolvimento da cultura em muitas áreas, reduzindo os patamares de produtividade. Dentre esses, os principais têm sido o nematóide de cisto da soja (NCS; *Heterodera glycines* Ichinohe) e o cancro da haste da soja (CHS, *Diaphorte phaseolorum* f. sp. *meridionalis* Morgan-Jones).

No Brasil, o NCS está relacionado como um dos principais fatores que reduzem a produtividade de grãos em muitas áreas de cultivo da soja e já foi detectado nos estados no MT, MS, GO, RS, MG, SP e PR. Apesar do patógeno não ter sofrido pressão de seleção pelo uso de cultivares de soja resistentes, já foram detectadas as raças 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10 e 14, e as raças 4+ e 14+ (raças capazes de quebrar a resistência do cultivar Hartwig, até então resistente a todas as raças), demonstrando elevada variabilidade genética do nematóide no País (EMBRAPA, 1999).

Há estimativas de perdas anuais de 10,6% da produção mundial devido ao parasitismo causado pelo NCS, podendo ser superior, uma vez que frequentemente é confundido com deficiências nutricionais (Silva, 1998). No Brasil, apesar de ter sido introduzido recentemente, as perdas são estimadas em 1 a 3 % em média, podendo chegar a perda total nas áreas de grande infestação. Práticas de manejo, como rotação de culturas têm permitido conviver com a doença e possibilitado o cultivo da soja em áreas infestadas. Contudo, estas técnicas não são viáveis em muitas regiões e não são facilmente adaptadas a todos os produtores. Com isto, o desenvolvimento de cultivares resistentes ou tolerantes, aliado a práticas culturais deve ser a alternativa mais eficiente (Kiihl & Almeida, 1995).

A resistência ao NCS é controlada por muitos genes (Mansur et. al., 1993). Contudo, a resistência completa pode ser avaliada qualitativamente, pois para as diferentes raças a resistência é controlada por poucos genes (Webb et. al., 1995). Uma das maiores dificuldades encontradas para o melhoramento da resistência é o grande número de raças presentes. A raça 3, por ser a raça selvagem predominante e por conferir maior agressividade tem sido mais estudada.

Os estudos de herança envolvendo marcadores moleculares têm evidenciado que três genes respondem pela maior parte da variação para resistência a raça 3. Sendo a ação gênica preponderantemente recessiva. (Dong et. al., 1997). A seleção de genótipos

resistentes, como rotina, através de manutenção do patógeno e avaliações através da contagem do número de ovos presentes nas raízes (Vierling, 1996).

As fontes de resistência são normalmente genótipos muito pobres agronomicamente, com sementes pretas e não adaptadas às condições brasileiras de cultivo. No entanto, a identificação de resistência as NCS no germoplasma cultivado também têm sido pesquisada (Silva, 1999). Outra dificuldade encontrada tem sido o acúmulo de genes para resistência ao NCS e CHS em um único genótipo com desempenho agrônomico desejável.

O CHS é uma doença séria e que tem provocado grandes perdas na cultura da soja, principalmente em reigões ainda com deficiência em cultivares resistentes (Norte e Nordeste) (Yorinori, 1997; Silviero et. al., 1997). O fato de poucos genes (dois) estarem envolvidos na resistência e ação gênica ser dominante, assegura alta herdabilidade ao caráter e facilita os programas de pesquisa com o objetivo de transferir genes de resistência para cultivares suscetíveis (Hiromoto, 1996). Atualmente, a identificação e seleção de genótipos resistentes ao CHS têm sido condição primordial nos programas de melhoramento de soja.

Este trabalho faz parte de uma das linhas de pesquisa do Setor de Genética Aplicada às Espécies Autógamas do Departamento de Genética, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP). Este programa teve início em 1997 com a síntese de populações a partir de um dialeto completo, visando o desenvolvimento de genótipos de soja com alta produtividade de grãos e resistência a doenças (NCS e CHS).

O objetivo deste estudo é a incorporação de genes para resistência ao NCS e ao CHS em um único genótipo superior de soja, provenientes de cruzamentos biparentais entre linhagens USPs contrastantes para estas doenças e outros caracteres agrônomicos. Características de importância agrônômica como produtividade, altura da planta, ciclo e valor agrônomico, serão avaliadas para posterior estimação das correlações genéticas entre estes caracteres e a reação às doenças NCS e CHS.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material Experimental

O germoplasma pesquisado compreende cinco linhagens com a sigla USP (USP1-11, USP2-16, USP5-19, USP6-6 e USP11-14) desenvolvidas no Departamento de Genética da ESALQ/USP, além dos genótipos IAC-100, Hartwig, Conquista, MT-BR-95-123800 e MT-BR-95-123247.

As linhagens USP1-11 e USP2-16 são resistentes ao NCS e ao CHS. As linhagens USP5-19, USP6-6 e USP11-14 são resistentes ao NCS e suscetíveis ao CHS. Inicialmente, as cinco linhagens USPs antes relatadas foram cruzadas com linhagens irmãs suscetíveis ao NCS, porém resistentes ao CHS e promissoras para as demais características agrônomicas.

No ano agrícola de 1997/98 foram realizados 45 cruzamentos dialélicos envolvendo dez parentais (USP1-11, USP2-16, USP5-19, USP6-6, USP11-14, IAC-100, Hartwig, Conquista, MT-BR-95-123800 e MT-BR-95-123247) com este dialeto,

procurou-se adicionar, nas linhagens USPs, genes para resistência múltipla a diferentes raças de NCS presentes em Hartwig, MT-BR-95-123800 e MT-BR-95-123247; genes para período juvenil longo, alta produtividade e resistência ao CHS e outras doenças que causam danos à soja, presentes nos parentais Conquista, MT-BR-123800 e MT-BR-123247; genes para resistência ao CHS e tolerância a insetos, presentes em IAC-100.

As gerações F1, F2 forma avaliadas para desempenho agrônômico e campo. As gerações F3 deste cruzamentos serão avaliadas agronomicamente para os seguintes caracteres: número de dias para florescimento (NDF), Altura da Planta no Florescimento (APF), número de dias para a maturidade (NDM), altura da planta na maturidade (APM), acamamento (AC), valor agrônômico (VA), produtividade de grãos (PG), teor de óleo nas sementes (%OL), teor de proteína (%PR), produtividade de óleo (PO), produtividade de proteína (PP) e reação às doenças (NCS e CHS).

As análises estatísticas serão realizadas através do emprego do programa estatístico SAS.

## 2.2 Ambientes de condução dos experimentos

Os experimentos serão conduzidos em dois locais do município de Piracicaba, SP: Anhemi (localizado no campo experimental da ESALQ), situados a 22°45' de latitude Sul, 47°38' de longitude Oeste e altitude de 540 m. A área localizada na sede da ESALQ possui solo do tipo terra roxa estruturada, textura argilosa e relevo ondulado. Na Estação Experimental Anhemi, localizado a 60 km da sede, o solo é aluvial distrófico, textura médio-arenosa, relevo plano, com acidez neutralizada pela aplicação de calcário.

O delineamento utilizado será o de blocos casualizados, com três repetições por local. Cada repetição será constituída por 55 tratamentos, sendo 45 cruzamentos F3 e dez parentais. Cada parcela será representada por 12 covas de planta individual, espaçadas de 0,80 x 0,80 m. a semeadura será realizada no período normal de cultivo da soja para o Estado de São Paulo, ou seja, no mês de novembro no ano agrícola de 2000/01.

## 2.3 Etapas Futuras

Novos experimentos serão instalados no ano agrícola de 2001/02 para avaliar as progênes na geração F3:4 quanto a produtividade de grãos e interação genótipo x ambientes. Estes serão conduzidos em três locais (ESALQ, Anhemi e Areão). Posteriormente serão realizados experimentos visando identificar linhagens superiores e com resistência múltipla ao CHS e mais de uma raça do NCS.

## Referências Bibliográficas

DONG, K. E.; BARKER, K. R.; OPPERMAN, C. H. Genetics of soybean-*Heterodera glycines* interactions. *Journal of Nematology*, v. 29, n. 4, p. 509-522, 1997.

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. Soja: Recomendações técnicas para o Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. EMBRAPA Agropecuária Oeste - Dourados, 1999. 158 p. (Circular Técnica , 2).

HIROMOTO, D. M. Seleção de genótipos de soja para performance agronômica e resistência a *Heterodera glycines* Ichonhe e *Diaphorte phaseolorum f. sp. meridionalis* Morgan-Jones. Piracicaba, 1996. 84 p. (ESALQ/USP).

KIIHL, R. S. A. & ALMEIDA, L. A. Melhoramento de soja visando resistência ao nematóide do cisto *Heterodera glycines*. In: XIX CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA e XVII CONGRESSO DA ORGANIZAÇÃO DOS NEMATOLOGISTAS DA AMÉRICA TROPICAL. Rio Quente, 1995. Anas. P. 95-101.

MANSUR, L. M.; CARRIQUIRY, A. L.; RAO-ARELLI, A. P. Generations mean analysis of resistance raça 3 of soybean cyst nematode. Crop Science, Madison, 33:1249-1253, 1996.

SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; DIAS, W. P.; SILVA, E. A. Nematóides na cultura da soja. In: CÂMERA, G. M. S. (Editor). Soja: Teconologia da produção. Anais. Piracicaba, SP: ESALQ/USP - Departamento de Agricultura, 1998. P. 193-205.

SILVA, J. A. L.; SEDIYAMA, T.; CECON, P. R. Avaliação da resistência de 22 variedades e linhagens americanas e nacionais de soja à *Heterodera glycines*, raça 3. Nematologia Brasileira, v.23, n.2, p. 15-19, 1999.

SIVIERO, A.; MENTEN, J. O. M.; VELLO, N. A. Herança da resistência da soja a *Diaphorte phaseorum f. sp. meridionalis*. Suma Phytopathologica. Vol. 23, n. 2, p. 139-142.

VIERLING, R. A.; FAGHIHI, J.; FERRIS, V. R.; FERRIS, J. M. Associations to RFLP markers with loci conferring broad-based resistance to th soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). Theoretical and Applied Genetics. 92:83-86, 1996.

WEBB, D. M.; BALTAZAR, B. M.; RAO-ARELLI, A. P.; SHUPP, J. Genetic mapping of soybean cyst nematode race-3 resistance loci in the soybean PI 437654. Theoretical and Applied Genetics, 91:574-581, 1995.

YORINORI, J. T. Cancro da Haste da Soja. Lndrina: EMBRAPA-CNPSO, 1990. 7 p. (Comunicado Técnico, 44).

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**“Fungos Endofíticos de Soja: isolamento, caracterização  
e avaliação da capacidade de degradar o glifosato.”**

Rodrigo Mendes

10/12

## **Introdução**

Diversas espécies microbianas, durante todo seu ciclo de vida, ou somente parte dele, vivem no interior de tecidos ou órgãos vegetais e portanto são denominados endofíticos. A comunidade de endofíticos é bem variada, havendo predominância de uma ou poucas espécies de fungos em um determinado hospedeiro, os quais podem ser originários da microbiota do solo, ou ainda, do próprio vegetal como os presentes na semente antes do plantio. A composição dessa comunidade fúngica, pode variar de acordo com a distribuição geográfica dos hospedeiros, idade das plantas, condições ecológicas e sazonais, e pode ser afetada pela presença de agroquímicos. Neste contexto, existem alguns grupos de microrganismos que são predominantemente responsáveis pela degradação de compostos específicos, como o glifosato, e sendo capazes de utilizarem este herbicida, conseqüentemente são beneficiados em relação aos não degradadores com a sua aplicação, aumentando sua freqüência no ambiente e alterando a composição da microbiota.

Os estudos de endofíticos foram intensificados a partir da década de 80, quando observou-se que estes microrganismos podem interagir de forma benéfica com a planta hospedeira, portanto torna-se importante o estudo de sua interação com fatores que os afetam diretamente, como no caso do herbicida glifosato. Essa importância é evidente, tanto do ponto de vista básico, como aplicado em várias áreas do conhecimento, como fisiologia vegetal, microbiologia, genética microbiana e biotecnologia.

## **Revisão Bibliográfica**

### **Endofíticos**

Endofíticos são definidos como sendo todo organismo que coloniza a região interna dos tecidos de uma planta. Os organismos que habitam os tecidos superficiais de uma planta são caracterizados como epifíticos.

O termo endofítico foi definido por DE BARY (1886), referindo-se à microbiota interna dos tecidos vegetais que causava um tipo de contaminação por infecções assintomáticas em tecidos, que embora hospedassem fungos, ainda apresentavam um aspecto sadio. O termo também foi aplicado à microbiota que não causava infecções assintomáticas e nos casos de interações antagônicas ou simbióticas. Em 1986, o termo

microrganismos endofíticos tornou-se mais restrito, sendo apenas usado para organismos que causam colonização assintomática, excluindo desse conceito fungos patogênicos e fungos mutualísticos, tais como os fungos micorrízicos (CARROL, 1986).

Nos últimos anos, com o crescente interesse e importância da área, a pesquisa vêm crescendo, com isso a definição de microrganismos endofíticos também vêm se alterando, como a proposta por PETRINI (1991), sugerindo que a definição citada por CARROL abrangesse também os organismos que, habitando a parte aérea dos órgãos das plantas, fossem capazes de colonizar, em algum tempo de seu ciclo de vida, os tecidos internos dos vegetais, sem causar dano aparente. O próprio CARROL em 1988, refere-se ao termo de modo mais genérico, como fungos que são encontrados mais no interior das plantas que nas suas superfícies.

#### Importância do Estudo dos Endofíticos

A existência de fungos endofíticos já foi comprovada em todas as espécies vegetais estudadas até o momento (REDLIN & CARRIS, 1996) e várias são as razões para que investigações nessa área sejam continuadas: i - faltam informações nos aspectos ecológicos, genéticos e fisiológicos para elucidar a interação entre fungo e planta; ii - vários endofíticos apresentam produção de, por exemplo, antibióticos, tornando-se alvos na busca desses e outros metabólitos de interesse farmacológico (SILVA et al., 1992); iii - utilizados como bioindicadores de alterações ecológicas causadas pelo homem (HELANDER & RANTIO-LEHTMÄKI, 1990); iv - como agentes no controle biológico de pragas e de doenças (WHITE & COLE, 1985); v - como micoherbicidas no controle de ervas daninhas (CERKAUSKAS, 1988); vi - como vetores para a introdução de genes em plantas hospedeiras (MURRAY et al., 1992); vii - ou como indicadores de deficiências nutricionais de plantas (SILVA et al., 1997).

Com os aspectos acima citados, fica clara a importância de estudos com microrganismos endofíticos, demonstrando o potencial dos fungos endofíticos nas interações com os hospedeiros vegetais.

#### Isolamento dos Microrganismos Endofíticos

O passo inicial para o estudo de fungos endofíticos é o estabelecimento de uma metodologia adequada para o isolamento e cultivo dos mesmos em laboratório. O isolamento é feito pela eliminação de todos os microrganismos epifíticos, empregando-se um agente desinfectante por um determinado tempo para uma eliminação completa desses microrganismos. O tempo de desinfecção está em função dos hospedeiros e depende da espessura da cutícula e da epiderme dos tecidos. O processo é ineficiente quando ocorre proliferação de organismos na superfície externa do material vegetal ou quando o tempo de exposição for muito baixo, por outro lado, se a solução penetrar no interior dos tecidos vegetais, poderá eliminar os endofíticos. A eficiência da desinfecção de superfície, foi estudada em vários trabalhos, em alguns casos o processo utilizado não impediu o aparecimento de alguns saprófitas epifíticos (PETRINI, 1986).

PETRINI & MÜLLER (1986) confirmaram a existência de técnicas efetivas para desinfecção de superfícies, levando-se em consideração variações tanto no tempo de exposição como na concentração de NaOCl, onde foram utilizados líquens, briófitas, pteridófitas, gimnospermas, monocotiledôneas e dicotiledôneas.

#### Hospedeiro Utilizado - Soja

Classificação Botânica - a soja pertence à família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoideae* e ao gênero *Glycine* L., que compreende cerca de quinze espécies, sendo classificada como *Glycine max* (L.) Merrill.

Atualmente a soja é matéria prima empregada na elaboração de mais de uma centena de produtos que vão desde óleo, farelo, lecitina, sabão e margarina, até papel, adesivos, ingredientes para veiculação de inseticidas e outros. A soja integral é utilizada pela indústria de alimentos em geral e o óleo cru se transforma em óleo refinado e lecitina, que dá origem a inúmeros outros produtos. Cresce também o uso direto da soja na alimentação humana, a partir da industrialização de grãos, sem passar pelo sistema convencional de extração de óleo por prensagem. A soja se constitui numa fonte considerável de óleo e proteína, apresentando grande diversidade de usos, tanto agrícolas como industriais. Desta forma, embora a demanda apresente certa flutuação periódica, a cultura ocupa posição de destaque, tanto no panorama internacional como no mercado interno.

## Glifosato

O glifosato é um herbicida de amplo espectro, controla efetivamente 76 plantas daninhas (FRANZ, 1985), é solúvel em água e é registrado comercialmente como Roundup, Rodeo, Kleenup e Vision. O alvo primário do glifosato, em plantas e microrganismos, é uma enzima na via do ácido shiquímico, sendo o único herbicida que apresenta essa forma de atuação, conseqüentemente impede a formação de três aminoácidos: fenilalanina, tirosina e triptofano, que são os principais produtos da via do ácido shiquímico. O glifosato também influencia em outros processos que prejudicam a planta, inibindo a síntese de clorofila, reduzindo o nível de ácido indol acético (AIA) e acumulando amônia. O glifosato bloqueia essa via metabólica em *Neurospora crassa* (BOOCOCK & COGGINS, 1983), e presumivelmente, poderia causar o mesmo efeito em outras espécies de fungos. Em soja, a utilização de glifosato inibe o acúmulo de gliceolina e a expressão de resistência a *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* (KEEN et al., 1982).

## Amplificação ao acaso do DNA polimórfico - RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA)

A RAPD baseia-se na técnica da Reação em Cadeia da Polimerase - PCR (Polymerase Chain Reaction), que promove a amplificação de uma seqüência de DNA por meio da extensão de um "primer". Na RAPD pode-se utilizar um único "primer" de seqüência arbitrária, para se obter produtos de amplificação de diferentes isolados, espécies e gêneros (WILLIAMS et al., 1990). Esses oligonucleotídeos de seqüência arbitrária, sofrerão anelamento ao acaso com o DNA genômico, e por essa razão "primers" de 6 a 10 nucleotídeos, terão maior probabilidade de encontrarem seqüências homólogas do DNA alvo. No entanto, por serem utilizados "primers" de seqüência única, para que ocorra amplificação de regiões do genoma em estudo, é necessário que estas seqüências homólogas estejam nas duas fitas complementares do DNA, numa distância máxima de 4Kb (limite do RAPD), para que a amplificação ocorra.

Os marcadores de RAPD são importantes ferramentas para se verificar a variabilidade existentes entre diferentes isolados dentro de uma espécie, pois geram muito polimorfismo. De acordo com AUFAUVE-BROWN et al. (1992), a análise desses

marcadores permite a elaboração de coeficientes de similaridade que possibilitam verificar o grau de relação genética entre estes isolados.

## **Objetivos**

O presente trabalho tem como objetivos:

- Caracterização da comunidade fúngica endofítica de soja.
- Verificar a presença de fungos degradadores de glifosato.
- Verificar o efeito da utilização de glifosato sobre a população fúngica endofítica.
- Caracterizar geneticamente os fungos endofíticos de soja por meio de marcadores de RAPD.

## **Material e Métodos**

### **Material Vegetal**

As amostras de soja serão coletadas na área do Campus da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP, Piracicaba - SP, no campo experimental do Departamento de Genética. Serão utilizadas plantas de soja da variedade Foscarim, de ciclo precoce. Será feito um isolamento de microrganismos endofíticos das sementes, e mais dois isolamentos de caule, o primeiro no ciclo vegetativo e o segundo no ciclo produtivo. Serão considerados dois tratamentos no plantio, T1- com aplicação de glifosato e T2- sem aplicação de glifosato. As amostras serão coletadas no campo, com o auxílio de um alicate, desfolhadas e levadas ao laboratório imediatamente.

### **Meios de Cultura**

#### **Meio Completo**

Será utilizado o meio completo ou MC (PONTECORVO et al., 1953), modificado por AZEVEDO & COSTA (1973), constituído por: 6,0g NaNO<sub>3</sub>, 1,5g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5g KCl, 0,5g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,01g ZnSO<sub>4</sub>, 0,01g FeSO<sub>4</sub>, 10,0g glicose, 15,0g ágar, 2,0g extrato de levedura, 1,5g caseína hidrolizada, 2,0g peptona, 1mL solução de vitaminas, 1000 mL de água esterilizada. O pH é ajustado para 6,8 com solução de NaOH 4% (p/v), o MC é suplementado com 100µg/mL da solução de antibiótico Tetraciclina para suprimir o crescimento bacteriano.

### Meio Batata-Dextrose-Ágar - BDA

Será utilizado o meio BDA (Riker & Riker, 1936) composto por: 17,0g ágar, 200,0g batata (descascada e fatiada), 20,0g dextrose, 1000mL água esterilizada. A batata é cozida em 500mL de água, é adicionado ágar e dextrose, então o volume é completado até 1000mL, o meio é esterilizado em autoclave.

### Meio Dworkin-Foster

Preparar soluções A, B, C e D, cada um em 100mL de água esterilizada: A - 1mg  $H_3BO_3$ , 1mg  $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ , 12,5 mg  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , 8mg  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  e 1,7mg  $NaMoO_3 \cdot 3H_2O$ ; B - 0,1g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ; C - 20g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; D - 20g  $(NH_4)_2SO_4$ . Preparar 1000mL do meio, contendo 1mL de A, 1mL de B, 1mL de C, 10mL de D e 5mg de Tiamina HCl. Adicionar ao meio 1mM de  $Na_2HPO_4$  como fonte de fosfato e 10mM de glifosato, como sendo a única fonte de carbono.

Obs: esse meio mínimo mineral foi utilizado para a obtenção do microrganismo portador do gene utilizado na soja transgênica *RoundupReady* da Monsanto, citado na patente número 8,804,425 United States Patent, em 08 de setembro de 1998.

### Desinfecção superficial e isolamento dos microrganismos

O processo de desinfecção a ser utilizado, foi determinado por testes preliminares, pela modificação do protocolo de PETRINI (1988), onde a superfície do caule e semente são esterilizados pela seguinte seqüência de imersão: 60 segundos em etanol 70%, para ocorrer a quebra da tensão superficial existente, consequentemente ajudando na assepsia de possíveis fungos epifíticos ali existentes; imersão em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 3% de cloro ativo (v/v) durante 90 segundos; novamente 60 segundos em etanol 70% e lavagem em água esterilizada. Após processados, os caules serão cortados em pedaços de aproximadamente 5mm, com auxílio de um estilete sobre placa de petri esterilizada. Os fragmentos serão transferidos para placas de petri contendo meio de cultura, sete fragmentos por placa, no caso de sementes cinco, serão incubados a 28°C e acompanhados periodicamente durante o crescimento dos fungos.

Obtenção de fungos degradadores de glifosato.

A avaliação e seleção de microrganismos capazes de crescerem utilizando glifosato como única fonte de carbono, será realizada em meio Dworkin-Foster (item 5.3.3.), em erlenmeyer de 500mL contendo 100mL do meio e 2g do material vegetal desinfetado superficialmente. O material será incubado à 28°C sob agitação, por sete a dez dias até o crescimento dos fungos, após será coletada uma alíquota de 1mL do meio, e transferida para um novo erlenmeyer contendo 100mL do meio, e novamente incubado sob as mesmas condições. O processo será repetido por mais duas vezes e 1ml da solução final será inoculada em meio sólido para obtenção de colônias isoladas.

Técnicas moleculares

A extração de DNA total genômico será realizada segundo o protocolo de RAEDER & BRODA. O DNA genômico será amplificado por meio da técnica de RAPD, em termociclador Perkin-Elmer-Cetus, programado para realizar uma desnaturação inicial de 4 min a 92°C, seguida de 40 ciclos de 1 min a 92°C, 2 min a 37°C, 3 min a 72°C, e após os ciclos uma extensão final de 3 min a 72°C. Os fragmentos amplificados serão separados por eletroforese em gel de agarose 1,4% a 3 volts/cm. Após o gel será corado em solução de brometo de etídio (1,0µg/mL) e fotografado sobre transiluminador de luz ultravioleta.

#### Referências Bibliográficas

- ALCÂNTARA, V. S. B. (1979). Isolamento e seleção de fungos nocivos a nematóides, sua utilização no controle biológico. Piracicaba, SP. 57p. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo.
- ARAUJO, W. L.. (1996). Isolamento, identificação e caracterização genética de bactérias endofíticas de porta-enxertos de citros. Piracicaba, SP. 99p. ilus. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo.
- AUFAUVE-BROWN, A.; COHEN, J.; HOLDEN, D. W. (1992). Use randomly amplified polymorphic DNA markers to distinguish isolates of *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Clinical Microbiology*. v.30, p.2991-3.
- AZEVEDO, J. L.; COSTA, S. O. P. (1973). Exercícios práticos de genética. São Paulo: Nacional, 288p.
- AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI Jr., W.; PEREIRA, J. O.; ARAÚJO, W. L. (2000). Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **EJB:**

- Electronic Journal of Biotechnology** [on line]. 15 april 2000, 3: [cited 05 may 2000]. Available on the Web: <http://www.ejb.org/content/vol3/issue1/full/3/4>. ISSN: 0717-3458.
- BERNSTEIN, M. E.; CARROLL, G. C. (1977). International fungi in old-growth Douglas for foliage. **Canadian Journal of Botany**, v. 55, p644-53.
- BERTOLIN, A. O. (1987). Isolamento e biologia de novos fungos celulolíticos. Piracicaba, SP. 63p. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo.
- BOOCOCK, M. R.; COGGINS, J. R. (1983). Kinetics of 5-enolpyruvylshikimate- 3-phosphate synthase inhibition by glyphosate. **FEBS Letters**. 154: 127-33.
- CÂMARA, S. M. S. (1998). Soja: tecnologia da produção. 293p. ilus. Ed. Publique, Piracicaba, São Paulo.
- CARROLL, G. C. (1986). The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. In: FOKKEMA, N. J.; HEUVEL, J. van den., ed. **Microbiology of phyllosphere**. London: Cambridge University Press. P. 205-22.
- CARROLL, G. C.; CARROLL, F. E. (1978) Studies on the incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. **Canadian Journal of Botany**, v.56, p.3132-43.
- CERKAUSKAS, R. F. (1988). Latent colonization by *Colletotrichum* spp. : epidemiological considerations and implications for mycoherbicides. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Otwa, 10: 297, 310.
- DE BARY, A. (1866). Morphologie und Physiologie der Pilze. Flechten und Myxomyceten. Vol. II, **Hofmeister's Handbook of Physiological Botany**.
- FRANZ, J. E. (1985). Discovery, development and chemistry of glyphosate. London: Butterworths, p. 3-17.
- GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (1985). The Herbicide Glyphosate. 490p. ilus. London: Butterworth & Co. (Publishers) Ltd.
- HELANDER, M. L. & RANTIO-LEHTIMÄKI. (1990). Effects of watering and simulated acid rain on quantity of phyllosphere fungi of Birch leaves. **Microbial Ecology**, v. 19, p 119-25.
- KEEN, N. J.; HOLLIDAY, M. J.; YOSHIKAWA, M. (1982). Effects of Glyphosate on Glyceollin Production and Expression of Resistance to *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* in Soybean. **Phytopathology**, v.72, n°11, pp. 1467-70.
- LÉVESQUE, C. A.; RAHE, J. E. (1992). Herbicide interactions with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. **Annu. Rev. Phytopathol.** 1992, 30: 597-602.

- MURRAY, F. R.; LATCH, G. C. M.; SCOTT, D. B. (1992). Surrogate transformation of perennial ryegrass, *Lolium perenne*, using genetically modified *Acremonium* endophyte. **Molecular General Genetics**, Berlin, v. 23, pp 1-9.
- PEREIRA, J. O. (1993). Fungos endofíticos dos hospedeiros tropicais *Stylosanthes guianensis* e *Musa cavendish*. Piracicaba, SP. 105p. ilus. Dissertação (Doutorado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo.
- PETRINI, O. (1986). Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissue. In: **Microbiology of the Phyllosphere**, Ed. N. J. Fokkema; J. van den Heuvel, p 175-87, Cambridge University Press.
- PETRINI, O. (1991). Fungal endophyte of tree leaves. In: ANDREWS, J.; HIRANO, S. S., ed. **Microbial ecology of leaves**, New York: Springer Verlag, p. 179-97.
- PETRINI, O. ; MÜLLER, E. (1986). Haupt und Nebenfruchtformen Europäischer Pilze. **Mycologia Helvetica**, v. 1, p.501-627.
- PETRINI, O.; STONE, J. K.; CARROLL, F. E. (1982). Endophytic fungi in evergreen shrubs in western Oregon: a preliminary study. **Canadian Journal of Botany**, v. 60, p.789-96.
- PONTECORVO, G.; ROPER, J. A.; HEMMONS, L. M. MacDONALD, K. D.; BUFTON, A. W. J. (1953). The genetics of *Aspergillus nidulans*, **Advance in Genetics**, v. 5 :141-238.
- RAEDER, V.; BRODA, P. (1985). Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. **Left. Appl. Microbiol.** V. 1, n. 1, p. 17-20.
- REDLIN, S. C.; CARRIS, L. M. (1996). **Endophytic fungi in grasses and wood plants**. APS Press, St. Paul, 223p.
- RIKER, A. J.; RIKER, R. S. (1936). **Introduction to research on plant diseases**. John S. Swift Co. St. Louis, Mo.
- SILVA, A. C. (1997). Isolamento de fungos endofíticos de milho (*Zea mays*). Piracicaba, SP. 56p. ilus. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo.
- SILVA, A. C.; NOGUEIRA, N. L.; SALVADOR, J. O.; GUIRADO, N.; MOREIRA, A. (1997). Ocorrência de fungos endofíticos em goiabeira (*Psidium guava*), cultivadas em omissão de macronutrientes. In: 3º Encontro Científico dos Pós-graduados do CENA/USP, Piracicaba, SP. **Resumos** p22.
- SILVA, A. C.; PEREIRA, J. O.; AZEVEDO, J. L. (1992). Obtenção de fungos endofíticos de milho (*Zea mays*) var. PIRANÃO. In: Reunião Anual de Genética de Microrganismos, 18, São Paulo, **Resumos**. São Paulo: SBG/USP, p134.
- WHITE Jr., J. F.; COLE, G. T. (1985). Endophyte-host associations in forage grasses. I. Distribution of endophytes in some species of *Lolium* and *Festuca*. **Mycologia**, v 77, p 323-7.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. (1990).  
DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids  
Research**. V.18, p. 6531-5.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”**  
**ESALQ / USP**

PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA

**“ISOLAMENTO DE *Phoma* E *Phomopsis* EM ESPÉCIES FLORESTAIS”**

**Ana Paula**

## Índice

<b>1- Resumo .....</b>	<b>2</b>
<b>2- Introdução.....</b>	<b>2</b>
<b>3- Material e métodos.....</b>	<b>5</b>
3.1- Isolados Fúngicos.....	6
3.2- Genotipagem dos Isolados com Marcadores RAPDs.....	6
3.3- Análise dos resultados.....	7
<u>3.3.2- Análise das Similaridades Genéticas por RAPDs .....</u>	<u>7</u>
<b>4- Resultados e discussão .....</b>	<b>8</b>
<b>5- Conclusão .....</b>	<b>13</b>
<b>6. Bibliografia.....</b>	<b>13</b>

## 1- Resumo

Dentre os fungos isolados a partir de sementes de espécies florestais encontram-se *Phoma* e *Phomopsis*. No entanto, não é comum o estudo da patogenicidade destes fungos devido à dificuldade em se determinar a espécie a que pertencem. Métodos tradicionais para diferenciação e determinação de espécies de *Phoma* e *Phomopsis* que levam em conta características morfológicas e culturais, especialmente a produção de conídios  $\alpha$  e  $\beta$ , não têm sido eficientes, já que existe a possibilidade de isolados do gênero *Phomopsis* produzirem apenas conídios  $\alpha$ , dependendo para isto apenas do meio de cultivo em que se encontram. Este fato faz com que isolados de *Phomopsis* possam ser erroneamente classificados como pertencentes ao gênero *Phoma*.

No presente relatório, são apresentados os resultados da análise de similaridades genéticas entre dezesseis isolados de *Phomopsis* e um de *Phoma* por RAPDs, que permitiu concluir que estes isolados podem ser separados em grupos genéticos bem distintos.

Na segunda etapa deste projeto serão realizados testes para análise da patogenicidade dos isolados e avaliação das características morfológicas dos mesmos, visando estabelecer correlações entre diferenças morfológicas, genéticas e patogênicas de cada isolado.

## 2- Introdução

O estudo das sementes sob o ponto de vista de sua sanidade é muito importante já que muitas doenças podem ser disseminadas por elas, as quais poderão introduzir novos patógenos em áreas indenes (Campacci & Pessanha, 1968). Aliado a isto, patógenos de sementes podem promover redução da população de plantas, debilitação das plantas e desenvolvimento de epidemias (Menten, 1991).

Na área florestal, poucos estudos abordam o problema da disseminação de patógenos via semente. No entanto, alguns trabalhos têm evidenciado a freqüente contaminação fúngica, especialmente em espécies nativas (Ferreira, 1989). A maioria dos trabalhos sobre a disseminação de patógenos de espécies florestais foi realizada na Índia, Canadá, Estados Unidos e África, referindo-se estes trabalhos à população fúngica associada às sementes, na maioria das vezes de coníferas, e ao efeito desta população na germinação e desenvolvimento das plantas (Sales, 1992).

Dentre os fungos isolados a partir de sementes de espécies florestais encontram-se representantes dos gêneros *Phoma* e *Phomopsis* (Cameiro, 1986 e 1990; Fosco Mucci et al., 1986; Homechin et al., 1986; Martins, citado por Sales, 1992; Urben et al., 1982). Porém, poucos pesquisadores estudaram a patogenicidade destes fungos (Cameiro, 1986; Maschio et al., 1990; Sales, 1992; Coêlho et al., 1996), não tendo, nenhum deles, determinado as espécies dos isolados, dada a dificuldade de se classificar corretamente os fungos destes gêneros. Isto faz com que ocorram problemas na determinação da patogenicidade dos isolados que são tratados ora como saprófitas ora como patógenos.

Em 1905, Saccardo classificou isolados fúngicos que tinham por característica produzir dois tipos de conídios hialinos e não-septados,  $\alpha$  (arredondados) e  $\beta$  (fusiformes), antes classificados como *Phoma*, em um novo gênero, denominado *Phomopsis* (Hahn, 1930). Este mesmo autor ainda considerou conídios  $\beta$  aparentemente como corpos não-funcionais, por terem resistido aos métodos usualmente empregados para induzir a germinação. Outra característica deste gênero é o fato de conter picnídios alongados e escuros, responsáveis pela produção destes conídios (Uecker, 1988, citado por Rehner et al., 1994). Apesar desta definição genérica relativamente simples, a identificação de um isolado como *Phomopsis* é muitas vezes incerta, pelo fato de o isolado poder produzir apenas conídios  $\alpha$  de acordo com o meio em que se encontra e, desta forma, ser confundido com *Phoma*.

Em *Phomopsis*, variações morfológicas e culturais entre culturas de um isolado podem ser tão grandes quanto variações observadas entre isolados (Wehmeyer, 1933; Nitimargi, 1935; Parmeter, 1958). A grande variabilidade destes organismos torna difícil o estabelecimento de uma classificação taxonômica apropriada (Morgan-Jones, 1985, citado por Zhan 1998). Portanto, características morfológicas por si só não têm sido adequadas para definir espécies deste gênero (van der Aa et al., 1990).

Trabalho realizado por Coêlho (1995) mostrou que dependendo das condições de cultivo, pode haver equívocos quanto ao agrupamento de isolados fúngicos nos gêneros *Phoma* e/ou *Phomopsis*. Ainda neste trabalho, o autor agrupou 15 isolados em quatro grupos, sendo utilizados para isto testes de patogenicidade, características morfológicas dos fungos em diferentes meios de cultivo e análise da produção de esterase. Isolados classificados como *Phomopsis* por produzirem conídios  $\beta$  em alguns meios não os produziram em outros, sugerindo ser imprecisa a atual forma de classificação destes gêneros, que leva em consideração características culturais dos isolados.

Devido às dificuldades práticas na determinação de espécies usando critérios morfológicos, conceitos de espécies em *Phomopsis* têm sido formulados principalmente de acordo com o hospedeiro em que se encontram (Rehner et al., 1994) e isto pode ser observado pelo fato de 70% das 800 espécies catalogadas refletirem em seu nome a espécie ou o gênero do hospedeiro.

Segundo Glienke (1995), várias técnicas têm sido empregadas para análise de variabilidade genética em microorganismos. As clássicas utilizam a caracterização de fenótipos a partir de características morfológicas ou bioquímicas, principalmente por auxotrofia, mas são restritas em suas aplicações a estudos populacionais e sistemáticos.

O desenvolvimento de técnicas em biologia molecular tornou possível determinar diferenças entre organismos de grande proximidade taxonômica (Bruns et al., 1991). A análise por RAPD requer o uso de PCR para amplificação exponencial de segmentos alvo

de DNA (Fernández et al., 1996) e é indicada por vários autores como técnica imprescindível em qualquer projeto de identificação genética de fungos, sendo particularmente utilizada por não requerer grande conhecimento prévio da genética dos organismos a serem estudados.

Fernández et al. (1996) utilizaram a técnica de RAPD para analisar 16 isolados de *Diaporthe phaseolorum* e 8 de *Phomopsis longicolla*. Neste estudo puderam ser estabelecidos 4 grupos distintos, segundo análise das distâncias genéticas entre isolados. Em outro trabalho, Santos (1992) separou 14 linhagens de *Trichoderma* sp em cinco grupos, estabelecendo diferenças entre linhagens pertencentes a espécies distintas e à mesma espécie mas de locais diferentes, mostrando divergências intra e interespecíficas. Estudo semelhante sobre a variabilidade genética entre isolados de *Pisolithus tinctorius* foi realizado por Junghans (1995), que percebeu maior proximidade genética entre isolados de mesma procedência.

A técnica de RAPD também já foi utilizada para a caracterização genética de isolados de *Fusarium graminearum* (Ouellet & Seifert, 1993) e raças de *F. oxysporum* f.sp. *pisi* (Grajal et al., 1993). A separação entre isolados agressivos e não-agressivos de *Phoma lingam* com o uso de marcadores RAPD foi feita, sendo necessários para isto apenas quatro oligonucleotídeos (Schafer & Wöstemeyer, 1992).

### **3- Material e métodos**

O presente projeto consta de duas fases descritas abaixo:

- 1) Genotipagem dos isolados com marcadores RAPDs;
- 2) Testes de patogenicidade e avaliação das características culturais dos isolados.

### **3.1- Isolados Fúngicos**

Foram utilizados 14 isolados do gênero *Phomopsis* e um do gênero *Phoma*, cedidos por Coêlho (1995), obtidos de picnídios retirados de sementes de espécies florestais nativas (*Dalbergia nigra* - jacarandá da Bahia e *Tabebuia serratifolia* - ipê amarelo) a partir de lotes de sementes cedidos pelo Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Lavras e repicados para placas de petri contendo meio de cultura BDA.

Ao todo, foram utilizados dez isolados de *Phomopsis* (P4, P6, P7, P8, P10, P12, P13, P14, P15, P16) e um de *Phoma* (P1), obtidos de sementes de ipê amarelo, e quatro isolados de *Phomopsis* (P5, P9, JMC e JME) obtidos de sementes de jacarandá da Bahia, sendo que os dois últimos foram obtidos de lote de sementes diferente dos dois primeiros. Outros dois isolados, um de *Trichoderma* sp. e outro de *Colletotrichum graminicola* foram incluídos no estudo para efeito comparativo.

### **3.2- Genotipagem dos Isolados com Marcadores RAPDs**

Cada isolado foi cultivado em Erlenmeyer contendo 50ml de meio de cultura BD (batata - 200g, dextrose - 20g, água destilada q.s.p. - 1000ml) sem agitação e à temperatura ambiente, por sete dias. O conteúdo de cada recipiente foi filtrado e lavado por três vezes com água destilada, sendo o micélio obtido por este processo acondicionado em tubos e liofilizado.

Aproximadamente 100mg de micélio liofilizado de cada isolado foram macerados em nitrogênio líquido e a seguir colocados em 700µl de solução tampão de extração (10mM de Tris HCl pH8,0, 100mM de EDTA e 0,5% de SDS) pré aquecida a 60°C, sendo então incubados a 60°C por 30 minutos. Após isto, o DNA foi purificado com fenol-clorofórmio-álcool isoamílico (25:24:1) por duas vezes, centrifugado, seco em álcool etílico e ressuspenso em 200µl de TE. O conteúdo de cada tubo foi finalmente tratado com RNase

por duas horas a 37°C (adaptado de Reader, 1985) e quantificado em espectrofotômetro a 260 e 280nm, para que fosse aferida a concentração de DNA em cada tubo.

Para genotipagem dos isolados, foram utilizados oligonucleotídeos contendo 8-10 pb do Kit Operon (OPAA e OPAB). As reações de PCR foram compostas de 30ng de primer, 25ng de DNA, 0,75U de Taq DNA polimerase, 2mM MgCl<sub>2</sub> e 0,1mM de cada dNTP em um volume final de 25µl.

As reações realizaram-se em termociclador modelo PTC-100 (MJ Research Inc., EUA) e foram compostas de um ciclo de pré desnaturação de 92°C durante 2 minutos (1), seguido de um ciclo de 92°C durante 1 minuto (2), um ciclo de anelamento a 37°C por 1 minuto (3) e um ciclo de alongação a 72°C por 2 minutos (4), voltando do passo 2 ao 4 por 40 vezes. Ao término, foi efetuada uma alongação final a 72°C por 3 minutos.

Foi feita eletroforese em gel de agarose 1,5% a uma voltagem de 60V por, aproximadamente, quatro horas, sendo os géis fotografados e os pesos dos fragmentos obtidos avaliados com o auxílio do programa IMVDS 3.0, através de comparação entre as distâncias percorridas por estes e as distâncias percorridas pelos fragmentos de marcadores de pesos moleculares conhecidos (100bp ladder e 1kb ladder).

### **3.3- Análise dos resultados**

#### **3.3.2- Análise das Similaridades Genéticas por RAPDs**

Após a análise dos pesos dos fragmentos, foi montada uma matriz utilizando-se código binário, sendo o perfil de cada isolado representado em uma coluna onde a cada linha eram dispostos os números 1 e 0, de acordo com a presença ou ausência, respectivamente, de fragmentos que apareciam com forte intensidade nos géis.

Similaridades genéticas entre todos os isolados tomados dois a dois foram calculadas pelo coeficiente Simple Matching (SM): fórmula  $(a+d)/(a+b+c+d)$  onde, a=número

de coincidências positivas,  $b$ =número de fragmentos que estão simultaneamente presentes no isolado  $i$  e ausentes no isolado  $j$ ,  $c$ =número de fragmentos que estão simultaneamente presentes na isolado  $j$  e ausentes no isolado  $i$  e  $d$ =número de fragmentos ausentes nos dois isolados. Os valores obtidos foram então utilizados para obtenção de uma segunda matriz que foi submetida a análise de cluster pelo método não ponderado de agrupamento de pares utilizando a média aritmética (UPGMA) de Sokal e Michener (1958), sendo o resultado observado na forma de um dendrograma.

Os cálculos de similaridade e a construção do dendrograma foram efetuados com o auxílio do programa de computador NTSYS (State University of New York, EUA).

#### **4- Resultados e discussão**

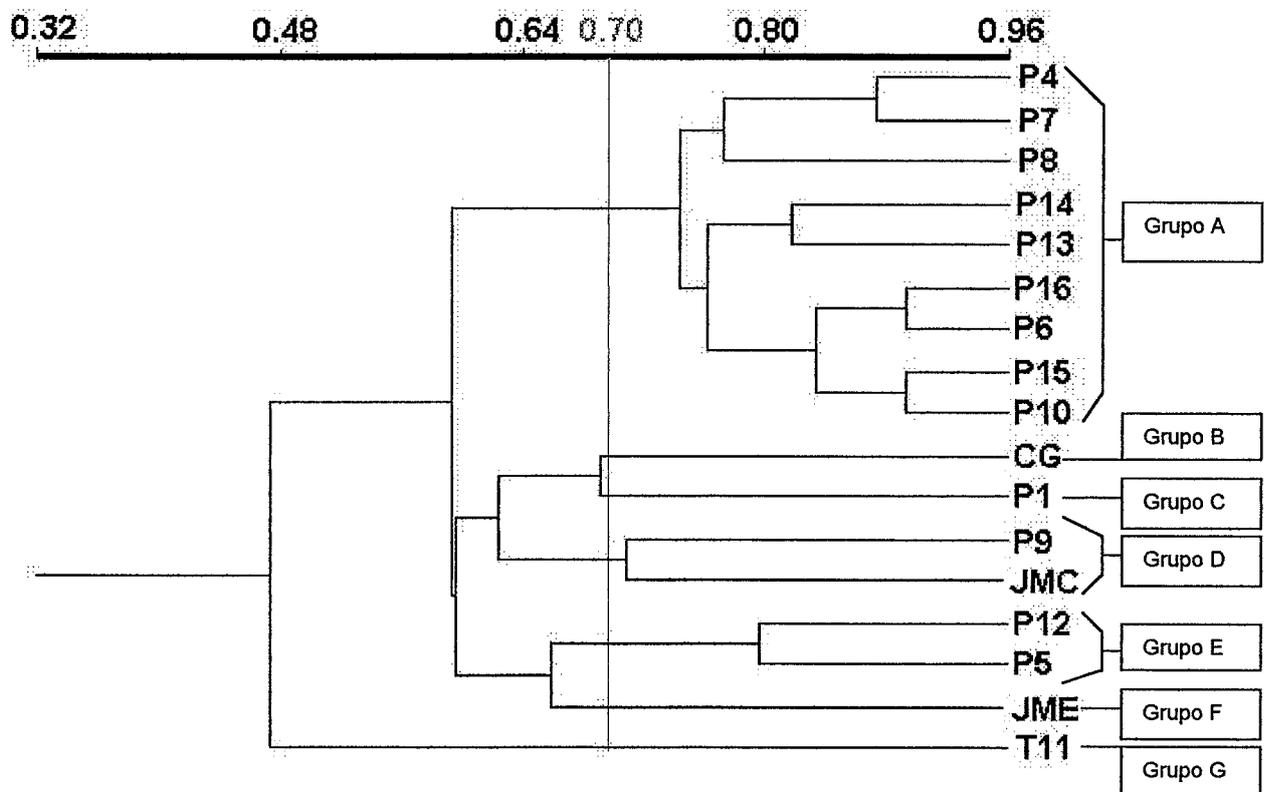
Em média, em cada reação de RAPD, foram observados cinco fragmentos decorrentes da amplificação do DNA de cada isolado, não ocorrendo nenhum fragmento monomórfico entre os 55 analisados, fato este que evidencia a grande variabilidade genética entre estes isolados.

Alguns primers, como por exemplo OPAB7 e OPAB6, não promoveram a amplificação de fragmentos em nenhum isolado, não sendo possível acrescentar, portanto, a partir de sua utilização, dados para a construção do dendrograma.

Faz-se necessário lembrar ainda que melhores resultados foram obtidos quando foi usada solução de DNA com concentração igual a  $5\text{ng}/\mu\text{l}$  do que quando utilizada concentração de  $25\text{ng}/\mu\text{l}$ , isto porque no primeiro caso, foram utilizados  $5\mu\text{l}$  da solução por reação e no segundo apenas  $1\mu\text{l}$ , o que tomava a pipetagem menos precisa já que pequenas irregularidades representam maiores diferenças no total de DNA utilizado e, conseqüentemente, maior heterogeneidade na concentração de DNA entre os tubos.

Após a análise dos padrões eletroforéticos obtidos em reações com 6 oligonucleotídeos diferentes (OPAA3, OPAA4, OPAA12, OPAA17, OPAA19 e OPAB11), onde foram visualizados 55 fragmentos, foi possível obter um dendrograma estabilizado (Figura 1), isto é, as árvores obtidas a partir da análise conjunta dos fragmentos obtidos em duas reações diferentes de RAPD, não diferiram significativamente das árvores posteriormente construídas com o acréscimo dos fragmentos obtidos na amplificação com os demais primers.

**FIGURA 1:** Dendrograma obtido a partir da análise de 55 fragmentos de RAPD amplificados de 15 isolados de *Phoma* ou *Phomopsis*, um isolado de *Trichoderma* sp. e um de *Colletotrichum graminicola*.



Através deste dendrograma, utilizando-se como critério para separação entre gêneros taxas de similaridade de 70%, pôde-se perceber a ocorrência de separação dos isolados em 7 grupos distintos (A, B, C, D, E, F, G), sendo eles compostos pelos seguintes isolados:

Grupo A - P4, P7, P8, P14, P13, P16, P6, P15 e P10

Grupo B - CG (*Colletotrichum graminicola*)

Grupo C - P1 (*Phoma* sp.)

Grupo D - P9 e JMC

Grupo E - P12 e P5

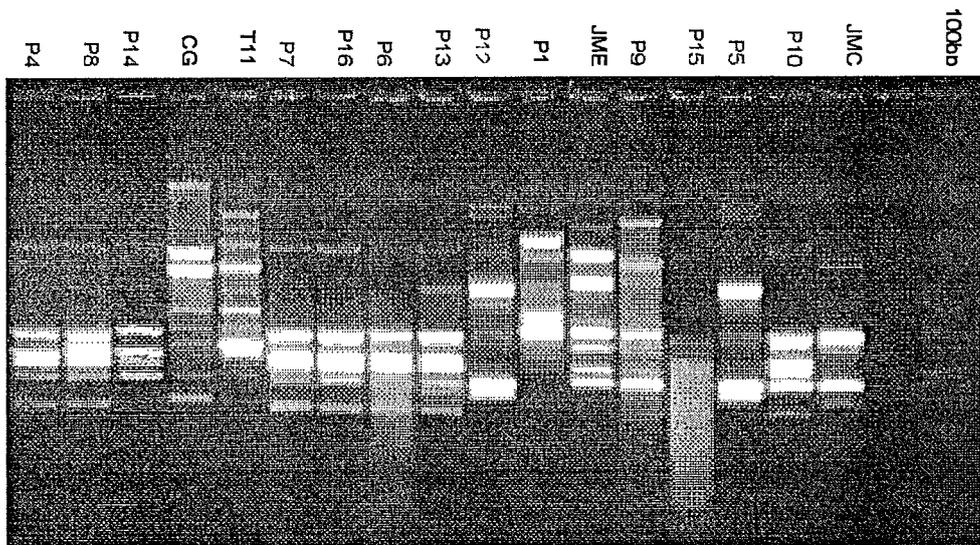
Grupo F - JME

Grupo G - T11(*Trichoderma* sp.)

A reprodução do gel de eletroforese com os fragmentos resultantes da reação de RAPD com o primer OPAA17 (Figura 2) evidencia e melhor ilustra a divisão dos isolados nos grupos supracitados.

Na foto, os isolados locados nos grupos A, D e E foram grafados com cores diferentes para que melhor fossem visualizados os padrões eletroforéticos para cada grupo com a utilização deste primer. Os demais isolados, já que compõem isoladamente seus grupos, permaneceram grafados em preto.

**FIGURA 2:** Gel obtido com a utilização do primer OPAA17 onde podem ser observados fragmentos de RAPD amplificados de 15 isolados de *Phoma* ou *Phomopsis*, um isolado de *Trichoderma* sp. e um de *Colletotrichum graminicola*.



Grupo A - P4, P7, P8, P14, P13, P16, P6, P15 e P10

Grupo B - CG (*Colletotrichum graminicola*)

Grupo C - P1 (*Phoma* sp.)

Grupo D - P9 e JMC

Grupo E - P12 e P5

Grupo F - JME

Grupo G - T11(*Trichoderma* sp.)

Coêlho (1995) reuniu os isolados P4, P7, P8, P14, P13, P16, P6, P15, P12 e P10 em um mesmo grupo, denominado Grupo II, devido ao fato destes apresentarem características culturais semelhantes, como aspecto micelial e a produção de conídios  $\beta$  em meio de cultivo BDA e aveia. Por sua vez, os isolados P5 e P9 foram locados em outro grupo, denominado Grupo III, por suas características miceliais serem semelhantes e por apresentarem produção de conídios  $\beta$  apenas em meio de cultura BDA.

Os resultados obtidos na primeira fase do presente trabalho corroboram com as conclusões daquele trabalho já que pelo dendrograma podem ser reunidos em um mesmo grupo os isolados P4, P7, P8, P14, P13, P16, P6, P15 e P10, sendo excluído do grupo anteriormente criado apenas P12, que agora uni-se ao isolado P5 na formação de um novo grupo.

JMC e JME são isolados inexistentes no antigo estudo e formam, o primeiro juntamente com P9 e o segundo isoladamente, novos grupos no dendrograma construído a partir das similaridades genéticas.

Nenhum dos isolados produtores de conídios  $\beta$  em algum meio de cultivo, possui similaridades genéticas elevadas com o isolado P1 (*Phoma*), nem tão pouco com os de *Trichoderma* sp. ou *Colletotrichum graminicola*.

Este estudo vem comprovar a inexatidão da atual forma de classificação taxonômica para os gêneros *Phoma* e *Phomopsis*, já que esta identifica fungos do segundo gênero a partir da produção de conídios  $\beta$  em meio de cultura. Porém, isolados que segundo Coêlho (1995) não seriam produtores de conídios  $\beta$  em alguns meios de cultura, por exemplo, P5 e P9, e que, portanto, deveriam ser classificados como pertencentes ao gênero *Phoma*, não possuem similaridades genéticas com o isolado P1 (*Phoma*) suficientes para que possam ser classificados como pertencentes ao mesmo gênero.

Dados sobre as características morfológicas e sobre patogenicidade dos isolados ainda devem ser acrescentados aos resultados de análise genética já obtidos para a construção de novo dendrograma que possa esclarecer dúvidas ainda existentes sobre a precisão da classificação de isolados a partir da produção de conídios  $\alpha$  e  $\beta$  em diferentes meios.

## 5- Conclusão

Conclui-se ao final desta primeira etapa do trabalho que os isolados P4, P7, P8, P14, P13, P16, P6, P15 e P10 possuem alto grau de similaridade, diferindo do isolado de *Phoma*.

Mesmo sendo os isolados P9, P12 e P5 produtores de conídios  $\beta$  em pelo menos um meio de cultura, estes não puderam ser reunidos com os do grupo A a partir de suas similaridades genéticas. Estes isolados, juntamente com os isolados JMC e JME, ficaram também dispostos em grupos distintos do isolado P1 (*Phoma*), o que mostra haver grandes diferenças genéticas entre este e os demais isolados mesmo estes não produzindo conídios  $\beta$  em alguns meios.

Ainda é necessário que estudos de características morfológicas e patogênicas sejam conduzidos a fim de que se possa estabelecer padrões para a caracterização genética destes gêneros, já que, de maneira geral, não é possível determinar com precisão a classificação de isolados destes gêneros a partir apenas da produção de conídios  $\beta$ .

## 6. Bibliografia

- Bruns, T.D.; Thomas, J.W.; Taylor, J.W.. Fungal Molecular Systematics. **Annual Rev. Ecol. Syst.** v.22, p. 525-564. 1991.
- Campacci, C.A.; Pessanha, B.M.R.. Exame fitopatológico das sementes. In: Seminário Brasileiro de sementes, **Anais**, 2., Pelotas, 1968. Guanabara: MA, 1970, p. 113 -118.
- Carneiro, J.S., Microflora associada a sementes de essências florestais. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília. v.11, n.3, p. 557-566, jul./ set..1986.
- Carneiro, J.S., Qualidade sanitária de sementes de espécies florestais. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília. V.15, n.1, p. 75-77, jan./mar.. 1990.
- Coêlho, R.M.S.. **Caracterização de *Phomopsis* e *Phoma* obtidos de sementes de espécies florestais**. Universidade Federal de Lavras. Lavras/M.G.. (Tese Mestrado). 1995.

- Coêlho, R.M.S.; Castro, H.A.; Menezes, M.. Patogenicidade de *Phomopsis* e *Phoma* associados a sementes de ipê amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e angico vermelho (*Anadenathera peregrina*). **Summa Phytopathologica**. v.22, n.3/4, p. 224-227, Jul./Dez.. 1996.
- Fernández, F.A.; Hanlin, R.T.. Morphological and RAPD analyses of *Diaporthe phaseolorum* from soybean. **Mycologia**. V.88, n.3, p. 425-440. 1996.
- Ferreira, F.A.. **Patologia florestal: Principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: Sociedade de investigações florestais, 1989. 570p.
- Fosco Mucci, E.S.; Lasca, C.C.. Flora fúngica de sementes de espécies florestais nativas. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília. V.11, n.2, p. 352-353, nov.. 1986.
- Foster, A.C.; Kojak, K.R.; Loftus, M.G.; Stevens, J.J.; Ross, K.I.. The polymerase chain reaction and its application to filamentous fungi. **Mycology Research**. Great Britain. v. 97, n.7, p. 769-781. 1993.
- Glienke, C.. **Variabilidade genética do fungo endófito *Guignardia citricarpa* Kiely detectada por RAPD**. ESALQ/USP. (Tese Mestrado). 1995.
- Grajal-Martin, M.J.; Simon, C.J.; Muehlbauer, F.J.. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to characterize race 2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Pisi*. **Phytopathology**. n.83, p.612-614. 1993.
- Hahn, G.G.. Life-history studies of species of *Phomopsis* occurring on conifers. Part 1. **Transactions British Mycological Society**. Great Britain, v.15, n.1, p. 32-93, jan.. 1930.
- Henson, J.M.; Goins, T.; Grey, W.; Mathre, D.E.; Elliot, M.L.. Use of polymerase chain reation to detected *Gaeumanomyces graminis* DNA in plants grown in artificialy and naturally infested soil. **Phytopathology**. v.83, n.3, p. 283-287. 1993.
- Homechin, M.; Pizzinano, M.A.; Menten, J.O.M.. Sanidade de sementes de *Pinus elliottii* var. *elliottii* e *Pinus taeda* e patogenicidade de *Fusarium oxysporum* em plântulas de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. **Summa Phytopathologica**. Piracicaba, v.12, n.1/2, p. 103-112, jan./jun.. 1986.
- Junghans, D.T.. **Diversidade genética de isolados do fungo *Pisolithus tinotorius* por marcadores RAPD**. Viçosa-M.G..UFV. 50p.1995. (Tese Mestrado)
- Maschio, L.M.A.; Maceda, A.; Ramos, A.. Fungos em sementes de espécies de florestais com potencial agrossilvicultural no Paraná. In: Congresso Florestal Brasileiro, **Anais**, Campos do Jordão: SBCF, 1990. p. 555-563.
- Menten, J.O.M.. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. 321p.

- Nitimargi, N.M.. Studies in the genera *Cytosporina*, *Phomopsis* and *Diaporthe*. VII. Chemical factors influencing spore characters. *Ann. Bot.*. London. v.49. p. 19-40. 1935.
- Ouellet, T. & Seifert, K.. Genetic characterization of *Fusarium graminearum* strains using RAPD and PCR amplification. *Phytopathology*, n.83, p.1003-1007. 1993.
- Parmeter, J.R.. Na effect of substrate on spore form in *Phomopsis*. *Phytopathology*. v. 48, p. 396-397.(Abstr.). 1958.
- Reader, U.E.; Broda, P.. RAPD preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology*. V.1, n.1, p. 17-20. 1985.
- Rehner, A.S.; Uecker, F.A.. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer phylogeny and host diversity in the coleomycete *Phomopsis*. *Canadian Journal of Botany*. v.72, n.11, p. 1666-1674. 1994.
- Sales, N.L.P.. **Efeito da população fúngica e do tratamento químico no desempenho de sementes de ipê-amarelo, ipê-roxo e barbatimão**. Lavras-M.G: ESAL, 1992. 89 p (Tese Mestrado em Fitossanidade).
- Santos, I.C.. **Avaliação da variabilidade genética de *Trichoderma* por isoenzimas, RFLP e RAPD**. Piracicaba-S.P: ESALQ/USP, Dez/1992.(Tese Mestrado).
- Schafer, C. & Wöstemeyer, J.. Random primer dependent PCR differentiates aggressive from non-aggressive isolates of the oilseed rape pathogen *Phoma lingam* (*Leptosphaeria maculans*). *J. Phytopathol.*, n. 136, p.124-136. 1992.
- Sokal, R.R.; Michener, C.D.. A statistical method for evaluating systematics relationships. *University of Kansas Sci. Bull.*. cap.28, p. 1409-1438. 1958.
- Uecker, F.A.. A world list of *Phomopsis* names with notes on nomenclature, morphology and biology. *Mycol. Mem.* N.13. 1988.
- Urban, A.F.; Metzler, M.M.V.S.; Cícero, S.M.. Ocorrência de fungos em sementes de seringueira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília. v.17, n.11, p. 1633-1637, nov.. 1982.
- Van der Aa, H.A.; Noordeloos, M.E.; Gruyter, J.. Species concepts in some larger genera of the Coleomycetes. *Stud. Mycol.*. v.32, p. 3-19. 1990.
- Wehmeyer, L.E. The genus *Diaporthe* Nitschke and its segregates. *Univ. Mich. Stud. Sci. Ser.*. n.9. p.349. 1933.
- Zhan, A.W.; Riccioni, L.; Pedersen, W.L.; Kollipara, K.P.; Hartman, G.L.. Molecular identification and phylogenetic grouping of *Diaporthe phaseolorum* and *Phomopsis longicolla* isolates from soybean. *Phytopathology*. v.88, n.12, p. 1306-1314. 1998.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**“Seleção de Cultivares de Tomate para Sistema Orgânico  
de Produção”**

Ricardo Kazuo Yamamoto

10/12

## 1. AGRICULTURA ORGÂNICA

A Agricultura orgânica pode ser definida como um conjunto variado de tecnologias e práticas agrícolas voltadas a enaltecer as condições particulares de cada ecossistema, na produção agropecuária (CARVALHO, 2000), ou ainda como um sistema de produção que evita, ou exclui amplamente o uso de fertilizantes, pesticidas, reguladores de crescimento e aditivos compostos sinteticamente, para a produção vegetal ou alimentação animal, conforme o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América (USDA) definiu em 1975. No entanto, a instrução normativa 007 de 17/05/99 do Ministério da Agricultura e Abastecimento do Brasil, estabelece a seguinte conceituação e definição oficial:

“Considera-se sistema orgânico de produção agropecuária e industrial, todo aquele em que se adotam tecnologias que otimizem o uso de recursos naturais e sócio-econômicos, respeitando a integridade cultural e tendo por objetivo a auto-sustentação no tempo e no espaço, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energias não renováveis e a eliminação do emprego de agrotóxicos e outros insumos artificiais tóxicos, organismos genéticos modificados transgênicos, ou radiações ionizantes em qualquer fase do processo de produção, armazenamento e de consumo, e entre os mesmos, privilegiando a preservação da saúde ambiental e humana, assegurando a transparência em todos os estágios da produção e da transformação”. O conceito de sistema orgânico de produção agropecuária e industrial estabelecido pelo Ministério da Agricultura, abrange os denominados ecológico, biodinâmico, natural, sustentável,

regenerativo, biológico, agroecológico e permacultura.

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) estima o mercado mundial de produtos orgânicos em US\$ 23,5 bilhões. No Brasil este mercado tem crescido cerca de 10 % ao ano, totalizando no ano de 1999, 100 mil ha sob esse sistema de cultivo (F.N.P., 2001)

## 2. CULTURA DO TOMATEIRO

O tomateiro é uma das culturas olerícolas de maior importância econômica no Brasil. O sudeste é a maior região produtora com 1,5 milhão de toneladas de tomate produzidas por ano, seguido de Centro-Oeste, Nordeste, Sul e Norte totalizando uma produção anual brasileira de mais de 3,0 milhões de toneladas e uma área cultivada de 56000 hectares. Atualmente, o Brasil é o 8º produtor mundial de tomate e ocupa a mesma posição no ranking em área cultivada (F.N.P., 2001).

Planta de origem Andina, o tomate é botanicamente denominado de *Lycopersicon esculentum*, sendo uma solanácea herbácea de caule flexível. Em nossas condições comporta-se como uma cultura anual, podendo em condições ideais tornar-se semiperene.

As flores do tomateiro são hermafroditas, autopolinizadas normalmente, com hibridação natural inferior a 5%. Os frutos são bagas carnosas e suculentas de aspecto variável, podendo pesar desde 60 g até mais de 300 g, conforme a

cultivar. O ciclo total varia de 4 a 7 meses, incluindo a colheita que pode se prolongar de 1 a 3 meses (FILGUEIRA, 1982).

### **3. CULTIVARES DE MESA**

Durante os anos de 1938 a 1950, vários estudos de avaliação de cultivares, de épocas de plantio, de adubação e até de seleção e melhoramento de tomateiro foram realizados no Instituto Agrônômico de Campinas, conforme descrito nos relatórios anuais da Seção de Hortaliças.

Neste período avaliou-se um grande número de cultivares de tomate, sendo que em 1947, os autores enumeram as 12 melhores variedades existentes até aquela data. Sendo elas: Paulista, Redondo Japonês, Rei Umberto, Santa Cruz, Market King, Alisa Graig, Lukulus, Rutger's, Gulf State Market, Bounty, Rodie e MP (Stonor's).

Algumas cultivares presentes no grupo acima tiveram uma maior importância, podendo ressaltar primeiramente a cultivar Redondo Japonês, por ser a primeira mencionada nos estudos, no ano de 1938, e que serviu como testemunha para os testes com novos cultivares. Tal cultivar possui altura média de planta de 156 cm, 11 cachos por pé com 3 a 14 frutos por cacho. Porte médio, com formato lembrando um coração, com inserção peduncular relativamente baixa, vermelho brilhante e liso, diâmetro transversal e longitudinal de 40 mm. Com 2 lojas, parede e septos relativamente grossos, âmago bem desenvolvido e quase branco, polpa rósea-avermelhada, com peso médio de 33 gramas por fruto.

Em seguida, a cultivar Rei Umberto destacou-se por apresentar tolerância ao ataque de vira-cabeça tornando-se por este motivo muito cultivada e utilizada para melhoramento genético. A cultivar Rei Umberto foi descrita com 2m de altura, 13 a 15 pencas por pé, com 4 a 6 frutos por penca de bonito aspecto, uniformes, vermelhos, compridos, inserção peduncular média, diâmetro transversal de 45 mm e longitudinal de 65 mm, polpa e âmago desenvolvido, gosto bom e peso de 60 gramas.

Uma nova cultivar que obteve grande aceitação no mercado, proveniente de um cruzamento natural entre as cultivares Redondo Japonês e Rei Umberto, denominada de Santa Cruz, foi caracterizada como um tomateiro de porte denso e cheio, com inserção peduncular pouco baixa, fruto mais comprido que o Redondo Japonês e mais curto que o Rei Umberto, diâmetro transversal de 50 mm e longitudinal de 58 mm, vermelho, 11 cachos por pé e 4 a 5 frutos por cacho, peso médio por fruto de 74 gramas.

Outra cultivar que obteve destaque, embora menor que as já citadas, foi a Rutgers. Os primeiros relatos desta cultivar datam de 1946, na mesma época em que a cultivar Santa Cruz já ocupava grande fatia do mercado.

No ano de 1949, em um dos últimos relatórios anuais da Seção de Hortaliças, do IAC foi realizado um novo ensaio de variedades com as melhores cultivares existentes. Os autores citam que "...os números vêm confirmar as nossas afirmações de que o tomate 'Rei Umberto', é o mais resistente e produtivo dos tomates cultivados em São Paulo". Por esta afirmação verifica-se que até o ano de 1950, a cultivar Rei Umberto era, segundo os pesquisadores da Seção de Hortaliças do IAC, a melhor variedade de tomate.

No entanto, o tomate que obteve maior destaque, a partir desta data, foi a cultivar Santa Cruz. Tal variedade originou um novo padrão de frutos, recebendo a denominação de Grupo Santa Cruz. Durante os anos esta variedade passou por inúmeras hibridações e seleções, ocasionando o aparecimento de novos cultivares, muitas delas identificadas pelo nome da cidade de origem (Piedade), pela cooperativa produtora de sementes, por alguma característica (nacional, gigante, etc.) e principalmente pelo nome do agricultor que a identificou ( Okata, Kada, etc.) (MARANCA, 1981). Dentre as novas cultivares citadas acima, destaca-se a cultivar Kada, relativamente importante, com rendimento médio porém susceptível as viroses TMV e amarelos e a distúrbios fisiológicos.

Segundo NAGAI (1993), o tomate Santa cruz é susceptível a tudo, tendo sido por isso submetido a melhoramento para incorporar resistência as principais doenças da década de 60, destacando-se a murcha de Fusarium e Verticillium, mancha de Stemphyllium e cancro-bacteriano, as viroses TMV, vira-cabeça, amarelos e risca do tomateiro.

Através do cruzamento da Santa Cruz com uma introdução do Havai denominada HES 7010, iniciou-se a incorporação de resistência ao vírus do mosaico do fumo (TMV). Deste cruzamento obteve uma linhagem com tolerância ao TMV e que produzia frutos tipo Santa Cruz. No entanto, com a prática da produção de mudas em copinhos, este patógeno deixou de ter grande importância.

Outro cruzamento da cultivar Santa Cruz com uma variedade resistente a risca do tomateiro (vírus Y), a PI-126410, originou o lançamento da cultivar Ângela, que obteve boa aceitação de mercado por ser resistente ao vírus Y, à raça

1 de Fusarium e a Stemphyllium e a podridão apical. Com o aumento da área plantada por esta cultivar foi possível selecionar plantas melhores e com frutos maiores, obtendo-se em 1978 a cultivar Ângela Gigante I-5100, com peso médio de frutos de 110 a 120 gramas. A partir daí, a cultivar Ângela passou a ocupar cerca de 70 % das plantações de tomate estaqueado.

Uma nova cultivar com resistência a Verticillium, foi obtida através do cruzamento de Ângela Gigante e Duke, sendo denominada de IAC Santa Clara. Esta cultivar mostrou resistência à raça 2 de Fusarium e Verticillium, porém susceptível a Alternaria. Foram também realizados cruzamentos para obtenção de resistência às bactérias e a traça do tomateiro, não obtendo-se resultados satisfatórios.

Para uma das mais importantes doenças do tomateiro, o vira-cabeça, constatada na década de 30, iniciou-se um longo processo de melhoramento genético durante vinte anos, que testou inúmeras variedades tidas como resistente, sem obter, no entanto, resultados expressivos. Porém na década de 90 a cultivar Steevens, vinda da África do Sul, apresentou grande resistência a este vírus com no máximo 15 % de taxa de infecção, nada comparável aos 100 % da cultivar Santa Clara.

A partir deste momento, houve um grande aumento na utilização de híbridos F1, sendo que estes híbridos e suas linhagens parentais ficaram de posse de empresas particulares, que com uma política mais agressiva têm lançado novos híbridos constantemente.

Dentre os híbridos mais utilizados atualmente está o Débora Plus com resistência a Verticillium, a Fusarium raças 1 e 2 e a nematoíde. Outro híbrido

também muito cultivado é o Carmen que possui resistência a todos os patógenos do híbrido Débora Plus e também ao Vírus do Mosaico do Fumo. Os híbridos Ataque, Funny, Andreia, Raisia, Diva e Saladinha, este último de porte determinado, também são cultivados.

Atualmente a maioria das cultivares comerciais são híbridos F1, que fornecem muitos benefícios, dentre eles: maior uniformidade e tolerância ou resistência múltipla a pragas e doenças. No entanto, como esses cultivares foram selecionados em ambientes de alta disponibilidade de nutrientes, eles exigem esta mesma disponibilidade de nutrientes para expressar totalmente o seu alto potencial de rendimento (GABELAMN e GERLOFF, 1988; ROSEV e KORCAK, 1989; citados por RODRIGUES, 1994).

RODRIGUES (1994) em um estudo com 18 variedades de alface adubadas com composto orgânico, verificou que as cultivares mais produtivas com adubação mineral foram exatamente as que obtiveram os menores resultados quando adubadas somente com composto orgânico. O autor justifica que as cultivares modernas devido ao ambiente de alta disponibilidade de nutrientes em que foram selecionadas, não são eficientes no aproveitamento de nutrientes, sendo necessário selecionar genótipos que além de possuir todas as características produtivas e comerciais desejáveis, seja eficiente no aproveitamento de nutriente.

Neste projeto serão avaliados algumas cultivares de tomateiro com potencial para cultivo orgânico, desde as primeiras variedades cultivadas, relatadas no final da década de 30, até os híbridos em uso atualmente. Objetiva-se selecionar uma variedade com boas características comerciais e fitossanitárias, e que alcance um bom desenvolvimento dentro do sistema de cultivo orgânico, em

que a disponibilidade de nutrientes e o manejo de pragas e doenças é diferente do sistema convencional.

#### **4. CULTIVARES PARA INDÚSTRIA**

No Brasil, até a década de 70, as cultivares utilizadas para indústria eram do grupo Santa Cruz. A partir desta data iniciou-se a introdução de cultivares específicas para processamento industrial, uma vez que os cultivares do grupo Santa Cruz não possuíam boa qualidade industrial. Segundo MINAMI (1989) as cultivares para indústria apresentam várias características que contribuem para diminuir os custos de produção e aumentar a produtividade. Tais como: crescimento determinado; maturação uniforme; resistência múltipla a pragas e doenças; alta produtividade; frutos com polpa vermelha e com alto teor de sólidos solúveis, baixo pH e baixo teor de sementes e casca.

Podemos destacar algumas cultivares importantes para indústria, como o Rossol de formato periforme é coloração bem vermelha, de bom pegamento e elevada capacidade de frutificação, além de resistência a *Verticillium*, *Fusarium* e nematóides. Chico Grande é outra variedade para fins industriais de formato periforme e grande resistência a *Fusarium* (MARANCA, 1981). Outros cultivares importantes são: Roma, San Marzano, Ventura, Earlymech, Euromech, Rio Grande, série IPA, etc.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**“Controle Regulatório das Enzimas em Arroz”**

Vanderlei Aparecido Varisi

10/12

**Vanderlei Aparecido Varisi**

**Orientador: Ricardo Antunes de Azevedo**

**Bolsa: CNPq**

### **Introdução**

O cultivo de arroz é extremamente importante pois ele é consumido amplamente e de forma direta pela população. No entanto, possui baixa qualidade protéica pela deficiência em aminoácidos essenciais como lisina e treonina. A procura e obtenção de materiais de alto valor nutritivo tem sido o objetivo de estudo de vários grupos de pesquisa em todo o mundo, os quais têm utilizado estratégias de melhoramento genético clássico até métodos de biologia molecular. A utilização de mutantes para se entender os mecanismos de regulação e controle de vias metabólicas é uma estratégia amplamente utilizada e extremamente eficiente (Azevedo *et al.*, 1997). Contudo, no caso de arroz pouco tem sido feito e principalmente quanto ao caso da lisina e treonina, poucos trabalhos são encontrados em literatura. A lisina, treonina, metionina e isoleucina são derivados do ácido aspártico. Estudos bioquímicos, genéticos e moleculares têm levado a identificação de alguns mecanismos envolvidos na regulação desta via, mostrando que várias destas enzimas são reguladas por retroinibição pelos aminoácidos produtos finais (Fig. 1). A enzima Aspartato Quinase (AK), primeira desta via metabólica, converte o ácido aspártico em aspartil fosfato em uma reação catalisada por  $ATP/Mg^{2+}$ . Numa segunda reação o aspartil fosfato é convertido a aspartil semialdeído, através da atuação da enzima Aspartato Semialdeído Desidrogenase. Ocorre, a seguir, uma ramificação da via em dois caminhos, sendo que um deles dá origem ao aminoácido lisina e o outro aos aminoácidos treonina, isoleucina e metionina. No ramo que conduz a formação da treonina e isoleucina o aspartil semialdeído é reduzido a homoserina pela ação da enzima Homoserina Desidrogenase (HSDH) sendo depois fosforilado pela enzima Homoserina Quinase (HK) a fosfomoserina. A última reação é catalisada pela Treonina Sintase (TS) que dá origem ao aminoácido treonina.

### **Objetivos**

O objetivo principal deste projeto foi o de verificar se existem padrões diferentes de controle regulatório das enzimas que regulam a biossíntese de lisina e treonina em arroz pela análise de genótipos comerciais e selvagens. Para isto, uma seleção de materiais

comerciais, selvagens e mutantes de endosperma de arroz (que apresentam características nutricionais alteradas), foi realizada. Nestes materiais, analisamos as atividades das enzimas AK e HSDH.

## **Material e Métodos**

### **Material Vegetal**

Os materiais vegetais utilizados nesta pesquisa foram: IAC-165, IAC-202, Tangará, Caiapó, Carajás, Canastra, Primavera, Progresso, Maravilha, Mutante 7, Rio Verde. Os endospermas foram coletados no estágio 2 (leitoso) e imediatamente congelados em nitrogênio líquido e estocados em freezer -70°C até sua utilização nas análises das enzimas.

### **Métodos**

#### **Ensaio para AK**

A atividade da AK foi medida pelo método do hidroxamato.

#### **Ensaio para HSDH**

A atividade da HSDH foi determinada pelo método adaptado por Azevedo *et al.* (1992).

#### **Extração enzimática**

As extrações foram conduzidas a 4°C como descrito por Teixeira *et al.* (1998).

#### **Determinação de proteína**

O conteúdo de proteína, de todas as amostras analisadas, foi determinado pelo método de Bradford (1976) utilizando um kit da Bio-Rad com BSA como proteína padrão.

## **Resultados**

Os diversos ensaios de atividade da AK estão apresentados em gráfico e expressos em nkatal e da HSDH estão apresentados em gráfico e expressos em nmol/min/mg proteína. Nos resultados observados para a AK (Fig. 2), a maioria dos genótipos estudados apresentaram inibição na presença dos aminoácidos lisina e treonina indicando a existência de duas enzimas da AK, uma sensível a lisina e a outra a treonina. A lisina demonstrou ser o principal inibidor da atividade da AK na grande maioria dos genótipos, sugerindo que a isoenzima da AK sensível a lisina é predominante em arroz. Pôde-se perceber uma grande variação entre os materiais analisados nos diferentes níveis de inibição pela lisina, variando

de 12% (Primavera e Progresso) a 55% (Mutante 7). Para o tratamento com treonina também foi observado uma grande variação nos níveis de inibição entre os materiais, inibindo desde 45% (Maravilha) chegando, inclusive, até a ativação da AK em 19% (Primavera). Nos tratamentos em que a lisina e treonina foram aplicados conjuntamente, verificou-se sempre uma maior inibição do que para os tratamentos isolados, variando desde 76% (Tangará) até 22% (Progresso). Contudo, a não completa inibição verificada neste tratamento (Lisina e Treonina), sugere a possível existência de uma terceira isoforma, que pode até ser resistente a inibição por estes aminoácidos. Entre as cultivares, foi verificado que a IAC-165 apresentou diferentes níveis de inibição entre os tratamentos, sugerindo que materiais com maior atividade de AK pode ter mais carbonos entrando na via e, conseqüentemente, níveis mais altos de aminoácidos livres.

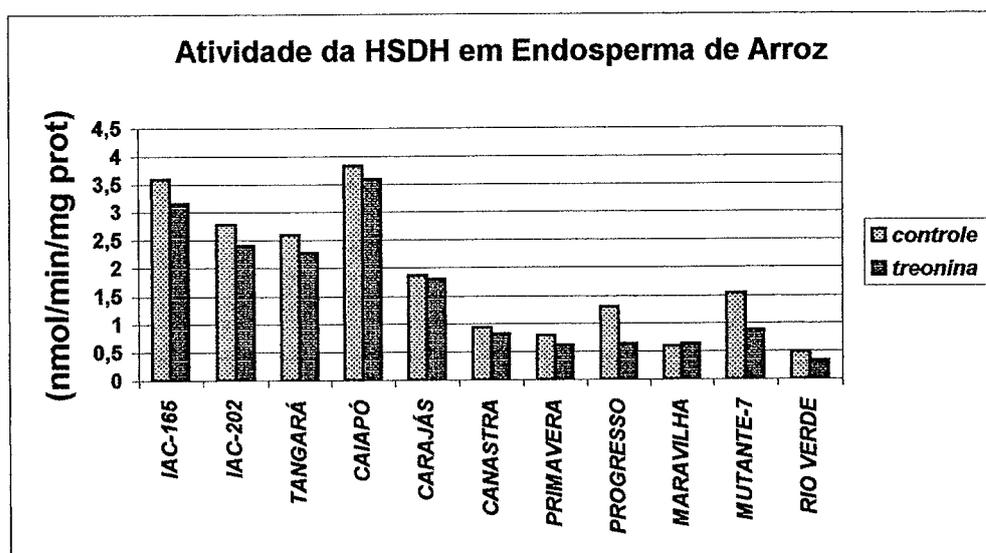
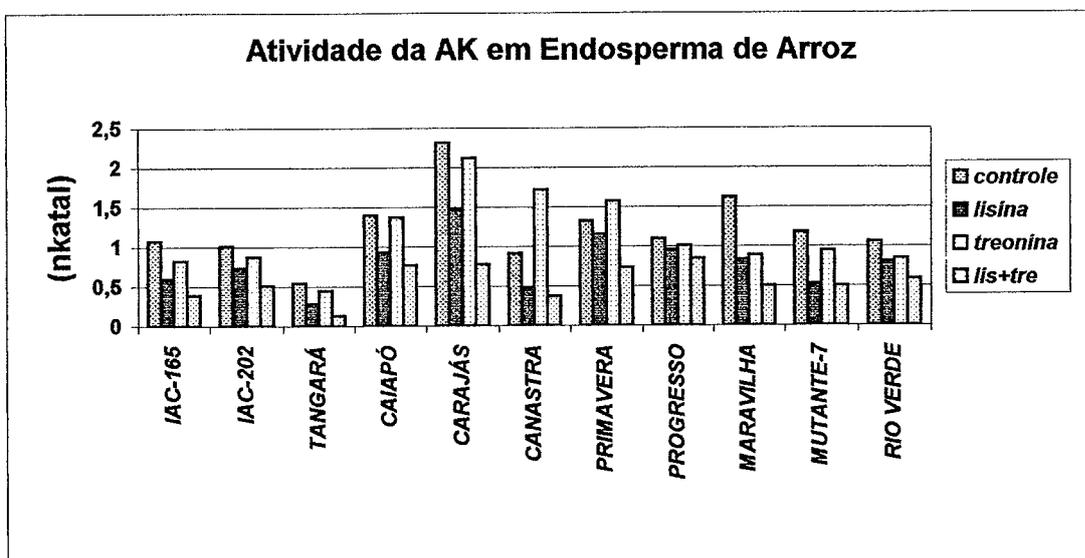
Para a HSDH (Fig. 3), a maioria das plantas estudadas apresentaram duas isoformas da enzima HSDH, uma resistente e outra sensível ao aminoácido treonina. A inibição causada pela treonina variou de 3% até 51%, indicando uma distribuição diferencial entre as diferentes isoformas da HSDH entre estes materiais. Inclusive, no caso da cultivar maravilha, a treonina estimulou a atividade da HSDH em 6%. Esta variação sugere que entre estas cultivares, o teor de treonina, assim como o de lisina, devam estar alterados de acordo com o destino dos carbonos que entram pela via e se ramificam no passo catalisado pela HSDH. Além disto, foi observado também uma grande variabilidade no nível da atividade total da HSDH entre estas cultivares analisadas.

Quando comparada a atividade da AK com a da HSDH entre os diferentes genótipos, a cultivar Carajás apresentou um grande contraste entre a inibição da atividade da AK por lisina (36%) e treonina (8%) em oposição a uma pequena inibição da atividade da HSDH por treonina, o que sugere que pode estar ocorrendo um desvio na via metabólica que conduz para a síntese de treonina. A cultivar Progresso, por sua vez, apresentou uma pequena inibição na atividade da AK por lisina (12%) e treonina (8%) e, ao mesmo tempo, uma inibição de 53% por treonina na atividade da HSDH. Esses dados podem sugerir que ocorre uma priorização na via metabólica para a síntese de lisina.

## **Conclusão**

Existem duas isoenzimas da AK em arroz: sensível a lisina e sensível a treonina.

Existem duas isoenzimas da HSDH em arroz: sensível a treonina e resistente a treonina. Existe grande variabilidade nas atividades entre os genótipos testados, indicando que deva existir variação para a qualidade nutritiva destes genótipos em relação aos teores de lisina e treonina no grão.



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA  
"LUIZ DE QUEIROZ"**

**PET - BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA  
Isolamento de Fungos Endofíticos de *Eucalyptus* spp.**

Aline Silva Romão

## Orientador

Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo

## Co-orientadores

Ms. Welington de Araújo

Ms. Ricardo Yara

## Departamento

Departamento de Genética/Laboratório de Genética de Microrganismos

## Período do Estágio

De junho de 2000 até o momento.

## Título

Isolamento de fungos endofíticos de *Eucalyptus* spp.

## Resumo

Microrganismos endofíticos são aqueles que podem ser isolados do interior de tecidos vegetais e que não causam dano à planta. Esses endófitos podem influenciar o desenvolvimento do seu hospedeiro, aumentando a taxa de crescimento ou reduzindo a herbivoria etc. No presente trabalho realizou-se um estudo dos fungos endofíticos de *Eucalyptus* spp. utilizando amostras de folhas, ramos fino e grosso provenientes de seis diferentes clones comerciais originados por micro e macro propagação. Esse material foi desinfectado superficialmente, fragmentado e inoculado em placas de Petri contendo meio BDA para fungos, as quais foram incubadas em estufa BOD a 28°C. Observou-se o crescimento de diversas colônias as quais foram contadas e separadas em grupos de acordo com a morfologia. A partir desse processo analisou-se a correlação entre os grupos fúngicos isolados e o tecido do hospedeiro, macro e micro propagação e diferentes clones. Então, houve maior ocorrência de colônias em ramos grossos; nas amostras oriundas de macro e micro propagação a ocorrência de colônias foi aproximadamente igual, o que também foi observado para os clones. Os grupos de fungos mais representativos foram cultivados e armazenados em BDA, desses os mais frequentes caracterizam-se por terem micélio: cinza (18%), bege-branco (13%) e branco (15%), todos cotonosos e de crescimento rápido; leveduras (13%) e colônia preta com estruturas leveduriformes bege. Algumas colônias já foram identificadas.

## Introdução

**Microrganismos endofíticos** são aqueles que podem ser isolados do interior de tecidos vegetais e que não causam dano à planta. Esses endófitos podem influenciar o desenvolvimento do seu hospedeiro, promovendo crescimento do vegetal, resistência à pragas e patógenos. No presente trabalho realizou-se um estudo dos fungos endofíticos de *Eucalyptus* spp. utilizando amostras de folhas, ramos fino e grosso provenientes de seis diferentes clones comerciais originados por micro e macro propagação.

## Objetivo

Isolar fungos endofíticos de folhas, ramos fino e grosso de diferentes clones de *Eucalyptus* spp. oriundos de macro e micro propagação.

## Metodologia

Submeter as amostras à:

1º Lavagem em água corrente;

2º Desinfecção superficial com os seguintes passos:

- Um minuto em álcool 70%
- Três minutos em hipoclorito de sódio 2%
- Um minuto em álcool 70%
- Lavar em água esterilizada
- Esperar aproximadamente 2 minutos para secagem superficial do material

Após a desinfecção fragmentar os ramos com a tesoura de poda e as folhas com bisturi. Plaquear sete fragmentos por placa de Petri contendo BDA acrescido de tetraciclina 50mg/L e incubar em estufa BOD a 28°C. Após 15 dias avaliar o material visando quantificar a frequência de isolamento dos grupos fúngicos nos diferentes tecidos (PEREIRA, 1993).

## Resultados

Os resultados serão mostrados nos gráficos abaixo:

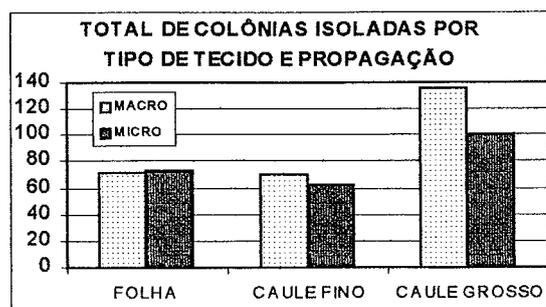


Figura 1: observar maior ocorrência de colônias

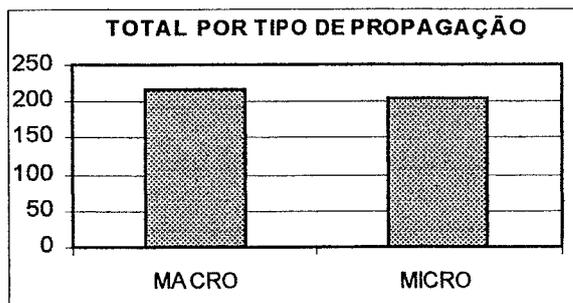


Figura 2: observar as frequências semelhantes

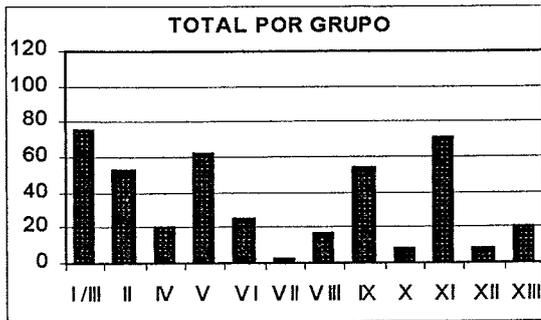


Figura 3: observar a diversidade de colônias isoladas, assim como as diferentes frequências de ocorrência.

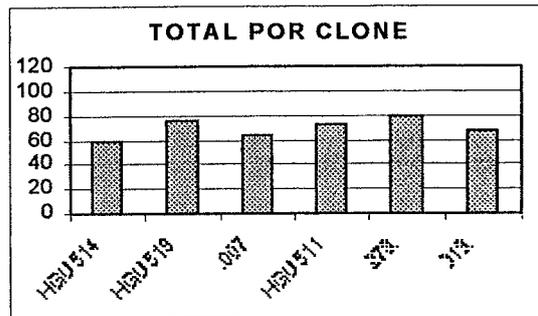


Figura 4: observar a quantidade de colônias isoladas em cada clone.

## Conclusão

A partir da análise dos resultados podemos concluir que:

- 1- Foi verificado o isolamento de 13 grupos de fungos morfologicamente diferentes para os quais foram observadas diferentes frequências de isolamento (figura 3);
- 2- A frequência de isolamento dos grupos fúngicos não foi aleatório, pois foi observado correlação com o tipo do tecido e de clone (figura 1 e 4);
- 3- Foi observada correlação entre grupos fúngicos e os tecidos da planta, pois, foi verificado que certos tipos morfológicos apresentam especificidade para um determinado tecido, enquanto outros grupos parecem não apresentarem esta especificidade, sendo isolados tanto de folhas, como de ramos fino e grosso;
- 4- Com relação à macro e micro propagação, não foi observada diferença significativa na frequência de isolamento para estas amostras (figura 2), sugerindo que a origem da muda não afetou a comunidade endofítica nesta idade da planta.

## Bibliografia Consultada

PEREIRA, J. O. Fungos endofíticos dos hospedeiros tropicais *Stylosantes guianensis* e *Musa Cavendish*. Tese de Doutorado, ESALQ/USP, 105P, 1993.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA

“Técnicas de DNA Recombinate Projeto Genoma”

Leonardo Rangel Carraro

10/02

## ÍNDICE

1. Resumo	1
2. Introdução	2
3. Metodologia a ser utilizada	3
3.1- Micro-preparação de plasmídeos	3
3.1.1 - Soluções Utilizadas	3
3.1.2 - Micropreparação	4
3.2 - PCR para Sequenciamento	6
4. Cronograma	7
5. Referências Bibliográficas	7

### 1 - Resumo

Com o estabelecimento da rede ONSA (*Organization for Nucleotide Sequencing and Analysis*), vários projetos genomas estão sendo desenvolvidos. Desde o início desse programa, o laboratório de biologia molecular de plantas Depto Ciências Biológicas - USP, tem participado de vários projetos genomas, os quais são financiados pela FAPESP em parceria com outras instituições. O seqüenciamento do genoma de *Xylella fastidiosa* foi o primeiro do Brasil, sendo o primeiro genoma de fitopatógeno seqüenciado completamente, o que trouxe um reconhecimento internacional do país nessa área. Outros projetos foram lançados pelo programa dos quais esse grupo tem participado, tais como: Projeto Humano do Câncer, Seqüenciamento de ESTs de Cana de Açúcar e o mais recente projeto em andamento - AEG (Agricultural and Environmental). O cotidiano de projetos desse tipo requer um intenso trabalho de rotina na elaboração de amostras para ser seqüenciadas, envolvendo várias técnicas como micropreparação de plasmídeos reações de PCR, purificação e outras, contribuindo para a formação e capacitação de alunos.

## 2 - Introdução

A seqüência de nucleotídeo presente no genoma de um organismo determina todas suas características biológicas. A determinação completa e precisa desta seqüência oferece então o modo mais apurado da compreensão do funcionamento e estrutura desse organismo. Esta recente abordagem da biologia vem contribuindo na identificação de doenças por diagnósticos baseados no DNA (Fraser & Fleischmann, 1997; Gibbs, 1997; Oliver, 1996). Nos últimos anos a comunidade científica tem assistido e participado da concentração de esforços em torno da priorização de verbas destinadas a apoiar financeiramente projetos na área de biotecnologia, envolvendo sequenciamento genômico em larga escala. A viabilização desses projetos deve-se a grandes avanços nas estratégias metodológicas utilizadas, na determinação das seqüências e nas análises e correlações dessas seqüências com informações já existentes em bancos de dados, através do uso de sofisticados programas de computadores

A introdução do Brasil nessa área se deu com o sequenciamento completo da bactéria *Xylella fastidiosa* pelo grupo ONSA-FAPESP, desde essa data o Brasil tem sido reconhecido na comunidade científica internacional pelo sucesso adquirido nesse projeto. A competência técnica e estrutural que foi adquirida durante esse trabalho foi utilizada para se criar um programa envolvendo sequenciamento genômico em larga escala, de microrganismos relacionados com a agricultura (Agricultural and Environmental Genomes), programa este financiado pela FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo) em parceria com outras instituições. Estes projetos têm como objetivo, a elucidação da estrutura de genomas de organismos relacionadas a agricultura e ambiente (AEG), bem como expressão

diferencial na célula, a identificação de polimorfismos responsáveis por variações biológicas e a comparação de genomas.

A estrutura criada para a realização desse projeto, que conta com 5 sequenciadores capilares automáticos distribuídos pelo estado de São Paulo, proporcionou uma rapidez em se gerar seqüências. Isso exige que várias iniciativas sejam tomadas simultaneamente em relação aos organismos a serem sequenciados. Assim esse programa se iniciou com o sequenciamento do microrganismo *Xylella fastidiosa* -Pierce's Disease Strain, causadora de doença de Pierce em videiras, o que está se tornando um grande problema para os Estados Unidos. Este projeto conta com a colaboração de USDA (United State Department Agriculture). O segundo organismo, cujo DNA está sendo sequenciado é o fitopatógeno *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, causadora *ratoon stunting disease* (RSD) em cana de açúcar. De acordo com a estrutura do Programa AEG outros organismos estão em vias de serem iniciados.

#### 4 - Metodologia a ser utilizada

##### 4.1- Micro-preparação de plasmídeos

###### 4.1.1 - Soluções Utilizadas

GTE: Sol 1

Glicose 20% - 23 ml

0.5M EDTA pH 8.0 - 10 ml

1M Tris HCl ph 7.4 - 13 ml

H<sub>2</sub>O to 500 ml

Sol 2

0.2M NaOH

1% SDS

Sol 3

KOAc 147.2g

àc. acético Glacial 57,5 ml

H<sub>2</sub>O to 500 ml

#### 4.1.2 - Micropreparação de Plasmídeos

Adicionar em cada poço da microplaca 1 ml de meio Cicle Grow contendo Ampicilina (1µl de Ampicilina para 1 ml de meio Cicle Grow).

Inocular com o auxílio de um replicador. Selar a placa com adesivo, fazer pequenos furos em cima de cada poço para facilitar a oxigenação.

Incubar a 37°C, 320 rpm por 22 horas.

Centrifugar a microplaca por 6 min., 4000rpm para sedimentar as células.

Remover o adesivo, descartar o sobrenadante e inverter a placa sobre papel absorvente por 5 min. Depois disso pode ser mantida a -20°C.

Adicionar 240µl de Sol 1 - GET, selar a placa com adesivo e agitar (vortex) por 2 min, para ressuspender as células.

Centrifugar 6min., 4000rpm .

Descartar sobrenadante e deixar a placa invertida em papel absorvente por 5 min.

Adicionar a cada poço 80µl de GET, selar a placa com adesivo e agitar (vortex) por 2min.

Adicionar 2,5µl de RNase (10mg/ml) em uma placa de fundo U.

Transferir 80 $\mu$ l de cada suspensão de células para a microplaca de fundo U. Adicionar 80 $\mu$ l de SOL 2. Selar a placa com adesivo e misturar 10 vezes por inversão

Incubar por 10min., em temp. ambiente. Centrifugar por alguns seg.

Adicionar 80 $\mu$ l de Sol 3. Selar a placa com adesivo e misturar 10 vezes por inversão.

Incubar por 10min., em temp. ambiente. Centrifugar por alguns seg.

Remover o adesivo e incubar em estufa a 90°C por EXATOS 30min.

Esfriar a placa em gelo por 10min. Centrifugar por 4min., 4000rpm.

Transferir todo volume para a placa Millipore e centrifugar por 4min.

Remover e descartar a placa Millipore. Adicionar 110 $\mu$ l de Isopropanol ao filtrado.

Selar a placa com adesivo e misturar 10 a 20 vezes por inversão.

Centrifugar por 45min., 4000rpm e 20°C.

Descartar sobrenadante (invertendo a placa), e adicionar 200 $\mu$ l de Etanol 70% (gelado).

Centrifugar por 5min., 4000rpm a 20°C. Remover o sobrenadante.

Inverter a placa sobre papel absorvente e centrifugar por 3min, 900rpm.

Deixar a placa secar em temperatura ambiente por 60 minutos.

Ressuspender o DNA com 80 $\mu$ l de H<sub>2</sub>O Milli-Q, selar com adesivo e deixar O/N em temperatura ambiente.

Guardar placa no freezer (-20°C)

## 4.2 - PCR para Sequenciamento

DNA	1.5µl
H <sub>2</sub> O – Milli-Q	2.5µl
Save Money	2.5µl
Primer Universal - R ou F (5pMol/µl)	2.0µl
Big Dye Terminator (PE)	1.5µl

Total da reação 10µl

Condições do PCR:

- 1º passo: 96°C por 2min
  - 2º passo: 96°C por 45 seg.
  - 3º passo: 50°C por 30 seg.
  - 4º passo: 60°C por 4 min.
- } Repetir 25vezes

### 4.1.3 - Purificação de Reações de PCR

Adicionar a cada poço: (10µl de reação)

10µl de H<sub>2</sub>O milli-Q  
 2µl NaOAc 3M pH5.5  
 50µl de EtOH 100%  
 2µl Glicogênio (1g/L)

Agitar 20 vezes por inversão e deixar no gelo por 15min.

Centrifugar por 45min., 4000rpm a 4°C. Descartar sobrenadante.

Dar um pulso até 1000rpm com a placa invertida em papel absorvente.

Adicionar 200µl de EtOH 70%.

Centrifugar por 10min., 4000rpm a 4°C. Descartar sobrenadante.

Dar 2 pulsos até 1000rpm com a placa invertida em papel absorvente.

Secar em temperatura ambiente por 60min.

Ressuspender em 3.4µl de Loading Buffer.

#### 4. Cronograma

ATIVIDADES	MESES											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Microprep.-PCR-purificação	x	x	x	x	x	x	x	x	x	X	x	x
Sequenciamento em AB1-377	x	x	x	x	x	x	x	x	x	X	x	x

#### 6. Referências Bibliográficas

Fraser, CM & Fleischmann RD. Strategies for whole microbial genome sequencing and analysis. *Electrophoresis* 18: 1207-1216, 1997.

Gibbs, RA. Hares and tortoises in the race to sequence the human genome: expectations and realities. *Trends Genet* 13: 381-383, 1997

Oliver, SG. From DNA sequence to biological function. *Nature* 379: 597-600, 1996.

Simpson et all. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. The *Xylella* *Nature*. 2000 Jul 13;406(6792):151-7.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**“ INFLUÊNCIA DO AMBIENTE NA PRODUÇÃO DE  
FRUTAS: BANANAS”**

**SIMEIRE APARECIDA MANARIN**

10/02

# INFLUÊNCIA DO AMBIENTE NA PRODUÇÃO DE FRUTAS: BANANA

## 1. CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA

Conforme a sistemática de classificação hierárquica, as bananeiras produtoras de frutos comestíveis pertencem a:

Classe: Monocotiledônea

Ordem: Scitaminales

Família: *Musaceae*

Subfamília: Musoideae

Gênero: *Musa*

Secção: *AustraliMusa*

*CalliMusa*

*Rhodochlamys*

*(Eu-)Musa*

Cheesman (1942), propôs uma classificação para o gênero *Musa* aceita atualmente no mundo todo, a qual baseia-se no número básico de cromossomos. Esta divide-se em dois grupos:

- espécies com  $n = 10$  cromossomos pertencem às secções *AustraliMusa* e *CalliMusa*
- espécies com  $n = 11$  cromossomos integram as secções *Rhodochlamys* e *(Eu-)Musa*, as quais apresentam potencialidade como germoplasma útil para melhoramento genético das variedades cultivadas, essas espécies são:

**Secção *Rhodochlamys*:** *Musa ornata* Roxburgh, *M. Velutina* Wendl & Drude, *M. lateria* Cheesman, *M. rubra* e *M. sanguinea*;

**Secção *(Eu-)Musa*:** *M. acuminata* Colla, *M. flaviflora* Simmonds, *M. ochracea* Shepherd, *M. schizocarpa* Simmonds, *M. halabanensis* e *M. balbisiana* Colla.

## 2. INTRODUÇÃO :

A bananeira é uma das principais frutíferas mundiais de vital importância, constituindo-se um dos componentes básicos na alimentação de milhões de pessoas . Ela é uma das frutas mais consumidas mundialmente , sendo explorada na maioria dos países, com uma produção de 44 milhões de toneladas anuais, onde o Brasil responde por cerca de 17,5%, sendo esta produção dividida em todo território nacional, desde as áreas litorâneas até os planaltos do interior, em altitudes que variam de 0 a mais de 1.000 metros .

A banana é consumida quase na sua totalidade na forma *in natura*, a banana constitui parte integrante da alimentação das populações da baixa renda, não só pelo alto valor nutritivo , como pelo seu baixo custo , cabendo-lhe um papel fundamental na fixação na mão de obra rural.

Como alimento são altamente ricas em carboidrato (cerca de 35%) e fibras (6-7%). Os frutos são importantes fontes de elementos minerais e vitaminas, tais como: potássio, magnésio, cálcio, fósforo, sódio, ferro e vitaminas A, B e C .

Apesar de apenas os frutos serem utilizados como fonte de alimento, praticamente todas as partes da planta podem ser aproveitadas. Dentre as diversas utilizações pode se citar (FAO, 1995):

**Alimentação animal:** frutos maduros ou verdes desidratados podem ser utilizados na alimentação bovina e suína, substituindo neste, cerca de 70-80% dos grãos na dieta diária, com pouca mudança na performance.

**Uso medicinal:** devido ao seu conteúdo de vitamina A, as bananas podem atuar melhorando a digestão. Sua casca triturada possui propriedades antissépticas, que podem ser utilizadas no tratamento de feridas.

**Fonte de fibras:** as bananas são fontes de fibras usadas extensivamente na fabricação de certos papéis, particularmente naqueles que uma maior resistência é requerida, tais como: sachês para chás e papel moeda, etc..

**Outros usos:** as folhas podem ser usadas como manufaturas na confecção de guarda chuva, tigelas, toalhas de mesa e esteiras, além de coberturas de telhados e viveiros, embrulhos de alimentos para cozimento e ainda apreciadas como ornamentais. Do pseudo caule pode ser extraída uma goma utilizada na produção de cola. Da casca é explorada a graxa de sapato e a cera de chão. Isto explica porque na Índia a banana é conhecida como “Kalpatharu”, ou seja, planta que pode ser utilizada de acordo com sua imaginação.

No aspecto econômico, a bananeira é uma cultura de grande importância, pois apresenta um fluxo de produção a partir do primeiro ano, que a torna muito atraente para os agricultores, pois apresenta um rápido retorno do capital investido.

### **3. OBJETIVO :**

Este trabalho visa obter informações sobre a influência do ambiente (temperatura, precipitação, luminosidade, vento, altitude, umidade relativa e alguns nutrientes mais requeridos pela cultura), que afetam a boa qualidade do fruto

## **4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: INFLUÊNCIA DO AMBIENTE NA PRODUÇÃO DE FRUTAS: BANANA**

Podemos considerar como ambiente o local onde a planta se desenvolve, este ambiente é muito variável e formado por vários componentes, onde encontramos fatores físicos, químicos e biológicos interferindo no desenvolvimento da planta. Estes fatores podem favorecer o bom desenvolvimento da planta, ou se mostrar como fator limitante para seu desenvolvimento.

### **4.1. Fatores Físicos**

#### **4.1.1. Temperatura**

A temperatura é de grande importância para todos os vegetais, uma vez que se relaciona com todos os processos fisiológicos da planta, destacando-se entre eles os processos de fotossíntese e respiração. No contexto dos fatores climáticos, a temperatura

está diretamente relacionada à luminosidade e vento, além da latitude que varia de acordo com o relevo.

A bananeira por ser uma fruteira tropical, exige temperaturas altas ao longo do ano, não sendo resistente a baixas temperaturas e a geadas. A temperatura ótima para o cultivo comercial da bananeira gira em torno de 28°C, com mínimas não inferiores a 18°C e máximas não superiores a 34°C, sendo esta faixa de temperatura onde ocorre o máximo desenvolvimento da planta, em condições adequadas de água e nutrientes. ITAL (1990), considerou as temperaturas de 15°C e 35°C como os limites extremos para a exploração racional da bananeira. Abaixo de 15°C a atividade da planta é paralisada e acima de 35°C o desenvolvimento é inibido, principalmente devido à desidratação dos tecidos, especialmente das folhas.

Temperaturas inferiores à 12°C provocam uma perturbação fisiológica nos frutos, conhecidas como “chilling” ou friagem, que prejudica os tecidos, principalmente os da casca do fruto. O “chilling” pode ocorrer nas regiões subtropicais onde a temperatura mínima noturna atinge a faixa de 4,5 a 10°C. Normalmente ele ocorre no campo, mas pode se manifestar, também, durante o transporte do cacho, na câmara de climatização ou então logo após a banana colorir-se de amarelo. As bananas afetadas tem o processo de maturação bastante perturbado. Baixas temperaturas provocam, também, a compactação da roseta foliar, dificultando o lançamento da inflorescência ou provocando o seu “engasgamento”, o que torna o cacho tão deformado que dificulta a sua comercialização. Quando a temperatura atinge 0°C ocorre a geada, que provoca graves prejuízos, tanto na safra pendente como na seguinte (ITAL, 1990; Soto Ballester, 1992).

Observando mapas de temperatura média, observa-se que a cultura pode ser implantada em quase toda a região Norte e Nordeste, enquanto as regiões Sudeste, Centro-Oeste e principalmente a região Sul apresentam restrições relativas a este fator, abrangendo zonas que variam de marginais a inaptas. Há também microrregiões homogêneas subtropicais dos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do sul e Mato grosso do Sul, onde cultivares com tolerância ao frio (Nanica, Nanicão, Grande Naine, Willians Hybrid) tem sido cultivadas (Alves,1990; Alves,1992).

#### 4.1.2. Precipitação

A precipitação é de extrema importância, principalmente onde não há mecanismos de irrigação, ou seja, na maior parte do Brasil. Podemos classificar a precipitação de acordo com a quantidade e intensidade, onde é observada a quantidade de chuva e sua distribuição ao longo do ano.

A bananeira requer uma grande e permanente disponibilidade de umidade no solo. Em regiões ou zonas produtoras com estação seca prolongada faz-se necessário o uso de irrigação suplementar. O consumo de água pela planta é elevado e constante, em função de sua morfologia e da hidratação de seus tecidos.

As maiores produções estão associadas a uma precipitação total anual de 1.900 mm, bem distribuída ao longo do ano. Quando a deficiência hídrica anual for superior a 80 mm, a cultura não se desenvolve satisfatoriamente, afetando a produção, a produtividade e a qualidade do produto.

As áreas preferenciais para implantação da bananicultura no Brasil são consideravelmente reduzidas quando se analisa a disponibilidade hídrica. Somente algumas zonas das regiões Norte e Sul não apresentam restrições em relação a esse fator. Todavia, as áreas da região Sul com deficiência hídrica zero estão associadas a baixas temperaturas no inverno. Estas áreas ampliam-se consideravelmente se analisarmos áreas com deficiências hídricas inferiores a 100 mm/ano.. Na região Nordeste, em áreas com precipitações inferiores a 1000 mm anuais, o período de chuva varia de 3 a 5 meses. Nestas zonas, a produção de banana só seria viável com o uso de irrigação, como acontece no Vale do São Francisco e norte de Minas Gerais (Alves, 1990).

A deficiência de água é mais grave nas fases de diferenciação floral e de início de frutificação, podendo o cacho perder valor comercial.

A disponibilidade de água também está relacionada com o solo. Nos solos mais profundos, com boa capacidade de retenção de umidade, o limite de precipitação de 100 mm/mês seria suficiente. Em solos com menor capacidade de retenção, este limite pode chegar a 180 mm/mês (Soto Ballester, 1992). É fundamental que o solo assegure uma disponibilidade de água não inferior a 75% da sua capacidade de retenção, sem contudo provocar saturação, o que prejudicaria a aeração.

#### 4.1.3. Umidade Relativa

A umidade relativa se relaciona diretamente com a precipitação e temperatura, e interfere na evapotranspiração das plantas.

As regiões de umidade relativa média anual situa-se acima de 80% são mais favoráveis à bananicultura. Esta alta umidade acelera a emissão de folhas, prolonga sua longevidade, favorece o lançamento da inflorescência e uniformiza a coloração da fruta.

Contudo, quando associada as chuvas e a variação de temperatura, provoca ocorrência de doenças fúngicas (ITAL, 1990).

Sob condições de baixa umidade as folhas tornam-se mais coriáceas, e têm vida mais curta.

#### 4.1.4. Luminosidade

A luminosidade é importante fator no desenvolvimento dos vegetais, pois interfere diretamente no florescimento e no processo fotossintético, e indiretamente na temperatura, evapotranspiração, e umidade disponível à planta.

A bananeira, por ser uma planta tropical, requer alta luminosidade, porém o fotoperíodo parece não influir no seu crescimento e frutificação.

O efeito da luminosidade no ciclo vegetativo é bastante evidente, podendo-se ampliá-lo de 8,5 meses, em cultivos bem expostos à luz, para 14 meses, em cultivos que crescem sobre penumbra. A luminosidade interfere também no período de desenvolvimento do fruto. Em regiões de alta luminosidade o cacho de algumas variedades de bananeira alcança o grau de corte comercial de 80 a 90 dias após sua emissão, ao passo que em regiões com baixa luminosidade, em algumas épocas do ano este período varia de 85 a 112 dias (Soto Ballester, 1992).

A luminosidade influi diretamente na atividade fotossintética da planta, onde a área foliar, o ângulo e a forma da folha influem bastante na captação e aproveitamento da luz, a superposição de folhas interfere na captação de luz principalmente onde a luminosidade é baixa. Também interferem no processo fotossintético a concentração de clorofila e de outros pigmentos fotossintéticos ativos.

A atividade fotossintética aumenta rapidamente quando a radiação solar está entre 2000 e 10000 lux (horas de luz por ano) e é mais lenta quando se encontra entre 10000 e

30000 lux, em medições feitas na superfície superior da folha, onde os estômatos são mais abundantes. Valores baixos, inferiores a 1000 lux, são insuficientes para que a planta tenha um bom desenvolvimento, e quando demasiadamente alto podem provocar a queima das folhas, principalmente quando se encontram na fase de cartucho ou de folha recém-aberta. Da mesma forma, a inflorescência pode ser prejudicada pelos mesmos fatores.

Os plantios comerciais de banana com livre exposição solar e altas densidades alteram as condições naturais da espécie, aumentando os riscos fitossanitários, o que acarreta medidas de controle necessárias para a sobrevivência das plantações (Belalcázar Carvajal, 1991).

#### 4.1.5. Vento

O vento é um fator climático importante, podendo causar desde pequenos danos até destruição do bananal. Os prejuízos são proporcionais a sua intensidade:

- “chilling”- no caso de ventos frios.
- desidratação da planta devido a grande evaporação.
- fendilhamento das nervuras secundárias.
- diminuição da área foliar, devido a dilaceração da folha fendilhada.
- rompimento de raízes.
- quebra de plantas.
- tombamento.

Os ventos secos provocam transpiração excessiva e rápido déficit hídrico dos limbos foliares, enquanto os ventos frios prejudicam sensivelmente as bananeiras e seus cachos.

O fendilhamento da folha pelo vento, normalmente não é sério, quando as velocidades são inferiores à 20 a 30km/h.

Os danos causados pelo vento na cultura da bananeira está entre 20 e 30 %, variando com o tipo de vento e sua velocidade. Quando os ventos atingem velocidade superior a 55 km/h a destruição pode ser total. As variedades de porte baixo são mais resistentes ao vento quando comparadas às de porte médio e alto, neste caso para que ocorra perda total é necessário que haja ventos com velocidades superiores a 70 km/h.

De forma geral, no Brasil, os ventos não atingem velocidade tão alta, nem provocam danos tão relevantes, como ocorre nas principais regiões produtoras de banana para exportação (Colômbia, América Central, Caribe, Filipinas), onde os furacões atingem mais de 100 km/h. Porém, um dos grandes problemas no Brasil, está relacionado com o transporte, que são feitos, na maioria das vezes, em caminhões abertos, expondo os frutos ao vento, o que provoca o “chilling”.

#### 4.1.6. Altitude

O efeito da altitude está relacionado com vários fatores climáticos (temperatura, chuva, umidade relativa, luminosidade, dentre outros), os quais influem no desenvolvimento e na produção da bananeira.

Com as variações em altitude, a duração do ciclo biológico da bananeira altera-se de forma substancial (Soto Ballester, 1992).

Trabalhos conduzidos comparando bananeiras conduzidas sob condições similares de cultivos, solo, chuva, umidade, evidenciaram um aumento de 30-45 dias no ciclo de produção para cada 100m de acréscimo na altitude.

As variações em altitudes modificam substancialmente os hábitos de crescimento da bananeira, tornando-se muitas vezes bastante difícil determinar com exatidão as características taxonômicas de um determinado clone.

#### 4.1.7. Densidade de Plantio

A densidade de plantio é um fator que afeta a produção, e está relacionado à luminosidade, vento e umidade relativa.

Podemos dizer que uma maior densidade de plantio influi positivamente na diminuição da velocidade do vento no interior da plantação e na manutenção da umidade relativa, porém diminui a luminosidade neste local, além de requerer maior adubação, devido à grande competição que se estabelece entre as plantas.

### **4.2 Fatores Químicos**

Podemos citar neste trabalho como principal fator químico do ambiente, as exigências nutricionais da bananeira, mostrando os principais nutrientes e suas respectivas funções na planta.

A bananeira é muito exigente nutricionalmente, principalmente devido as grandes quantidades de elementos exportados para os frutos, mas também devido ao fato das regiões produtoras apresentarem solos muito pobres. A bananeira chega a superar, em extração de nutrientes do solo, culturas como cacau, feijão e mandioca.(tabela 1)

Tab.1- Extração de N, P e K por algumas culturas.

Cultura	Produção (t/ha)	N	P	K
Banana (cachos)	30	142	18	<b>365</b>
Amendoim (frutos)	3	201	16	140
Batatinha (tubérculos)	40	80	5	120
Cacau (frutos)	1	20	6	30
Café (frutos)	2	33	3	52
Cana-de-açúcar (colmos)	100	132	8	110
Feijão (vagens)	1	37	4	22
Mandioca (raízes)	19	39	4	32
Milho (grãos)	6,4	122	24	30
Tomate (frutos)	41	72	18	130

Fonte: Malavolta (1980).

Como é observado na tabela 1, o principal macronutriente no cultivo da bananeira é o potássio, que se encontra predominantemente na forma iônica, não tendo função estrutural na planta. Atua como ativador enzimático, e participa de processos como abertura e fechamento de estômatos, fotossíntese, transporte de carboidratos e respiração (Malavolta *et al*, 1989). É importante além do transporte de fotossintatos, no balanço de água, na produção de cachos e pencas, e na qualidade e restêcia dos frutos, acelerando seu desenvolvimento e maturação.

Relata-se também o controle de doenças com o incremento da adubação potássica.

Podemos também destacar o magnésio como nutriente de grande importância nutricional, pois além de ser integrante da molécula de clorofila e ativador enzimático, participa de processos de absorção iônica, principalmente potássio em solos menos ricos, e participa da fotossíntese e respiração. Mas no cultivo da bananeira, o principal, é manter a alta disponibilidade de magnésio, a fim de se evitar o aparecimento do azul-da-bananeira. Este distúrbio fisiológico manifesta-se quando a relação K/Mg no solo é maior que 0,6.

Na tabela 2, podemos observar as quantidades média de nutrientes contidas em bananeiras do subgrupo Cavendish (Nanica, Nanicão, Grande Naine, Williams Hybrid, Valery e Lacatan).

Tab. 2 - Quantidades médias de macro e micronutrientes contidas em bananeiras do grupo Cavendish.

Elementos	Quantidade em 50t de frutos (kg)	Quantidade no restante da planta (kg)	Total (kg)	Exportação pelos frutos (%)
N	189	199	388	49
P	29	23	52	56
K	778	660	1438	54
Ca	101	126	227	45
Mg	49	76	125	39
S	23	50	73	32
Cl	75	450	525	14
Na	1,6	9	10,6	15
Mn	0,5	12	12,5	4
Fe	0,9	5	5,9	15
Zn	0,5	4,2	4,7	12
B	0,7	0,57	1,27	55
Cu	0,2	0,17	0,37	54
Al	0,2	2	2,2	9
Mo	-	0,0013	-	-

Fonte: Lahav & Turner (1983)

Observamos na tabela 2 a grande exportação, de principalmente, macronutriente para o fruto, o que torna necessária a adubação complementar no momento da frutificação.

### **3.3. Fatores Biológicos**

A bananeira é uma planta muito problemática em relação à doenças, fato este principalmente devido à suas exigências climáticas, que são muito favoráveis ao desenvolvimento de patógenos, principalmente fungos.

As principais doenças que atacam as plantas são: Sigatoka-Amarela, Sigatoka-Negra, Mal do Panamá, Murcha Bacteriana. Em frutos, as doenças ocorrem em pré e pós colheita, onde podemos citar: Lesão-de-jonhston, Mancha Diagonal, Pinta-de-deightoniel, Ponta-de-charuto, antracnose e viroses.

Outro importante fator na queda de produção é o ataque de pragas, onde destacamos a broca-da-rizoma, tripses-da-flor, tripses-da-ferrugem-do-fruto, traça-da-bananeira, pulgão-da-bananeira e lagartas desfolhadoras, além de nematóides.

Controle: o controle de patógenos e pragas é realizado normalmente com agentes químicos, porém em frutos, onde a utilização de agrotóxicos deve ser reduzida, uma prática muito comum é o ensacamento do cacho ainda no pé, no início de seu desenvolvimento, criando assim uma barreira física para as pragas e patógenos,

## **5. Referências Bibliográficas**

- Alves, E.J. **A Cultura da Banana: Aspectos técnicos, sócio-econômicos e agroindustriais.** 2.ed. EMBRAPA, Brasília - DF; 1999
- Alves, E.J. **A fruticultura no Nordeste: potencialidade e inovações tecnológicas.** Cruz das Almas, BA: Embrapa-CNPMPF, 1990. 52p. (Embrapa-CNPMPF. Documentos, 29/90).
- Alves, E.J. Situación del cultivo de plátano en Brasil. In: UPEP (Panama). **El plátano (Musa AAB y ABB) en America Latina.** Panama: Beverly, 1992. P.1-96.
- Belalcázar Carvajal, S. L. El cultivo del plátano en el trópico. Cali, Colômbia: Imprensa Feriva, 1991. 376p.
- Brunini, O. Exigências climáticas e aptidão agroclimática da bananicultura. In: Simpósio Brasileiro sobre bananicultura, 1., 1984, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal: FCAVJ, 1984. P.99-117.
- Chessman, E.E.; Dodds, K.S. **Genetical and cytological studies of Musa.** IV. Certain triploid clones. *Journal of Genetics*, London, v.43, p.337-357, 1942.
- ITAL (Campinas, SP). **Banana: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos.** 3.ed. Campinas: ITAL,1990. 302p. (ITAL. Frutas Tropicais, 3).
- Moreira, R. S. **Banana: Teoria e prática de cultivo.** Campinas, SP: Fundação Cargill, 1987.

Soto Ballester, M. **Bananos:** cultivo y comercialización. 2.ed. San José, Costa Rica:  
Litografía e Imprensa LIL, 1992. 674p.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**“ESTÁGIO SUPERVISIONADO EM MÁQUINAS  
AGRÍCOLAS”**

**Carmo Augusto Lara Poloni**

## **1- ESTÁGIO SUPERVISIONADO EM MÁQUINAS AGRÍCOLAS**

**LOCAL:** Departamento de Engenharia Rural – ESALQ/USP

**PERÍODO:** 01/08/2000 a 08/12/2000

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Tomaz Caetano Rípoli

**TÍTULO:** Cortadora-amontoadora de cana-de-açúcar: Análise tecnológica da matéria-prima colhida.

### **RESUMO:**

Estudou-se um protótipo de cortadora-amontoadora de cana-de-açúcar para 2 linhas, (que visa substituir o corte manual ) operando em canavial de variedade RB845257, 2º corte, aos 11 meses de idade plantado no espaçamento de 1,5 m, na região de Piracicaba SP. A metodologia adotada foi proposta por Ripoli (1996), com 5 repetições. Os resultados indicaram: Porte do canavial: ereto, nº de colmos por metro linear: 12,45, produtividade agrícola = 83,44 t/ha, solo: franco arenoso ( 66,19% de areia; 13,61% de argila e 20,20% de silte). Brix% = 21,82 ( D.P.= 0,43; C.V.= 1.99 ); Pol% = 76,22 ( D.P. = 2,245; C.V. = 2,945 ), Açúcares redutores% = 0.88 ( D.P. = 0,10; C.V. = 11.50 ), quilos de terra/t de cana = 2,07 ( D.P. = 0,91 C.V. = 44,05 ). Tais valores encontram-se dentro dos limites encontrados em corte manual e carregamento mecânico e dentro dos padrões aceitáveis pela indústria.

### **PUBLICAÇÃO RESULTANTE:**

Poloni ,C.A.L. ; Cerri, D. ; Freitas, F.G. ;Ripoli, T.C. (orientador),IX SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, novembro 2000.

## **2- INICIAÇÃO CIENTÍFICA EM GENÉTICA DE LEVEDURAS**

**LOCAL:** Departamento de Genética, Laboratório de Genética de Leveduras, ESALQ/USP.

**PERÍODO:** 01/02/2000 ao presente momento.

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Flavio Cesar Almeida Tavares

**TÍTULO:** "ANÁLISE QUANTITATIVA E POR RAPD DA PRODUÇÃO DE ETANOL POR *Saccharomyces cerevisiae*"

### **1-) RESUMO:**

A levedura é organismo modelo da Genética e da Bioquímica. Adicionalmente, possui expressiva importância econômica, com produtos de alto valor para várias atividades. Alguns destes produtos são obtidos de monogenes transgênicos humanos de grande valor

terapêutico e enzimas. Seus produtos tradicionais como o fermento de panificação, vinho, cerveja e etanol combustível, derivados da biomassa (extrato de leveduras, edulcorantes, etc.), dependem da expressão de muitos genes. Estas propriedades ou caracteres, quando mensurados apresentam um padrão de variação contínua, como acontece com muitos caracteres de interesse econômico de plantas e animais. É bem conhecido que este padrão de variação, ou são determinadas por muitos genes, cujos efeitos individuais não podem ser discriminados, e/ou estão sob forte influência ambiental, dificultando a seleção de linhagens superiores. (CATEN & JINKS, 1.976 ; FALCONER, 1.976).

As características biológicas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* são favoráveis ao seu cultivo em pequena e grande escala. O ciclo celular e o ciclo sexual desta espécie são, atualmente, os mais bem estudados, oferecendo inclusive a base para estudos com outros organismos. O ciclo sexual oferece a oportunidade para que se façam cruzamentos planejados e que se analisem os produtos meióticos individualmente. Esta propriedade historicamente fez deste organismo um dos mais importantes para estudos genéticos. Contudo, em geral são estudos em grande parte restritos a caracteres governados por um ou poucos genes. Pouco se conhece a respeito da análise genética de caracteres quantitativos nesta espécie, muito embora existam relatos de estudos neste sentido ().

Historicamente, os estudos de caracteres quantitativos vem sendo feitos com plantas e animais. Os estudos ganharam grande impulso com o uso de marcadores moleculares que simulam situações semelhantes a genes individuais e que permitem reconhecer blocos de genes de interesse para fins aplicados. Tais marcadores podem atualmente identificar os QTL (quantitative trait loci), loci que identificados precocemente nas linhagens e híbridos, proporcionam condições para a seleção e orientação de cruzamentos. Contudo, como se tratam de organismos superiores, não se sabe exatamente qual a atividade metabólica em particular, destes genes.

Ocorre que a espécie *Saccharomyces cerevisiae* como primeiro organismo a ter seu genoma sequenciado (Goffeau et al, 1996), é aquele onde a maior parte dos genes tem sua função conhecida, inclusive cada vez mais proporcionando condições para o entendimento de como interagem alguns genes na expressão de vários caracteres (). Este estudo proporcionaram condições para os estudos recentes de Genômica comparada, estimando-se que muitas descobertas importantes serão feitas em breve, inclusive para o melhor entendimento do genoma humano. Contudo, como mencionado, poucos relatos existem quanto ao estudo de caracteres quantitativos em leveduras e estudos com marcadores moleculares amplamente efetuados nesta espécie, ainda não associaram os marcadores a estudos de caracteres quantitativos como se acontece em plantas e animais. Estende-se que este tipo de estudo na levedura *Saccharomyces cerevisiae* poderia ser de grande valia para auxiliar os trabalhos com organismos superiores.

Como parte de pesquisa que vem sendo conduzida no Laboratório de Genética de Leveduras, neste trabalho pretende-se avaliar algumas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* serão quanto à capacidade fermentativa e polimorfismo de DNA pela técnica de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Estes ensaios têm o intuito de identificar possíveis genes marcadores relacionados à alta eficiência fermentativa, um caráter quantitativo. Espera-se estabelecer uma possível relação de bandas amplificadas pela técnica de RAPD em comparação ao comportamento fermentativo das linhagens e serem encontrados possíveis marcadores relacionados a fermentação. Os métodos analíticos a serem utilizados com o controle da meiose, oferecerão importante subsídio ao melhoramento de plantas e animais.

## **2-MATERIAIS:**

### **2.1- Meios de cultura:**

#### **2.1.1. Meio completo (YEPS):**

- extrato de levedura 5%
- peptona.....5%

- sacarose.....20%
- ágar.....20%
- água destilada.....completar para 1000 mL

O meio completo descrito acima é utilizado para a manutenção das culturas, realização dos cruzamentos e isolamentos de híbridos ou segregantes micromanipulados.

#### 2.1.2. Meio de esporulação (Rafinose enriquecido):

- rafinose.....0,22%
- acetato de potássio.....30,0 %
- ágar.....20.0 %
- água destilada.....completar para 1000 mL

Meio indutor der esporulação das linhagens diplóides (2n) para a obtenção de segregantes (n).

## 2.2- Soluções:

### 2.2.1- Solução com enzima lítica dos ascósporos:

#### 2.2.2.-Tampão da enzima:

- sorbitol.....18,22g
  - TRIS pH 7,5.....0,12g
  - NaPO<sub>4</sub>.....0,36g
  - EDTA.....0,37g
  - água destilada.....completar para 100 mL
- Esterilizar por filtração (filtro milipore)

### 2.2.3.- Solução de enzima de rompimento dos ascósporos:

- 500 µL do tampão da enzima (item 2.2.2.)
- 7,0 µL de mercaptoetanol
- 7,0 µL de enzima liticase

A solução com enzima lítica tem a função de facilitar o rompimento dos ascósporos e a seguinte liberação dos ascos para o processo de micromanipulação.

## 3-MÉTODOS:

**3.1- Obtenção dos híbridos:** As linhagens a serem cruzadas, portadoras de reações sexuais diferentes ( $\underline{a}$  ou  $\underline{\alpha}$ ), foram estriadas em placas de Petri contendo o meio YEPS e incubadas a 30° em estufa B.O.D. por 24 Hs. Posteriormente, uma pequena quantidade de células de cada linhagem foi misturada e espalhada sobre nova placa de Petri com o meio YEPS, de tal forma que se formasse uma pequena película. A placa foi então incubada em estufa B.O.D. a 30° por 4 Hs, podendo serem os zigotos micromanipulados, ou observados sob microscópio, após decorrido este tempo.

**3.2- Micromanipulação dos híbridos:** Uma estria, com número reduzido de células da placa de cruzamento, foi feita sobre uma nova placa de Petri contendo o meio YEPS. Esta placa foi colocada invertida sobre um microscópio óptico (Olympus), ao qual encontrava-se adaptado um micromanipulador com agulha de fibra ótica. Zigotos identificados pela sua morfologia peculiar (após 4 Hs da mistura de células de reações sexuais  $\underline{a}$  e  $\underline{\alpha}$ ) foram micromanipulados, e isolados à distâncias regulares, na própria placa de Petri e nesta permaneceram por 24 Hs.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**“Micorrizas”**

Aline Vitti

10/02

## INTRODUÇÃO

A micorriza é uma associação mutualística, na qual as raízes das plantas vasculares são invadidas por fungos específicos, ocorrendo uma perfeita integração morfológica e funcional entre os simbioses. Trata-se de uma simbiose praticamente universal, não só pelo grande número de plantas suscetíveis à micorrização, como também por sua ocorrência generalizada na sua maioria dos *habitats* naturais.

Os fungos formadores de micorriza são habitantes comuns do solo e, colonizando as raízes, estabelecem uma série de inter-relações biotróficas: a planta fornece substrato energético ao fungo, e este, através da rede de hifas externas, capta nutrientes da solução do solo e os transfere à planta hospedeira. Tais associações são tão freqüentes, que plantas não micorrizadas constituem uma exceção na natureza, o que implica dizer que as plantas não possuem raízes, mas sim micorrizas. Portanto, esta simbiose desempenha um papel importante na evolução e sobrevivência das plantas e contribui, de forma efetiva, para a produção vegetal.

Com base nas características morfológicas e anatômicas, diferentes tipos de micorrizas podem ser agrupados em três grande grupos: ectomicorriza, endomicorriza e ectendomicorriza.

Nas ectomicorrizas, a raiz do hospedeiro é recoberta externamente por um manto espesso de hifas, e a penetração do micélio interno no córtex da raiz é sempre intercelular, formando a chamada rede de Harting.

As endomicorrizas caracterizam-se pela ausência do manto de hifas das raízes, mas com penetração inter e intracelular do micélio interno nas células do córtex. São representadas por três tipos distintos:

- a) **Ericóide** – As células corticais e epidérmicas das raízes muito finas são invadidas quase que totalmente pela hifa fúngica formando pelotões. Até o momento, o único endófito reconhecido como formado de micorriza ericóide é o ascomiceto *Pezizella ericae*, apesar de haver evidências de que outros fungos também o façam.
- b) **Orquidóide** – considerada como uma das mais complexas interações simbióticas, onde o balanço dinâmico entre os simbiosites permite que o fungo invada progressivamente o tecido da planta, enquanto esta faz dos metabólitos fúngicos, de forma parcial ou total. Uma quebra nesse balanço acarreta a eliminação da micorriza ou a mudança da relação parasitismo. A plântula de orquídea é totalmente dependente do fungo micorrízico, que, invadindo o córtex da raiz, intracelular, fornece carboidratos e minerais à planta. Os fungos são principalmente do gênero *Rhizoctonia* e basidiomicetos, tais como *Armillaria*, *Marasmius* e *Fomes*.
- c) **Vesículo-arbuscular (VA)** – de ocorrência praticamente universal nas mais variadas ordens e famílias de plantas superiores e inferiores, de forma generalizada no ambiente terrestre. Nesta, a penetração do fungo ocorre intra e intercelular no córtex da raiz, havendo formação de estruturas típicas: vesículas e arbúsculos.

A ectomicorriza é uma forma de transição entre a ecto e a endomicorriza. As raízes da planta hospedeira são recobertas externamente pelo manto de hifas, que pode ser reduzido ou mesmo ausente, a rede de Harting é bem desenvolvida e a penetração do micélio é intra e intercelular. A micorriza

*Monotropóide* possui um manto fúngico bem desenvolvido e ocorre em membros aclorofilados da sub-família Monotropoideae da família Ericaceae, envolvendo basidiomicetos do gênero *Boletus*. Já a micorriza *Arbutóide* possui manto, hifa externa e uma rede de Harting bem desenvolvida, sendo que a penetração intracelular forma intensa infecção na forma de pelotões. Ocorre em espécies da família Pyrolaceae e Ericaceae, tendo como microssimbionte, fungos que, em geral, formam ectomicorrizas como *Amanita*, *Cortinarius* e *Boletus*.

Na natureza, ainda se observa que certas plantas nunca, ou raramente, formam associações micorrízicas, podendo ocorrer o crescimento de hifas do fungo micorrízico na superfície da planta, mas não a sua penetração. Por outro lado, também há plantas que podem apresentar mais de uma forma de micorriza, como o *Eucalyptus* spp, *Populus* spp, carvalho e outras árvores que formam, ao mesmo tempo, ecto e endomicorriza.

### **ENDOMICORRIZA VESÍCULO-ARBUSCULAR**

A micorriza vesículo-arbuscular (MVA) é a mais comum entre as micorrizas, ocorrendo, principalmente, nas culturas de importância econômica. No emprego de tais associações, têm despertado grande interesse as contatações de que a simbiose: aumenta a proporção de nutrientes, em especial o fósforo; é mais eficiente em solos de baixa fertilidade, a exemplo dos solos tropicais; aumenta a eficiência da adubação fosfática, permitindo o uso de fosfatos de baixa solubilidade; e atua como agente de controle biológico de doenças e pragas. Apesar disso, a possibilidade de sua utilização mais imediata se restringe à recuperação de áreas degradadas ou inoculação comercial de culturas que passam por uma fase em viveiro. Isso ocorre pelo fato de que a

produção de inoculantes dos fungos micorrízicos vesículo-arbusculares é ainda deficiente, pois estes são cultiváveis em meio artificial.

A adequação das práticas agrícolas, buscando um manejo da associação que lhe propicie expressar todo seu potencial, é objetivo final da pesquisa sobre a MVA, o que, sem dúvida, reverterá em benefícios significativos para a agricultura.

## **MORFOLOGIA E FORMAÇÃO DA MVA**

MVA resulta da colonização de raízes finas das plantas por fungos do solo pertencentes à família Endogonaceae. A penetração do fungo se restringe ao córtex da raiz não atingindo a endoderme. As raízes micorrizadas não são distinguidas das não micorrizadas pela simples observação macroscópica, porque não ocorre alteração morfológica da raiz, embora em algumas plantas (por exemplo, cebola e milho), a raiz possa apresentar uma cor amarelada nas regiões fortemente infectadas. É formada, basicamente, por três componentes: as raízes hospedeiras, as hifas do fungo no interior das raízes e as hifas externas que se desenvolvem para além da rizosfera.

## **FISILOGIA**

As micorrizas podem ser vistas como sistemas compartimentalizados formados pelos fungos, planta e o solo. O tipo e intensidade de micorrizas nas raízes bem como seu funcionamento, é determinado pelos genomas do fungo e da planta, modelados pelo meio ambiente, que é representado pelo solo e clima.

Os três componentes básicos das micorrizas interagem de maneira íntima e recíproca conforme a própria definição.

A penetração e o espalhamento do fungo nas raízes resulta em modificações na fisiologia, bioquímica e nutrição da planta hospedeira, exercendo enorme efeito sobre seu comportamento. Nas MVA, observam-se as seguintes modificações: aumentos do núcleo, da massa citoplasmática, do número de várias organelas, do grau de vacuolação das células corticais, da quantidade e da diferenciação nos tecidos vasculares, aumentos na taxa fotossintética, na síntese de proteínas, clorofila, substâncias de crescimento e metabólicos secundários, na atividade de várias enzimas e favorecimento na absorção, translocação e utilização de nutrientes minerais e água. Nas ectomicorrizas, além das modificações fisiológicas na planta, ocorrem modificações na morfologia e taxa de crescimento das raízes, e são verificadas efeitos indiretos sobre o solo e a microbiota associada. Essas modificações são de grande importância para o entendimento das respostas das plantas à micorrização e para o controle do desenvolvimento do fungo nas raízes.

## **FATORES QUE INFLUENCIAM AS MICORRIZAS**

### ***1-) Fatores do solo***

#### **1.1-) Disponibilidade de nutrientes**

A micorrização é geralmente inibida em condições de elevada fertilidade. Dentre os macronutrientes, o N e o P são os que exercem efeitos mais

acentuados, sendo esses mais documentados na MVA do que nas ectomicorrizas.

### **1.2-)pH do solo**

O pH do solo influencia, qualitativamente e quantitativamente as micorrizas. Em geral, a calagem dos solos minerais ácidos elimina os fatores fungistáticos e favorece o estabelecimento das MVA.

### **1.3-)Características físicas do solo**

O nível de umidade do solo, a aeração, a inundação e a compactação influenciam as micorrizas. Os solos com elevado teor de umidade ou sujeitos à inundação, portanto com aeração deficiente, são geralmente desprovidos de micorrizas, porque os fungos micorrízicos são aeróbicos obrigatórios.

### **1.4-)Biota do solo**

Certos componentes da microbiota do solo, como fungos, bactérias e actinomicetos, podem atuar como parasitas, antagonistas e comensalistas, em relação aos fungos micorrízicos.

### **1.5-) Manejo do solo**

A intensidade de cultivo, práticas de adubação e calagem, monocultura, rotação de culturas, controle da erosão do solo e uso de pesticidas, são fatores de grande importância para ecologia das micorrizas. As arações pouco

profundas e as adubações mais leves favorecem o estabelecimento das micorrizas.

### ***2-) Fatores da Planta***

Os fatores relacionados à planta, como espécies, variedades e cultivares, estado nutricional, idade, presença de compostos fungistáticos ou alelopáticos, desfolha, pastejo, poda e aplicação de fitohormônios, exercem grande influência sobre a micorrização.

### ***3-) Fatores Climáticos***

As variáveis climáticas como a intensidade luminosa, a temperatura e a quantidade de distribuição das chuvas, representam outro grupo de fatores que atuam sobre as micorrizas.

## **CONCLUSÃO**

A micorriza, na maioria dos casos, estimula o crescimento vegetal, como uma consequência de seu efeito sobre nutrição mineral da plantas, principalmente no aumento da absorção de fósforo. A simbiose não só aumenta a biomassa vegetal, como também influencia a proporção na qual esta se distribui entre a parte aérea e a raiz. O estímulo da captação de nutrientes e posterior translocação destes à parte aérea causa, relativamente, menor transferência de fotossintatos à raiz e maior retenção deles na parte aérea, sendo utilizado na produção de matéria verde. Como consequência, a relação peso da

matéria seca da parte aérea/peso da matéria seca da raiz é, em geral, mais elevada em plantas micorrizadas.

Em algumas condições, entretanto, observam-se efeitos negativos da micorriza. Nesse caso pode ocorrer depressão no crescimento da planta, pois o fungo passa a se comportar como parasita, provavelmente em consequência de: competição entre planta e fungo por fotossintatos nos estágios iniciais da infecção; - condições sub-ótimas para fotossíntese quanto à intensidade e qualidade luminosa, temperatura, etc; - concentrações supra-ótimas de fósforo nos tecidos vegetais; - grande disponibilidade de fósforo no substrato.

## **BIBLIOGRAFIA**

CARDOSO, ELKE J.B.N.; Microbiologia do solo. Campinas (SP), 1992.

LYNCH, J.M.; Biotecnologia do Solo, Editora Manole, São Paulo (SP), 1986.

SIQUEIRA, J.Q.; Biotecnologia do Solo – Fundamentos e Perspectivas. Brasília (DF), 1988

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA

**“Purificação e caracterização de uma enduglucanase de  
*Streptomices sp*”**

Maria Carolina Quecine

10/02

**Nome**

Maria Carolina Quecine

**Orientador**

Prof ° Dr. João Lúcio de Azevedo

**Co-orientador**

André Oliveira de Souza Lima

**Departamento**

Departamento de Genética

**Período do Estágio**

De Setembro de 2000 até o momento

**Título**

Purificação e caracterização de uma endoglucanase de *Streptomyces sp* como parte do projeto do genoma funcional da *Xylela fastidiosa*

**Resumo**

Como parte do projeto do genoma funcional da *Xylela fastidiosa* ( importância da goma xantana na patogenicidade), o presente trabalho visa a purificação e caracterização de uma endoglucanase de *Streptomyces sp*. Este actinomiceto previamente isolado como endofítico de citros , demonstrou ser capaz de crescer e até formar halo de degradação quando cultivado em meio de cultura mínimo contendo

goma xantana como única fonte de carbono. Considerando que a endoglucanase é uma enzima envolvida na via de degradação da goma xantana, este projeto visa purificar esta enzima a partir do meio de cultura, bem como caracterizar sua especificidade hidrolítica sobre o polissacarídeo goma xantana.

A degradação de halo pela endoglucanase do actinomiceto foi demonstrada em placas de petri com goma xantana e com placas de petri com carboximetilcelulose (CMC) uma vez que o CMC seria a fonte de carbono para o ensaio de temperatura ótima da ação enzimática. Foram feitos ensaios com placas que possuíam glicose e com placas só com goma xantana ou CMC como fonte de carbono.

Outro ensaio foi o da temperatura ótima da endoglucanase na degradação da goma xantana quando a enzima é o sobrenadante do meio mínimo mais carboximetilcelulose. A atividade enzimática foi quantificada através da reação de Somolgi e Nelson quantificando o açúcar redutor, produto da ação catalítica da endoglucanase. As diversas temperaturas seriam para que se achasse a curva de temperatura ótima de ação da endoglucanase.

## **Introdução**

Como parte do projeto do genoma funcional da *Xylela fastidiosa* ( importância da goma xantana na patogenicidade), o presente trabalho visa a purificação e caracterização de uma endoglucanase de *Streptomyces* sp. Este actinomiceto previamente isolado como endofítico de citros, demonstrou ser capaz de crescer e até formar halo de degradação quando cultivado em meio de cultura mínimo contendo goma xantana como única fonte de carbono. Considerando que a endoglucanase é uma enzima envolvida na via de degradação da goma xantana, este projeto visa purificar exata enzima a partir do meio de cultura, bem como caracterizar sua especificidade hidrolítica sobre o polissacarídeo goma xantana.

Como primeiro passo da purificação logo após as demonstrações na qual endoglucanase mostrou formação de halo de degradação na goma xantana e no CMC, foi o ensaio no qual descobriu-se a temperatura ótima da atividade da endoglucanase através da quantificação do açúcar redutor pelo método de Somolgi e Nelson.

## **Objetivos**

O trabalho visa a purificação da endoglucanase uma enzima de *Streptomyces* sp uma vez que está degrada a goma xantana, fator de patogenicidade causada pela *Xylela fastidiosa*.

## Metodologia

Para ver se realmente a endoglucanase degradava a goma xantana foram feitas placas de petri com goma xantana e com placas de petri com carboximetilcelulose (CMC), feitas com 4g de meio mínimo mais 0,8g de xantana ou carboximetilcelulose diluído em 200ml de água destilada e 6g de hagar difícil também diluído em 200ml de água destilada. Foram feitos ensaios com placas que possuíam glicose e goma xantana ou CMC, e com placas só com goma xantana ou CMC como fonte de carbono, sem glicose.

Os halos de degradação foram medidos para o CMC e o CMC mais glicose com 192, 216, 240 e 264 horas de crescimento, e o índice de degradação foi feito pela razão tamanho do halo/colônia e o halo de degradação da Goma Xantana e Goma Xantan mais glicose foram medidos com 100 e 170 horas de crescimento, sendo o índice de degradação calculado da mesma forma do que o do CMC.

Já para o ensaio de temperatura ótima foi necessária cultivar primeiramente o actinomiceto em meio sólido LB que continha 4g de peptona, 2g de extrato de levedura, 4g de NaCl e 400ml de água sendo que para acertar o pH usou-se 40μl de NaOH 10N e posteriormente o LB com 7 dias de crescimento do actinomiceto foi misturado com o meio mínimo mais CMC preparado em frasco de erlenmeyer de 1000ml com 2,5g de CMC e 5g de M9 Salts Medium dissolvido em 500ml de água, e cultivado mais 7 dias para analisar a enzima sobrenadante endoglucanase.

Pegou-se então 4 eppendorf, em 3 adicionou-se 700μl de sobrenadante mais 700μl de CMC a 0,1% e em 1 eppendorf 700μl de sobrenadante mais 700μl água (prova em branco). Cada 4 eppendorf, os citados acima, foram colocadas para reagir nas temperaturas 15°C, 28°C, 37°C, 45°C, 52°C, 58°C, 65°C, 75°C e 85°C por 24 horas.

Após essa reação foi feita quantificação do açúcar redutor através do método de Somolgi e Nelson da seguinte maneira: pegou-se 500μ de amostra, já regida por 24 horas, 500μ de Somolgi e deixou-se no banho 100°C por 15 minutos, resfriou-se os tubos, adicionou-se 500μ de Nelson, agitou, e desta vez foi adicionado 3,5ml de água destilada, colocou para centrifugar por 1 minuto e foi feita a leitura a 520nm.

## Resultados

Houve realmente a degradação da goma xantana com e sem glicose. O mesmo ocorreu com o CMC tanto como única fonte de carbono quanto com glicose. Isso é provado no gráfico I (Degradação de CMC) e no gráfico II (Degradação da Goma Xantana)

Gráfico I

### Degradação de CMC

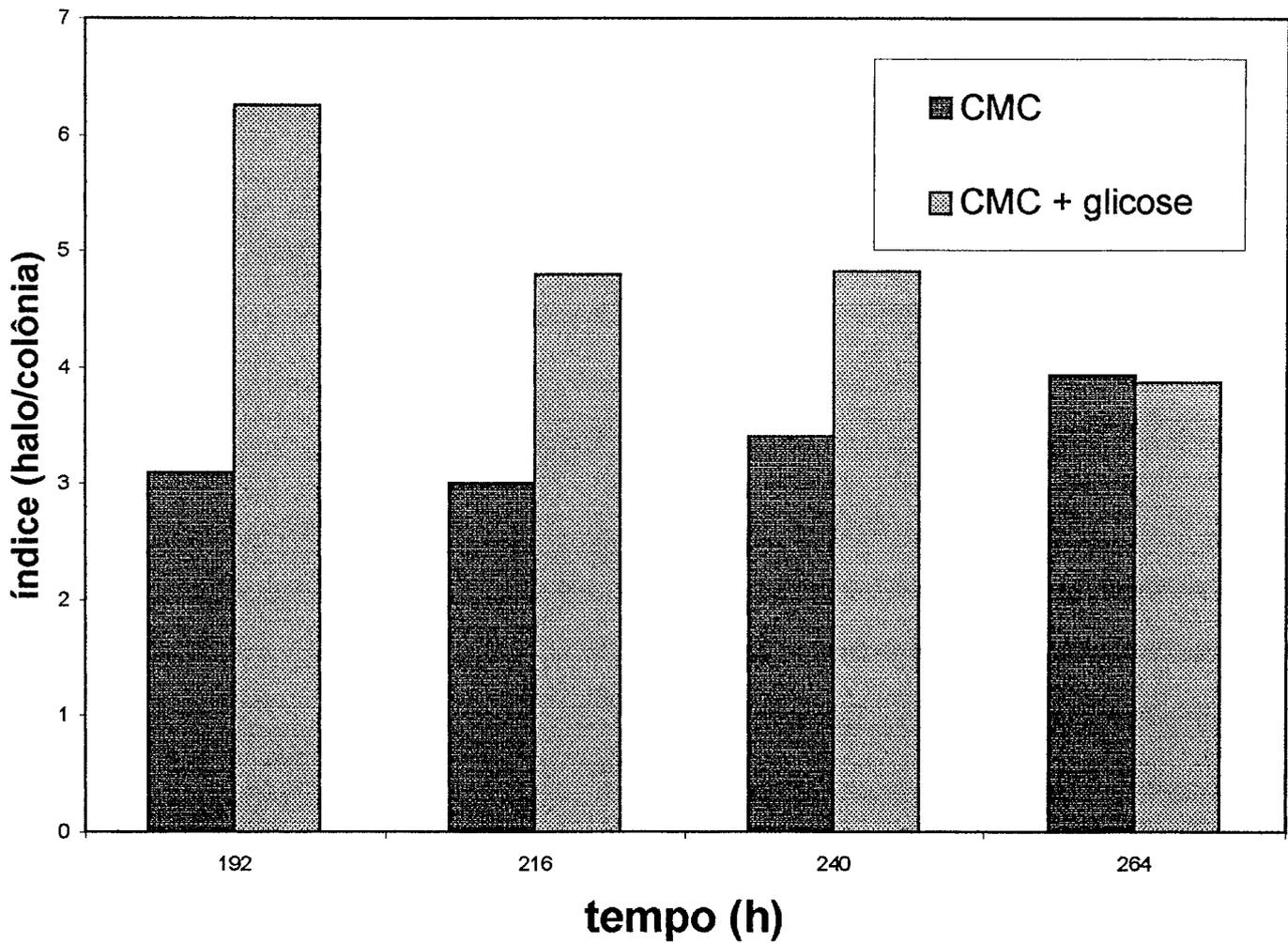
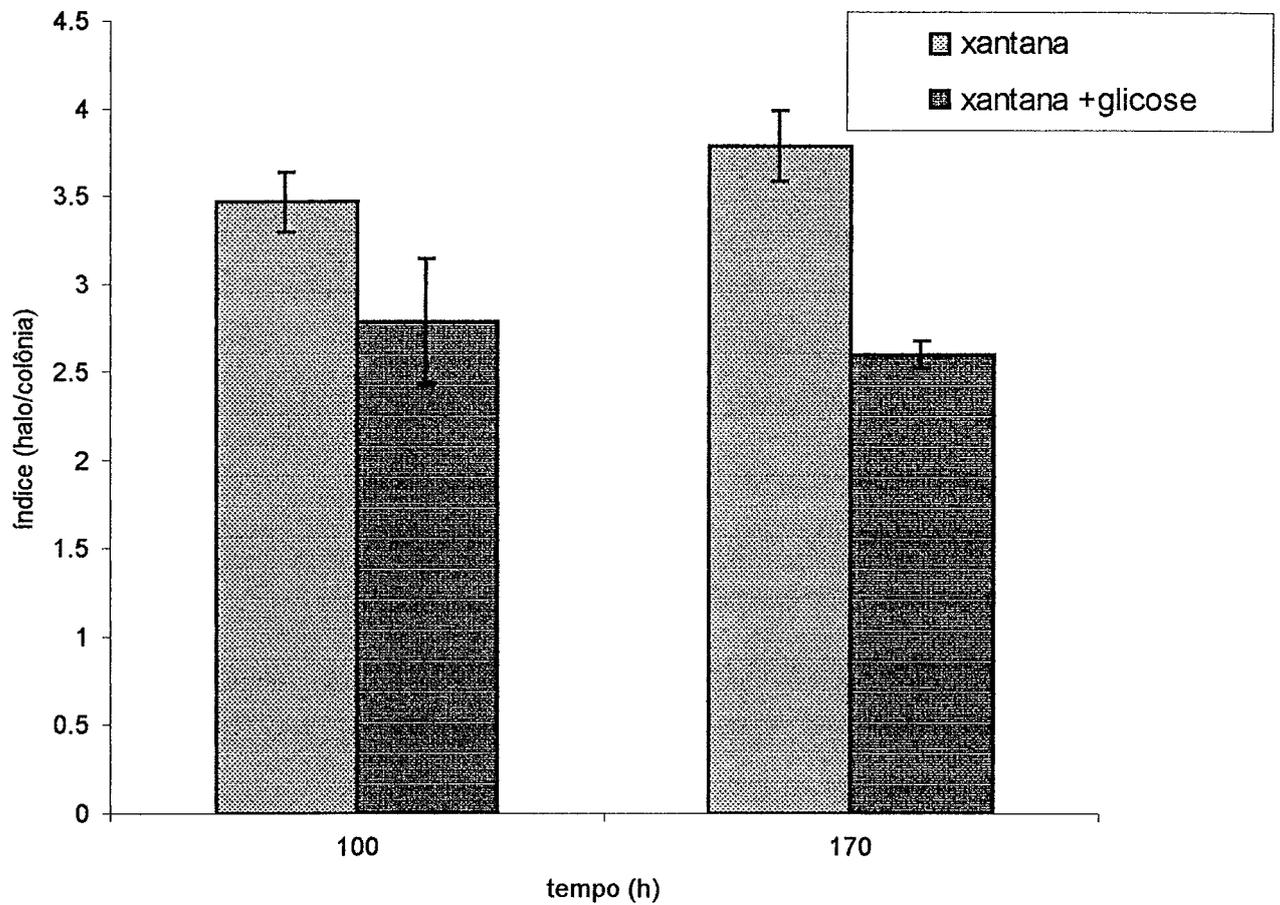


Gráfico II

## Degradação de Goma Xantana

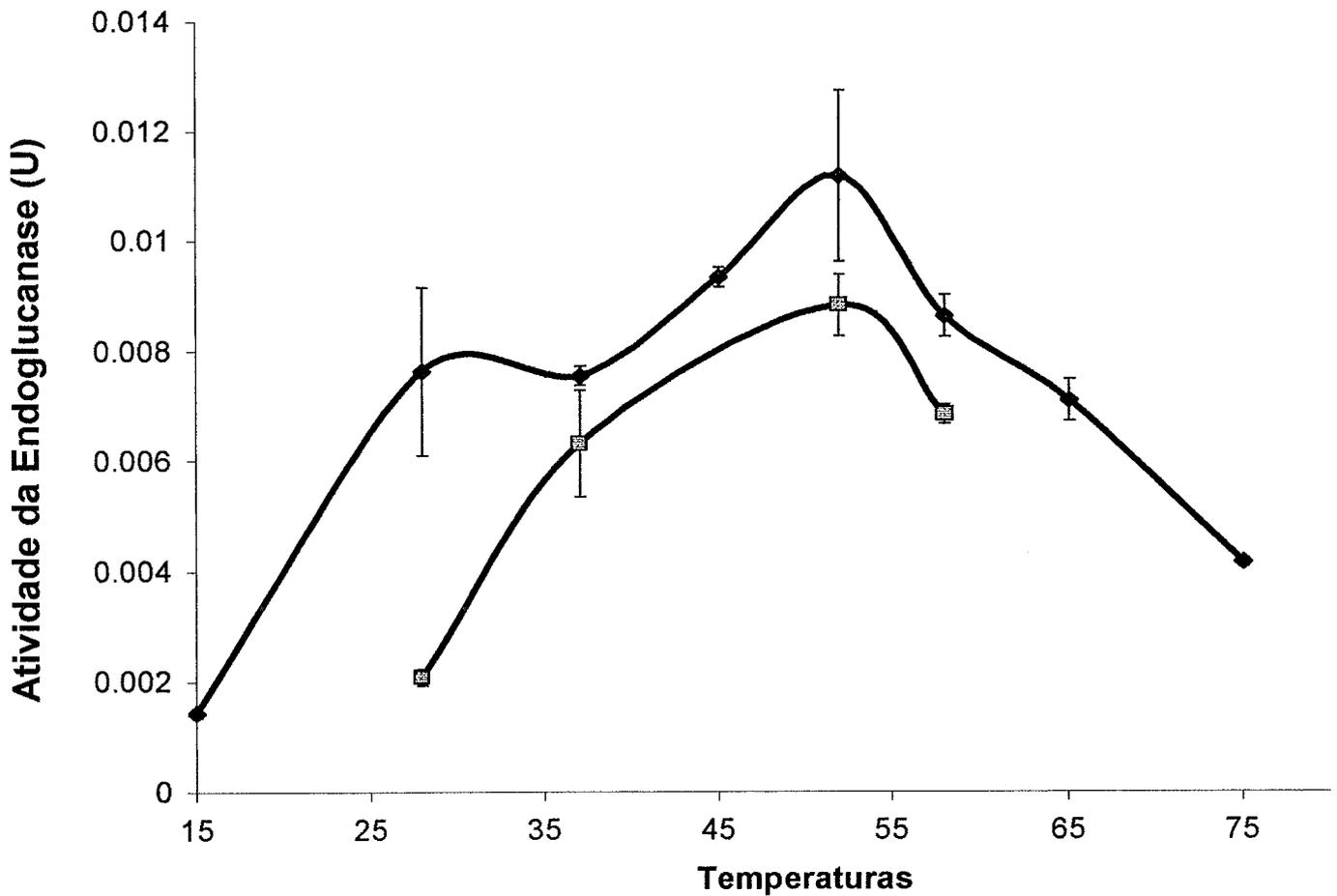


Já o gráfico III , através dos ensaio de quantificação de açúcar redutor , mostra a curva de temperatura ótima da enzima endoglucanase produzida pelo endofítico actonomiceto *Streptomyces sp*

Na temperatura 85°C houve dados discrepantes, por isso não esta incluída no gráfico.

**Gráfico III**

**Temperatura ótima de atividade**



**Conclusão**

Conclui-se que realmente a enzima endoglucanase é capaz de degradar a goma xantana, tanto na presença de outras fontes de carbono como o CMC, quanto sendo a goma xantana como única fonte de carbono.

Determinou-se também que a temperatura de atividade ótima da endoglucanase é de aproximadamente 55°C.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA

**“Plantio Direto E Rotação De Culturas”**

Raquel Arantes Ferracuti

## ***Plantio Direto e Rotação de Culturas***

### **Introdução**

O cultivo de diferentes espécies em seqüência temporal numa mesma área de terra é chamado de rotação de culturas. O exemplo mais clássico, típico para as regiões do Sul do Brasil, é o do plantio, no primeiro ano, de soja no verão e aveia preta no inverno; no segundo ano do milho no verão e aveia preta no inverno e no terceiro ano, de soja no verão e trigo no inverno.

### **Benefícios**

Os benefícios da adoção de esquemas de rotação de culturas são conhecidos há muito tempo, destacando-se a quebra do ciclo de pragas, doenças e plantas daninhas e a exploração diferenciada do solo, pois diferentes espécies possuem diferentes sistemas radiculares. A eventual reciclagem de nutrientes é outro benefício, já que diferentes culturas requerem adubações diferenciadas, sendo também diferentes os resíduos que permanecem após os cultivos, como nos casos clássicos de gramíneas se beneficiando do nitrogênio deixado por leguminosas. A física do solo também é afetada pela ação característica de cada espécie. O nabo forrageiro, por exemplo, provoca um afofamento do solo que pode favorecer a cultura que o seguir. A ação contra patógenos do solo, como a da mucuna preta contra nematóides, por exemplo, é outro caso de efeito benéfico da rotação de culturas.

### **Monocultura: fonte de problemas**

O oposto de rotação de culturas é a monocultura. Monoculturas de soja, que dominam hoje grande parte do País; de milho, a base da produção de silagem nas bacias leiteiras; do algodão (nos seus tradicionais nichos) e, por fim, mas não menos comum, a monocultura de pastagens, são exemplos onde a rotação de culturas não é adotada, por limitações técnicas em alguns casos, mas principalmente por limitações econômicas. E toda monocultura traz problemas, sejam eles agrônômicos ou econômicos, com os inevitáveis ciclos que já nos acostumamos a acompanhar no Brasil.

Enquanto predominavam os sistemas tradicionais de plantio, com o uso de arados e grades, a monocultura tinha seus efeitos negativos mascarados, pois o fato de revolver o solo e enterrar os restos de cultura, conseguia atenuar os eventuais problemas de aumento de infestação de insetos, pragas e doenças. Mas a partir do momento em que se tomou consciência dos efeitos negativos do uso contínuo e indiscriminado de implementos de preparo de solo, que levou à adoção em massa do Plantio Direto, a monocultura voltou a ser

um motivo de preocupação. Plantio direto sem rotação de culturas, sem formação de palhada, sem quebra do ciclo de pragas, doenças e mato, tem vida curta. Plantio direto de monocultura é pior do que plantio convencional, já nos foi mostrado por pesquisadores como L.Séguy, L. Bonamigo e R.Derpsch, entre outros.

### **Sucessão de culturas: solução paliativa**

Há regiões em que o plantio de milho, seja no verão, seja na safrinha, ainda é inviável economicamente, pois os altos custos dos fretes para trazer o produto para os centros de consumo corroem a lucratividade. Há outras regiões onde o cultivo do milho no verão é de alto risco, devido à ocorrência de veranicos e inviável até como safrinha, pois as chuvas param cedo demais. Para todas as regiões onde é limitada a adoção do milho como rotação de cultura para a soja, surgem hoje novas perspectivas: nos locais onde a chuva limita o cultivo do milho, a rotação soja/pasto na Integração Agricultura e Agropecuária desponta como uma excelente alternativa, vindo a equacionar não só o problema da rotação para a soja, mas também e principalmente a rotação das pastagens degradadas com a soja, renovando-as. Onde a limitação não é por chuva, mas por distância dos mercados consumidores, o plantio direto do arroz de sequeiro, como alternativa para quebrar a monocultura da soja, tem se mostrado muito valioso, pois configura uma rotação muito interessante agrônômica e financeiramente.

### **Monocultura do milho: guandu nela**

Para aquelas regiões onde se repete ano após ano o plantio de milho para silagem, está sendo avaliada a alternativa de introduzir uma leguminosa para quebrar a seqüência. A espécie seria o feijão guandu Super N, que além da fixação de nitrogênio, age como um escarificador do solo e pode permitir, se necessário, até pastejos no inverno, quando mais é sentida a falta de boas forrageiras. O importante é entender que se a rotação de culturas era importante há 50 anos, nos plantios convencionais, hoje ela é por um lado essencial, pois a perenidade e o equilíbrio do plantio direto dela dependem, mas por outro lado mais fácil de ser implantada, graças ao mesmo plantio direto, que elimina tempo e operações desnecessárias.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA

**“Sistema de Sangria de Safra na Cultura da Seringueira  
(*Hevea Brasilienses*)”**

Daniel Macedo Abbud

10/12

**I) Nome**

Daniel Macedo Abbud

**II) Orientador**

Prof. Dr. Marcos Silveira Bernardes

**III) Departamento**

Departamento de Produção Vegetal

**IV) Período do Estágio**

Dezembro de 1998 à Maio de 2001

**V) Título**

Sistema de Sangria de Safra na Cultura da Seringueira (*Hevea Brasilienses*)

**VI) Resumo**

Sabe-se que na fase produtiva a cultura da seringueira demanda uma grande quantidade de mão de obra especializada, chegando a somar cerca de 60% do custo total de produção. Para que um empreendimento heveícola resulte em um alto rendimento econômico é indispensável que haja uma redução no contingente de mão de obra. A aplicação de estimulante tem sido a alternativa adotado para a redução da frequência da sangria; experimentos tem demonstrado que sistemas de baixa frequência com o uso de ethephon (ETHREL) tem possibilitado boas produções com economia nos gastos de mão-de-obra. Além disso aumentam o período de sangria e a vida útil da planta. Um período de descanso anual não implica em perda de produção. Foi mostrado que dois meses de descanso durante o período de desfolhamento e enfolhamento, ou em outro período, tal como durante a época de chuvas intensas, quando a sangria é normalmente interrompida, tiveram um efeito positivo a longo prazo, na produção e no estado geral das plantas. O presente

experimento pretende identificar a melhor combinação entre as diferentes doses de estimulação (ET 3,3% 1ml, ET 5% 2ml, ET 7,5% 2ml e ET 10% 2ml) e os diferentes períodos de sangria (10 meses e 6 meses) nos clones RRIM 600 e GT1. A análise dos resultados demonstrou que a estimulação de ethephon a 7,5% gerou uma maior produtividade comparada aos outros tratamentos, tanto de mesmo período de sangria (6 meses) quanto ao período de sangria utilizado comercialmente (10 meses).

## **VII) Introdução**

A importância da seringueira para o homem determinou sua expansão geográfica e atualmente a heveicultura compreende latitudes de 22° N na China a 25° S no Brasil, onde a periodicidade e a amplitude dos fatores térmicos e hídricos alteram o comportamento fenológico dessa planta, e exigem, como premissa básica, o desenvolvimento e adaptação de novas tecnologias de produção (ORTOLANI, 1985). Sabe-se que na fase produtiva a cultura da seringueira demanda uma grande quantidade de mão de obra especializada, chegando a somar cerca de 60% do custo total de produção (BERNARDES, 1990). Segundo MAIA & MAIA(1986), para que um empreendimento heveícola resulte em um alto rendimento econômico é indispensável que haja uma redução no contingente de mão de obra.

A estimulação é um tratamento que consiste em aplicar nas árvores de seringueira, para um sistema de sangria definido, uma substância que promova um aumento na produção de látex (BERNARDES, 1990). Isso ocorre porque essa substância promove efeitos favoráveis nos fatores limitantes para a produtividade da seringueira: aumenta a duração do fluxo de látex após a sangria devido a redução no processo de desestabilização e coagulação do látex e também no cessamento do fluxo e modifica os mecanismos envolvidos na capacidade de regeneração do látex entre duas

sangrias consecutivas (CASTRO *et al*, 1990).

A combinação de um tipo de estimulação com um sistema de sangria (comprimento ou tipo do corte e frequência de sangria) é denominado de “sistema de exploração” (BERNARDES, 1990).

Segundo Hashim (1983), citado por VIRGENS FILHO & CASTRO(1986), a aplicação de estimulante tem sido a alternativa adotado para a redução da frequência da sangria; experimentos tem demonstrado que sistemas de baixa frequência com o uso de ethephon (ETHREL) tem possibilitado boas produções com economia nos gastos de mão-de-obra. Além disso aumentam o período de sangria e a vida útil da planta.

O período de desfolha em *Hevea* depende da época de seca e torna-se fator limitante à produção principalmente onde as estações são bem definidas. O efeito depressivo do desfolhamento e refolhamento na produção é amplamente conhecido e aceito. A retomada da produção ocorre apenas várias semanas após o rebrotamento. A explicação é que durante o refolhamento, seguido logo após pelo florescimento, as árvores usam prioritariamente suas reservas minerais e orgânicas para a reconstituição de suas folhas e para o crescimento dos frutos aos custos da produção de látex (d'AUZAC & JACOB & CHRESTIN, 1989).

Segundo BERNARDES (1990), um período de descanso anual não implica em perda de produção. TONNELIER e GENER (1979) mostraram que dois meses de descanso durante o período de desfolhamento e enfolhamento, ou em outro período, tal como durante a época de chuvas intensas, quando a sangria é normalmente interrompida, tiveram um efeito positivo a longo prazo, na produção e no estado geral das plantas. Sivakumaram e Pakianathan (1983a), citados por BERNARDES (1990), obtiveram melhores produções e melhor crescimento em perímetro de tronco,

no cultivar RRIM600, sangrado em painel BO-1, para sistemas de sangria com descanso anual associados com estimulação.

### **VIII) Objetivos**

Com o objetivo de dar continuidade aos trabalhos realizados pelo Departamento de Agricultura no que diz respeito a pesquisa sobre o cultivo da seringueira, o presente projeto se constitui em uma nova etapa da pesquisa de diferentes sistemas de sangria nos clones RRIM 600 e GT1. Em experimento de sistemas de estimulação para sangria realizado no ano agrícola de 98/99, no mesmo local serão avaliados dois períodos de sangria (10 meses e 6 meses) com mesma frequência (d/7), sendo que o período de 10 meses será o tratamento testemunha T com estimulação padrão utilizada no Campus da ESALQ (ET 3,3% 1ml) e a sangria de período de 6 meses será submetida a diferentes concentrações e doses de estimulantes: ET 5% 2ml, ET 7,5% 2ml, ET 10% 2ml, respectivamente, tratamentos B, C e D, e um único modo de aplicação do estimulante (sobre o canal da sangria, sem a retirada do cernambi combinada com a aplicação sobre o painel, ou casca em regeneração recém sangrada; denominado Pa/La).

O presente experimento pretende identificar a melhor combinação entre as diferentes doses de estimulação (ET 3,3% 1ml, ET 5% 2ml, ET 7,5% 2ml e ET 10% 2ml) e os diferentes períodos de sangria (10 meses e 6 meses).

### **IX) Material e Métodos**

#### *Localização da área:*

O seringal onde será instalado o experimento é formado por árvores de 13 anos de idade pertencentes aos cultivares RRIM 600 e GT1 e está localizado no Campo Experimental do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, município de Piracicaba.

### *Caracterização da área:*

O clima da região caracteriza-se por :

Temperatura média do ar: 21,1°C

Temperatura média máxima do ar: 27,8°C

Temperatura média mínima do ar: 14,3°C

Precipitação: 1.257 mm/ano

Umidade relativa do ar: 74%

Insolação média: 6,6 horas/dia

Radiação solar: 436 cal/cm.d

Solo: Terra Roxa Estruturada

### *Materiais utilizados:*

Balança analítica : para pesagem de látex e borracha para análises de sólidos totais e de produção, respectivamente.

Estufa com circulação de ar: secagem da borracha.

Paquímetro

Fita métrica

Plaquinhas de identificação

ETHREL

Pincéis

Copos plásticos

Vidraria de Laboratório: placas de Petri, proveta, etc.

### *Metodologia*

O experimento será conduzido no período compreendido entre dezembro de 1998 e agosto de 1999 em árvores dos cultivares RRIM 600 e

GT1.

Se iniciará a sangria no tratamento T imediatamente e pesagem da produção uma vez por mês.

Iniciar as sangrias nos tratamentos B, C e D no início de Fevereiro de 1999, e na primeira semana de sangria, sangrar a cada dois dias (d/2) e logo em seguida fazer a primeira estimulação. Pesagem da produção uma vez por mês.

As sangrias serão realizadas no período da manhã pelos sangradores da ESALQ, e a estimulação será feita através do pincelamento de ETHREL, na dosagem de 1 ml de solução por planta para o tratamento testemunho (T), e 2ml de solução por planta para os demais tratamentos (B, C, D), em casca sem raspar, na canaleta e na porção de casca equivalente ao consumo mensal.

O delineamento experimental utilizado foi um fatorial inteiramente casualizado, sendo que cada tratamento será representado por 10 árvores e cada árvore representará uma repetição.

*Parâmetros a serem analisados:*

1. Produção: o látex será coagulado mediante a adição de solução de ácido acético a 1% na tigela. O coágulo formado será colocado em arames, sendo que ao final de cada mês, os coágulos serão pesados. Para determinar o grau de umidade, será retirada uma amostra, a qual será seca até peso constante em estufa a 70°C. A produção será expressa de três maneiras: gramas de borracha seca/tratamento/sangria, quilogramas de borracha seca/tratamento/ano e quilogramas de borracha seca/árvore/ano. As fórmulas utilizadas para as conversões são:

Gramas de borracha seca/sangria(g.b.s.) = peso da b.s. no período/no. de

sangrias

Quilograma de b.s./árvore/ano = (g.b.s./sangria/árvore x no.sangrias ano) / 1000

Porcentagem de peso seco = (peso amostra seca/peso amostra úmida) x 100

2.Crescimento relativo do perímetro: o perímetro será avaliado a 1,30 m do solo no começo e final do experimento(set/ago). A fórmula utilizada será:

C.R.P = (Perímetro final – Perímetro inicial/ Perímetro inicial) x100

3.Crescimento relativo da espessura de casca: a espessura de casca será avaliada do lado contrário ao painel no começo e final do experimento. A fórmula utilizada será:

C.R.E.C.= (Espessura final – Espessura inicial/Espessura inicial) x 100

4.Percentagem de comprimento de corte seco: a percentagem de comprimento de corte seco (PCS) será determinada ao final de cada período de sangria, em todas as plantas de cada experimento. No momento da sangria serão observadas as partes do corte das quais não exudam látex. As extremidades destas partes serão imediatamente marcadas com giz, na casca abaixo do corte. Em seguida será medido o comprimento total do corte (CTC) e a soma dos comprimentos das partes secas (SPS). A percentagem era então calculada de acordo com a fórmula:

$$PCS = SPS/CTC . 100 (\%)$$

5.Relações entre produção e crescimento: segundo metodologia proposta por BERNARDES (1995), para avaliar os efeitos da produção de borracha e dos sistemas de exploração, sobre o crescimento das árvores, durante a fase de exploração precoce, serão avaliados alguns índices. Através destes será calculada a proporção de borracha produzida pela perda de crescimento (borracha/perda de crescimento). Esse procedimento permite uma

estimativa mais precisa da proporção da perda de crescimento que pode ser explicada pela produção de borracha.

A análise estatística dos dados será feita ao final do experimento.

O experimento apresenta os quatro seguintes tratamentos:

T - S/2 d/7 5d/7 10m/y ET3,3% Pa/La 1ml

B - S/2 d/7 5d/7 6m/y ET5% Pa/La 2ml

C - S/2 d/7 5d/7 6m/y ET7,5% Pa/La 2ml

D - S/2 d/7 5d/7 6m/y ET10% Pa/La 2ml

S/2 - Sangria em meia espiral

d/7 5d/7 - sangria 7 e , considerando a semana com 5 dias úteis.

ET 3,3%, ET 5,0%, ET7,5%, e ET10,0% - Concentração dos estimulantes

10m/y - 10 estimulações /ano

6m/y - 6 estimulações/ano

1ml e 2ml - volume da solução de estimulante a ser aplicado.

## **X) Resultados**

Os resultados dos clones RRIM 600 e GT1 estão representados na tabelas e gráficos em anexo.

## **XI) Conclusão**

Foi demonstrado que o sistema de sangria de safra na cultura de seringueira é viável tanto nos clones GT1 quanto RRIM 600, embora o clone RRIM 600 tenha apresentado uma maior produtividade no tratamento 3. O experimento também mostrou que diferentes clones responde diferentemente a estimulação, portanto se faz necessário o estudo individual de cada clone em sistema de sangria de safra.

## **XII) Bibliografia consultada**

BERNARDES, M.S. **Sangria de Seringueira.** Piracicaba, ESALQ/USP, 1990. 206p.

BERNARDES, M.S. **Sistemas de exploração precoce de seringueira cultivar RRIM 600 no Planalto Ocidental do Estado de São Paulo.** Piracicaba, 1995. 182p. Tese (Doutoramento) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

CASTRO, P. R. C.; BERNARDES, M.S.; VIRGENS FILHO, A .C., **Uso de estimulantes na exploração de seringais,** IN: Simpósio da Cultura da Seringueira, 2, Piracicaba, SP 1987. Anais Piracicaba:USP /ESALQ Depto de Agricultura, 1990. 384p. ilus.

MAIA, F. Z. & MAIA, M. A . Z.; **Comparação econômica de cinco sistemas de sangria em quatro clones de seringueira.** IN: Encontro Nacional sobre Exploração e Organização de seringais de Cultivo, 1.; Brasília, SUDHEVEA, 1986. p 59 –65.

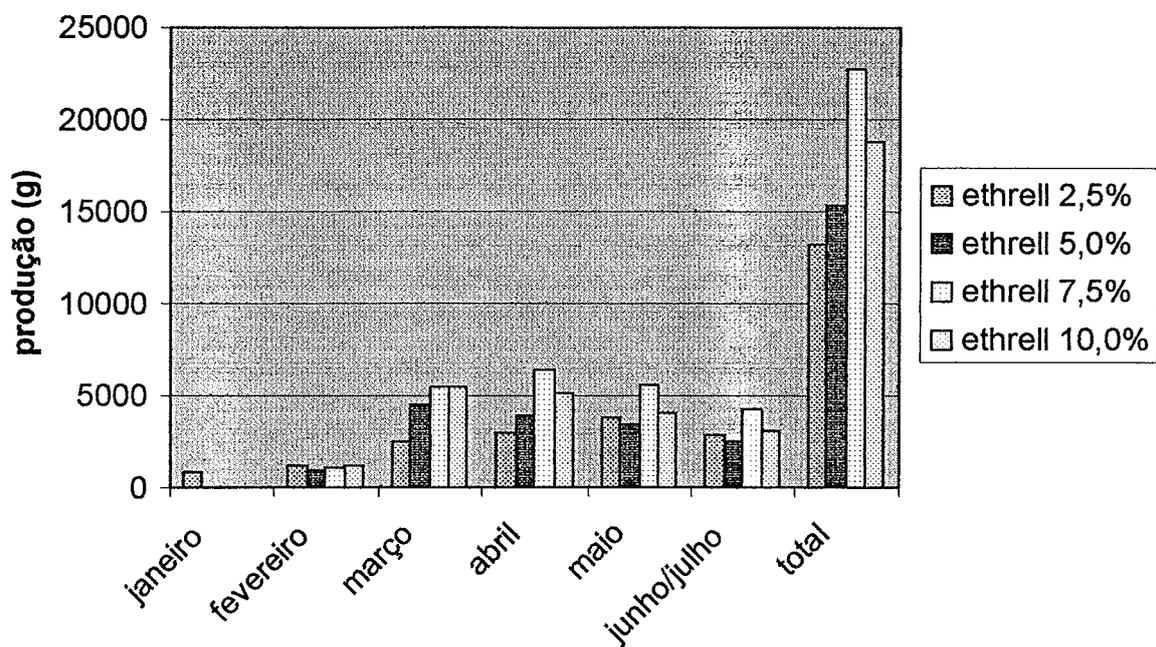
ORTOLANI, A A ; PEDRO JUNIOR, M.J.; ALFONSI, R.R.; CAMARGO, M.B.P. e BRUNINI, O. **Aptidão agroclimática para regionalização da heveicultura no Brasil.** IN: Seminário Nacional sobre Recomendação de Clones de seringueira, Brasília, DF 1982. ANAIS, Brasília, DF, EMBRAPA, 1983 p. 17 –28.

VIRGENS FILHO, A .C. & CASTRO, P.R.C.; **Sangria da seringueira( Hevea spp.).** IN: Simpósio sobre a cultura da Seringueira no

Estado de São Paulo, 1. Piracicaba, 1986. Anais. Campinas, Fundação Cargill, 1989 p. 271 –315.

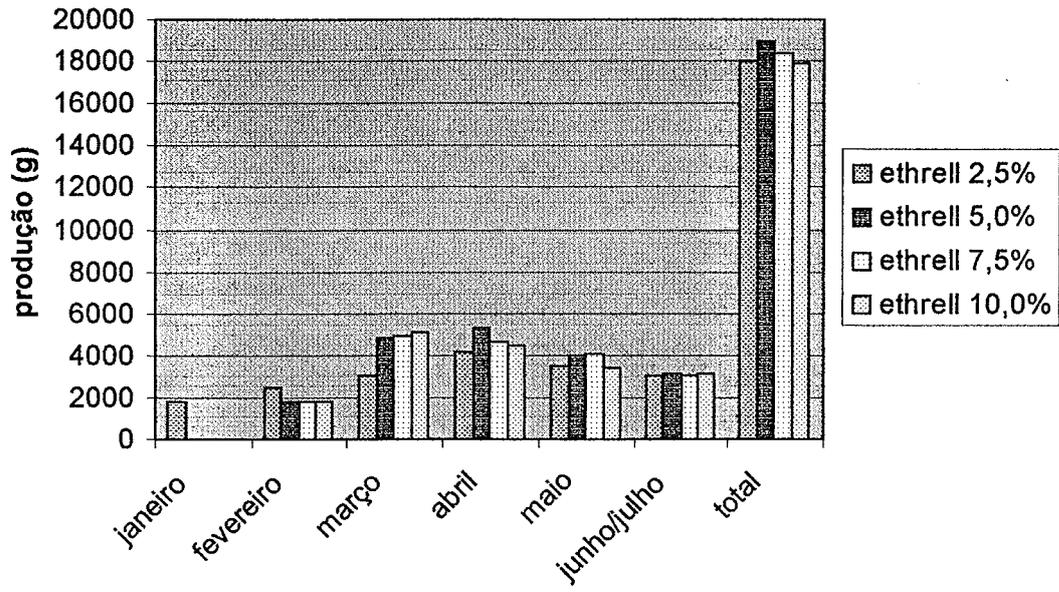
d'AUZAC, J & JACOB, J. & CHRESTIN, H.; **Physiology of Rubber Tree Latex**. Boca Raton, Florida, CRC Press, Inc; 1989.

### Produção de borracha seca do clone RRIM600



CLONE	peso	peso	peso	peso	peso	
RRIM600	seco (g)					
tratamento	03/03/99	07/04/99	14/05/99	09/06/99	05/08/99	TOTAL
GB1	69,480805	197,17569	176,463805	139,834471	105,67253	688,627301
GB2	144,085243	476,753425	606,35617	390,690622	296,887728	1914,77319
GB3	141,320108	351,354393	464,923582	442,129795	333,178837	1732,90672
GB4	250,298975	559,217399	699,992146	536,864809	420,099882	2466,47321
GB5	110,75	399,350001	397,277392	484,866514	290,20861	1682,45252
GB6	226,28025	574,142485	728,294252	527,359744	374,724432	2430,80116
GB7	238,831796	559,774768	385,551244	252,488425	273,002017	1709,64825
GB8	178,613291	590,836995	759,445622	503,98486	396,722968	2429,60374
GB9	250,217647	592,792207	526,576793	378,398968	326,712488	2074,6981
GB10	174,004732	491,457333	541,775752	308,580932	301,180125	1816,99887
<b>TOTAL</b>	<b>1783,88285</b>	<b>4792,8547</b>	<b>5286,65676</b>	<b>3965,19914</b>	<b>3118,38962</b>	<b>18946,9831</b>
GC1	310,225473	723,792298	1097,68123	1079,40249	555,561958	3766,66344
GC2	133,286681	458,0325	617,612649	628,727171	375,905352	2213,56435
GC3	128,598018	351,480486	203,163282	195,93789	193,455919	1072,63559
GC4	256,133396	575,740179	572,991588	407,572611	326,632559	2139,07033
GC5	174,282193	551,700745	377,679314	234,144415	290,316652	1628,12332
GC6	85,2348706	335,260284	261,746869	238,958837	158,32124	1079,5221
GC7	157,214712	486,862711	392,565944	439,384132	384,302146	1860,32964
GC8	156,729999	401,450001	259,929721	229,411748	229,506278	1277,02775
GC9	253,448833	586,083124	398,289181	259,306583	240,567704	1737,69543
GC10	115,119275	458,186489	470,897418	334,06638	254,38533	1632,65489
<b>TOTAL</b>	<b>1770,27345</b>	<b>4928,58882</b>	<b>4652,55719</b>	<b>4046,91225</b>	<b>3008,95514</b>	<b>18407,2869</b>
GD1	283,774549	681,565618	668,338391	492,815823	465,729215	2592,2236
GD2	151,243037	509,1916	345,057077	308,456214	227,852803	1541,80073
GD3	191,333889	553,608986	372,916047	259,160058	238,747614	1615,76659
GD4	190,300001	567,929999	578,556123	374,557878	347,580835	2058,92484
GD5	121,167975	314,985308	264,045376	196,701865	219,179079	1116,0796
GD6	101,044085	322,701888	239,867276	146,986709	125,280747	935,880705
GD7	171,911565	500,619524	315,178515	253,904352	243,218507	1484,83246
GD8	176,360976	510,012877	667,10872	502,95,3779	542844944	2399,2813
GD9	226,190682	592,910501	613,190498	523,338997	403,356904	2358,98758
GD10	179,194936	579,821403	428,430398	351,039276	301,837949	1840,32396
<b>TOTAL</b>	<b>1792,52169</b>	<b>5133,3477</b>	<b>4492,68842</b>	<b>3409,91495</b>	<b>3115,6286</b>	<b>17944,1014</b>
T1G	452,783441	334,780815	515,897332	326,282713	322,185576	1951,92988
T2G	310,07	262,599999	429,806471	486,105155	353,226899	1841,80852
T3G	334,199525	223,154226	398,169123	425,884443	324,248091	1705,65541
T4G	497,494032	371,98668	535,59857	462,306739	374,944523	2242,33054
T5G	293,34555	229,954911	325,69164	245,616803	251,080603	1345,68951
T6G	618,263052	486,33894	506,259699	353,597291	309,490277	2273,94926
T7G	597,756691	358,871073	584,416819	483,935426	463,566747	2488,54675
T8G	227,932499	148,904418	232,616601	286,781631	173,6374	1069,87255
T9G	487,987895	319,155432	309,300565	235,23126	219,671983	1571,34714
T10G	427,897534	315,899019	289,519457	223,525013	225,624082	1482,4651
<b>TOTAL</b>	<b>4247,73022</b>	<b>3051,64551</b>	<b>4127,27628</b>	<b>3529,26647</b>	<b>3017,67618</b>	<b>17973,5947</b>

### Produção de borracha seca do clone GT1



<b>CLONE</b>	peso	peso	peso	peso	peso	
<b>GT1</b>	seco (g)					
tratamento	03/03/99	07/04/99	14/05/99	09/06/99	05/08/99	<b>TOTAL</b>
RB1	155,310021	586,670001	517,565555	443,955198	300,300182	<b>2003,80096</b>
RB2	83,7191665	378,289525	349,003	291,867908	232,556016	<b>1335,43562</b>
RB3	118,678316	605,12294	418,354035	389,368859	271,489445	<b>1803,0136</b>
RB4	36,7779395	226,217461	276,118515	269,897047	165,125217	<b>974,13618</b>
RB5	41,4757181	381,60883	448,578376	436,158483	334,637567	<b>1642,45897</b>
RB6	121,136881	546,205281	661,911442	460,491703	342,870563	<b>2132,61587</b>
RB7	160,062638	508,324144	449,039261	425,551217	354,094785	<b>1897,07204</b>
RB8	117,471883	842,33346	270,248298	176,803341	168,277875	<b>1575,13486</b>
RB9	23,9824337	138,230221	66,7636117	55,5014028	59,8720165	<b>344,349686</b>
RB10	51,7852399	351,256013	451,198142	495,777672	293,406116	<b>1643,42318</b>
<b>TOTAL</b>	<b>910,400238</b>	<b>4564,25788</b>	<b>3908,78023</b>	<b>3445,37283</b>	<b>2522,62978</b>	<b>15351,441</b>
RC1	115,956672	615,922833	1040,50495	1276,37468	827,702096	<b>3876,46124</b>
RC2	89,0846632	459,124214	341,708409	181,904302	230,184111	<b>1302,0057</b>
RC3	166,508071	733,446682	874,657012	853,904975	659,050925	<b>3287,56766</b>
RC4	84,2233953	440,74448	358,88852	215,961021	179,314959	<b>1279,13238</b>
RC5	58,7403204	356,863871	473,646224	328,707525	248,187659	<b>1466,1456</b>
RC6	79,4199996	435,979999	539,708547	693,126814	433,699144	<b>2181,9345</b>
RC7	101,585066	538,832683	703,824038	474,307081	318,655124	<b>2137,20399</b>
RC8	115,204333	660,786211	1091,08564	844,399539	620,017618	<b>3331,49334</b>
RC9	117,123762	690,66079	611,622129	519,187961	404,551456	<b>2343,1461</b>
RC10	85,8148818	492,140775	374,106888	259,204558	346,044727	<b>1557,31183</b>
<b>TOTAL</b>	<b>1013,66116</b>	<b>5424,50254</b>	<b>6409,75236</b>	<b>5647,07846</b>	<b>4267,40782</b>	<b>22762,4023</b>
RD1	61,9630976	340,081528	269,867066	152,890069	149,713793	<b>974,515553</b>
RD2	90,986955	549,418598	506,168577	364,995185	330,23246	<b>1841,80177</b>
RD3	155,922665	773,615725	823,93939	663,468215	438,121204	<b>2855,0672</b>
RD4	90,6694915	591,989955	581,988733	467,427361	278,91649	<b>2010,99203</b>
RD5	301,840421	881,55931	804,095603	578,000658	524,858479	<b>3090,35447</b>
RD6	72,1315488	325,51335	338,104363	281,603187	185,679893	<b>1203,03234</b>
RD7	75,2484629	480,71552	378,340808	426,484818	223,528886	<b>1584,31849</b>
RD8	28,7641145	259,909336	275,524657	331,473478	243,380491	<b>1139,05208</b>
RD9	223,484664	896,814261	866,041996	633,633233	470,19727	<b>3090,17142</b>
RD10	49,38	320,559998	251,551672	180,649491	215,500312	<b>1017,64147</b>
<b>TOTAL</b>	<b>1150,39142</b>	<b>5420,17758</b>	<b>5095,62286</b>	<b>4080,62569</b>	<b>3060,12928</b>	<b>18806,9468</b>
T1R	104,776907	120,347498	169,450089	256,385949	153,898644	<b>804,859088</b>
T2R	148,947207	115,025774	259,141488	465,106549	412,604939	<b>1400,82596</b>
T3R	256,029206	329,590407	338,690517	226,113983	208,495601	<b>1358,91971</b>
T4R	240,558668	319,060001	411,652684	421,919517	296,517001	<b>1689,70787</b>
T5R	149,521202	153,408278	237,502685	232,571516	130,301654	<b>903,305335</b>
T6R	145,093239	152,990888	158,547697	250,42094	335,428901	<b>1042,48166</b>
T7R	268,256215	329,068669	399,7544	779,218101	407,802257	<b>2184,09964</b>
T8R	195,322377	268,1384	315,575348	423,944337	312,37788	<b>1515,35834</b>
T9R	137,403525	136,486585	150,528148	269,893868	300,172221	<b>994,484347</b>
T10R	410,652588	531,789857	520,973631	439,969599	277,750454	<b>2181,13613</b>
<b>TOTAL</b>	<b>2056,56113</b>	<b>2455,90636</b>	<b>2961,81669</b>	<b>3765,54436</b>	<b>2835,34955</b>	<b>14075,1781</b>

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA

**“FOTOSSÍNTESE”**

ALESSANDRA REGINA STAFFOCKER

10/2

## I- Introdução :

Fotossíntese é um processo pelo qual a energia do sol é captada e convertida em energia química. Esse processo constitui a rota pela qual praticamente toda energia entra na biosfera. Sem esse fluxo de energia solar, canalizado principalmente através dos cloroplastos das células eucarióticas, o ritmo da vida no planeta iria diminuir rapidamente e cessaria quase que completamente.

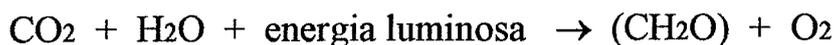
## II- Histórico :

Aristóteles e outros estudiosos gregos, observando que a vida dos animais dependia dos alimentos que eles consumiam, acreditavam que as plantas obtinham seus alimentos diretamente do solo.

Há 300 anos o médico belga Jan Baptista van Helmont ofereceu a primeira evidência experimental de que o solo não alimentava as plantas. Van Helmont cultivou uma pequena árvore de salgueiro num vaso de cerâmica no qual adicionava apenas água. Ao final de 5 anos o salgueiro apresentava um aumento de peso de 74,4 Kg e o solo havia decrescido apenas 57g em peso. Com base nesse resultado concluiu que todas as substâncias da planta eram produzidas à partir da água.

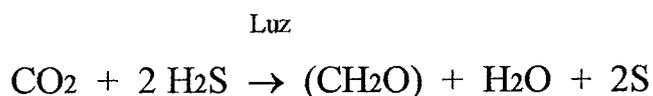
No século XVII, o cientista/pastor inglês Joseph Priestley, queimando uma vela na presença de um ramo de hortelã vivo, observou que este “purificava” o ar. Hoje explicaríamos os experimentos de Priestley simplesmente dizendo que as plantas absorvem o CO<sub>2</sub> produzido na combustão ou liberados pelos animais e os animais absorvem o O<sub>2</sub> liberado pelas plantas. Posteriormente o médico holandês Jan Ingenhousz mostrou que o ar era restaurado apenas na presença de luz solar e somente pelas partes verdes das plantas. Em 1796 Ingenhousz sugeriu que o CO<sub>2</sub> seria quebrado na fotossíntese para produzir carbono e O<sub>2</sub>, sendo o O<sub>2</sub> liberado como um gás.

Posteriormente descobriu-se que a proporção entre átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio existente nos açúcares e no amido era de um átomo de carbono por molécula de água (CH<sub>2</sub>O) conforme o nome carboidrato indica.

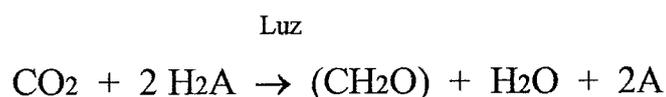


Portanto, na reação geral da fotossíntese assumia-se que os carboidratos originavam-se da combinação de moléculas de água e átomos de carbono do  $\text{CO}_2$  e que o  $\text{O}_2$  era liberado a partir do  $\text{CO}_2$ . Essa hipótese foi derrubada por ser completamente errada.

O pesquisador que colocou em dúvida essa teoria foi Van Niel, na década de 30, investigando a atividade de diferentes bactérias fotossintetizantes. Num grupo específico de bactérias, as vermelhas sulfurosas, verificou-se a seguinte reação durante a fotossíntese:

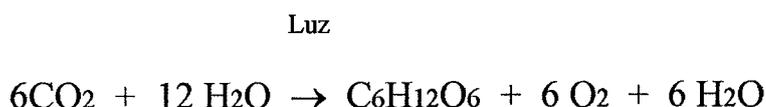


Assim, Van Niel propôs a seguinte equação genérica para a fotossíntese:



Nesta equação  $\text{H}_2\text{A}$  representa a substância a ser oxidada tal como o sulfeto de hidrogênio livre. Em algas e plantas verdes, entretanto,  $\text{H}_2\text{A}$  é a água. Em resumo, Van Niel propôs que a água e não o gás carbônico era a fonte de oxigênio na fotossíntese.

A equação completa e balanceada para a produção de glicose pela fotossíntese torna-se:



A evidência de que a fotossíntese ocorre em duas etapas foi primeiro apresentada em 1905 pelo fisiologista inglês E. F. Blackman e este concluiu também que estas reações eram controladas por enzimas.

### III- Etapas da Fotossíntese:

Na primeira etapa da fotossíntese - etapa dependente de luz - a energia luminosa é utilizada para formar ATP à partir de ADP bem como para reduzir moléculas transportadoras de elétrons, principalmente a coenzima NADP<sup>+</sup>.

Na segunda etapa da fotossíntese - etapa não dependente de luz - a energia do ATP é usada para ligar covalentemente o CO<sub>2</sub> a uma molécula orgânica enquanto que o poder do NADPH é utilizado para reduzir o átomo do carbono recém ligado ao nível de oxidação dos átomos de carbono de um açúcar simples. Neste processo, a energia química do ATP e do NADPH é convertida em formas de energia adequadas ao transporte e armazenamento gerando, ao mesmo tempo, os esqueletos de carbono a partir dos quais todas as moléculas orgânicas são sintetizadas. Esta conversão do CO<sub>2</sub> em composto orgânico é conhecida como Fixação de Carbono.

### IV- O Papel dos Pigmentos:

Um pigmento é qualquer substância que absorve luz visível. A clorofila, pigmento que confere cor verde as folhas, absorve principalmente luz nos comprimentos de onda violeta, azul e vermelho e reflete o verde.

Quando um pigmento absorve luz, seus elétrons são temporariamente impulsionados a um nível de energia mais alto. No caso da clorofila, Quando seus elétrons retornam para o nível de energia mais baixo a energia dissipada é capturada para a formação de ligações químicas.

A energia absorvida por moléculas de clorofila isoladas não pode ser convertida em qualquer forma de energia útil para os sistemas vivos. A clorofila converte a energia absorvida quando está associada a certas proteínas e embebida nas membranas especializadas dos tilacóides.

Os pigmentos da fotossíntese são a clorofila, os carotenóides e as ficobilinas, onde energia absorvida por esses dois últimos é transferida para a clorofila.

Existem vários tipos de clorofila:

Clorofila a : encontrada em eucariontes e cianobactérias. É essencial para esses seres.

Clorofila b: encontrada em plantas vasculares, briófitas, algas verdes e algas euglenóides. É um pigmento acessório que amplia a faixa de luz que pode ser utilizada na fotossíntese. A clorofila b absorve luz e a energia é passada para a clorofila <sup>a</sup> Em folhas de plantas um quarto da clorofila é a clorofila b.

Clorofila c: substitui a clorofila b e é encontrada em algumas algas.

Bacterioclorofila e Clorofila Chlorobium: a primeira é encontrada em bactérias púrpuras e a Segunda, em bactérias verdes sulfurosas. Essas bactérias são fotossintetizantes (não extraem elétrons da água).

V- Os Cloroplastos:

O cloroplasto é o sítio da fotossíntese em organismos eucarióticos. As reações de captação de luz ocorrem nos tilacóides, onde a clorofila e outros pigmentos são encontrados. Muitos dos tilacóides ocorrem, caracteristicamente, em forma de discos empilhados, sendo denominados grana. A sequência de reações das quais a energia é usada para sintetizar os compostos contendo carbono ocorre no estroma, matriz que circunda os tilacóides. Durante o período de fotossíntese intensa, parte dos fotossimilados é temporariamente armazenada nos cloroplastos como grãos de amido. À noite a sacarose produzida a partir do amido é exportada para toda a folha.

VI- Fotossistemas:

Fotossistemas são unidades dos tilacóides onde e encontram os pigmentos da clorofila. Um fotossistema contém cerca de 250 a 400 moléculas e consiste em dois componentes:

- um centro de reação formado por um complexo proteína-pigmento. Esse pigmento é constituído de duas moléculas de clorofila.
- um complexo protéico antena constituído de outras moléculas de pigmento.

A energia absorvida por qualquer molécula do fotossistema é passada para outras moléculas até chegar ao centro de reação onde estão as duas moléculas de clorofila. Quando ambas as moléculas de clorofila absorvem a energia, um de seus elétrons é disparado para um nível de energia mais elevado e transferido para uma molécula aceptora que inicia o fluxo de elétrons. A clorofila se torna oxidada e positivamente carregada.

Existem dois tipos de fotossistemas:

- Fotossistema I: pico máximo de absorção é de 700 nm (P700).
- Fotossistema II: pico máximo de absorção é de 680 nm (P680).

Geralmente esses dois fotossistemas funcionam de forma simultânea e contínua. O fotossistema I pode funcionar independentemente.

## VII- Reações Dependentes de Luz:

O que desencadeia esse tipo de reação é a entrada da energia da luz no fotossistema II (pelas moléculas de P680 ou por outras moléculas de pigmento). A molécula P680 é excitada e seu elétron é transferido para uma molécula aceptora "Q" (quinona). A molécula P680 deficiente de elétron extrai esse elétron da água, ocorrendo, assim, a dissociação da água em próton mais oxigênio. Esse processo é conhecido como Fotólise da Água. A enzima que catalisa a fotólise da água se encontra no interior da membrana do tilacóide.

Os elétrons da molécula P680 são transportados para o fotossistema através de uma cadeia transportadora de elétrons (citocromos, proteínas de ferro- enxofre, quinonas). Neste transporte um ATP é formado à partir do ADP + fosfato. Esse processo, dirigido pelo gradiente de prótons, é conhecido como Fotofosforilação.

No zoneamento da aptidão ecológica das culturas no Estado de São Paulo, a videira foi incluída no grupo de frutíferas de clima temperado, mas com menores exigências de frio hibernal.

A videira européia (*Vitis vinifera*, L.) é originária do centro da Ásia Central, em regiões que possuem o clima típico mediterrâneo, e a videira americana (*Vitis labrusca*, L.) do continente norte americano em região temperada úmida do tipo Cfa da classificação de Köppen. Essas condições climáticas apresentam grande similaridade com as encontradas no planalto paulista. Por essa razão a videira americana encontra aptidão climática satisfatória em grande parte do referido planalto. As regiões que possuíam condições térmicas e hídricas satisfatórias apresentavam a temperatura média anual entre 17 e 22°C e o índice hídrico inferior a 100. Essas regiões abrangem quase toda a parte central e sul do planalto paulista, inclusive o Vale do Paraíba e do Ribeira de Iguape.

Em Santa Catarina, por meio do zoneamento agroclimático, a EMPASC (1978) identificou uma grande área compreendida pela região central, sendo considerada apta para o cultivo da videira americana, por ser relativamente a mais seca e mais fria do Estado.

O Estado do Rio Grande do Sul foi identificado como tendo o melhor conjunto de condições climáticas para a produção de vinhos finos a partir de variedades de *Vitis vinifera*. A região oeste-central fronteiriça com o Uruguai é a mais propícia para a produção de vinhos finos por apresentar durante o verão, umidade relativa inferior a 73%, temperatura média do mês mais quente inferior a 24°C e número satisfatório de horas de frio abaixo de 7°C. De acordo com WESTPHALEN (1976), o Rio Grande do Sul contribui com mais de 80% da produção nacional e deste total 80% corresponde à produção de variedades americanas e 20% de *Vitis vinifera*.

As zonas de maior produção da videira, caracterizadas com condições próximas ao ótimo localizam-se no sul do país, principalmente no Rio Grande do Sul e Santa Catarina. O excesso de chuvas no verão constitui-se no elemento desfavorável, que foi contornado pelos produtores através de técnicas e variedades diferentes do cultivo tradicional na Europa mediterrânea. Outro centro vitivinícola importante encontra-se em São Paulo, na região de Jundiaí e São Roque, que possui, também, excesso de chuvas no verão e temperaturas elevadas na primavera. Mais ao norte, Poços de Caldas (MG) logrou certo desenvolvimento devido às condições favoráveis de clima.

Atualmente, a videira tem sido cultivada com sucesso no Vale do São Francisco, nas proximidades de Petrolândia e Petrolina (PE), em clima semi-árido. O repouso vegetativo nessas regiões é dado pela época seca, e o manejo de irrigação, aliado ao clima quente,

No FI a energia da luz impulsiona os elétrons da P700 até um aceptor de elétrons denominado ferredoxina ligada (proteína de ferro- enxofre). Os elétrons são transferidos por uma série de intermediários até a coenzima NADP<sup>+</sup>, originando um NADPH.

Esse é um fluxo contínuo de elétrons, isto é, fluxo não cíclico de elétrons.

⇒ Fosforilação Cíclica:

Conforme mencionamos, o FI pode trabalhar independentemente, ocorrendo, assim, o fluxo cíclico de elétrons. Neste processo, os elétrons são impulsionados da molécula P700 para a ferredoxina ligada (aceptor de elétrons) sendo, então, transportados para um aceptor na cadeia transportadora de elétrons que conecta FI ao FII, retornando ao centro de reação do FI. Nesta passagem um ATP é produzido.

Na fosforilação cíclica não ocorrem a fotólise da água, a liberação de oxigênio e a formação de NADPH. O único produto formado é o ATP.

VIII- Reações Independentes de Luz:

Na Segunda etapa da fotossíntese, etapa independente de luz, a energia química produzida é utilizada para reduzir o carbono.

⇒ O Ciclo de Calvin: A Via de 3 Carbonos

A redução do carbono ocorre no estroma dos cloroplastos através de uma série de reações. O composto inicial (e final) do Ciclo de Calvin é um açúcar com 5 carbonos contendo dois grupos fosfato (ribulose 1,5-bifosfato = RuBP). O processo se inicia quando o CO<sub>2</sub> entra no ciclo e é fixado pela RuBP. O composto resultante de 6 carbonos quebra-se imediatamente formando duas moléculas 3-fosfoglicerato (PGA). Por isso dá-se o nome Via C3.

A enzima catalisadora desse processo é a Rubisco (RuBP-carboxilase).

Seis voltas no ciclo são necessárias para formar duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato e este será convertido em:

- sacarose: principal açúcar de transporte das plantas. A conversão ocorre no citoplasma.
- amido: principal carboidrato de reserva das plantas. A conversão ocorre no cloroplasto.

⇒ Via Fotossintética de 4 Carbonos:

O primeiro produto formado nesta via é uma molécula de quatro carbonos. Ocorre a junção do fosfoenolpiruvato com o CO<sub>2</sub> fixado formando, assim, o oxaloacetato (primeiro produto). Nesta reação atua a enzima PEP-carboxilase que se encontra no citoplasma das plantas C<sub>4</sub>.

O oxaloacetato formado é reduzido a malato, no cloroplasto, ou convertido no aminoácido aspartato após a adição de um grupo amino. O malato, ou aspartato, desloca-se das células do mesófilo para as células da bainha vascular da folha onde é descarboxilado produzindo CO<sub>2</sub> e piruvato, sendo que o CO<sub>2</sub> entra no Ciclo de Calvin e o piruvato retorna às células do mesófilo foliar onde reage com ATP para formar PEP.

⇒ Eficiência nas Plantas C<sub>4</sub>:

Nas plantas C<sub>3</sub> a fotossíntese sempre é acompanhada de Fotorrespiração, processo que consome O<sub>2</sub> na presença de luz não produzindo ATP, causando, assim, um desperdício de ATP (não ocorre fosforilação oxidativa. Também desvia parte do poder redutor gerado na reação dependente de luz para a redução de O<sub>2</sub> (até 50% do carbono fixado pode ser reoxidado a CO<sub>2</sub>).

O principal substrato oxidado na fotorrespiração de plantas C<sub>3</sub> é o glicolato. A RuBP carboxilase pode reagir com CO<sub>2</sub> e com O<sub>2</sub>:

- concentração alta de CO<sub>2</sub>: rubisco-carboxilase reage com CO<sub>2</sub> para formar duas moléculas de PGA.
- Concentração baixa de CO<sub>2</sub>: rubisco-carboxilase reage com O<sub>2</sub> formando uma molécula de fosfoglicolato (que será convertido em glicolato) e uma molécula de PGA.

O CO<sub>2</sub> fixado nas plantas C<sub>4</sub> é essencialmente bombardeado das células do mesófilo para as células da bainha vascular, mantendo, assim, uma alta razão CO<sub>2</sub>:O<sub>2</sub>. As plantas C<sub>4</sub> utilizam melhor o CO<sub>2</sub> disponível pois a enzima PEP-carboxilase não é inibida pelo O<sub>2</sub>. Sendo assim, a taxa de fotossíntese líquida das plantas C<sub>4</sub> é duas a três vezes maior comparada com a taxa de fotossíntese das plantas C<sub>3</sub>.

AS plantas C<sub>4</sub> são mais adaptadas a altas intensidades luminosas, a temperaturas elevadas e seca. A faixa ótima de temperatura para a fotossíntese é maior e, sendo mais eficientes no uso de CO<sub>2</sub>, podem atingir a mesma taxa fotossintética das plantas C<sub>3</sub> com uma menor abertura estomática implicando uma menor perda de água.

#### ⇒ Metabolismo Ácido das Crassuláceas: CAM

Plantas suculentas, cactos (Cactaceae) e crassuláceas (Crassulaceae), são plantas que possuem a capacidade de fixar CO<sub>2</sub> no escuro via PEP-carboxilase, formando ácido málico que é armazenado no vacúolo. Durante o dia seguinte o ácido málico armazenado é descarboxilado e o CO<sub>2</sub> é transferido para a RuBP no ciclo de Calvin, podendo utilizar a via C<sub>3</sub> ou a via C<sub>4</sub>.

As plantas CAM dependem do acúmulo de CO<sub>2</sub> durante a noite pois seus estômatos permanecem fechados durante o dia, retardando a perda de água. Portanto, as plantas CAM, comparadas com as plantas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, possuem um maior aproveitamento da água.

#### IV- Conclusão:

A capacidade que as plantas possuem de produzir o seu próprio alimento sintetizando carboidratos a partir de precursores mais simples é um dos processos mais notáveis realizados na biosfera e, até hoje, com tantas descobertas, continua nos impressionando.

A fotossíntese é um processo complexo mas de grande importância agrônômica, sendo o mínimo de conhecimento necessário para entendermos o comportamento das plantas.

Sabe-se que, através dos conhecimentos que existem da fotossíntese, é possível aumentar consideravelmente uma produção. Mas existem ainda muitas descobertas a serem feitas.

#### V- Bibliografia:

- Lehninger, Albert Lester, 1977 – Bioquímica. Volume 3. Editora Edgard Blucher LTDA. São Paulo.
- Raven, P. H.; Evert, R. F. e Eichhorn, S. E., 1996 – Biologia Celular. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**“PROGRAMA DE ESTÁGIO A SER  
DESENVOLVIDO  
U.B.S DE ANDIRA/PR”**

André de Sousa e Silva

10/12

**PROGRAMA DE ESTAGIO A SER DESENVOLVIDO**  
**U.B.S DE ANDIRA/PR**  
**SEMENTES MONSANTO – LTDA**  
**André de Sousa e Silva**

Esse programa visa desenvolver uma série de atividades que envolvem normas e procedimentos específicos da Empresa MONSANTO, assim como também avaliar, criticar e acompanhar as etapas do processo da própria unidade de beneficiamento

O programa está dividido em itens, para assim poder abranger de forma organizada e total, todos os objetivos propostos pelo mesmo. A divisão do programa é a seguinte:

**1. ESH**

- Revisar a **Política de ESH (SET/00)** → Leitura e conhecimento de todo o processo da política.

- Integrar a implantação da **BS8800** → Conhecer todo o processo da certificação.

- As **permissões de trabalho** serão acompanhadas quando preenchidas. Observar se são preenchidas corretamente. Fazer críticas a respeito da mesma com a finalidade de corrigir eventuais erros no procedimento. Checar frequência de uso. Participar do curso de liberador (DEC/00);

- **JSA (DEZ/00)**

Checar como foi implantado no site.

Localizações pelo site.

Frequência de leitura – checar como estão registrando

Avaliar as permissões em uso em Andirá

**2. Processo de beneficiamento/condicionamento das sementes**

**a)** Seguir cada etapa do processo (DEZ/00);

**b)** Fazer um fluxograma incluindo capacidades em cada processo. Os setores que não estiverem em funcionamento serão revisadas com o encarregado do setor (DEC/00);

**c)** Serão tomados nota dos problemas encontrados e possíveis soluções serão sugeridas (DEZ/00);

**d)** Apresentar o balanço de material dos híbridos de Andirá e Itai na safra 99/00 (DEZ/00);

**e)** Procurar por perdas no processo para que possam ser trabalhadas a fim de reduzir custos. Checar a forma como são feitas as amostragens (DEZ/00).

### **3. Qualidade**

- Analisar os procedimentos para qualidade das sementes, como vigor, plantabilidade, direcionamento da produção – Q1, Q2 e Q3 (OUT/00);?
- Checar a consistência dos procedimentos (PRP e PRR) em cada etapa do processo. Analisar seu preenchimento. (NOV/00)?

### **4. Treinamento Operacional**

- Acompanhar as pessoas envolvidas no ABC 71 e SISCOP. Entender como esses sistemas funcionam (OCT/00).

### **1. Campo**

- Seguir a condução de dois campos de sementes (espiga com e sem palha), da contratação a colheita (AGO/00 – ABR/01).

#### **1) ESH**

Segundo a programação, a leitura do Manual de ESH foi realizada de maneira resumida. Foi dado ênfase para alguns pontos mais importantes, uma vez que a leitura completa do mesmo seria demasiadamente demorada. Pude observar que o Manual de ESH são “leis” que fazem parte da política da Empresa, isto é, são as ferramentas para se conseguir por em funcionamento a própria política. Portanto, cabe a mim relatar aqui, um breve comentário sobre o que entendi e o que penso da Política de ESH

Posso definir a Política de ESH como sendo um conjunto de conhecimentos, reflexões, responsabilidades, comportamentos, cuidados, conscientização dentre vários outros. Nesse conjunto, tudo funciona em prol dos objetivos da Empresa: sua prosperidade e o bem estar de seus funcionários, contratados, visitantes, vizinhos entre outros. Na política de ESH, o meio ambiente é respeitado. A fabricação e/ou transformação de produtos visa ser feita de modo SUSTENTÁVEL, isto é, de maneira a não afetar a natureza( rios, lagos, ar, solo e subsolo), não esquecendo o respeito também as pessoas.

A política visa também uma melhoria em seus produtos e processos. Minimiza-se as perdas e custos, maximiza-se a produção. É claro que para isto, oferece aos seus funcionários condições dignas e saudáveis na execução de suas tarefas. A redução de riscos, acidentes e doenças também

segurança e saúde.

Na minha opinião esta é uma política que realmente sabe o que faz! Pensa no bem-estar do trabalhador como um todo. É uma política justa, pois da mesma forma que a empresa deseja crescer, prosperar e otimizar suas linhas de produção, ela também oferece condições para que seus funcionários possam realizar suas tarefas com dignidade, e não realizar de forma insalubre e precária.

Para finalizar essa parte de ESH, eu estarei auxiliando o pessoal da BS8800. Serão feitas perguntas aos funcionários sobre a política de ESH, com a finalidade de prepara-los e instruí-los na mesma. As perguntas que serão realizadas são:

- ① Você conhece a Política de ESH?
- ② O que diz a Política de ESH?
- ③ De quem é a responsabilidade pela segurança dentro da UBS?
- ④ Você acha que a política de ESH é só para nós, ou ela abrange outras pessoas( vizinhos, prestadores de serviços, visitantes etc.)?

#### ➡ **BS8800(Sistema de Gestão de Saúde Ocupacional e Segurança)**

O processo de implantação da BS8800 já está ocorrendo na UBS de Andira há algum tempo. A BS8800 é uma certificação semelhante a ISO, só que ela se volta mais para o lado da segurança. A Política de ESH, que envolve saúde e segurança, é uma gestão semelhante a da BS8800, portanto o sistema de gestão de saúde ocupacional e segurança proposto por ela já é feito pela Política de ESH em partes, isto é, ela abrange apenas uma parte da Norma, faltando ainda implantar alguns conceitos, O que a BS8800 vai fazer, é certificar que a UBS de Andira é realmente uma Unidade que está de acordo com as normas do Sistema de Gestão de Saúde Ocupacional e Segurança.

Todavia, para que o processo possa ser visto pela óptica oficial, a qual é a correta, exporei abaixo conceitos e definições do que é a BS8800:

A norma BS 8800 se propõe a fornecer às organizações de todos os tipos e tamanhos, elementos para um Sistema de Gestão de Saúde Ocupacional e Segurança efetivo, permitindo, inclusive, sua integração com demais Sistemas Gerenciais de uma empresa para auxiliá-la a melhorar seu desempenho na área de SOS. Esta Norma tem por objetivo declarado auxiliar às Empresas a:

- ➡ Minimizar riscos aos funcionários e outras partes interessadas;
- ➡ Melhorar o desempenho empresarial;
- ➡ Estabelecer uma imagem responsável no mercado e na sociedade;

As permissões de trabalho, mais conhecidas como PT, são utilizadas no dia- dia da unidade. Elas são requeridas quando o funcionário for realizar uma tarefa fora de sua sala e/ou oficina. Por exemplo: se o mecânico vai utilizar a furadeira fora de sua oficina ele precisará de uma PT, dentro da mesma não há necessidade, salvo quando for realizar trabalho em altura.

As permissões são assinadas por liberadores devidamente preparados. Nas PT's constam uma série de perguntas a respeito do local, equipamento, operador etc. Essas perguntas são feitas ao operador para saber se o mesmo está preparado, se o local e/ou equipamento oferece condições seguras de trabalho e para assegurar que o trabalho seja realizado com qualidade. Permissões normais são assinadas apenas por um liberador, que vai ao local, preenche a liberação e a assina se tudo estiver conforme. Permissões normais também podem ser assinadas pelo responsável do setor onde será realizada a tarefa, mesmo não sendo liberador. Permissões especiais ( trabalho em altura, trabalho a quente, trabalho em espaço confinado, abertura de escavações, abertura de linhas e trava múltipla) devem ser assinadas por três liberadores, com exceção de trabalho em altura que precisa de dois liberadores. Os liberadores devem ir ao local da tarefa para assinarem a permissão, se eles concordarem que tudo está conforme. Quando a permissão é assinada, coloca-se nela o horário e a data de execução. Esta permissão deve ficar no local da tarefa durante o serviço (se o serviço for continuar no dia seguinte outra permissão deverá ser feita). Quando o serviço terminar o(s) liberador(es) deve colocar o horário de término do mesmo e assinar a permissão novamente se o serviço estiver sido concluído com qualidade. As permissões são preenchidas em duas vias, uma fica com o operador e a outra com o liberador. O tempo estimado de serviço também é colocado na PT. Ainda atrás das permissões existe um sumário do procedimento de permissão.

O exposto acima é o que eu entendo sobre as PT's , pode estar faltando nele algumas coisas.

“Nenhum funcionário ou prestador de serviço, poderá iniciar um trabalho sem a liberação prévia do serviço, por um responsável treinado e habilitado, o qual solicitará a presença dos envolvidos, diretos ou indiretos no trabalho”(Manual de instrução de segurança para contratadas).

A frequência de uso das permissões de trabalho é muita alta aqui na U.B.S. de Andirá, não existindo portanto serviços a serem feitos sem as mesmas. Tudo aqui é cumprido muito bem. O que deveria ser modificado é a permissão para usar a furadeira, a que é usada atualmente é a de serviços a quente( maçarico, solda etc.). Como foi adaptado a permissão para a furadeira, não consta no sumário do procedimento da mesma um item designado para a furadeira, portanto dever-se-ia tomar alguma providência a respeito. Ademais acho que as permissões abrangem de forma muito

na uma libertação especial dois ou tres libertadores devem assim se entrarem em acordo, portanto aqui na unidade os três assinam, mas apenas um vai até o local para conferir se realmente está tudo oquei. Isto provavelmente é devido a falta de libertadores!

### **1.2) J.S.A. (JOB SAFETY ANALISYS)**

A sigla significa Análise de segurança do trabalho. O J.S.A. é responsável pela segurança da pessoa que vai executar a tarefa. Ele o é, pois indica quais os possíveis riscos na execução daquela tarefa e qual a classificação desses riscos. Para tanto, além de analisar os riscos, ele indica quais os procedimentos obrigatórios para se evitar os acidentes contidos nos riscos, tal como uso de EPI's, cinto trava queda etc. O J.S.A. apresenta ao seu leitor e futuro executor da tarefa, um seqüência lógica das etapas de trabalho, com a finalidade também de se evitar a erupção dos incidentes, near miss, first aids, reportáveis e acidentes em geral. "A MONSANTO implantou o programa J.S.A., que tem como objetivo padronizar toda e qualquer operação que venha ser realizada na unidade. Através do programa J.S.A. todas as operações sofrerão uma análise de riscos antes de cada etapa da operação"( Manual de instrução de segurança para contratadas).

A localização dos J.S.A pelo site é bem ampla. Eles estão localizados em todos os setores. Eles ficam dentro de uma caixa de metal sinalizada que os mesmos estão dentro. Cada setor tem a sua pasta de J.S.A identificada. A freqüência de leitura do J.S.A na UBS de Andirá é muito alta. Todos que vão executar a tarefa lêem e assinam uma lista, comprovando que eles estão cientes do que devem fazer. Aqui também todos os funcionários sabem da importância da leitura e a fazem corretamente. Pude estar observando os funcionários e eles realmente estão em conformidade com o procedimento.

O programa de JSA foi implantado no site em maio de 1999. Nos tempos de Cargill não existia procedimento de risco de tarefa, ou melhor, segurança na execução da tarefas. O programa de JSA já é um procedimento antigo da Monsanto. No Brasil, a parte de químicos já usava o programa de JSA. Portanto a implantação deste no site de Andirá teve uma certa facilidade, uma vez que as dúvidas puderam ser tiradas com o pessoal da Monsanto químicos. Para que a implantação pudesse ocorrer, os funcionários tiveram que ser treinados, pastas de procedimentos criadas entre outras documentações.

## **2) Processo de beneficiamento- condicionamento das sementes**

### **a) Seguir cada etapa do processo( circuito da semente)**

Este item está relacionado com o percurso da semente na UBS. Por isso que se colocou *circuito da semente*, pois caberá aqui saber o que

numa UBS, que seria a responsável por não deixar a semente perder a qualidade, uma vez que a UBS não aumenta a qualidade da semente.

A semente advinda do campo chega a UBS. O caminho do campo até a UBS não deverá ser superior a 18 horas para que a qualidade da semente não seja afetada. Chegando na UBS, o caminhão aguarda no pátio até ser chamado pelo balanceiro para pesagem. Contudo, cabe lembrar que o balanceiro só chama o caminhão para pesagem quando ele recebe uma ordem do encarregado da Despalha para mandar subir os caminhões. O caminhão ao chegar na balança é pesado, e anotado a quantidade daquele híbrido. Após a pesagem, o caminhão é dirigido até o tombador. O tombador é o local em que o milho é descarregado. O caminhão sobe em cima de uma plataforma, a qual se inclina e a caçamba do mesmo é forçada a uma dada angulação. Com essa angulação, todo o milho é descarregado num poço que conduz o material a uma fita transportadora, e esta leva as sementes até o *Setor de Despalha e Seleção*, no qual se dará a despalha e seleção das espigas. Enquanto o milho é descarregado, retira-se de 4 a 6 amostras(baldadas) no decorrer da descarga. Estas amostras são encaminhadas para o Laboratório de Recebimento. Neste laboratório são feitas várias análises. Uma delas é a de umidade, que é medida por destilador, Mult-grain ou Gac 2000. Outras são: contagem de grãos ardidos e carunchados. O peso da palha e do sabugo são também tirados. Todos os resultados dessas análises são encaminhados para uma pessoa na Administração. Essa pessoa introduz esses resultados no sistema da empresa e este calcula o quanto irá receber o cooperante. Este pagamento é feito portanto, de acordo com o rendimento do híbrido. Também enquanto o milho está sendo descarregado no tombador, é retirada 4 a 6 espigas logo do começo da carga e tomada a sua umidade. Isto é feito para poder destinar essas espigas, após a debulha, para determinada câmara do secador. Porque este destino? Pois, se uma parte da câmara estiver com 45% de carga com um híbrido que está com 33% de umidade, o seu preenchimento com o mesmo híbrido proveniente de outro caminhão não poderá ser feito se esse híbrido estiver com 5 pontos de diferença em relação a umidade do híbrido que já estiver na câmara.

Chegando ao setor de *Despalha e Seleção*, o milho é encaminhado as máquinas- despalhadeiras, as quais são responsáveis pela retirada da palha do milho. Para controle dessas máquinas existe funcionários que ficam monitorando a alimentação das máquinas, observando a ocorrência de problema de embuchamento nos rolos etc. Cabe também ao encarregado do Setor, dar a ordem ao balanceiro para que haja a pesagem e liberação do caminhão com espigas, pois o encarregado controla o fluxo de milho que entra nas máquinas despalhadeiras, uma vez que não há armazenamento dessas espigas que caem na moega do tombador. Sendo despalhado, o milho vai para a mesa de seleção, que é ao lado das máquinas. Na mesa de

Espigas fora do padrão são descartadas, e espigas nas quais a palha não foi retirada por completo, são colocadas na fita de retorno e voltam para uma repassada.

2. As espigas que são “aprovadas”, saem da despalha e vão para os secadores. As espigas chegam ao secadores com aproximadamente 35% de umidade e saem do mesmo com 12%. Os secadores funcionam com o insulflamento de ar aquecido proveniente de fornalhas, que ora são aquecidas por sabugos, ora por lenha. Aqui no Site de Andirá existe 3 secadores, sendo que 2 deles tem apenas um ciclo e o outro tem 2 ciclos. Em cada secador há diversas câmaras que são alimentadas por um túnel central, o qual está contido o ar aquecido e sob pressão. As câmaras podem estar recebendo ou não esse ar aquecido, uma vez que cada câmara pode ser fechada unitariamente através de sua tampa. A pressão do túnel é controlada e a temperatura do ar que entra no túnel também. Diariamente é retirada amostragem das câmaras, isso faz-se até quando as espigas chegarem a 14.1%. Após as espigas terem atingido esse valor, tira-se a cada 8 horas até atingir 12%. Ao alcançar esse patamar, as espigas são direcionadas para o debulhador.

No debulhador, como o próprio nome diz, as espigas são debulhadas, isto é, os grãos se descolam do sabugo, abandonando-o! O debulhador consta de um cilindro central com sulcos helicoidais. Esse rolo comprime as espigas contra uma chapa e assim acontece a debulha, é claro que descrito aqui de forma sucinta. Após a debulha, as sementes são encaminhadas para uma máquina de pré-limpeza, aonde vai ocorrer a separação de impurezas do restante das sementes. Esta máquina consta de um conjunto de peneiras sobrepostas que se movem com vibração da máquina e portanto fazem a famigerada pré-limpeza. Após a pré-limpeza, as sementes são direcionadas aos silos de armazenamento externos, os quais são munidos de ventiladores para que a temperatura dos mesmos possa ser controlada. Ficam nestes silos aguardando o processo de classificação e ensaque. Quando o encarregado da classificação recebe a ordem para que um híbrido seja classificado, ele desloca esse material para os silos internos, silos esses que se situam no mesmo galpão em que se encontra a torre de classificação. Existe a necessidade das sementes ficarem nos silos internos, pois as máquinas da Torre de Classificação necessitam de uma alimentação constante para funcionarem, e isso só pode ocorrer se a distância entre silo e máquinas for curta!

Portanto, quando as sementes já estiverem nos silos internos (denominadas de silos de matéria-prima), a operação de classificação já pode ser iniciada.

A classificação é uma das etapas do beneficiamento de sementes, e por sinal, é aonde se deve atentar muito para a qualidade. Isto porque é nessa etapa que acontece a limpeza e separação das sementes por comprimento,

pois e pela especificação da peneira que ele compra um determinado híbrido, uma vez que ele já possui o disco correspondente para o plantio. Contudo, mesmo o agricultor comprando a peneira que lhe é adequada, surgem problemas na hora do plantio devido a má classificação. Dessa forma entendemos portanto, a importância do processo.

Antes de dar início a operação propriamente dita, é de bom grado saber quais as máquinas que fazem parte da Torre de Classificação e quais as respectivas funções.

A primeira máquina a qual a semente chega é a *Classificadora Tipo Porto*, vulgo netinha. Essa máquina é responsável pela retirada das impurezas miúdas, passam pelas peneiras 16, 17 ou 18; que são colocadas de acordo com o híbrido a ser classificado. A sua capacidade é de 5 toneladas por hora. Há duas dessas máquinas. Após terem passado por ela, as sementes vão para a *Flutuar*, conhecidas como sururuca. Nesta máquina são conjugados a peneira granulométrica oscilante, e o ar flutuante. Os grãos são separados das impurezas menos densas como pedaços de sabugo e sementes leves. Os grãos bons vão para uma mesa gravitacional. Já os grãos considerados ruins passam por outra sururuca de repasse, sendo que os ruins são descartados e os bons seguem para a mesa gravitacional. Na mesa gravitacional, ocorre a separação por densidade; materiais leves são retirados das sementes devido a diferença dos pesos específicos. É apenas uma mesa gravitacional que existe para receber as sementes das sururucas. Saindo da mesa, as sementes seguem para a moega de distribuição, que se localiza no ponto mais alto da torre de classificação. É a partir daí que começa a distribuição para as máquinas *classificadoras tubulares*.

As classificadoras são máquinas responsáveis por separar os híbridos de formato chato dos híbridos de formato redondo. Os híbridos redondos são assim classificados: R1, R2 e R3-R4. Já os híbridos de formato chato são divididos em : C1, C2, C3 e C4. A separação desses em relação ao comprimento é feita por *TRIEURS*.

O total de classificadoras da Torre de Classificação é em número de quinze. A Torre de Classificação é constituída de quatro pisos, sendo então as classificadoras distribuídas por esses numa seqüência lógica.

O começo da classificação se dá no 4º piso, onde estão situadas quatro classificadoras que apresentam as mesmas peneiras, e todas recebem as mesmas quantidades do mesmo híbrido. Esses híbridos chegam até essas classificadoras advindos dos silos de matéria-prima. Dessas classificadoras saem dois materiais: 1) C1 e R1; 2) C2, C3, C4 e R2, R3 e R4, que passam para o próximo jogo de classificadoras situadas no 3º piso. Essas são em número de quatro, e suas peneiras são do tipo oblonga. Uma dessas classificadoras recebe os híbridos C1 e R1, e é responsável por separá-los. Em uma das saídas da classificadora sai o híbrido R1, que já é enviado para o silo de armazenamento. O híbrido C1 é ainda separado em: C1L e C1

outras tres classificadoras recebem os híbridos C2,C3,C4 e R2,R3 e R4. Existe também mais uma classificadora no 3( piso, esta denominada de “Torrinha”, que recebe os híbridos R3 e R4, esses foram classificados no 2( piso, daí subiram novamente para serem classificados na Torrinha. No 2(piso encontram-se quatro classificadoras, três delas são responsáveis por classificar os híbridos C2, C3 e C4. O C2 vai para um conjunto de *Trieur*, e o C3 e C4 vai para classificação em uma classificadora situada no 1( piso, da qual saem o C4, que já vai ser embalado em saco de juta, e o C3 que vai passar por um conjunto de *Trieur*. Ainda no 2( piso existe mais uma classificadora que classifica os híbridos: R2,R3 e R4. O R2 vai para um conjunto de *Trieur*, e o R3 e R4 vão ser classificados na Torrinha. E por fim o 1(piso, no qual encontra-se apenas uma classificadora, que é responsável por classificar o C3 e C4.

Após todas as sementes terem passado pelas classificadoras tubulares, elas ainda precisam ser separadas em relação ao comprimento. Esta operação é feita pelo *Trieur*.

Os *Trieur* estão situados ao longo dos pisos da torre de classificação, começando no 4° e indo até o 2°; por isso as sementes que outrora foram classificadas “descendo a torre”, precisarão agora subir novamente até o topo da mesma para começar a classificação pelos *Trieur*. A única peneira que não precisa subir novamente é a C1, pois o *Trieur* já fica na seqüência da classificadora tubular, isto é, no mesmo piso.

A classificação pelos *Trieur* começa no 4° piso onde há 3 máquinas duplas( nessas máquinas duplas, a carga de sementes quando chega à ela, é dividida na metade, indo uma parte para o 1°*Trieur* e a outra para o 2°; essas duas máquinas situam-se uma em cima da outra e o número da camisa delas é o mesmo. O que vai entrar nessas máquinas é a peneira C2, ele vai separar a peneira C2L que já vai diretamente para o silo, do C2M, C2 e C2C, que vão para o próximo *Trieur* duplo no 3°piso.

No 3°piso há 3 *Trieur*. Um desses *Trieur* é duplo, e recebe as peneiras C2M, C2 e C2C, os outros dois são *Trieur* montados( são *Trieur* diferentes, cada um possui um determinado número de camisa, eles apenas ficam um sobre o outro ,isto é, montados. O *Trieur* duplo separa o C2M que vai para o silo do C2 e C2C que vão para o próximo *Trieur* no 2°piso. Já os *Trieur* montados separam o C3. O *Trieur* estaca recebe as peneiras C3L, C3M, C3 e C3C; manda o C3L para o silo e o C3M, C3 e C3C para o *Trieur* porta-enxerto, que separa o C3M, que vai para o silo, do C3 e C3C que vão para um *Trieur* no 2°piso.

No segundo piso temos 4 *Trieur*, sendo 2 simples e 2 duplos. Um *Trieur* recebe o C2 e C2C, sendo que após a separação, ambos vão para seus respectivos silos. Esse *Trieur* recebe as peneiras C2 e C2C do *Trieur* duplo.

ambos vão para o silo. Esse trieur simples recebe as peneiras C3 e C3C do Trieur montado. Um Trieur duplo recebe as peneiras R2L, R2M e R2. Os Trieur duplos desse piso são invertidos, o 1º Trieur separa uma peneira e o restante vai para o 2º Trieur, que realiza novamente duas separações. Portanto um dos Trieur duplos invertidos separa o R2 na que vai para o silo, do R2M e R2L que vão ser separados no 2º Trieur e cada um vai para o seu respectivo silo. O outro Trieur duplo invertido deste silo recebe o R3L, R3M e R3 da torrinha e separa no 1º Trieur o R3 que vai para o silo do R3M e R3L, que são separados no 2º Trieur, e cada qual vai para seu devido silo de armazenamento.

Estando nos silos de armazenamento, as sementes já se encontram classificadas quanto a largura, espessura e comprimento. Porém, antes do tratamento e ensaque, as sementes ainda passam por um conjunto de *mesas gravitacionais* a fim de retirar sementes ardidas, carunchadas e quebradas. Aqui devido as sementes estarem mais homogêneas, essa separação é facilitada.

“No que diz respeito ao tamanho, à forma e a textura do tegumento, sementes indesejáveis e material contaminante são muitas vezes semelhantes às sementes que se pretende beneficiar. Sementes atacadas por insetos, deterioradas por ação de microrganismos, “sementes chochas” ou “estéreis”, constituem material que só pode ser separado pelo seu peso específico. Daí a grande valia da MESA DE GRAVIDADE, que separa as sementes dos elementos indesejáveis referidos, pela diferença em seu peso específico; máquina de importância fundamental numa unidade de beneficiamento completa”( Carlos Vechi, Coordenador Central do Agiplan).

As mesas gravitacionais são máquinas de grande precisão na separação de sementes, por diferença em peso ou gravidade específica por unidade de volume. Posto isso, percebe-se qual a finalidade das mesas gravitacionais. Após saírem das mesas gravitacionais, as sementes vão para silos que se situam ao lado das mesas, no mesmo galpão. Dos silos, as sementes vão para o tratamento. O encarregado pelo tratamento é quem dá a ordem para as sementes subirem para o tratamento, uma vez que as máquinas de tratar se encontram no alto de uma torre metálica, tendo as balanças – ensacadeiras abaixo.

Chegando as sementes nas máquinas de tratar, essas recebem uma carga de fungicida e inseticida. Essas máquinas(2), funcionam assim: consta de 1 cilindro retangular, que mantém uma movimento circular uniforme. As sementes entram em uma extremidade do cilindro, aonde o veneno é jogado, e saem pela outra já tratadas. Após tratadas as sementes caem em depósito e desse vão para a balança – ensacadeira. A dosagem de veneno é liberado automaticamente através de um mecanismo existente na própria máquina, que é regulado de acordo com a quantidade que se deseja aplicar.

variação-ensacadeira, ela estará pronta para ser pesada e ensacada. Na um mecanismo interno logo abaixo do compartimento que é responsável pela pesagem da quantidade estipulada pelo operador( esta quantidade é calculada para que aquele determinado híbrido que será ensacado, o seja com 60.000 sementes, portanto devido aos diversos híbridos e peneiras existentes, haverá 60.000 sementes que vão pesar 14,34kg, assim como outro com 20.05kg, além de vários outros pesos de 60.000 semente), e há também um subcompartimento que irá receber a quantidade pesada. Quando o ensacador posiciona o saco na boca da máquina, esta automaticamente aciona as suas travas laterais e libera a quantidade estipulada. Acabou de encher o saco, a máquina destrava. O saco é passado para outra pessoa que costura o saco numa máquina de costurar, essa pessoa fica do lado da pessoa que enche o saco. Após costurado, o saco é colocado num pallet, e este é removido para o armazém quando junta-se uma coluna de 13 fiadas( cada fiada contém 6 sacos) no pallet. A média de ensaque no pico da safra é de 8000 sacos/dia, com apenas um turno de trabalho. Excepcionalmente, já se chegou a ensacar 12.000 sacos em um dia.

Acondicionada as sementes dentro do saco, estes devem ser armazenados à espera da venda. Portanto, essa espera pode ser grande, média ou pequena. Sendo assim, o armazenamento deve oferecer ótimas condições à sementes, a fim de que estas não se deteriorem rapidamente. Aqui temos 5 armazéns, sendo que 3 são refrigerados( 10°C e 50% de umidade) e os outros 2 não o são. Segue abaixo as capacidades e área dos armazéns:

### ***ARMAZÉNS – ANDIRÁ 2000***

#### Armazém A

Capacidade: 129.000 sacos

Área útil: \

Área total:

#### Armazém B -

Capacidade: 129.000 sacos

Área útil: 1.016,70m<sup>2</sup>

Área total: 1.470,88m<sup>2</sup>

#### Armazém D

Capacidade: 266.900 sacos

Área útil:

Área total:

Ano de construção:

Capacidade: 251.000 sacos

Área útil:

Área total:

Ano de construção:

### **Armazém F**

Capacidade: 255.000 sacos

Área útil:

Área total:

Ano de construção:

As capacidades foram calculadas considerando-se embalagens de 80 X 90 cm, por corresponder a aproximadamente 82% dos ensaques.

Os pallets contados possuem 84 sacos com 6 de lastro e 14 fiadas.

Nas posições do corredor empilham-se 2 pallets, com uma altura de 3,60m. Já nas posições a partir da segunda fileira empilham-se até 3 pallets, alcançando uma altura de 5,40m, seguindo as normas da Monsanto.

Logo após ensacadas as sementes recebem um prazo de validade máxima de germinação. Este prazo de validade vai depender do histórico da semente. Por que histórico? Pois existe sementes tratadas e reanalisadas. Sementes tratadas recebem um prazo de 10 meses e sementes de reanálise 6 meses. Sementes reanalisadas são as sementes que já foram ensacadas anteriormente, mas o seu prazo de validade foi vencido. Fez-se os teste no LASP e ela foi aprovada para novo reensaque. Nesse novo saco a data de validade é de 6 meses a partir do reensaque. As sementes amarelas poderiam ter seu prazo de validade de 10 meses, mas em nível de controle ele é de 8 meses. As sementes amarelas são armazenadas em BIG-BAGS, que são grandes sacos com capacidade de 1000 kg. Estes sacos tem alças nas suas extremidades, a fim de que os garfos da empilhadeira possam suspender-lo e transportá-lo.

Atualmente os sacos são armazenados em pallets nos armazéns. Para isso utiliza-se empilhadeiras. Nos armazéns refrigerados empilhadeiras elétricas, nos não climatizados empilhadeiras a gás. O embarque dos sacos é feito da seguinte forma: o conferente vai até o armazém e diz ao empilhador quais pallets ele deve carregar. O empilhador leva esses pallets até o pátio. No pátio, os saqueiros fazem esse carregamento. Eles o fazem da seguinte forma: colocam a *dala* (esteira rolante regulável) posicionada na caçamba do caminhão e começam o carregamento colocando saco por saco na dala, e essa leva os sacos até a caçamba do caminhão. No caminhão há dois saqueiros, presos por cinto de segurança, que recebem os sacos e vão acomodando-os.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**“A INFLUÊNCIA DO AMBIENTE NA PRODUÇÃO DE  
UVAS”**

**Eric Franchi Leonardo**

10/12

## ÍNDICE

1. Introdução.....	3
2. Influência do clima na videira.....	4
2.1. Insolação.....	6
2.2. Temperatura.....	7
2.3. Precipitação.....	9
3. Fenologia da videira.....	11
4. Aplicações da agrometeorologia na videira.....	12
4.1. Graus-dia.....	12
4.1.1. Índice biometereológico.....	13
4.1.2. Previsão de época de colheita.....	14
4.1.3. Estimativa do teor de sólidos solúveis.....	16
4.1.4. Zonas Agroclimáticas de maturação para produção de uvas de mesa.....	16
4.2. Uso de quebra-ventos.....	17
4.3. Efeitos microclimáticos do uso de diferentes coberturas mortas.....	18
4.4. Monitoramento agrometeorológico da irrigação.....	19
4.5. Estações de aviso para controle de doenças fúngicas.....	23
5. Referências bibliográficas.....	26

## 1. INTRODUÇÃO

A videira encontra-se entre as mais antigas plantas cultivadas pelo homem, que desde os primórdios de sua existência, já se alimentava dos frutos desta planta. Através da evolução de seus conhecimentos, o homem aprendeu a fabricar produtos a partir da uva, como o vinho, a passa, o suco etc.

A videira surgiu no período terciário, milhões de anos antes do aparecimento o homem, provavelmente na atual Groenlândia, conforme comprovam os achados arqueológicos. A partir daí as videiras primitivas foram se dispersando, seguindo em duas direções principais, uma américo-asiática e outra eurasiática (Sousa, 1996).

No período Quaternário originaram as atuais espécies americanas: *Vitis labrusca*, *V. vulpina*, *V. rupestris*, *V. aestivalis*, *V. rotundifolia*, *V. tiliacifolia*, *V. smalliana*, *V. lincecumii*, *V. cordifolia*, *V. berlandieri*, etc (Sousa, 1996). Nas duas grandes massas continentais do hemisfério Norte (América e Euroásia) encontra-se uma abundância de espécies.

A sistemática ou taxonomia vegetal permite colocar uma determinada planta em grupos ou taxões mais ou menos restritos até chegar a defini-la totalmente.

A classificação da variedade de videira “Itália” é a seguinte (Hidalgo, 1993):

Grupo: *Cormófitas* (planta com raiz, talo, folha e autotróficas)

Divisão: *Spermatophyta* (planta com flor e semente)

Subdivisão: *Angiospermae* (planta com semente dentro do fruto)

Classe: *Dicotyledoneae* (plantas com dois cotilédones, que dão origem às primeiras folhas)

Ordem: *Rhamnales* (plantas lenhosas com um só ciclo de estames situados dentro das pétalas)

Família: *Vitaceae* (flores com corola de pétalas soldadas na parte superior e de prefloração valvar, com cálice pouco desenvolvido, gineceu bicarpelar e bilocular, com fruto tipo baga)

Gênero: *Vitis* (flores exclusivamente diólicas nas espécies silvestres e hemafroditas ou unissexuais nas cultivadas)

Espécie: *Vitis vinifera*

Variedade: “Itália”

Na família Viataceae, o gênero *Vitis* é o único de importância econômica, social e histórica, sendo que a ele pertencem todas as videiras terrestres, quer sejam selvagens quer

sejam cultivadas. Nesta mesma família, o gênero *Cissus*, contendo aproximadamente 300 espécies, apresenta, no Brasil, alguns representantes de interesse ornamental, medicinal e frutífero, normalmente conhecidos por uva-do-mato e parreira-brava (Sousa, 1996).

A videira é cultivada em quase todas as partes do mundo, exceto em alguns locais que não oferecem um mínimo de condições climáticas (térmicas e hídricas) satisfatórias para seu desenvolvimento.

Pelo fato de ter folhas decíduas, a videira tem sido considerada como planta adaptada a regiões de clima temperado. Atualmente, porém, é cultivada em uma enorme diversidade de condições climáticas como, por exemplo, nos desertos da Califórnia onde temperaturas muito elevadas são comuns.

No Brasil, a videira é cultivada desde o extremo sul até o nordeste, em regiões anteriormente consideradas climaticamente inaptas. Com o emprego da irrigação, o Vale do Rio São Francisco na Bahia, além de extensas áreas em Minas Gerais e Pernambuco, tornou-se excelente região produtora de uva.

## **2. INFLUÊNCIA DO CLIMA NA VIDEIRA**

O clima através de seus elementos condiciona vários aspectos do cultivo da uva, para mesa ou vinho, sendo fator preponderante na duração do ciclo, na qualidade do produto, na fitossanidade e na produtividade da videira.

Nas regiões de clima bem definido, as fases do ciclo da planta acompanham as variações estacionais, com brotação ocorrendo na primavera e queda das folhas no outono.

A maioria dos autores que tem considerado a ecologia da videira, localizam-na numa larga faixa entre 52° N e 40° S. Nessa faixa tem sido encontrada em estado espontâneo ou cultivada, principalmente na região Mediterrânea, onde ela encontra melhores condições para seu desenvolvimento.

GALET (1983), avaliando as possibilidades de cultivo da videira em diferentes regiões ecológicas, afirmou que o clima do tipo mediterrâneo, caracterizado pelo verão seco e inverno chuvoso, que ocorre nas regiões entre os paralelos 30 a 39° N e 30 a 44° S apresenta as melhores condições para o desenvolvimento da videira, motivo pelo qual a maioria dos vinhedos mundiais são encontrados nesses limites.

A videira cresce e desenvolve-se melhor em regiões com verões longos e secos moderadamente quentes, e com invernos frios para satisfazer as necessidades de repouso vegetativo.

No zoneamento da aptidão ecológica das culturas no Estado de São Paulo, a videira foi incluída no grupo de frutíferas de clima temperado, mas com menores exigências de frio hibernal.

A videira européia (*Vitis vinifera*, L.) é originária do centro da Ásia Central, em regiões que possuem o clima típico mediterrâneo, e a videira americana (*Vitis labrusca*, L.) do continente norte americano em região temperada úmida do tipo Cfa da classificação de Köppen. Essas condições climáticas apresentam grande similaridade com as encontradas no planalto paulista. Por essa razão a videira americana encontra aptidão climática satisfatória em grande parte do referido planalto. As regiões que possuíam condições térmicas e hídricas satisfatórias apresentavam a temperatura média anual entre 17 e 22°C e o índice hídrico inferior a 100. Essas regiões abrangem quase toda a parte central e sul do planalto paulista, inclusive o Vale do Paraíba e do Ribeira de Iguape.

Em Santa Catarina, por meio do zoneamento agroclimático, a EMPASC (1978) identificou uma grande área compreendida pela região central, sendo considerada apta para o cultivo da videira americana, por ser relativamente a mais seca e mais fria do Estado.

O Estado do Rio Grande do Sul foi identificado como tendo o melhor conjunto de condições climáticas para a produção de vinhos finos a partir de variedades de *Vitis vinifera*. A região oeste-central fronteira com o Uruguai é a mais propícia para a produção de vinhos finos por apresentar durante o verão, umidade relativa inferior a 73%, temperatura média do mês mais quente inferior a 24°C e número satisfatório de horas de frio abaixo de 7°C. De acordo com WESTPHALEN (1976), o Rio Grande do Sul contribui com mais de 80% da produção nacional e deste total 80% corresponde à produção de variedades americanas e 20% de *Vitis vinifera*.

As zonas de maior produção da videira, caracterizadas com condições próximas ao ótimo localizam-se no sul do país, principalmente no Rio Grande do Sul e Santa Catarina. O excesso de chuvas no verão constitui-se no elemento desfavorável, que foi contornado pelos produtores através de técnicas e variedades diferentes do cultivo tradicional na Europa mediterrânea. Outro centro vitivinícola importante encontra-se em São Paulo, na região de Jundiaí e São Roque, que possui, também, excesso de chuvas no verão e temperaturas elevadas na primavera. Mais ao norte, Poços de Caldas (MG) logrou certo desenvolvimento devido às condições favoráveis de clima.

Atualmente, a videira tem sido cultivada com sucesso no Vale do São Francisco, nas proximidades de Petrolândia e Petrolina (PE), em clima semi-árido. O repouso vegetativo nessas regiões é dado pela época seca, e o manejo de irrigação, aliado ao clima quente,

permite ao viticultor obter duas colheitas sucessivas no mesmo ano.

Nessas regiões, não tradicionais de cultivo da videira, a viticultura surgiu como cultura alternativa de expressivo valor econômico. Ali o total anual de chuva é, em média, inferior a 500mm. Neste clima de alta temperatura e de baixa umidade relativa, só variedades de vinífera prosperam, e a irrigação é obrigatória. Nas vinhas próximas ao Rio São Francisco o descanso vegetativo da videira é obtido pela suspensão do fornecimento de água. Este fato possibilita aos viticultores produzir excelente uva de mesa em épocas em que a produção sulina é ausente no mercado. No entanto, não é apenas nas áreas semi-áridas do Vale Médio do São Francisco que a viticultura pode ser instalada, mas também no interior Pernambucano, Ceará, Paraíba e Rio Grande do Norte, áreas com idêntica feição climática.

## **2.1. INSOLAÇÃO**

A videira, por ser uma planta heliófila, é exigente em radiação solar, sendo que a falta de luz causa problemas, principalmente durante a floração e a maturação.

As videiras, por características próprias, possuem uma arquitetura foliar relativamente constante, que varia com a estação de crescimento. A forma e o tamanho do dossel dependem basicamente do tipo de condução e da poda. Portanto, a distribuição e quantidade de folhas interagem com a radiação solar para determinar a quantidade de energia disponível para a fotossíntese.

A radiação fotossinteticamente ativa (PAR), na faixa de 400 a 700 nm é fortemente absorvida e medições efetuadas em folhas da cultivar Shiraz mostram que 9% da PAR é transmitida, 6% refletida e 85% é absorvida.

Para a coloração das bagas e acúmulo de açúcar é necessário que o total de horas de insolação durante o período vegetativo seja em torno de 1200 a 1400 horas. Para uma concentração de açúcar de 24%, cerca de 4% é formada através de reservas da planta e 20% é sintetizado nas folhas, pela ação da luz solar no período de maturação das bagas.

Mesmo em verões chuvosos, existindo alta insolação da metade ao final da maturação e na época da colheita, o teor de açúcar é satisfatório. A maturação fica mais uniforme e a podridão das uvas é muito pequena.

O número de dias encobertos inferior a 30% do total, durante o período de crescimento, é favorável à cultura e para se obter uma boa colheita deve se ter o período, que vai da mudança da cor à maturação, bem ensolarado.

Essa exigência da videira quanto a dias ensolarados ou número de horas de insolação

(1200 a 1400) durante seu ciclo torna a maioria das regiões do país favoráveis ao cultivo da videira. No Quadro 1 são apresentados o número de horas de brilho solar em algumas regiões produtoras do país para duas estações, verão e inverno. O total de horas de insolação durante o verão (estação de crescimento) é superior ao exigido pela videira nas regiões do norte do Estado de São Paulo e no nordeste e sul do país.

Quadro 1. Horas de brilho solar em algumas regiões produtoras de uva no Brasil.

Local	Ano	Verão	Inverno
Petrolina (PE)	2845	1429	1419
Manga (MG)	2708	1222	1486
Jales (SP)	2524	1209	1316
Jundiaí (SP)	2315	1137	1178
São Miguel Arcanjo (SP)	2300	1130	1170
Bento Gonçalves (RS)	2278	1290	987

Fonte: MANDELLI (1984); DNMET (1992) e Arquivos da SCA/IAC.

## 2.2. TEMPERATURA

Durante a estação de crescimento, a maioria das árvores frutíferas exige temperaturas entre 10° e 30°C. No caso da videira, a produtividade é influenciada por temperaturas elevadas. Vários são os exemplos em que o número de cachos por ramo é positivamente influenciado pela ocorrência de temperaturas elevadas durante o desenvolvimento da brotação. A baixa produção devido à ocorrência de baixas temperaturas é devida à demora e à redução da indução ao florescimento e a temperatura tem efeito diferente no crescimento vegetativo da videira, porque o acúmulo de matéria seca é maior a 20°C e diminui sob temperaturas mais altas.

A temperatura atua de diversas formas na videira. Inicialmente, na instalação da dormência, onde são exigidas temperaturas inferiores a 20°C, podendo ser observadas anormalidades na evolução da cultura caso não ocorram. Para quebra da dormência e brotação são necessárias temperaturas entre 10° e 13°C, porém não superiores a 18°C. Nas demais fases da cultura, a temperatura do ar tem estreita relação com suas durações, sendo menores quanto maiores as temperaturas. A temperatura elevada durante o ciclo vegetativo antecipa a maturação da uva e influi no aumento do teor de açúcar na baga. Na fase de

desenvolvimento da baga a temperatura ideal está em torno de 22°C e, na fase de maturação, em torno de 27°C. Temperaturas acima dos 30°C podem provocar escaldadura nas bagas. No Quadro 2 são apresentados os valores limites de temperatura para as diferentes fases fenológicas da videira.

A temperatura do ar tem papel fundamental também na qualidade do fruto. Verifica-se que entre as isotermas de 10° e 16°C a videira (*Vitis vinifera*) vegeta bem e produz frutos de ótima qualidade, enquanto entre as isotermas de 16° e 21 °C ela se desenvolve com exuberância, com produção abundante, mas de qualidade inferior. Existem constatações de que isso também se aplica para uvas rústicas e finas de mesa, onde a qualidade se sobressai nas regiões do Estado de São Paulo em comparação a aquelas produzidas nas regiões mais quentes do Vale do São Francisco. Isso é explicado pelo fato de que a amplitude térmica e o comprimento do dia condicionam os processos de coloração, concentração de sólidos solúveis e de acidez do fruto. Dessa forma, nas regiões produtoras situadas nas baixas latitudes, os dias têm comprimento praticamente iguais à noite durante todo o ano e amplitude térmica menor do que as regiões produtoras situadas em altas latitudes (Quadro 3).

Quadro 2. Limites de temperatura do ar (°C) para as diferentes fases da videira. (Tb = temperatura-base inferior; To = temperatura ótima; TB = temperatura-base superior; TI = temperatura letal).

Fase fenológica	Tb	To	TB	TI
Brotação	8	10 a 13	18	-2,5
Des. vegetativo	10	15 a 25	39	-2,0
Florescimento	10	15 a 25	35	-1,0
Des. Da baga	10	15 a 25	35	-0,5
Maturação	14	20 a 30	35	-0,5

Fonte: NEMETH (1972); GALET (1983); PEDRO JÚNIOR et al. (1993);

Quadro 3. Amplitude térmica (°C) durante o ano nas principais regiões produtoras de uva no Brasil.

Mês	PET (PE)	MGA (MG)	JAL (SP)	JUN (SP)	SMA (SP)	BTG (RS)
Jan	7,5	9,5	11,4	11,1	11,2	11,0
Fev	9,2	9,9	11,4	11,0	11,1	10,7
Mar	10,2	10,4	12,0	11,4	11,4	10,4
Abr	9,3	9,3	13,5	12,2	12,0	10,4
Mai	9,8	10,6	14,4	12,9	12,6	9,8
Jun	9,5	10,8	14,7	13,2	13,0	9,6
Jul	11,8	8,9	15,6	14,0	13,7	9,9
Ago	11,1	11,5	16,7	14,6	14,3	10,7
Set	11,8	11,6	15,7	13,7	13,2	10,3
Out	11,7	10,4	14,0	12,5	12,4	10,6
Nov	11,1	9,3	13,1	12,2	12,3	11,5
Dez	10,6	9,3	11,7	10,9	11,0	11,7
Média	10,3	10,1	13,7	12,5	12,4	10,6

Fonte: MANDELLI (1984); DNMET (1992) e Arquivos da SCA/IAC.

### 2.3. PRECIPITAÇÃO

A viticultura desenvolvida em condições normais, sem irrigação, depende basicamente das chuvas, principalmente durante o período de desenvolvimento vegetativo. Em média, a quantidade necessária é da ordem de 240 a 300mm.

As videiras são consideradas resistentes à seca, qualidade essa devida ao seu sistema radicular ser capaz de penetrar no solo a grandes profundidades. As chuvas que ocorrem durante o desenvolvimento da cultura condicionam as taxas de crescimento, de alongação dos ramos e da área foliar.

A necessidade hídrica da videira varia de acordo com a fase de desenvolvimento, como pode-se observar no Quadro 4.

Quadro 4. Necessidade hídrica das principais fases da videira. Fases da videira

Fases da Videira	Nec. Hídrica (mm)
Brotação até início da floração	94
Floração até fecundação	25
Fecundação até início amadurecimento	135
Início do amadurecimento até maturação	130
Brotação até maturação	384

Fonte: GOBBATO (1940)

A videira adapta-se bem desde zonas onde o regime pluviométrico não ultrapassa 200mm, até aquelas mais úmidas, com mais de 1000mm anuais, variando somente a tecnologia de produção e os níveis de produtividade. No Brasil a cultura vem sendo conduzida desde regiões bastante úmidas até regiões secas do nordeste (Quadro 5), sendo neste último caso indispensável o emprego de irrigação suplementar.

Outro fator importante para a cultura, além do total de chuva, é a sua distribuição durante ano. Na Figura 2 são apresentados os extratos de balanço hídrico que representam a contabilização da água disponível no solo em função da sua entrada no sistema (chuva e irrigação) e de sua saída (evapotranspiração). Os excedentes hídricos mostram as épocas em que as quantidades de chuva foram superiores às consumidas pelos processos de evaporação de água do solo e transpiração pelas plantas, enquanto as deficiências hídricas identificam as épocas secas quando a água não está disponível para consumo da planta.

Bento Gonçalves (RS) é caracterizado pela ocorrência de excedentes hídricos durante o ano todo. A seguir encontram-se regiões intermediárias exemplificadas por São Miguel Arcanjo (SP) e Jundiaí (SP), onde os excedentes hídricos nos meses de abril a setembro são menores ou inexistentes. Indo para o Norte, Jales (SP) e Manga (MG), já apresentam deficiência hídrica principalmente nos meses de inverno; em Petrolina (PE) chega-se ao extremo com as deficiências hídricas ocorrendo durante todo o ano.

Esses diferentes tipos de balanço hídrico obrigam os viticultores a ter um manejo diferenciado para a cultura. Nas regiões produtoras onde as chuvas são freqüentes e intensas (excedente hídrico elevado) há favorecimento para a ocorrência de doenças fúngicas nas folhas e frutos, havendo necessidade de o produtor utilizar um maior número de pulverizações no seu controle.

Além disso, as chuvas de verão de origem convectiva, quando acompanhadas de granizo trazem grandes prejuízos à videira, danificando as folhas e os frutos, havendo, por muitas vezes, a necessidade do uso de cobertura com telado para proteção das plantas.

Nas regiões onde a ocorrência da deficiência hídrica é muito elevada, o produtor se vê obrigado a utilizar a irrigação como fonte suplementar de água para que a produtividade seja mantida em níveis econômicos.

Quadro 5. Precipitação média principais regiões produtoras de uva no Brasil.

Local – Estado	Precipitação (mm)
Petrolina - PE	393
Manga – MG	871
Jales – SP	1.211
Jundiaí – SP	1.413
São Miguel Arcanjo – SP	1.308
Bento Gonçalves - RS	1.604

Fonte: MANDELLI (1984); DNMET (1992) e Arquivos da SCA/IAC.

### 3. FENOLOGIA DA VIDEIRA

A videira apresenta uma sucessão de ciclos vegetativos, intercalados por períodos de repouso e locais que não permitem essa alternância têm limitado seu cultivo.

O ciclo da videira foi subdividido por GALET (1983) nos seguintes períodos: (a) de crescimento: da brotação ao fim do crescimento; (b) reprodutivo: da floração à maturação; (c) de amadurecimento dos tecidos: da paralisação do crescimento à maturação dos ramos; (d) vegetativo: do "choro" (exudação de seiva) à queda das folhas; (e) de repouso: entre dois ciclos vegetativos.

Segundo DIAS et al. (1982), em Bento Gonçalves (RS) o cultivar Semillon inicia a brotação no final de agosto e atinge a maturação no segundo decêndio de fevereiro. E em Caxias do Sul (RS) a brotação é iniciada no início de setembro e a colheita ocorre no final de fevereiro.

MANDELLI (1984) avaliou a duração do ciclo de onze cultivares de *vitis vinifera* existentes na Estação Experimental de Bento Gonçalves (MA/IPEAS) situada na microrregião homogênea MRH311 (Vinicultora de Caxias do Sul) e representou (Figura 3) o ciclo vegetativo médio, apresentando os meses de ocorrência de vários períodos do ciclo da

videira.

No Estado de São Paulo, PEDRO JÚNIOR et al. (1993) avaliaram o comportamento fenológico da videira 'Niagara Rosada' em diferentes regiões ecológicas considerando várias épocas de poda nos meses de julho a setembro. A duração dos estádios do ciclo vegetativo varia em função do local e da época de poda. O ciclo total variou de 116 dias para a época de poda de 1º de setembro, em Tiête e Mococa, até 199 dias para a época de poda de 15 de julho em São Roque, região mais fria. Para melhor visualização, são apresentadas na Figura 4 as durações dos estádios fenológicos da videira Niagara Rosada.

No caso da uva Itália, cultivada na região noroeste do Estado de São Paulo, para as primeiras podas feitas em março e colheita em julho, a videira necessita cerca de 150 dias para completar seu ciclo. Para exemplificar, são apresentados na Figura 5 o balanço hídrico de Jales (SP) e as fases fenológicas da videira Itália. De acordo com BOLIANI & PEREIRA (1995) as avaliações feitas em videira cv. Rubi e Itália na região de Jales (SP) permitiram verificar que os estádios de desenvolvimento: gema-algodão; brotação e início de lignificação dos ramos demoram respectivamente 10, 18 e 72 dias após a poda realizada em outubro.

Nas regiões Norte e Oeste do Paraná, onde nenhum mês do ano apresenta temperatura média inferior a 15°C, compreendendo os vales dos rios Paranapanema e Paraná e seus afluentes, as videiras 'Itália' e 'Rubi' completam o ciclo produtivo (brotação-maturação) em 120-140 dias, sendo necessários 35-45 dias entre a brotação e a floração e 85-95 dias entre a floração e a maturação. Na viticultura tradicional a poda é executada no período de repouso ou no início da brotação (julho-agosto), porém, no norte do Paraná, a videira pode ser podada praticamente em qualquer mês do ano, dependendo da época em que se pretende colher a uva.

No Vale do São Francisco, decorrem 120 dias entre a época de poda e a colheita, e a tendência dos viticultores é podar em janeiro para colher em abril e tornar a podar em julho para fazer a segunda colheita em outubro. Esse programa possibilita a produção de uva de mesa em épocas diferenciadas da produção do sul. Em Petrolina (PE) onde se cultiva a 'Itália' é utilizado o sistema de manejo de irrigação e de duas podas e a colheita é feita 130 dias após a poda.

## **4. APLICAÇÕES DA AGROMETEOROLOGIA NO CULTIVO DA VIDEIRA**

### **4.1. GRAUS-DIA**

Todo vegetal necessita uma quantidade constante de energia para completar as diferentes fases de seu ciclo de desenvolvimento. Essa quantidade de energia é, normalmente, expressa em graus-dia (GD), que é a diferença acumulada entre a temperatura média ambiente e a temperatura-base (valor abaixo do qual não ocorre desenvolvimento).

A caracterização das exigências térmicas da videira, através de graus-dia, tem sido amplamente utilizada. O conceito de graus-dia, apesar de suas limitações, tem sido usado para avaliar a duração do ciclo da videira e a produção. ALMEIDA (1972) considera que devem ser indicadas, para o cultivo da uva de mesa, as regiões com temperaturas mais elevadas onde mais rapidamente se atingem as somas térmicas necessárias para cada cultivar completar seu ciclo.

Na viticultura brasileira, MANDELLI (1984) caracterizou a potencialidade climática da região de Bento Gonçalves (RS) e determinou para variedades viníferas uma necessidade média de 1350 GD.

Em Santa Catarina, WESTPHALEN (1980), para selecionar regiões mais favoráveis ao cultivo de uvas de vinho e de mesa, estabeleceu que acima de 2300 GD as regiões são toleradas para o cultivo de uva para vinho e preferenciais para uvas de mesa. A temperatura-base utilizada foi 10°C.

No Estado de São Paulo, mais especificamente em Jundiaí na região produtora de 'Niagara Rosada', PEDRO JÚNIOR et al. (1994a) avaliaram o total médio de graus-dia para o desenvolvimento da videira desde a poda até a colheita como sendo de 1549, utilizando a temperatura-base de 10°C.

Para a cultura da videira as temperaturas-base e os graus-dia necessários foram resumidos, para fins práticos, no Quadro 6.

Quadro 6. Valores de temperatura-base (Tb) e graus-dia (GD) para a videira.

Variedade	Tb (° C)	GD
Niagara Rosada	10	1550
Itália	10	1990
Vitis vinifera	12	1350

Fonte: MANDELLI (1984); PEDRO JUNIOR et al. (1994a); BOLIANI & PEREIRA (1996)

#### 4.1.1. ÍNDICE BIOMETEOROLÓGICO

Para melhor caracterização das exigências climáticas da videira pode ser utilizado 0

conceito de Índice Biometeorológico, que associa aos graus-dia os efeitos conjuntos da insolação e precipitação.

Na região de Jundiaí (SP), trabalhando com videira 'Niagara Rosada', PEDRO JÚNIOR et al. (1994a) desenvolveram o seguinte modelo matemático para o índice biometeorológico:

$$IB = \sum GD_{10} + 0,4 \sum I$$

em que IB = índice biometeorológico;  $GD_{10}$  = graus-dia com temperatura base igual a 10°C e I = número de horas de insolação.

O indicador numérico (1945) é o valor médio do índice biometeorológico acumulado diariamente, necessário para que a videira 'Niagara Rosada' complete o ciclo, desde a poda até a colheita.

#### 4.1.2. PREVISÃO DA ÉPOCA DE COLHEITA

A previsão da época de maturação ou de colheita é importante ferramenta para o viticultor no planejamento de suas atividades e para os órgãos governamentais no sentido de ter conhecimento da safra e do sistema de comercialização.

Dentre os fatores que influenciam a duração do ciclo da videira desde a poda até a colheita, a temperatura do ar mostrou-se como um dos principais.

Os métodos de previsão da época de maturação da videira mais utilizados baseiam-se no acúmulo de graus-dia. O emprego dessa metodologia possibilita o planejamento das épocas de poda e previsão de data de colheita, baseando-se em dados climáticos (temperatura do ar) médios da região.

Como exemplo, foi simulada a época de poda da uva Itália em O1/O5, para diferentes regiões produtoras e, baseando-se no cálculo da data de ocorrência do acúmulo de 1660 GD ( $T_B = 10^\circ\text{C}$ ), são apresentados no Quadro 7 a provável data de colheita e a duração do ciclo. Pode-se observar que, nas regiões com temperatura elevada (PE e MG), a duração do ciclo da videira é mais curto permitindo duas safras por ano (Quadro 8). Nas regiões mais frias, devido ao ciclo ter maior duração, só é possível efetuar-se uma safra por ano.

O método dos graus-dia permite ainda um planejamento escalonado da produção. No Quadro 9 são apresentadas as prováveis datas de colheita para diferentes épocas de poda da videira 'Niagara Rosada' ( $GD_{10} = 1550$ ), em função das condições climáticas da região de Jundiaí (SP).

Quadro 7. Previsão da data de colheita de uva Itália, para diferentes regiões produtoras, baseada em graus-dia ( $GD_{10} = 1660$ ).

Local	Data da poda	Previsão da data de colheita	Duração do ciclo (dias)
São Miguel Arcanjo, SP	01/05	12/11	196
Jales, SP	01/05	19/09	142
Manga, MG	01/05	04/09	127
Petrolina, PE	01/05	22/08	114

Quadro 8. Planejamento de duas safras de uva Itália em Manga (MG), em função de graus-dia ( $GD_{10} = 1660$ ).

Data da Poda	Previsão da data de colheita	Duração do ciclo (dias)
01/05	04/09	127
01/11	15/02	107

Quadro 9. Planejamento escalonado da colheita de uva 'Niagara Rosada' em Jundiá (SP), baseado em graus-dia ( $GD_{10} = 1550$ ).

Data da poda	Provável data de colheita	Duração do ciclo (dias)
01/07	04/12	157
15/07	13/12	150
01/08	21/12	143
15/08	01/01	138
01/09	10/01	132
15/09	20/01	127

A duração do ciclo da 'Niagara Rosada' é menor para as podas mais tardias por coincidir o desenvolvimento da videira com os meses mais quentes.

Além disso, existem métodos mais dinâmicos que permitem previsões de data de colheita, baseados no acúmulo de graus-dia através de dados diários de temperatura do ar durante o ano de produção. Para a videira 'Niagara Rosada' (PEDRO JÚNIOR et al., 1994b) é possível a previsão da data de colheita com 42 dias de antecedência da seguinte maneira:

$$\text{Data colheita} = \text{data de 1000 GD} + 42 \text{ dias}$$

em que Data colheita é a data provável da realização da colheita; e data de 1000 GD é a data de acúmulo de 1000 GD<sub>10</sub> a partir da data da poda.

#### **4.1.3. ESTIMATIVA DO TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS**

O conhecimento do estágio de maturação da uva é importante para o planejamento da colheita e um dos fatores que mais influem no acúmulo de açúcares é o clima.

A estimativa do teor de sólidos solúveis baseada em dados meteorológicos pode ser feita para videira 'Niagara Rosada' por meio da equação (PEDRO JÚNIOR. et al., 1997):

$$\text{BRIX} = -13,2 + 0,0137 * \text{GD}_{10} + 0,0066 * \text{CHUVA}$$

que BRIX é a estimativa do teor de sólidos solúveis (°Brix); GD<sub>10</sub> o total de graus-dia temperatura-base de 10°C; e CHUVA o total de chuva (mm).

As variáveis meteorológicas GD<sub>10</sub> e CHUVA são acumulados a partir da data de poda e a equação acima permite estimativas com acerto de 1,5°BRX em 80% dos casos.

É conveniente lembrar que não foram considerados os efeitos, na produção de açúcares, de fatores culturais e da fertilidade do solo que, embora importantes, são de difícil utilização em equações de estimativa.

#### **4.1.4. ZONAS AGROCLIMÁTICAS DE MATURAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE UVAS DE MESA**

Utilizando o conceito dos graus-dias SENTELHAS & PEREIRA (1997) determinaram equações de estimativa da duração do ciclo das uvas 'Niagara Rosada', Itália e Rubi, para o Estado de São Paulo. Essas equações são as seguintes:

- a) 'Niagara Rosada'

Poda em Agosto:  $Dp-m = -44,47 + 6,02 * LAT + 0,078 * ALT$

Poda em Setembro  $Dp-m = -3,97 + 3,77 * LAT + 0,078 * ALT$

#### b) Itália e Rubi

Poda em Março:  $Dp-m = -91,19 + 10,09 * LAT + 0,117 * ALT$

Poda em Maio:  $Dp-m = -46,25 + 8,89 * LAT + 0,091 * ALT$

em que Dp-m é a duração da poda à maturação, em dias; LAT a latitude em graus e décimos e ALT a altitude do local em metros.

Essas equações possibilitam de antemão aos agricultores conhecer o ciclo médio das videiras em diferentes regiões do Estado de São Paulo, servindo essas informações de subsídio ao planejamento da cultura, principalmente para localidades que carecem de dados climáticos.

Como exemplo, para uma localidade situada na latitude de 20°30'S e a uma altitude de 400m, teríamos para a uva Itália a seguinte Dp-m para a poda de março:

$$Dp-m = -91,19 + (10,09 * 20,5) + (0,117 * 400)$$

resultando em um ciclo de 162 dias. Desse modo, se a poda fosse feita no dia 15 de março, a maturação se daria, em média, no dia 24 de agosto.

## 4.2. USO DE QUEBRA-VENTOS

A ocorrência de ventos tem sido um problema para os viticultores nas diferentes regiões produtoras do país.

A influência dos ventos é notada por danificar brotos novos, arrancando-os da planta ou causando danos físicos nos tecidos vegetais por fricção.

Além disso, outros efeitos prejudiciais do vento como maior perda de água e aumento de áreas necrosadas nas folhas por esfregadura podem provocar reduções na produção.

Esses problemas podem ser amenizados através do uso de quebra-ventos. Avaliações feitas nos cultivares Ribier e Itália, mostraram o efeito benéfico do uso do quebra-ventos com 4m de altura, com 40% de permeabilidade e perpendicular à direção dos ventos

predominantes na região oeste da Austrália. O vento causou redução na condutância estomatal, principalmente para velocidades superiores a 3,5m/s. Ocorreu aumento de produtividade principalmente devido aumento no peso das bagas da ordem de 14 a 23%.

Na identificação de regiões com condições climáticas para a produção de vinhos finos no Rio Grande do Sul, sugeriu-se a utilização de métodos de proteção contra ventos fortes em vinhedos da região.

Vários artifícios podem ser adotados para reduzir o efeito prejudicial dos ventos, por exemplo evitando as faces do terreno mais batidas pelo vento frio, que no sul do país é normalmente da direção SE ou instalando quebra-ventos de renque, de cercaduras ou de arborização intercalar.

Os quebra-ventos são constituídos de faixas ou renques de capim elefante ou árvores dispostas em direção perpendicular à ação do vento predominante. Também têm sido utilizados no nordeste quebra-ventos de sombrite.

Os quebra-ventos mais eficientes são aqueles rarefeitos que permitem a passagem de certa porção de vento e protegem áreas bem mais extensas. Quando os quebra-ventos são compactos, ou seja, densos, desenvolve-se do lado oposto à incidência dos ventos uma forte turbulência que provoca a descida rápida das correntes aéreas para a proximidade do solo, reduzindo o efeito protetor.

Os quebra-ventos devem ter as seguintes características: serem eretos e moderadamente permeáveis, de forma a permitir a passagem de pouco menos da metade do fluxo de vento através da folhagem ou do material usado e desviar a outra parte para cima do quebra-ventos. Dessa forma, pode-se obter considerável redução da velocidade do vento, na base de 50%, em uma faixa de cerca de 10 a 15 vezes a altura do quebra-ventos.

#### **4.3. EFEITOS MICROCLIMÁTICOS DO USO DE DIFERENTES COBERTURAS MORTAS EM VIDEIRA**

Na região de Jundiá e municípios vizinhos, é prática comum o uso de cobertura morta com capim gordura (*Melinis minutiflora*) cortado, chamada de "forro". As vantagens são: proteção contra a erosão do solo; manutenção da umidade e controle das ervas daninhas e incorporação de matéria orgânica. O problema para o viticultor consiste na manutenção de uma capineira que tenha área equivalente a de seu vinhedo.

Segundo POMMER et al. (1991), a busca de alternativas para substituição ao capim gordura tem sido grande. Os autores testaram para a 'Niagara Rosada' os seguintes tipos de

cobertura: a) solo capinado; b) "forro" com 20-40 cm de capim gordura; c) plástico preto opaco de 50 micra de espessura; d) manta de poliéster; e) bagaço de cana.

Esses materiais influenciam a temperatura do solo, o tratamento mantido capinado apresentou temperaturas médias mensais do solo na faixa de 12° a 14°C nos meses de inverno e de 23° a 25° nos de verão.

A cobertura com bagaço de cana mostrou as maiores variações entre as temperaturas 12,5°C em julho e 31,5°C em janeiro. Comportamento semelhante teve o "forro" (capim). A manta mostrou-se mais efetiva em manter a temperatura do solo mais elevada nos meses de inverno e menos elevada durante o verão. O plástico teve comportamento semelhante ao da manta.

Os dois materiais orgânicos (forro com capim e bagaço de cana) apresentam a vantagem do custo da aquisição relativamente baixo e da incorporação da matéria orgânica no solo. Porém, o custo de transporte e da aplicação são elevados.

No caso do plástico e da manta, ambos possuem custo inicial mais elevado, mas são de fácil aplicação. A manta, no entanto, apresenta a vantagem de permitir a infiltração da água das chuvas.

Essas alternativas de cobertura morta para a videira mostraram-se viáveis por serem eficazes no controle de ervas daninhas e semelhantes na eficiência, não influenciando a produção de uvas.

#### 4.4. MONITORAMENTO AGROMETEOROLÓGICO DA IRRIGAÇÃO

Nas regiões onde o repouso da videira é condicionado pelo estresse hídrico, principalmente na Bahia, Minas Gerais, Pernambuco e Noroeste do Estado de São Paulo, o emprego da irrigação torna-se indispensável para que níveis econômicos de produtividade sejam alcançados. A determinação de quanto e quando irrigar a cultura da videira, nesses casos, é de fundamental importância, porque isso evitará irrigações desnecessárias, economizando água e energia e afastando problemas com a salinização do solo.

Para o monitoramento agrometeorológico da irrigação são necessárias algumas determinações:

**a) Capacidade de água disponível no solo (CAD)**, baseada em parâmetros físicos do solo, como: capacidade de campo (CC); ponto de murcha permanente (PMP); densidade global (dg) e profundidade efetiva do sistema radicular da cultura da videira (h). A CAD é

determinada através da seguinte equação:

$$CAD = (CC - PMP) / 10 * dg * h$$

Exemplo: CC = 22% PMP = 10% dg = 0,93 g/cm<sup>3</sup> h = 6

$$CAD = (22 - 10) / 10 * 0,93 * 60 \quad CAD = 67 \text{ mm}$$

Para fins práticos, caso o viticultor não disponha de tais dados, a avaliação da CAD pode ser feita da seguinte forma:

\*solos arenosos : 1,0 mm/cm de profundidade do solo

\*solos argilosos: 1,2 mm/cm de profundidade do solo

**b) Água facilmente disponível (AFD):** água que pode ser retirada do solo pela planta sem que ela sofra estresse hídrico. É uma porcentagem da CAD (p):

$$AFD = CAD * p$$

Para a cultura da videira, o valor de p é, em média, igual a 0,4. Dessa forma, no exemplo acima, a AFD será:

$$AFD = 67 * 0,4 = 27\text{mm}$$

**c) Evapotranspiração potencial (ETP):** demanda hídrica pela evaporação de água do solo e pela transpiração das plantas, em uma superfície gramada e sem restrição hídrica. Ela pode ser estimada em função da:

- temperatura média do ar (Tmed) e da radiação solar no topo da atmosfera (RS) (CAMARGO, 1971):

$$ETP = T_{med} * RS * 0,01 * n$$

em que n é o período considerado.

-vaporação do tanque Classe A:

$$ETP = E_v * K_p$$

em que  $E_v$  é a evaporação medida no tanque Classe A e  $K_p$  é o coeficiente de tanque (fator de correção que varia em função do tamanho da bordadura de grama, da umidade relativa e da velocidade do vento).

**d) Evapotranspiração máxima da cultura (ETM):** é a demanda hídrica máxima de uma cultura em suas diferentes fases. A ETM é função da ETP e de um coeficiente de cultura ( $K_c$ ) variável com a fase de desenvolvimento (Quadro 10):

$$ETM = ETP * K_c$$

Quadro 10. Coeficientes de cultura ( $K_c$ ) para a videira.

Fase de desenvolvimento	Valores do $K_c$
Período inicial (Brotação)	0.5
Desenvolvimento vegetativo	0.8
Floração	0.9
Formação do cacho	0.8
Maturação	0.7

Fonte: Adaptado de DOOREMBOS & KASSAM (1979)

**Exemplo 1:****Local:** Jales, SP      **Ano:** 1985      **CAD** = 67 mm      **AFD** = 27mm**Cultura:** Uva Itália      **Data da poda:** 1º de maio

<i>Mês</i>	<b>Dec</b>	<b>Tmed</b>	<b>ETP</b>	<b>Kc</b>	<b>ETM</b>	<b>P</b>	<b>P-ETM</b>	<b>ARM<sub>i</sub></b>	<b>ARM<sub>f</sub></b>	<b>I</b>
<b>MAI</b>	1	21.6	23	0.5	12	32	+20	67	67	-
	2	21.3	21	0.5	11	0	-11	67	56	-
	3	22.3	21	0.8	17	21	+4	56	60	-
<b>JUN</b>	1	15.2	14	0.8	11	12	+1	60	61	-
	2	20.0	18	0.8	14	0	-14	61	47	-
	3	22.4	20	0.8	16	0	-16	47	31	-
<b>JUL</b>	1	20.0	19	0.9	17	7	-10	31	21	-
	2	18.7	18	0.9	16	0	-16	21	51	46
	3	20.7	21	0.9	19	0	-19	51	32	-
<b>AGO</b>	1	23.7	25	0.9	23	0	-23	32	9	-
	2	22.2	25	0.8	20	0	-20	9	47	58
	3	24.7	30	0.8	24	0	-24	47	23	-
<b>SET</b>	1	24.0	31	0.8	25	10	-15	23	52	44
	2	23.9	32	0.7	22	0	-22	52	30	--
	3	23.8	34	0.7	24	5	-19	30	48	37

em que Dec é o decênio, ou seja, período de 10 dias; P é a precipitação (mm); ARM<sub>i</sub> é o armazenamento de água no solo no início do decênio; ARM<sub>f</sub> é o armazenamento de água no solo no final do decênio; e I a irrigação efetuada

**Exemplo 2:****Local:** Jales, SP      **Ano:** 1978      **CAD** = 67 mm      **AFD** = 27mm**Cultura:** Uva Itália      **Data da poda:** 1º de maio

<i>Mês</i>	<b>Dec</b>	<b>Tmed</b>	<b>ETP</b>	<b>Kc</b>	<b>ETM</b>	<b>P</b>	<b>P-ETM</b>	<b>ARM<sub>i</sub></b>	<b>ARM<sub>f</sub></b>	<b>I</b>
<b>MAI</b>	1	21.8	23	0.5	12	0	-12	67	55	-
	2	22.6	24	0.5	12	50	+38	55	67	-
	3	19.0	18	0.8	14	103	+89	67	67	-
<b>JUN</b>	1	19.9	18	0.8	14	31	+17	67	67	-
	2	21.4	19	0.8	15	0	-45	67	52	-
	3	21.8	20	0.8	16	0	-16	52	36	-
<b>JUL</b>	1	22.2	21	0.9	19	0	-19	36	17	-
	2	20.8	20	0.9	18	26	+8	17	67	50
	3	22.6	23	0.9	21	104	+83	67	67	-
<b>AGO</b>	1	22.7	24	0.9	22	0	-22	67	45	-
	2	19.1	21	0.8	17	0	-17	45	28	-
	3	22.4	27	0.8	22	0	-22	28	45	39
<b>SET</b>	1	21.8	28	0.8	22	14	-8	45	37	-
	2	23.3	31	0.7	22	15	-7	37	30	-
	3	24.1	34	0.7	24	28	+4	30	34	-

em que Dec é o decêndio, ou seja, período de 10 dias; P é a precipitação (mm); ARM<sub>i</sub> é o armazenamento de água no solo no início do decênio; ARM<sub>f</sub> é o armazenamento de água no solo no final do decênio; e I a irrigação efetuada.

#### **4.5. ESTAÇÕES DE AVISO PARA CONTROLE DE DOENÇAS FÚNGICAS EM VIDEIRA**

Um dos principais problemas que afetam a produtividade e elevam o custo de produção da videira são as doenças fúngicas.

Com o intuito de racionalizar a aplicação de fungicidas para controle de doenças, têm sido desenvolvidos, em vários países, sistemas de estações de aviso (ou de alerta) com postos estrategicamente distribuídos para monitorar o estágio de desenvolvimento da cultura e a ocorrência de doenças, além de efetuar medições de elementos agrometeorológicos como: temperatura e umidade do ar; duração do período de molhamento e chuva.

Com a introdução do míldio da videira em 1878 na França, foram efetuadas pesquisas relativas aos problemas fitossanitários da parreira e em 1898 foi fundada a primeira estação avisos fitossanitários, na cidade de Cadillac, logo seguida por uma segunda em Montpellier.

Estas estações de aviso têm sido muito utilizadas nas regiões européias produtoras da videira para controle do míldio. Esses serviços são utilizados nas comarcas da Espanha onde se utilizam de dados meteorológicos (umidade e temperatura) e do desenvolvimento da cultura como condicionantes do ataque da doença. O desenvolvimento do fungo *Plasmopara viticola* realiza-se com temperaturas entre 15° e 25°C e a germinação processa-se com a presença de água nas folhas, o que ocorre naquelas regiões desde que a umidade relativa do ar esteja entre 85 e 95%. Para o aviso de necessidade de pulverização são necessárias as seguintes condições: brotos com 7 a 10 cm de altura; temperatura do ar superior a 10°C e chuva de 10mm ocorridas em dois ou três dias consecutivos.

Na Argentina, a aplicação de um serviço de avisos na zona produtora de San Nicolas utiliza dados de temperatura e umidade e sua influência na duração do período de frutificação.

No Brasil, ZALHER et al. (1991), analisando a previsão agrometeorológica no controle de doenças e pragas vegetais no Rio Grande do Sul, citam que, se o ponto de orvalho for maior que 12°C, pode-se esperar um ataque de míldio. A previsão da necessidade de pulverização é feita de maneira semelhante à utilizada na Espanha. Ainda, relatam que as pulverizações recomendadas para o controle da antracnose são, via de regra, insuficientes para o controle do míldio.

Na região de Jundiaí (SP), estão sendo testados sistemas agrometeorológicos para previsão de épocas de pulverização para controle de antracnose, míldio e mancha das folhas em videira 'Niagara Rosada'.

Um dos sistemas leva em consideração pulverizações fixas, baseadas no estágio de desenvolvimento da planta, e variáveis, baseadas em condições climáticas.

As pulverizações fixas são:

- a) ramo com 10 a 20 cm de altura;
- b) pré-florescimento;
- c) florescimento;
- d) pós-florescimento / chumbinho;
- e) fase de grão de ervilha;
- f) vinte dias antes da colheita.

As pulverizações variáveis são efetuadas nas fases compreendendo: a) brotação até

ramo com 10 a 20 cm de altura;. b) do grão de ervilha até 20 dias antes da colheita. Nessas fases as pulverizações são efetuadas quando da ocorrência de chuvas ou orvalho forte por três dias consecutivos.

Para facilitar a decisão do viticultor sobre a realização da pulverização, também está sendo testado o sistema pluviométrico e resultados promissores foram encontrados em se efetuar a pulverização após a ocorrência de um total de 20 a 30mm de chuva em um período de 10 dias.

Um sistema de estações de aviso nas regiões produtoras depende de ações governamentais, porém, o monitoramento diário, no nível de propriedade pelo viticultor, é que determinará o sucesso da utilização de técnicas agrometeorológicas para previsão de época de pulverização para controle de doenças fúngicas na videira.

## 5. LITERATURA CONSULTADA

- ALFONSI, R.R.; PEDRO JÚMOR, M.J.; ARRUDA, F.B.; ORTOLANI, A.A.; CAMARGO, B. P.; BRUNINI, O. Métodos agrometeorológicos para controle da irrigação. Campinas, Instituto Agrônômico, 1990, 62p. (Boletim Técnico nº133).
- ALMEIDA, J.L.F. Possibilidades de produção de uva de mesa em Moçâmedes e em Roçadas. Angola, Instituto de Investigação Agronômica de Angola. 19p., 1972.
- BERTON, O & MELZER R. Sistema de alerta para o controle da sarna da macieira. Florianópolis, EMPASC. 75p. 1989.
- BOLIANI, A.P. & PEREIRA, F.M. Avaliação fenológica das videiras *Vitis vinifera* L. (cvs. Itália e Rubi) para as podas de renovação realizadas na região oeste do Estado de São Paulo. 1995. (no prelo)
- BOLIANI, A.P. & PEREIRA, F.M. Avaliação fenológica e exigência térmica de videiras *Vitis vinifera* L. cv. Itália e cv. Rubi para a poda de produção na região oeste do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14. Resumos... Curitiba, p.401. 1996.
- BUTTROSE, M.S. Climatic factors and fruitfulness in grapevines. **Horticultural Abstracts**, 44(6):319-326. 1974.
- CAMARGO, A.P. Balanço hídrico no Estado de São Paulo. Campinas, Instituto Agrônômico, 1971. 24p. (Boletim Técnico nº116, 3ª ed.).
- CAMARGO, A. P. Apontamentos de Agrometeorologia - 1º Caderno. Faculdade de Agronomia e Zootecnia "Manoel Carlos Gonçalves" Fundação Pinhalense de Ensino. 103p. 1975. Apostila mimeografada.
- CAMPBELL-CLAUDE, J. The effect of wind on table grape production. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TABLE GRAPE PRODUCTION. Anaheim. **Proceedings...** Anaheim, American Society for Enology and Viticulture, 1994. p.171-1

- CHIARINI, J.V.; DONZELLI, P.L.; BARBIERI, J.L.; CAMARGO, A.P.; PEDRO JR., M.J.; BRUNINI, O.; ALFONSI, R.R.; ORTOLANI, A.A.; PINTO, H.S. Zoneamento Agrícola do Estado de São Paulo. Vol.2, 131p. 1977.
- DIAS, M.F.; CAMARGO, U.A.; LOVATEL, J.L.; MANDELLI, F. A cultivar de videira Semillon: características e comportamento no Rio Grande do Sul. Bento Gonçalves EMBRAPA/UEPAE (Série Circular Técnica, 8) 35p. 1982.
- DNMET - Departamento Nacional de Meteorologia. **Normais Climatológicas (1961-1990)**. Brasília, SPI/EMBRAPA. 84p. 1992.
- DOOREMBOS, J. & KASSAM, A.H. Yield response to water. FAO, Rome. Irrigation and Drainage Paper nº 33, 1979. 193p.
- EMPASC - Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária. Zoneamento agroclimático do Estado de Santa Catarina. Resumo. Porto Alegre. Ed. Pallotti, 1978. p.59-67.
- FORTUGNO, C. & BARREIRO, M. Aplicacion de un servicio de advertencias para combatir la peronospora de la vid en la Zona de San Nicolas. IDIA, Mendoza, nº227, p.9-16, 1966.(Informe Técnico nº3).
- GALET, P. **Précis de viticulture**. 48ed. Montpellier, Imprimerie Déhan. 584p. 1983.
- GOBBATO, C. **Manual do viticultor brasileiro**. Porto Alegre, Livraria Globo. 1º Vol. 422p. 1940.
- HERNANDEZ, J.M. Los servicios comarcales de avisos en la lucha contra el mild de la vid. **Hojas Divulgadoras**, nº5-63H. Madrid. Ministério de Agricultura. 1963. 23p.
- HIDALGO, L. Equivalentes meteorológicos de la vid. **INIA**. Madrid 16:175-209, 1956.
- HIDALGO, L. Caracterización macrofísica del ecosistema medio-planta en los viñedos españoles. **INIA**. Madrid, 29:1-255, 1980.

- HIDALGO, L. Tratado de viticultura geral. Madrid: Mundi-Prensa. Cap. 4: La vid, p.64-79, 1993.
- KISHINO, A.Y. & MASHIMA, M. Uva (*Vitis vinifera*, L.). In: Manual Agropecuário para o Paraná. Vol.3, Capítulo 7, p.139-176, 1980.
- MANDELLI, F. Comportamento fenológico das principais cultivares de *vitis vinifera*, L. para a região de Bento Gonçalves, RS. Tese de Mestrado, ESALQ/USP, 1984, 125p.
- McINTYRE, G.N.; KLIOWER, W.M.; RIDER, L.A. Some limitations of the degree day sistem as used in viticulture in California. **American Journal of Enology and Viticulture**, 38(2):128-132. 1987. 1
- MOTA, F.S. Identificação da região com condições climáticas para produção de vinhos finos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 27(5):687-694. 1992.
- NEMETH, M. Caractéristiques écologiques des cépages et des vignobles – Hongrois. **Bulletin de l'Office Internat. de la Vigne e du Vin. Paris**, 45:25-43, 1972.
- PEDRO JÚNIOR, M.J.; SENTELHAS, P.C.; POMMER, C.V.; MARTINS, F.P.; GALLO, P. B.; SANTOS, R. R.; BOVI, V.; SABINO, J. C. Caracterização fenológica da videira 'Niagara Rosada' em diferentes regiões paulistas. **Bragantia**, Campinas, 52(2):153-160, 1993.
- PEDRO JÚNIOR, M.J.; SENTELHAS, P.C.; POMMER, C.V.; MARTINS, F.P. Determinação da temperatura-base, graus-dia e índice biometeorológico para a videira 'Niagara Rosada'. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, 2(1):51-56, 1994a.
- PEDRO JÚNIOR, M.J.; SENTELHAS, P.C.; MARTINS, F.P. Previsão agrometeorológica da data de colheita para a videira 'Niagara Rosada'. **Bragantia**, Campinas, 53(1): 113-119,1994b.

- PEDRO JÚNIOR, M.J.; POMMER, C.V.; MARTINS, F.P. Curvas de maturação e estimativa do teor de sólidos solúveis para a videira 'Niagara Rosada' baseada em dados meteorológicos. **Bragantia**, Campinas, 1997. (no prelo).
- PIRES, E.J.P.; PASSOS, I.R.S.; TERRA, M.M.; MARTINS, F.P. A expansão da viticultura no Brasil. **O Agrônomo**, Campinas, 38(2):139-144, 1986.
- PIZZOL, R. Dal. A viticultura no Vale do Rio São Francisco. **Revista do vinho**, 1(2):33-37, 1987.
- POMMER, C.V.; PEDRO JÚNIOR, M.J.; MARONI, L.G.; PIRES, E.J.P.; TERRA, M.M.; MARTINS, F.P.; PASSOS, I.R.S. Alternativas para cobertura morta em videira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, 13(4):217-225, 1991.
- REDONDO, A.L. El año meteorológico y la cosecha de 1976 en Rioja. **La Semana Vitivinícola**, Valencia, p.611-615, 1977.
- ROSA FILHO, T.P. Competição de métodos para aumentar o teor de açúcar nas uvas amadurecidas sob condições chuvosas e de baixa luminosidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2. **Anais...**, Viçosa (MG), Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2:502-512, 1973.
- SANTOS, R.S.B. Fitoclimograma esquemático de videira no Brasil. **Revista Brasileira Geografia**, Abril-Junho, 1966. p.17-31.
- SENTELHAS, P.C. & PEREIRA, A.R. Zonas agroclimáticas de maturação para a produção de uvas de mesa no Estado de São Paulo, Brasil. In: REUNIÓN ARGENTINA Y LATINOAMERICANA DE AGROMETEOROLOGÍA, 7/1. **Actas...**, Buenos Aires (Argentina): Asociación Argentina de Agrometeorología, Sesión 1: 17-18. 1997.
- SMART, R.E. Sunlight interception by vineyards. **American Journal of Enology and Viticulture**, 24(4):141-147, 1973.

- SMART, R.E. Principles of grapevine canopy microclimate manipulation with implications for yield and quality. A review. **American Journal of Enology and Viticulture**, 36(3): 230-239, 1985.
- SOUSA, J. S. I. de. **Uvas para o Brasil**. 2.ed.ver.aum. Piracicaba: FEALQ, 791p, 1996.
- TERRA, M.M. Tecnologia para produção de uva Itália na região noroeste do Estado de São Paulo. Campinas, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 1993, 51p. (Documento Técnico, 97).
- TURMANIDZE, T.I. Report on the effect of agrometeorological parameters on viticulture in countries of eastern europe. World Meteorological Organization, CAgM Report n°42B WMO/TD-n°500, 48p., 1992.
- VEGA, J. Factores que condicionam la cantidad y calidad en la producción de uva. **IDIA** Mendoza, 261:9-56, 1969.
- WESTPHALEN, S.L. Bases ecologicas para la determinacion de regiones de maior aptitud viticola en Rio Grande del Sur. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE LA UVA E EL VINO. Cuaderno Técnico, 38, 1:89-101. Montevideo, 1976.
- WESTPHALEN, S.L. Análise de critérios dos zoneamentos para a viticultura no Rio Grande do Sul e Santa Catarina. In: ENCONTRO DE ATUALIZAÇÃO VITIVINÍCOLA, 5. Bento Gonçalves (RS), 1980.
- ZÄHLLER, P. M.; MOTA, F. S.; AGENDES, M. O. O. Previsão agrometeorológica no controle de doenças e pragas dos vegetais. Brasília, SNAD/DNDV/COSV/DPC, 1991. 54p.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**Manejo Reprodutivo em Cavalos**

**Marcus Vinicius S. Brioni**

10/12

**Introdução:**

A reprodução é um dos fatores que mais afeta, do ponto de vista econômico, a criação de eqüinos, pois a espécie já é em si pouco fértil e o lucro na criação depende em grande parte do número de animais nascidos e criados. Na escolha dos reprodutores é importante dar preferência à animais relativamente jovens, em plena maturidade sexual, e suficientemente ardorosos, cujos espermatozoides deverão ser examinados e avaliados quanto a sua riqueza em espermatozoides e a sua qualidade (boa conformação e atividade) antes do emprego dos mesmos. Um garanhão, cuja fertilidade se desconhece, deve ser avaliado no primeiro ano com reduzido número de fêmeas, se tiver uma fertilidade abaixo da média deve ser substituído. O mérito genético, tanto do garanhão, quanto da égua, é o fator mais importante em termos de custo benefício da criação.

*Tipos de monta* – Existem três tipos de monta, a saber:

- livre ou a campo
- mista ou a curral
- dirigida ou a mão.

Ao contrário do que ocorre em outras espécies, principalmente nos bovinos, a cobrição dos eqüinos é, quase somente, a dirigida. Esta prática, além de evitar o desgaste do garanhão, elimina os riscos de acidentes durante o coito. A égua, sendo um animal poliéstral estacional, apresenta cio somente em determinados meses do ano, quando ocorre o que chamamos de “estação de monta”.

A ovulação se dá 24 a 48 horas antes do término do cio. Sabe-se que o óvulo só é fecundado de 6 a 8 horas após ter sido liberado. O espermatozoide tem vitalidade aproximada de 48 horas no trato genital da fêmea. Tendo em vista isso, é importante procurar acasalar no momento em que as possibilidades de fecundação são maiores.

Não se sabendo a duração individual do estro de cada égua, a seguinte prática de cobrição pode ser adotada: a partir do terceiro dia de cio, acasalar em dias alternados, até a recusa da fêmea pelo macho, que traduz o término do cio.

Apesar de pouco recomendada, a monta a campo apresenta o maior índice de fertilidade. Um garanhão adulto pode praticar uma a duas montas (uma de manhã e outra à tarde) por dia, desde que alimentado adequadamente (com reforço de proteínas).

Anualmente, um reprodutor pode cobrir de 50 a 80 fêmeas, quando na monta dirigida, e de 20 a 40 quando for monta a campo.

*Considerações anatômicas* – O cavalo possui pênis vascularizado característico que, quando fora da ereção, encontra-se completamente flácido e recolhido ao prepúcio. A

ereção e projeção do pênis se faz pela repleção do tecido vascular erétil dos corpos cavernosos, sendo lenta. Por isso a cópula do eqüino é mais lenta e há necessidade de uma fase maior de excitação.

Em éguas, uma particularidade importante é uma fossa no ovário, onde se processa a ovulação. Essa fossa é envolvida pelo pavilhão da tuba uterina. O óvulo é recolhido pela mesma no momento da ruptura. Ao contrário das outras espécies, a tuba uterina projeta-se no corno do útero, formando a pupila uterina.

*Cuidados na cobertura* – A fêmea deve ser contida para evitar que escoceie o reprodutor. Esta contenção é feita por meio de cordas, peias, “cachimbo”, ou de preferência em tronco.

O pênis deve ser dirigido à vulva por um auxiliar, quando houver dificuldades por parte do reprodutor, pois é comum a sua introdução no reto, provocando rupturas às vezes fatais à fêmea.

Após a cópula é contra-indicado puxar o garanhão para trás, sendo preferível movimentar a fêmea para frente.

Outra prática proveitosa após o coito é movimentar a fêmea ou jogar uma ducha de água fria sobre seu dorso, o que evita muitas contrações uterinas, que ocasionam a expulsão do sêmen introduzido (FIGUEIREDO SANTOS, R. 1981).

A causa principal do fracasso das coberturas, quando não de origem patológica, é o fato do estro (cio) ser demasiadamente longo (5 a 7 dias), e a ovulação só ocorrer no final desse período. Por isso é necessário um acompanhamento rigoroso das éguas que estão entrando em atividade reprodutiva no intuito de se verificar o momento exato da cobertura. Esse controle pode ser feito por técnicos ou veterinários que conheçam bem a fisiologia reprodutiva das fêmeas, e com o auxílio de um rufião, vazectomizado ou não, com limitações à cobertura geralmente impostas devido ao seu pequeno tamanho, numa central de manejo reprodutivo. É comum a utilização de pôneis férteis para a detecção do cio. São geralmente feitas três coberturas após a identificação do cio. As manifestações do cio são, agitação da fêmea, ela acampa para urinar, faz uma micção entrecortada, pisca a vulva e aceita o macho com reserva.

A função do rufião não se restringe apenas à detecção do cio, mas induz as fêmeas a uma regularização da atividade reprodutiva.

Quando não se observa o cio, pode-se provocar a ovulação por meio de uma injeção de hormônio luteinizante (LH). As cobrições nesse primeiro cio podem não ser férteis, mas no seguinte a percentagem de fecundações é alta. Anteriormente era recomendado a cobertura da fêmea no primeiro cio após o parto, o “cio do potro” (cerca do 7º ao 9º dia), por acreditarem que nesse período a probabilidade de “pegamento” é maior do que posteriormente, no entanto, descobriu-se que nesse cio a égua possui baixa fertilidade, e maior suscetibilidade à infecções, devido à menor involução uterina decorrente do parto anterior, o que aumenta também a taxa de aborto. Esse cio era utilizado por proporcionar uma redução no período de serviço e no intervalo entre partos, próximo a um ano, pois o período de gestação da égua é de onze meses.

Uma alternativa para a redução do período de serviço e reduzir os problemas do “cio do potro” é a indução do 2º “cio do potro” com prostaglandina quinze dias após o parto, isso aumenta também a resistência do potro nascido.

Outro fator a ser relevado é a estação natural de monta da espécie. Algumas vezes é conveniente realizar cobrições fora dessa época para a fêmea não atravessar o ano “vazia”, porém, é na primavera, quando os dias vão se tornando mais longos e as pastagens rebrotam, que o estro manifesta-se mais freqüentemente e com a máxima intensidade, e as cobrições são muito mais frutuosas. Com o nível nutricional adequado, e quando o fotoperíodo não é limitante, a espécie é poliéstrica anual, ou seja, apresenta o cio durante o ano todo. Já no caso de cavalos de provas, a égua é manejada para ser poliéstrica estacional, devido ao Ano hípico. Nesse caso as coberturas irão ocorrer apenas nos meses de setembro à janeiro, quando ocorre concentração dos cios pelo aumento do fotoperíodo (a luz solar é fundamental para a atividade reprodutiva pois nos meses de menor luminosidade (outono e inverno), a atividade reprodutiva cessa, menor quantidade de luz é captada pela retina e transmitida a áreas cerebrais) percebido pela glândula pineal do animal que estimula a manifestação do estro. Os nascimentos ocorrem nos meses de agosto à dezembro do ano seguinte, e os cavalos nascidos em agosto e setembro competem com os nascidos em novembro e dezembro. Excepcionalmente podem ocorrer nascimentos em setembro, mas a possibilidade desses cavalos terem chance de competir é menor devido às normas das competições. Os cavalos nascidos em agosto e setembro obtêm melhores resultados devido à constituição óssea mais desenvolvida do que os nascidos em novembro e dezembro, por isso os mais velhos são chamados de “bem nascidos” e os mais novos de “mal nascidos”.

Dez à quinze dias antes do parto as éguas são levadas para um pasto maternidade (PM) no sistema mais comum de criação, ou para uma baia de 5 por 10 metros, acolchoada e com uma cama de feno de gramínea com 60cm de espessura no sistema clássico de criação. O PM deve ser próximo à casa do encarregado (pois 90% dos partos se dá no período noturno), bem drenado, sombreado e cercado com ripas de madeira. Não deve haver cachorros próximo ao local de partições.

O parto deve ser acompanhado pelo responsável, porém sem interferências, havendo necessidade de um veterinário apenas quando complicações forem percebidas. Pelo menos por meia hora após o nascimento, o potro deve permanecer a sós com a mãe. A queda da placenta deve ocorrer em até 5 horas, se após esse período não ocorrer, é necessária uma observação mais rigorosa por parte do veterinário para evitar problemas de retenção de placenta.

Durante todo o período de amamentação, o potro e sua mãe devem permanecer o maior tempo possível do dia e da noite livres nos pastos. Além da movimentação e dos exercícios que praticam, essenciais ao seu desenvolvimento ósseo e muscular, que nesta fase é intenso, colhem uma forragem selecionada de excelente valor nutritivo, de importância fundamental para criação do animal.

Como a produção de leite declina a partir do quarto mês de lactação, pode-se perfeitamente desmamar um potro nessa idade. Entretanto, o ideal é manter o jovem animal com a mãe durante 7 a 8 meses. Nessa época, ocorre a erupção dos dentes molares e o potro adquire condições de mastigar qualquer tipo de alimento (TOSI, H. 1978).

Há evidentemente outros fatores que não devem ser desprezados, entre os quais estão a deficiência de proteínas e nutrientes energéticos das pastagens, a deficiência mineral (principalmente de cálcio, fósforo, sal e iodo), a deficiência vitamínica (A, E e C) que influenciam diretamente no sucesso reprodutivo da criação. Há casos também, de infertilidade natural de algumas éguas, em virtude de idade avançada (que não deve ultrapassar 12 anos), ninfomania e infecções específicas e inespecíficas do aparelho genital (muito comum), que impedem a fecundação natural. A baixa fertilidade no haras geralmente ocorre em função de problemas nutricionais (falta ou excesso) e problemas anatômicos das fêmeas.

Cerca de 20 a 30% dos casos de infertilidade das éguas são devidos à “esterilidade fisiológica”, pela qual somente o homem é responsável.

Interessando o manejo, não devemos esquecer a condição sanitária dos animais, que, não sendo a desejada, irá contribuir para menor produtividade, assim como a consangüinidade, já observada em alguns planteis de determinadas raças, é fator negativo no que tange à fertilidade (PERDIGÃO, F. R. A. 1978).

É importante para o criador examinar todas as éguas que falharam no ano anterior para descobrir a causa de sua esterilidade. Algumas poderão ser corrigidas, talvez pela mudança do sistema de inseminação, porém as fêmeas, que por dois anos consecutivos não “emprenharam”, devem ser substituídas, pois estão onerando a criação, principalmente se não estiverem sendo utilizadas em serviço.

### **Fisiologia da Reprodução:**

As células reprodutivas masculinas (espermatozóides) são produzidas nos canais seminíferos dos testículos, de onde saem para o epidídimo, acumulando-se em sua parte inferior onde ficam armazenadas e completam sua maturação. Essas células podem permanecer férteis por até 40 dias, embora conservem sua mobilidade por até 60 dias.

As células intersticiais presentes nos canais seminíferos secretam a testosterona, hormônio responsável pelas características sexuais masculinas. As glândulas acessórias, próstata, vesículas seminais e glândulas de Cowper, servem para aumentar o volume do esperma e tornar os espermatozóides mais ativos. Esse volume tem influência não só na conservação do esperma, com no número de fêmeas que podem ser inseminadas artificialmente.

A ejaculação do macho ocorre diretamente no útero da fêmea, o que difere das outras espécies domésticas. Durante o estro, todas as vias genitais femininas acham-se congestionadas e secretam uma mucosidade fina no colo uterino que facilita a locomoção dos espermatozóides.

Nos ovários da fêmea existem células sexuais femininas que a cada ciclo estral maturam dentro de folículos envoltos por células foliculares. A medida que a maturação se processa, um líquido albuminóide se acumula no folículo que aumenta de tamanho e no fim da maturação migra para a superfície do ovário e se rompe liberando o ovócito que será então capturado pela tuba uterina. Se ocorre a fertilização da fêmea, esse ovócito se transforma em óvulo que pode ser fecundado na tuba uterina. Havendo a fecundação, o zigoto migra para o corpo uterino e se implanta no endométrio, aonde então se processa o desenvolvimento embrionário, a formação da placenta e da bolsa amniótica.

Há também liberação de hormônios pelo ovário, o que varia a cada fase do ciclo. Quando o folículo se encontra no fim de sua maturação, é produzido um hormônio chamado estradiol, o que caracteriza o início do estro (ou cio). Após a ruptura do folículo, em seu lugar crescem células que irão formar o corpo lúteo, uma espécie de glândula que produz um hormônio responsável pela manutenção da gravidez, a progesterona, que age diretamente sobre a mucosa uterina, predispondo-a para fixação e nutrição do embrião. Sem a progesterona, o zigoto não se implanta ou pode haver o desprendimento do embrião e aborto, portanto o corpo lúteo é muito importante principalmente para essa espécie, já que a produção de progesterona é realizada preferencialmente pelo corpo lúteo durante toda a gestação, diferente de outras espécies em que após um determinado período, a placenta e o embrião assumem a produção desse hormônio e o corpo lúteo regride antes do final da gestação.

Todos os processos da reprodução são estimulados por hormônios, dentre os quais se encontram o FSH (hormônio folículo estimulante), que estimula o desenvolvimento do folículo, e o LH (hormônio luteinizante), que provoca a ruptura do folículo e estimula a formação do corpo lúteo, ambos produzidos no lobo anterior da hipófise. Esses dois hormônios também são responsáveis pela indução da produção de estrógeno e progesterona pelo ovário.

Nas éguas, a hipófise anterior produz grande quantidade de FSH e pouca de LH, atribuindo-se a esse fato o longo período de cio acentuado na égua, ao lado da dificuldade de ovulação e nidação. Vários fatores podem modificar a atividade hipofisária ou a quantidade de hormônios, afetando a vida reprodutiva dos animais. Um deles é o ritmo de horas claras e escuras de acordo com as estações do ano. Na égua, a hipófise é estimulada por células nervosas sensíveis a dias longos e noites curtas.

A égua entra na puberdade dos 12 aos 25 meses, sendo mais freqüente dos 12 aos 15 meses, o intervalo entre dois cios consecutivos ou ovulações é de 21 dias, o que caracteriza a duração do ciclo estral que é dividido em quatro fases: proestro, estro, metestro e diestro. O estro é caracterizado pela ovulação da fêmea.

### **Melhoramento Genético**

Qualquer característica observada ou medida nos cavalos é resultado da ação conjunta do potencial genético e dos fatores ambientais (alimentação, sanidade, técnicas de criação, clima, idade, sexo e estado reprodutivo).

Se os animais de alto potencial genético forem criados em condições não satisfatórias, o seu desenvolvimento será sensivelmente prejudicado. Por outro lado, de nada adianta melhorar as condições ambientais se os animais não apresentam potencial genético para responder ao que pretende.

Para se promover o melhoramento genético de um plantel eqüino, existem apenas dois instrumentos de ação disponíveis ao criador.

a) seleção, que significa escolha dos reprodutores

b) sistema de acasalamento, maneira como os reprodutores são acasalados para produzir a próxima geração (CARVALHO, R. T. L.- 1987).

### **Inseminação Artificial:**

A inseminação artificial consiste em injetar uma certa quantidade de espermatozoides, previamente colhidos, em uma fêmea no cio, diretamente no útero, por meio de um aparelho inseminador, que não passa de uma seringa adaptada a um catéter ou tubo flexível.

A coleta do espermatozoide é feita simulando um coito sobre um manequim ou sobre uma égua qualquer no cio. No momento do salto, um operador desvia o pênis do garanhão para uma vagina artificial, previamente esterilizada e aquecida a temperatura do corpo. O volume colhido é variável, de 60 a 120cc, excepcionalmente atingindo 300cc, quantidade que pode ser fracionada para fecundar diversas fêmeas.

A inseminação artificial é vantajosa principalmente nos seguintes aspectos: aproveita o espermatozoide dos animais superiores para fecundar um número maior possível de éguas; fecunda fêmeas valiosas sem os perigos das cobrições; fecunda fêmeas que tenham se mostrado infecundadas na monta natural, devido a secreções espermatoxicas, constrição do colo uterino e outros defeitos.

Para realizar a inseminação, os seguintes passos devem ser obedecidos :

1-) Coleta do sêmen - feita tanto para a verificação de sua qualidade, como para uso imediato ou conservação. O controle adequado da temperatura e da pressão contra a glândula são fatores importantes para o êxito da operação. A coleta em vagina artificial

tem se mostrado superior ao do saco coletor ou “condom”, pois é mais segura contra contaminações.

2-) Desinfecção da fêmea - antes de inseminar uma fêmea no cio, após contenção adequada, desinfeta-se o ânus e a vulva com uma solução antisséptica, tendo antes examinado as secreções vaginais e uterinas para ver se são sadias. Introduce-se então um espéculo na vagina e faz-se uma lavagem com solução de bicarbonato a 1% ou com soro fisiológico.

3-) Injeção do sêmen - introduz-se o catéter já carregado com uma parte de esperma (vg.25cc) através dos *os. uteri* e injeta-se, essa introdução pode ser facilitada introduzindo-se o braço direito pelo ânus para acertar a direção da sonda.

O exame do sêmen compreende a quantidade, concentração, pH, viabilidade e índice de sobrevivência, e, quando necessário, número e percentagem de espermatozóides deformados.

Para a inseminação, uma parte de sêmen é diluída com 2 ou 3 volumes correspondentes de diluidor, podendo ser guardada a 4°C. A quantidade injetada (com seringa de Sato modificada) é de 25cc a cada 3 dias após o descobrimento do cio pelo rufião, até que ele desapareça.

O índice de concepção da inseminação artificial chega a atingir 90 % .

### **Gestação**

Durante essa fase, procura-se manter as fêmeas em boas condições de saúde, permitindo-lhes o exercício, o pastoreio verde e complementando suas necessidades com uma mistura de minerais e suplemento protéico. Contudo, não devem ser mantidas gordas e sim em “boa carne”.

Os trabalhos que as éguas realizavam anteriormente não devem ser suspensos, mas devem ser graduados de acordo com a proximidade da parição. Depois do parto é conveniente que voltem a trabalhar tão cedo quanto possível. Uma ração suplementar é conveniente se o intuito for explorar ao máximo a eficiência reprodutiva da égua, podemos atribuir uma parte significativa da baixa safra de potros por abortos, natimortos, morte antes da desmama, cios irregulares das mães às deficiências de natureza alimentar, principalmente no terço final da gestação.

Há diversos sinais que permitem saber se as fêmeas cobertas estão gestando. Certeza, somente quando a palpação direta for possível, já em meio à gestação, porém os sintomas prováveis são a supressão do cio, modificações do estado geral e do temperamento, desenvolvimento do ventre, particularidades do úbere e órgãos genitais e finalmente as reações biológicas.

Se em fêmeas sadias, em regime de pasto, o cio não se repetir nos meses seguintes, é sinal quase certo de prenhez, contudo o cio pode ocasionalmente repetir-se, estando a fêmea grávida, e também pode ser um sinal de aborto próximo.

O desenvolvimento do ventre só é notável na segunda metade da gestação, pode ser observado olhando-se a égua por trás, o lado esquerdo deve estar mais saliente, quando não está prenhe, o lado direito é mais volumoso. Pode-se também medir o perímetro do ventre periodicamente.

Tem mais valor a palpação interna, por via anal, que permite verificar mais cedo a existência do corpo amarelo no ovário, ou mesmo a presença do feto. Na palpação pode-se sentir um tampão de muco, que oblitera a vagina e cuja consistência e viscosidade aumentam com o progredir da gestação. Pode-se também puxar o colo uterino, que, resistindo à tração, indica a gestação.

O entumescimento das mamas, da vagina, a congestão da vulva, o relaxamento dos ligamentos sacro-isquiáticos e, às vezes, edemas nos membros, são sinais que só aparecem no último mês.

## Instalações

**Garanhão:** Cavalariças amplas, bem arejadas, com acesso a piquete bem gramado, suficientemente amplo para permitir ginástica funcional diária; cercas duplas e o maior isolamento possível dos demais animais, com uso de cercas vivas (uso permanente).

**Rufiação e cobertura:** Instalações adequadas para rufiações e coberturas diárias, na estação de monta, em áreas perto das cavalariças dos garanhões e das pastagens das éguas à espera de cobertura (uso temporário). As éguas suspeitas vão para o tronco onde é feita a apalpação. Se detectado o cio, elas são levadas para o palanque para acasalar.

**Piquetes-maternidades:** Piquetes individuais de mil a 3 mil metros quadrados, bem gramados, com abrigo adequado e cuidadosamente cercado. O número dos piquetes-maternidades depende do total de éguas. Eventualmente, piquetes maiores podem receber mais de uma égua, desde que elas sejam socialmente estratificadas (estejam nas mesmas condições).

**Éguas com cria ao pé:** Piquetes com unidades de serviço especial, contendo o creeper, onde as éguas com potro ao pé e fecundadas permanecem até o final da desmama.

**Éguas em gestação:** Após a desmama, as éguas seriam conduzidas a esta unidade, composta de piquetes com unidades de serviço, onde permaneceriam até cinco dias antes do parto, quando seriam transferidas para os piquetes-maternidades, seguindo o fluxograma das éguas em reprodução.

**Piquetes para potros desmamados:** Após a desmama, o grupo de potros de mesma faixa etária e socialmente estratificados, graças ao uso do creeper, seria transferido para outra instalação, formada de piquetes com unidades de serviço próprias. Permanecem sem separação sexual do sexto ao décimo segundo mês.

**Piquetes para potros:** Completando um ano de vida, é realizada a separação sexual. Os potros iriam para essa instalação, formada de piquetes com unidades de serviço próprias. No caso do puro sangue inglês, os potros permaneceriam nessa instalação dos 12 aos 18

meses, sempre no mesmo grupo já programado anteriormente, durante o aleitamento. No caso de outras raças, em grupos já estratificados socialmente, poderiam permanecer até por mais tempo. No caso de produção de mestiços, eles seriam castrados e poderiam permanecer nessa instalação até o início dos primeiros galopes (uso permanente).

**Piquetes para potras:** Após o primeiro ano de vida, feita a separação sexual, as fêmeas são destinadas a esta instalação, basicamente igual à anterior, e aí permaneceriam até os 18 meses, quando seriam encaminhadas às corridas, ou até 30 ou mais meses, quando destinadas aos primeiros galopes ou à reprodução (CARVALHO, R. T. L. 1987).

Referências Bibliográficas:

CARVALHO, R. T. L. & HADDAD, C. M., 1987 – A criação e a nutrição de cavalos.

FIGUEIREDO SANTOS, R., 1981 – O cavalo de sela brasileiro e outros eqüídeos.

PERDIGÃO, F. R. A., 1978 – Fatores determinantes da eficiência reprodutiva. *Anais do simpósio sobre eqüideocultura.*

TOSI, H., 1978 – Alimentação e manejo do rebanho. *Anais do simpósio sobre eqüideocultura.*

HAGEN, S., 1999 – Cuide bem dos potrinhos. *O ESTADO DE SÃO PAULO – CADERNO AGRÍCOLA – CAVALOS, 27/10/99.*

TORRES, A. DI PARAVICINI, JARDIM, WALTER R., 1977. – *Criação do Cavalo e de outros Eqüinos, Biblioteca Rural – Livraria Nobel S/A*

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”  
ESALQ / USP**

**PET AGRONOMIA – BIOTECNOLOGIA AGRÍCOLA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE PESQUISA**

**“QUANTIFICAÇÃO DA PROTEÍNA GI EM  
TECIDO ADIPOSEO”**

Oscar César Muller Queiroz

10/12

**I) Nome**

Oscar César Müller Queiroz

**II) Orientador**

Prof. Dr. Dante Pazzanesse D. Lanna

**III) Departamento**

Departamento de produção animal

**IV) Período do Estágio**

1 ano

**V) Título**

QUANTIFICAÇÃO DA PROTEÍNA GI EM TECIDO ADIPOSEO

**VI) Resumo**

Quantificar em tecido adiposo, de suínos e bovinos, a proteína gi inibitória da lipólise. Verificar se há diferença significativa entre a quantidade da proteína em adipócitos e células do extroma vascular.

**VII) Introdução**

Anualmente, um bilhão de quilos de gordura são aparados de carcaças de animais abatidos para produção de carne nos EUA (NAS, 1988). Como o custo energético para deposição de tecido adiposo é cerca de cinco vezes maior do que o da deposição da musculatura (e.g. 14Kg de ração de teor médio de energia por kg de tecido adiposo depositado), há uma perda de 14 bilhões de quilos de ração, para a deposição de 1 bilhão de quilos de gordura. Estas perdas diminuem o lucro do produtor.

Do lado do consumidor, apesar de dados de pesquisa serem constantes, o elevado consumo de gordura é visto como um problema a ser vencido. A produção e consumo de produtos com um menor teor de gordura é uma das mais significativas tendências atuais, tornando-se, assim de fundamental

importância o estudo de meios que permitam produzir alimentos com menos gordura. Ao atender aos anseios do mercado o produtor também poderia estar obtendo maior lucratividade. Finalmente, em função de problemas ambientais, a necessidade de intensificar a produção por unidade de área é uma das principais razões pelas quais tanto produtores como consumidores vêm as novas tecnologias como necessárias para a eliminação de gordura.

A proteína Gi é um dos elementos na célula relacionada com a regulação da lipólise ou mobilização das reservas de gordura (lipólise-processo bioquímico de hidrólise da energia armazenada na forma de gordura). Para se manipular esta hidrólise, faz-se necessário o estudo cada vez mais aprofundado da atividade desta proteína e de todos os mecanismos envolvidos com sua expressão.

As interações entre os efeitos hormonais e os efeitos de nutrientes sobre a expressão e atividade específica desta proteína são de particular importância para a compreensão dos mecanismos envolvidos na regulação do metabolismo de nutrientes tanto em animais de interesse agrônômico como também do próprio homem.

### **VIII) Objetivos**

Quantificar a proteína heterotrimérica Gi presente nos adipócitos em explantes do tecido adiposo de animais através de biópsia.

Em segunda fase os mesmos ensaios de quantificação serão realizados em explantes de tecido adiposo após cultura de 48 h com e sem hormônio de crescimento ST (somatotropina recombinante).

Alcançar os objetivos deste trabalho será fundamental para o avanço de pesquisas de outros membros do grupo estudando a expressão gênica de outros genes.

## **IX) Material, métodos e desenvolvimento**

Animal: Tecido adiposo de bovinos e suínos serão estudados. Os animais serão semelhantes aos animais nos quais foram desenvolvidas a metodologia de cultura de tecido que será empregada no projeto(Lanna et al.,1995).

Biópsias:OS tecidos serão obtidos através de biópsia como descrito por Lanna et al.(1995).O tecido adiposo da região dorsal posterior será retirado e transferido para um tampão contendo 0,1M de NaCl, pH 7.4, 25mM de Hepes(Sigma chemical Co.)à temperatura de 37°C.Este tampão estará em condições assépticas e conterá antibióticos quando da obtenção de tecido para ensaios de cultura de longa duração.

Preparação de adipócitos: Adipócitos isolados serão separados de outras células do meio extromavascular através da digestão enzimática e centrifugação.O método original foi criado por Rodbell( 1964) e alterado por Etherton e chung(1981), como citado por Liu et al.1989. Resumidamente, baseia-se em submeter amostras do tecido a uma incubação com 67mg/ml de colagenase em meio de bicarbonato de Krebs-Ringer contendo 1,25 mM CaCl<sub>2</sub>,5nM de ácido ascórbico,10mM de HEPES,5mMM de glucose, 3%BSA e mantidos numa atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> à 37°C.Após três lavagens com o tampão de bicarbonato de Krebs\_Ringer sem colagenase, a suspensão de células de adipócitos é obtida por uma breve centrifugação ou apenas esperando para os adipócitos flutuarem no meio de cultura.

Westen Blotting:É usado para estimar níveis da subunidade  $\alpha_2$  da proteína G inibitória.Será utilizado anticorpo anti-Gi $\alpha_1$ -Gi $\alpha_2$  produzidos contra decapeptídeos sintéticos(Milligan,1994) proveniente da estrutura primária das subunidades  $\alpha$ (calbiochem), produzidos em coelhos.Os preparados das