

SUMÁRIO	Pg
Encontram-se a seguir o relatório em português e Inglês	
Primeira parte	
PRIMEIRO RELATÓRIO CIENTÍFICO	1-52
Segunda parte	
ANNUAL ACTIVITY REPORT	0-48
Terceira parte	
ANEXO	1-15
Quarta parte	
FORMULÁRIO DE ACOMPANHAMENTO E AVALIAÇÃO	1-10



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE
TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE

CONTROLE BIORRACIONAL DE INSETOS PRAGAS

<http://www.cbip.ufscar.br/>

PRIMEIRO RELATÓRIO CIENTÍFICO

PERÍODO: de 26/12/2008 a 26/12/2009

Coordenadora: Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva

COMITÊ GESTOR

UFSCar:	Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva João Batista Fernandes
UNESP- Rio Claro:	Fernando Carlos Pagnocca Odair Corrêa Bueno
ESALQ-USP:	José Djair Vendramim
FFCLRP-USP:	Carmen Lucia Cardoso
UFPR:	Francisco de Assis Marques
CEPLAC:	Manfred Willy Muller
UFSE:	Paulo César de Lima Nogueira Valéria Regina de Souza Moraes

PESQUISADORES PARTICIPANTES

UFSCar	Vânia G. Zuin
Antonio Gilberto Ferreira	UNESP-Rio Claro
Clélia M. de Paula Marques	André Rodrigues
Edson Rodrigues Filho	UFPR
Moacir Rossi Forim	Edson Tadeu Iede
Quézia Bezerra Cass	Sonia Maria Noemberg Lazzari
Ronaldo Censi Faria	CEPLAC-Belém
Rose Maria Carlos	Jay Wallace da Silva e Mota
Tiago Venâncio	

REUNIÕES REALIZADAS E DECISÕES

Primeira reunião da equipe 09/02/2009

Tópicos discutidos:

- Distribuição da verba liberada
- Distribuição das bolsas
- Plano de Metas: Para esta discussão cada coordenador de gestão discutiu as tabelas enviadas anteriormente pelo CNPq com os respectivos itens de plano de metas.
- Workshops do grupo
- Workshops com outros INCT

A reunião foi realizada junto ao auditório da Fundação de Apoio Institucional ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico-UFSCar, a qual possui uma sala de vídeo conferencia. Os participantes fora do estado de São Paulo participaram da reunião via vídeo conferencia, o que ocorreu em excelência com debate simultâneo entre os pesquisadores em São Carlos, Curitiba, Aracaju e Brasília. O pesquisador Manfred Willy Muller encontrava-se em Brasília. Isto tornou a primeira reunião menos dispendiosa.

Cada participante fez uma apresentação baseado nas tabelas que enviamos anteriormente para serem preenchidas, referentes ao plano de meta. (15 a 20 min cada um).

Os resultados desta reunião encontram-se nas tabelas referentes ao plano de metas já enviado ao CNPq.

Segunda Reunião da equipe 30/11 a 01/12/2009

I Workshop sobre Avaliação Inicial de Desempenho

O workshop foi realizado junto ao auditório do PPGQ-UFSCar e contou com a presença de todos os pesquisadores envolvidos no INCT-CBIP. Os resultados dos trabalhos dos alunos fora do estado de São Paulo foram apresentados pelos seus

respectivos orientadores em forma oral e/ou em forma de pôster. Os alunos do Estado de São Paulo todos estiveram presentes.

Objetivos:

Reunir toda a equipe do INCT Controle Biorracional de Insetos Pragas visando uma avaliação inicial de desenvolvimento, e perspectivas futuras. As discussões serviram para a elaboração do primeiro relatório a ser enviado ao CNPq e FAPES. Portanto, os resultados deste workshop encontram-se neste primeiro relatório.

Programação

30/11/2009

8:30: Boas vindas a todos.

8:45 - 9:00

Clélia M. P. Marques e Francisco de Assis Marques

Transferência do conhecimento ao ensino médio.

Doenças do Citrus

9:00 – 9:15

M. Fátima G. F. da Silva

CVC – bactéria *Xylella fastidiosa* – Cigarrinha *Oncometopia facialis*

9:15 – 9:30

Moacir Rossi Forim

Alternaria alternata f.sp. citri (mancha marrom do Citrus)

Guignardia citricarpa (mancha preta do Citrus)

9:30 – 9:45

Paulo C. Bogorni e Moacir S. Andrade
Greening (Huanglongbing) - *Diaphorina citri*

9:45 – 10:00 Discussões

10:00 – 10:15 Café

Outros insetos

10:15 – 10:30

José Djair Vendramim e Paulo C. Bogorni

Bioatividade de extratos/compostos vegetais sobre *Bemisia tabaci*

Bioatividade de extratos/compostos vegetais sobre *Tuta absoluta*

Bioatividade de extratos/compostos vegetais sobre *Sitophilus zeamais*

Bioatividade de extratos/compostos vegetais sobre *Rhopalosiphum maidis*

10:30 – 10:40

M. Fátima G. F. da Silva

Doença do mogno Africano

Khaya ivorensis – fungo *Botryosphaeria rhodina* – Cigarrinha *Acraephia* sp

10:40 – 10:55

Francisco de Assis Marques

Cinara pinivora (pulgão-gigante-do-pinus)

Vegetais

10:55 – 11:15

Paulo Cesar de Lima Nogueira e João Batista Fernandes

Coleta, identificação e estudo químico de novos vegetais.

11:15 – 11:30 Discussões

RMN

11:30 – 11:40

A. Gilberto Ferreira

O uso de RMN acoplado a HPLC

11:40 – 12:00 Discussões

12:00 – 14:00 Almoço

Outros insetos

14:00 – 14:15

Andréia Pereira Matos

Bioatividade de extratos/compostos vegetais sobre *Spodoptera frugiperda*

Desenvolvimento de novos ensaios

14:15 – 14:30

Dulce Helena Ferreira de Souza

Pectinases como alvo para o controle de formigas cortadeiras

14:30 – 14:40

Paulo R. Adalberto

Pectinase do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* (Simbionte de formigas cortadeiras)

14:40 – 14:55

Rose Maria Carlos

Complexos de produtos naturais com íons inorgânicos

14:55 – 15:05

Ronaldo Censi Faria

Obtenção de biossensores

15:05 – 15:20 Discussões

15:20 – 16:00

M. Fátima G. F. da Silva

Finanças

16:00 – 19:00 Pôsteres e Café

01/12/2009

Formiga

8:30 – 8:45

Odair Corrêa Bueno

Atta sexdens rubropilosa (Formiga Cortadeira)

A criação massal do inseto e ensaios de ação inseticida

8:45 – 9:00

João Batista Fernandes – Ana Paula Terezan

Comportamento de formigas cortadeiras frente a voláteis de plantas e leveduras associadas ao formigueiro

9:00 – 9:30

Fernando Carlos Pagnocca

Microorganismos envolvidos no formigueiro

9:30 – 9:45

Fernando C. Pagnocca

Banco de Microorganismos envolvidos em formigueiro

9:45 – 10:00 Discussões

10:00 – 10:15 Café

10:15 – 10:25

Fernando C. Pagnocca, André Rodrigues

Microfungos filamentosos em

formigueiro

10:25 – 10:35

Fernando C. Pagnocca, Thaís D. Mendes

Actinomicetos em formigueiros

10:35 – 10:50

Edson Rodrigues Filho, Taícia Fill

Compostos inseticidas produzidos pelo fungo *Penicillium brasiliano*

10:50 – 11:05

Carmem Lucia Cardoso

Enzimas imobilizadas em colunas cromatográficas - acetilcolinesterase

11:05 – 11:20 Discussões

11:20 – 11:30 Encerramento.

Resumos das apresentações: <http://www.cbip.ufscar.br/>

ATIVIDADES DE COOPERAÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE PARTICIPANTES DO INCT

- *Grupo de Produtos Naturais do Departamento de Química da UFSCar e o Centro de Insetos Sociais (CEIS) da UNESP – Rio Claro*: A busca de novas metodologias de controle de formigas cortadeiras utilizando compostos de origem natural que sejam mais seletivas e menos prejudiciais ao meio ambiente vem sendo uma das principais linhas de pesquisa desses dois grupos. Os alunos envolvidos nesta linha de atividade estão em constante contato, semanalmente substâncias puras e/ou extratos são levados a Rio Claro para ensaios.

- *Grupo de Produtos Naturais do Departamento de Química da UFSCar e a Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP*: Enzimas que degradam os polissacarídeos vegetais (pectinases e amilases) em açúcares redutores foram detectadas no fungo simbionte da formiga cortadeira em estudo, e foram também encontradas no líquido fecal da formiga em estudo, *Atta sexdens rubropilosa*. As formigas utilizam o fungo simbionte para promover esse processo de degradação, uma vez que não são capazes de degradar a pectina diretamente. Professora Quézia Cass (UFSCar) e um aluno de pós-doutorado vêm atuando na construção de um biorreator de enzimas imobilizadas (IMER) com atividade pectinolítica para avaliação e triagem de inibidores.

A enzima acetilcolinesterase (AChE) está presente no sistema nervoso central de insetos e hidrolisa o neurotransmissor acetilcolina em acetato e colina, finalizando assim a transmissão sináptica, desempenhando um papel fundamental na transmissão do impulso nervoso colinérgico. Portanto, esta é

uma segunda enzima interessante no controle biorracional de insetos. Com isto, a Prof. Quézia (UFSCar) e Carmen Cardoso (FFCLRP) vêm desenvolvendo métodos analíticos por CL 2D para mensurar a atividade da acetilcolinesterase e/ou na identificação de inibidores desta enzima. Quando estes IMERs estiverem estabelecidos, serão ensaiados extratos e/ou substâncias puras do laboratório do grupo de PN-UFSCar.

- *Grupo de Produtos Naturais do Departamento de Química da UFSCar e a Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ)/Departamento de Entomologia*: O uso de extratos de plantas inseticidas, dada a rápida degradação de seus compostos e baixo resíduo no ambiente e alimentos, tem mostrado ser uma prática promissora para o manejo integrado de pragas. A avaliação da atividade inseticida de extratos provenientes de espécies arbóreas da flora brasileira, produzidos no laboratório do grupo de PN-UFSCar vêm sendo desenvolvidas na ESALQ. Como bioindicadores estão sendo utilizadas espécies-praga de grande importância econômica: *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Tuta absoluta* (Meyrick), *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B., *Diaphorina citri*, *Sitophilus zeamais* (Mots.) e *Rhopalosiphum maidis* (Fitch). Os alunos envolvidos nesta linha de atividade estão em constante contato, semanalmente extratos e/ou substâncias puras são levados a Piracicaba para ensaios.

- *Grupo de Produtos Naturais do Departamento de Química da UFSCar e a Comissão Executiva de Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC)*: Devido à alta suscetibilidade do mogno brasileiro (*Swietenia macrophylla* King) a *Hypsipyla grandella*, este vem sendo substituído pelos mognos africanos *Khaya ivorensis*, *K. senegalensis*, *K. nyasica* e *K. antiotheca*. Estas espécies apresentam grande resistência à *H. grandella*, quando introduzidas na América Latina tropical. Contudo, Manfred W. Müller da Superintendência Regional da Bahia, Salvador, observou que *K. ivorensis* vem sendo encontrada com doenças ocasionadas por fungos em plantações modelo em fazendas experimentais desta instituição. Há alguns anos o grupo de PN-UFSCar vem explorando este fato e o fungo responsável pela doença já foi identificado e estudado. Um aluno de doutorado vem desenvolvendo o trabalho de re-inoculação do fungo em plantações sadias na fazenda experimental do CEPLAC em Salvador. A participação dos alunos será ampliada, com mais um pós-doutorado e um mestrando, os quais também avaliarão plantas da estação experimental de Belém. Neste caso a interação entre os grupos envolve menos alunos devido à distância dos respectivos centros. Contudo, os resultados são excelente o que pode ser visto neste relatório mais a frente.

- *Grupo de Produtos Naturais do Departamento de Química da UFSCar e a Universidade Federal do Paraná-DQ-Curitiba*: O grupo liderado pelo Prof. Francisco de Assis Marques vem há algum tempo trabalhando no isolamento e identificação de feromônios de insetos pragas da região, como *Pissodes castaneus* e *Cinara atlantica*, pragas de *Pinus*; *Glycaspis brimblecombei*, praga de Eucalipto. Teste da toxicidade de extratos naturais da UFSCar frente a alguns destes insetos foram desenvolvidos e apresentaram bons resultados. Devido à distância os extratos são enviados pelo correio e os alunos e pesquisadores se interagem frequentemente pelo Skype.

- *Grupo de Produtos Naturais do Departamento de Química da UFSCar e a Universidade Federal de Sergipe-Aracaju*: O grupo da UFSE liderado pelo Prof. Paulo Cesar de Lima Nogueira vem estudando plantas do nordeste. Extratos e substâncias puras destas plantas são ensaiados frente ao desenvolvimento dos insetos e fungos envolvidos no projeto. Os alunos da UFSE têm sido treinados em ensaios fungicidas e inseticidas na UFSCar, visando transferência destes ensaios para a UFSE.

ATIVIDADES DE COOPERAÇÃO ENTRE INCT'S E COM OUTRAS INSTITUIÇÕES

INCTs

- *INCT de genômica para melhoramento de citros (INCT Citros) - Marcos A. Machado*: O grupo de PN da UFSCar e este INCT vêm desenvolvendo novas metodologias de controle das doenças de Citros utilizando compostos de origem natural que sejam mais seletivos e menos prejudiciais ao meio ambiente. As principais doenças em estudo são: a mancha preta dos citros e a mancha de alternaria, causadas pelos fungos *Guignardia citricarpa* e *Alternaria alternata* f.sp. *citri*, respectivamente; Greening (estudos com o vetor *Diaphorina citri*) e Clorose Variegada do Citros (CVC) (estudos com a bactéria *Xylella fastidiosa*). Os alunos envolvidos nesta linha de atividade estão em constante contato, semanalmente substâncias puras e/ou extratos são levados a Cordeirópolis para ensaios, ou os alunos vão para realizarem inoculação de fungos ou bactéria em plantas de citros para estudo químico posterior. Poderá ser visto em anexo que possuímos algumas publicações em colaboração.

- *INCT em Semioquímicos na Agricultura* – José Roberto Postali Parra: O grupo do Prof. José Djair Vendramim da ESALQ/Departamento de Entomologia, tem tido um estreito relacionamento com o Prof. Parra em uso de equipamentos comuns aos dois centros, além de discussões sobre metodologias de criação de certos insetos.

- *Instituto Nacional de C&T de Biotecnologia Estrutural e Química Medicinal em Doenças Infecciosas* – Glaucius Oliva: O grupo de produtos Naturais da UFSCar possui uma forte interação com o grupo do Prof. Glaucius. Em geral quase todas as substâncias isoladas de plantas, fungos ou bactérias pelo grupo de PN-UFSCar são ensaiadas frente às enzimas alvos de várias doenças tropicais. Estes ensaios são coordenados pelo Prof. Paulo C. Vieira do grupo de PN-UFSCar, o qual está incluído no INCT coordenado pelo Prof. Glaucius. Poderá ser visto em anexo que possuímos algumas publicações em colaboração.

- *INC Instituto Nacional de C&T Hympar Sudeste* – Angélica Maria Penteado-Dias: O grupo de produtos Naturais da UFSCar possui interação com o grupo da Prof. Angélica. Há troca de informações sobre o uso sustentável da biodiversidade, classificação e comportamento de insetos e uso de equipamentos.

- *Grupo de coordenadores voltados aos aspectos de governança e cooperação entre INCTs*: Com o objetivo de discutir a governança dos Institutos Nacionais e fortalecer laços de colaboração científica, tecnológica e na divulgação científica e formação de professores, estiveram reunidos na Fortaleza de São Lourenço, em Itaparica, BA, no período de 19-21 de Novembro de 2009, os seguintes institutos: INCT de Materiais Complexos e Funcionais (Coordenador Prof. Fernando Galembeck, UNICAMP), INCT de Fármacos e Medicamentos (Coordenador Prof. Eliezer Jesus Barreiro, UFRJ), INCT de Transferência de Materiais Continente-Oceano (Coordenador Prof. Luiz Drude de Lacerda, UFC), INCT de Controle Biorracional de Insetos Pragas (Coordenador Profa. Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva, UFSCar) e o INCT de Energia e Ambiente (Coordenador Prof. Jailson Bittencourt de Andrade, UFBA). Varias ações de interação científica foram acordadas: Cursos sobre temas variados; experimentos conjuntos; participação em Escolas de Verão e Inverno no Rio de Janeiro, São Carlos, Ceará e Salvador; e a organização de uma Escola Experimental com foco na Baía de Todos os Santos. O workshop foi considerado de grande relevância pelos participantes e que deveria ser repetido periodicamente, sob a forma de um FORUM, com a participação de novos INCTs, estimulando a cooperação, convergência a interdisciplinaridade. Foi decidido então criar o I5+, que representaria o ponto de partida, sendo que a próxima reunião ocorrerá no Rio de Janeiro, sob coordenação do INOFAR, com sugestão que seja custeada pelo CNPq e que o I5+ seja divulgado no site dos INCT's participantes (<http://www.cbip.ufscar.br/>).

Outras Instituições:

- Projeto de Cooperação Acadêmica – PROCAD – CAPES no tema do INCT: Estas interações visam a formação de pós-graduandos de três Programas de Pós-Graduação, UFPR, UFSE, UFPA, UFGO e UFSCar. Esta última transferindo tecnologia e oferecendo o uso de equipamentos de grande porte.

- Cooperação Internacional CAPES UFSCar - Faculdade de Farmácia – Universidade do Porto – Portugal – M. Madalena Pinto: Esta interação visa a formação de recursos humanos utilizando as especialidades do Brasil e de Portugal, com envio de ambas as partes de estudantes para desenvolvimento de seus trabalhos de pós-graduação e de pesquisadores para ministrar cursos e realização de pesquisas.

- Department of Infections and Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK: O projeto do INCT visa o estudo fitoquímico de plantas de diferentes ordens. Com isto, o grupo possui uma biblioteca ampla de metabólitos secundários isolados, os quais têm sido ensaiados frente a vários alvos. A interação com esta instituição foi a realização de ensaios com um número grande de compostos como agentes tripanocidas, via o envio de alunos de doutorado sanduíche trabalhando com os pesquisadores Lauren Rattray and Simon L. Croft (ver publicação no item em anexo).

Empresas:

Empresas que o INCT apóia com análise de controle de qualidade e transferência de tecnologia. As duas empresas abaixo são assistidas em análises do inseticida Neem, via a patente do grupo de PN-UFSscar (ver no site <http://www.cbip.ufscar.br/>)

- **Baraúna Comércio e Indústria Ltda.** (CNPJ 00.208.638/0001-12), representada pelo sócio diretor Roberto Antônio Malimpence, (roberto@barauna.agr.br) - Catanduva-SP.

- **Base Fértil Ribeirão Comercial Agrícola Ltda.** (CNPJ: 04.509.533/0001-54), representada pelo sócio diretor Carlos Elpidio Pereira, (financeiro@basefertilagricola.com.br) - Cravinhos - SP.

PRINCIPAIS RESULTADOS TÉCNICO-CIENTÍFICOS

Introdução

O controle eficiente de insetos e a busca de compostos biologicamente ativos que estão intimamente relacionados com a sobrevivência do ser humano, constituem importantes aspectos a serem estudados. Os insetos são os maiores competidores do homem com relação ao alimento, além de serem vetores de inúmeras moléstias que atingem o ser humano, rebanhos e as próprias plantas. Este projeto tem como objetivo realizar estudos visando controlar biorracionalmente insetos pragas e microorganismos associados, como fungos, bactérias e leveduras.

1. Formigas Cortadeiras e Microorganismos associados

1.1. – Formigas Cortadeiras, seu fungo simbiote e outros microorganismos



As formigas cortadeiras são conhecidas pelo poder de destruição de um grande número de espécies vegetais e pelo prejuízo econômico causado à agricultura (Mariconi, 1970; Berti Filho et al., 1992). Quase todas as culturas são atacadas e danificadas pelas formigas que cortam as folhas e ramos tenros, podendo destruir completamente as plantas. Em sistemas tropicais, chegam a consumir até 17 % da produção florestal (Cherrett, 1986). Elas vêm causando

sérios prejuízos na agricultura e silvicultura brasileira, sendo os principais alvos econômicos as espécies de *Eucalyptus* e *Pinus* (Boaretto e Forti, 1997).

A relação de simbiose existente entre as formigas cortadeiras e o seu fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus* é citada em vários estudos (Singer, 1986, Fisher et al., 1994, Pagnocca et al. 1996) e é indispensável para a sobrevivência de ambos.

Rodionova e Bezborodov (1997) relataram que as formigas alimentam a cultura fúngica com substrato vegetal que é constituído por polímeros complexos que representam 70 a 90 % do peso seco do mesmo. As pectinas presentes nos substratos vegetais desempenham funções de agente hidratante e de material cimentador para a rede de fibras de celulose (Sakai et al., 1993; Thakur et al., 1997), representam um terço do peso seco do tecido vegetal de dicotiledôneas e de algumas monocotiledôneas. Para promover a degradação da pectina no tecido vegetal é necessário um complexo enzimático. Enzimas que degradam os polissacarídeos vegetais em açúcares redutores foram detectadas no fungo simbiote (Siqueira et al. 1998; Silva, 1999; Silva et al. 2003) e também encontradas no líquido fecal de *A. colombica tonsipes* (Martin et al. 1975) e *A. sexdens rubropilosa* (Siqueira, 1997; Silva, 1999). Estes açúcares constituem a principal fonte de energia para o formigueiro (Bacci Jr. et al. 1995). Portanto, as formigas utilizam o fungo simbiote para promover esse processo de degradação, uma vez que não são capazes de degradar a pectina diretamente. Portanto as pectinases, através de sua inibição, constituem um alvo factível para o controle das formigas cortadeiras. Baseados nestes estudos foram desenvolvidos ensaios de inibição destas enzimas (pectinase e amilase) por extratos e produtos naturais puros (Severino et al., 2003; Zavan et al., 2003), visando o controle de formigas.

Em função de seus hábitos de forrageamento, as formigas *Attini* levam microrganismos para seus ninhos e assim esse microhabitate é um excelente local para prospecção de novas espécies. Como exemplo dessa afirmativa, estudos anteriores realizados no laboratório do Centro de Estudos de Insetos Sociais da Unesp, Campus de Rio Claro, SP (CEIS), mostraram a ocorrência de duas novas espécies de leveduras [*Cryptococcus haglerorum* (Middelhoven et al., 2003) e *Sympodiomyces attinorum*, (Carreiro et al., 2004)] encontradas em ninhos da formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa*. Outras espécies ainda não descritas foram também encontradas em associação com outras formigas *Attini* e deverão ser descritas em breve. Ao longo dos últimos anos, em função das pesquisas com microrganismos

associados a insetos sociais realizadas no CEIS, foram isolados e identificados um número considerável de leveduras. Atualmente no CEIS esta sendo estruturado um Banco Temático com os microrganismos obtidos nessas pesquisas, para utilização em pesquisas que possam levar a entender e controlar as formigas cortadeiras. Um dos potenciais a ser investigado será o de selecionar estirpes tanto de leveduras como de actinomicetos que apresentem atividade antagonista contra outros microrganismos (antibiose).

Os objetivos propostos para o controle de formigas cortadeiras são descritos abaixo e para cada um são discutidos os principais resultados obtidos.

a) Determinar os efeitos tóxicos sobre as *Atta sexdens rubropilosa* (Formiga Cortadeira) e sobre os fungos *Leucoagaricus gongylophorus* (simbionte de formigas), inibidores de enzimas fúngicas pelos extratos orgânicos de plantas potencialmente tóxicas, de frações resultantes dos fracionamentos químicos destes extratos e dos compostos puros isolados ou sintetizados com base nos resultados prévios.

Estes estudos estão sendo desenvolvidos no CEIS-UNESP e no Laboratório de Bioensaios de PN do DQ-UFSCar sob a responsabilidade do Drs. Odair Correa Bueno, Fernando Carlos Pagnocca, João Batista Fernandes, Maria Fátima das G. Fernandes da Silva e Ana Paula Terezan.

Os ensaios de ação inseticida e de inibição do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* têm sido realizados com produtos naturais, produtos naturais complexados com metais, substâncias sintéticas, derivados de produtos naturais, extratos e frações dos mesmos. Houve a publicação de 5 trabalhos relacionados a este objetivo (vide lista no tópico trabalhos publicados) e estão em estudos os complexos de produtos naturais com metais com resultados bastante promissores (item 5 deste relatório), diversos produtos naturais, extratos e frações dos mesmos. Resultados parciais obtidos foram apresentados em diversos congressos (vide lista no tópico congressos). Foram investigadas as ações de várias plantas sobre as formigas: *Astronium graveolens*, *Trichilia catigua* e *Trichilia sp.*, *Virola sebifera*, *Myracrodruon urundeuva*, *Trichilia elegans*, *Schinus terebintifolius*, *Macairea urundeuva*, *Pilocarpus giganteus* e *P. ridelianu*, *Hortia oreádica*, *Anacardium humile* [desta planta foram isoladas em pequena quantidade quercetina, kampeferol, apigenina, hypoleatina, quercitrina e 3-O- β -galactotopiranosil quercetina] e *Zingiber officinale*. As substâncias isoladas e ensaiadas com potenciais de uso como inseticida foram alizarina, 2-metilantraquinona, antraquinona, menadiona, 1,4-naftoquinona, narnina, naringina, ricinina, sesamina, quercetina, galato de metila e uma mistura de alquil catecóis conhecidos como urushióis.

Os estudos de inibição das enzimas fúngicas estão em fase de obtenção de reatores e detectores eletródicos com as mesmas (pectinase e amilase) e com acetilcolinesterase, que estão relacionadas com o controle do formigueiro e os avanços estão discutidos no item 6 deste relatório.

Esta em fase final de desenvolvimento nova metodologia para bioensaios de inibição do fungo simbionte, *L. gongylophyros*, cuja análise permitirá uma maior acuricidade dos resultados e reprodutibilidade do ensaio. Extratos e derivados de flavonóides complexados foram ensaiados e foram obtidos resultados bastante promissores de inibição e sucesso da nova metodologia, cujos resultados deverão ser analisados por quimiometria, o que será possível em razão da nova forma de verificar a inibição. Trabalho com esta metodologia deverá ser apresentado no congresso 12th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, que irá ocorrer em julho próximo em Melbourne, Australia. Esta metodologia foi aplicada usando complexos de produtos naturais com metais (discutidos no item 5 deste relatório), com extratos e frações das plantas *Astronium graveolens* and *Anacardium humile* com resultados equivalentes ao de padrões ativos e com probabilidade de serem utilizados no controle de formigas cortadeiras.

b) Fracionar os extratos orgânicos das plantas ativas, visando o isolamento e caracterização das moléculas responsáveis pelas atividades.

O controle destas formigas cortadeiras pode ser realizado através de métodos mecânicos, biológicos e químicos. Formulações contendo produtos químicos tóxicos aplicados diretamente nos ninhos na forma de pós, líquidos, gases ou iscas granuladas são os métodos químicos utilizados para controle de formigas cortadeiras (Boaretto e Forti, 1997). As iscas constituem-se num substrato atrativo em mistura com um princípio ativo tóxico e apresentado na forma de *pellets*.

Os óleos essenciais podem ser tanto atraentes como repelentes às formigas e têm potencial para serem utilizados nos seus controles. Durante o comportamento de forrageamento as operárias percebem os voláteis liberados pelas plantas e se for interessante desencadeiam uma seqüência comportamental característica da espécie. Uma vez isoladas as fontes de odor por procedimentos químicos, é necessário determinar quais são os componentes responsáveis pela atividade comportamental do inseto. É fundamental realizar bioensaios que demonstrem claramente as respostas estimuladas pelos compostos contidos nas fontes do odor, para que se possa detectar se um determinado semioquímico está realmente proporcionando a atração do inseto. Bioensaios em olfatômetros em forma de “Y” (Barrows, 1907) fornecem informações sobre os mecanismos envolvidos na orientação dos insetos à fonte de odor. Os termos atração (resposta positiva) e repulsão (resposta negativa) descrevem as respostas locomotoras a estímulos que resultam na diminuição ou aumento, respectivamente, da distância entre o organismo receptor e o emissor da mensagem. Estudos de mapeamento por microscopia eletrônica (Souza et al. 2006) e eletroantenográficos (Arab et al. 2004; Batista-Pereira et al. 2004a-c) têm sido desenvolvidos de maneira que se possam realizar ensaios com óleos essenciais detectando aqueles com ação sobre as antenas em concentrações extremamente pequenas e rapidamente. Assim, a combinação das técnicas de eletroantenografia e olfatometria deve ser extensamente estudada de forma a permitir usar os resultados no controle das formigas cortadeiras e de outros insetos alvos deste estudo.

A busca de maneiras de controle de formigas cortadeiras utilizando compostos de origem natural que sejam mais seletivas e menos prejudiciais ao meio ambiente vem sendo uma das principais linhas de pesquisa do grupo. Dentro desta linha são estudadas plantas potencialmente tóxicas a essas formigas, seu fungo simbiote, outros microorganismos presentes no formigueiro, assim como enzimas relacionadas às interações formigas-plantas-fungos-microorganismos. Os estudos realizados até o momento consideram os aspectos econômicos e ambientais, na tentativa de buscar alternativas que viabilize estratégias de controle para formigas cortadeiras em áreas de cultivo agrícola.

Este objetivo vem sendo desenvolvido sob a responsabilidade dos Drs. João Batista Fernandes, Paulo Cezar Vieira, Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva, Edson Rodrigues Filho e Moacir Rossi Forim.

As plantas *Astronium graveolens*, *Trichilia catigua* e *Trichilia sp*, *Virola sebifera*, *Myracrodruon urundeuva*, *Trichilia elegans*, *Schinus terebintifolius*, *Macairea urundeuva*, *Pilocarpus giganteus* e *P. ridelianu*, *Hortia oreadica* e *Anacardium humile*, em razão da atividade das mesmas sobre as formigas estão sendo alvo de fracionamento. Foram isoladas de *A. humile* em pequena quantidade quercetina, kampeferol, apigenina, hypoleatina, quercitrina e 3-O- β -galactopiranosil quercetina. Outras substâncias isoladas e ensaiadas com potenciais de uso como inseticida foram alizarina, 2-metilantraquinona, antraquinona, menadiona, 1,4-naftoquinona, narnina, naringina, ricinina, sesamina, quercetina, galato de metila e uma mistura de alquil catecóis conhecidos como urushióis.

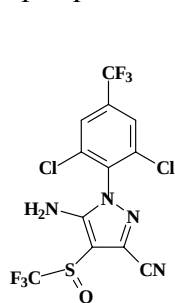
Visando melhorar a atividade dos compostos (estabilidade dos mesmos e/ou disponibilidade no local de ação) e desenvolver nova forma de controle das formigas e os demais insetos pragas em estudo, estão sendo realizados microencapsulamento de ricinina, azadirachtina e xantiletina. Os resultados têm sido promissores, tanto no microencapsulamento quanto na ação das formulações no formigueiro. Trabalho relacionado a esta atividade deverá ser apresentado no 12th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, que irá ocorrer em julho próximo em Melbourne, Australia. Parte destes resultados deverá ser alvo de patenteamento.

c) Determinar o efeito de iscas contendo subfrações de extratos e substâncias tóxicas extraídas das plantas, nos formigueiros de *A. sexdens* de laboratório e de campo e desenvolver novas iscas contendo simultaneamente substâncias atrativas, inseticidas e fungicidas e desenvolver novas tecnologias de iscas para as saúvas que ocorrem na cultura da cana-de-açúcar.

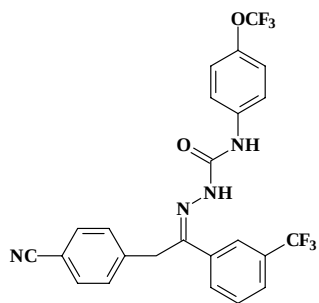
Esta atividade está sob a responsabilidade dos Drs. Odair Corrêa Bueno e João Batista Fernandes e deverá ter início no próximo período após definir os extratos e/ou frações e/ou produtos naturais e/ou derivado dos mesmos que apresentem maior ação sobre o formigueiro e quantidades suficientes para ensaio em campo.

d) Sintetizar e/ ou modificar grupos funcionais das moléculas ativas isoladas de plantas e de

substâncias com esqueletos carbônicos iguais e semelhantes àquelas que têm atividade tóxica, porém com substituintes diferentes, visando maior poder de ação sobre as pragas e menor toxicidade ao homem e outros mamíferos. Fipronil é o principal inseticida utilizado no controle de insetos-praga no Brasil, apesar da proibição do mesmo na França, dada à eficiência apresentada por esta molécula, pois as pesquisas revelaram na maioria dos casos resultados satisfatórios de controle (Costa e Cruz, 2006).



Fipronil



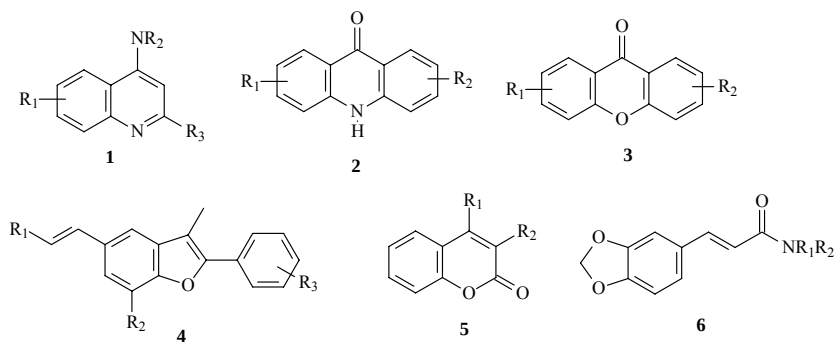
Metaflumizone

O Fipronil é um inseticida do grupo químico fenilpirazol e foi descoberto pela Rhône-Poulenc Agro no ano de 1987. Nos EUA sua formulação é bastante variada, indo desde iscas atrativas para o controle de formigas até “sprays” utilizados no controle de carrapatos, pulgas (frontline) e ácaros, além do controle de pragas da raiz do milho e do gorgulho aquático do arroz. O fipronil representa a segunda geração de inseticidas que agem no GABA (ácido gama-aminobutírico). Sendo os ciclodienos a primeira geração a qual é representada também pelos inseticidas

endosulfam e lindane. O inseticida fipronil é uma molécula extremamente ativa e afeta o SNC (Sistema Nervoso Central) do inseto devido principalmente à interferência da passagem de íons de cloreto através do GABA, o qual é importante transmissor de impulsos nervosos (neurotransmissor) em animais vertebrados e invertebrados, causando neste último o descontrole do SNC, superexcitação e subsequente morte. Outro inseticida atualmente empregado, o metaflumizone da BASF, tem em sua estrutura, assim como o fipronil, dois grupos trifluormetil (CF_3). Alguns grupamentos alteram drasticamente as propriedades físico-químicas das substâncias, tanto quanto sua atividade (Barreiro e Fraga, 2001). Assim, a obtenção de derivados de produtos naturais que possuam alguma atividade, ou sintéticos baseados nos mesmos, com grupos trifluormetil deve ser investigada.

Neste período foi dada ênfase na síntese combinatória de análogos de produtos naturais isolados pelo grupo e que apresentaram atividade sobre a formiga cortadeira, seu fungo simbiote e também em *Spodoptera frugiperda*. As sínteses foram realizadas no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais do DQ-UFSCar que tem como principal linha de pesquisa a síntese de produtos naturais bioativos e análogos, empregando tecnologias combinatórias, visando a otimização da atividade biológica e a determinação da relação estrutura-atividade. Ele é coordenado pela Dra. Arlene Gonçalves Correa.

A etapa desenvolvida teve como objetivos: a) sintetizar alcalóides 4-quinolinônicos (1) e acridônicos (2), xantonas (3), neolignanas (4), cumarinas (5), piperamidas (6), entre outros, através de métodos descritos na literatura e/ou de novas rotas sintéticas; b) realizar os bioensaios para verificar a atividade inseticida destes compostos frente a *Atta sexdens* e *Spodoptera frugiperda*; c) a partir da identificação de um composto de partida que apresente atividade frente aos insetos, estudar possíveis modificações estruturais para a preparação de análogos; d) preparar coleções combinatórias, utilizando-se tanto síntese em fase sólida como em solução, e avaliar os componentes das mesmas com relação à atividade inseticida.



Compostos sintéticos análogos a produtos naturais

Neste primeiro ano de projeto, foram sintetizadas várias coleções de compostos de acordo com as classes mostradas acima. Trabalhos recentes do nosso grupo mostraram que amidas análogas à piperina foram ativas frente à lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*, e também à formiga cortadeira, *Atta sexdens*, e seu fungo simbionte (Pereira et al., 2006 e Pagnocca et al. 2006). A fim de dar continuidade a estes estudos, neste projeto prepararam-se novas amidas entre elas a mostrada no Esquema 1, a qual foi testada nas formigas e em *S. frugiperda*. Os resultados do bioensaio com a amida **8** com *S. frugiperda* foram melhores e estão listados na Tabela 1.

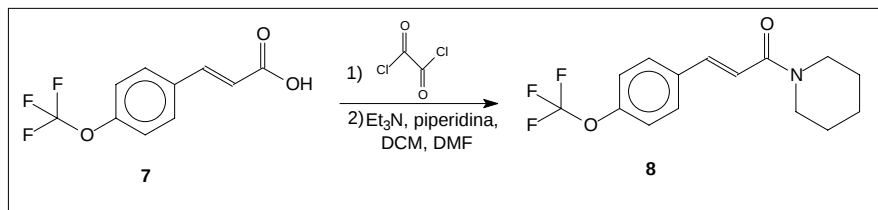


Tabela 1: Mortalidade causada pela amida **8** em diversas concentrações, sobre lagartas de segundo instar de *S. frugiperda*.

Concentração (mg/mL)	Dose (µg/mg larva)	Mortalidade Média (%) ± DP
10,0	2,94	64,0 ± 15,17 a
1,0	0,26	38,0 ± 17,89 ab
0,1	0,026	24,0 ± 11,40 b
0,01	0,0029	16,0 ± 23,02 b
Controle	-	4,0 ± 5,48 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

e) Obter complexos de produtos naturais–metais visando aumentar a atividade inseticida, fungicida ou inibidora de enzima, e conhecer os mecanismos de ações dos mesmos e os seus sítios ativos.

f) Desenvolver biorreatores (imobilizações de enzimas em colunas de HPLC e em eletrodos) e utiliza-los em ensaios de “High Throughput Screening” para obtenção de compostos ativos como inseticidas ou controladores de formigueiros através da inibição de pectinases e amilases,

Os principais resultados dos objetivos **e** e **f** são discutidos nos tópicos **5** e **6**, uma vez que os mesmos são aplicáveis a praticamente todos os insetos pragas alvos deste projeto.

g) Levantar a diversidade de leveduras associadas a insetos sociais (com destaque para formigas *Attini* e *Vespidae*), conhecer o seu papel nesta interação e desenvolver ensaios que possam ser utilizados para controle de formigas cortadeiras.

Este tópico está sendo desenvolvido sob a responsabilidade de Fernando Carlos Pagnocca, Ana Paula Terezan, João Batista Fernandes, Warley de Souza Borges e bolsistas do CEIS e da UFSCar.

O Laboratório de Microbiologia do CEIS vem trabalhando com a caracterização da microbiota associada a insetos sociais, especialmente às formigas *Attini* e vespas. Esta caracterização envolve o isolamento, identificação e seleção de estirpes com características que possam ser aproveitadas em vários campos, como o biocontrole e produção de compostos com atividades biológicas diversas.

As principais fontes de isolamento de microrganismos têm sido os ninhos das formigas *Attini* e de vespas. A atuação nesta área se concentrou na criação de um banco de microrganismos.

Após o isolamento em diferentes meios, os microrganismos de interesse foram purificados e estocados em ultrafreezer à temperatura de -85°C , de onde são posteriormente retirados para os testes de identificação e seleção de estirpes. Vários estudantes, em todos os níveis estão envolvidos com esses estudos. Devido ao grande número de microrganismos que é manuseado no laboratório, rotineiramente, desenvolve-se, com o auxílio de uma bolsa IC-PIBIC, um sistema informatizado para gerenciar o acervo microbiano existente.

O objetivo principal foi, portanto, a preparação de um banco de culturas contendo espécies de leveduras associadas a insetos sociais e futuramente incorporar ao banco outros dados sobre as espécies, como fotos, classificação biológica, resultados de sequenciamentos e de testes fisiológicos.

Como piloto da metodologia, foi inicialmente organizada uma pequena coleção de leveduras isoladas da vespa *Polybia paulista*. Essa coleção foi feita totalizando 110 estirpes estocadas em

ultrafreezer e com os dados todos catalogados no banco de dados.

Primeiramente, organizou-se e catalogou-se todos os dados de leveduras isoladas pelo pesquisador André Rodrigues durante seu doutoramento. Ele isolou 52 estirpes de leveduras a partir de cinco espécies de formigas (*Atta texana*, *Cyphomyrmex wheeler*, *Trachymyrmex septentrionalis*, *Acromyrmex coronatus* e *Trachymyrmex turrifex*) e de uma espécie de besouro, *Eurysternus* sp. Seguiram-se 50 estirpes de leveduras de três espécies de formigas: *Atta laevigata*, *Mycocepurus goeldii* e *Mycetarotes* sp. Algumas dessas estirpes foram sequenciadas. Outras 49 estirpes de leveduras isoladas a partir de dez espécies de formigas (*Acromyrmex ambiguus*, *Acromyrmex crassipinus*, *Acromyrmex disciger*, *Acromyrmex* sp, *Acromyrmex heyeri*, *Acromyrmex laticeps*, *Acromyrmex lundii*, *Acromyrmex subterraneus*, *Atta laevigata* e *Trachymyrmex* sp.) foram catalogadas no Banco e assim por diante, totalizando até o momento cerca de 1700 estirpes já catalogadas, devendo este número ao final do projeto ultrapassar 2500. Este processo, iniciado em agosto de 2008 continua sendo executado e à medida que novos microrganismos são isolados, eles vão sendo incorporados à coleção.

Ao final do processo, pretende-se disponibilizar o acesso ao acervo para outros pesquisadores que desejarem interagir com o laboratório Microbiologia do CEIS.



O trabalho executado até o momento pode ser acessado através do site <http://estirpes.wii-records.com/>.

Solicita-se que seja mantido em sigilo o banco de microrganismos, pois este ainda está em construção.

Ao lado, detalhe da página inicial para acesso ao Banco de Microrganismos

Outros resultados relevantes, selecionados dentro os vários estudos que estão sendo desenvolvidos pelos estudantes de PG em Microbiologia Aplicada vinculados ao projeto são apresentados a seguir.



Actinobactérias em *Trachymyrmex* sp.

O trabalho da mestrandia Thaís Demarchi Mendes em fase de conclusão tem como título: Bioprospecção de compostos com atividade antibacteriana e anti-*Candida* em actinobactérias isoladas de formigas Attini. Os objetivos são: Avaliar a produção de compostos com atividade antimicrobiana por actinobactérias isolados da cutícula de formigas dos gêneros *Trachymyrmex* e *Acromyrmex*. Para sua execução quarenta e quatro actinobactérias foram isoladas da cutícula de operárias de *Trachymyrmex* spp. e de operárias de *Acromyrmex* spp.

As estirpes obtidas foram cultivadas em meio MPE modificado (Bomfim, 2008) a 28°C durante 120 horas sob agitação de 150 rpm. Após o período de incubação, as culturas foram centrifugadas para a retirada da massa celular e o sobrenadante submetido à extração líquido-líquido, utilizando como solvente imiscível o acetato de etila. A fase orgânica foi evaporada à secura por meio de rotaevaporador e os resíduos avaliados quanto à atividade antimicrobiana sobre os microrganismos: *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Enterococcus faecium* CCT 5079, *E. hirae* ATCC 10541, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388, *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708, *S. typhimurium* ATCC14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 11733, *Candida albicans* CBS 562, *C. dubliniensis* CBS 7987, *C. glabrata* CBS 138, *C. krusei* CBS 573, *C. parapsilosis* CBS 604, *C. tropicalis* CBS 94. Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados pelo método de microdiluição de acordo com as normas M7-A6 (para bactérias) CLSI (2005) e M27-A2 (para leveduras) (CLSI, 2002). Os resultados da triagem dos extratos com atividade antimicrobiana estão apresentados nas Tabelas 2 e 3. Dos 44 extratos avaliados, 15 (34,09%) apresentaram atividade inibitória sobre pelo menos uma das estirpes. Nenhum dos extratos apresentou atividade, nas concentrações testadas, sobre bactérias Gram-negativas e os 15 extratos ativos apresentaram atividade para pelo menos uma das bactérias Gram-positivas. As leveduras do gênero *Candida* tiveram seu crescimento inibido por 8 extratos (18,18%).

Bactérias Gram-negativas são menos sensíveis aos agentes com atividade antibacteriana, devido à composição de sua parede que é menos permeável a essas moléculas. Conseqüentemente, triagens de compostos com atividade antibacteriana geralmente resultam em maior índice de inibição sobre bactérias Gram-positivas. Outros trabalhos de avaliação de atividade antimicrobiana de actinobactérias chegaram a semelhante resultado (Saadoun;Gharaibeh, 2003; González et al., 2005). A não-inibição do crescimento de nenhuma das bactérias Gram-negativas estudadas não pode garantir que as actinobactérias avaliadas neste trabalho não produzam compostos com atividade antimicrobiana sobre este grupo de bactérias, uma vez que, como se tratam de extratos brutos, compostos ativos podem estar em pequena quantidade no extrato e talvez estes extratos sejam ativos em concentrações maiores ou se mostrem ativos quando fracionados e quando o composto for purificado.

A bactéria *B. subtilis* foi o microrganismo mais sensível, sendo inibida por 13 extratos, com MIC entre 15 e 1000 µg.mL⁻¹. Entre as leveduras, a espécie de *Candida* mais sensível foi *C. albicans*, com MIC variando entre 15 e 1000 µg.mL⁻¹. As mais resistentes foram *C. glabrata* e *C. tropicalis*, inibidas por apenas um dos extratos.

Tabela 2: MIC (µg.mL⁻¹) dos extratos ativos sobre bactérias

Código do isolado	<i>B. subtilis</i> ATCC 6051	<i>E. faecium</i> CCT 5079	<i>E. hirae</i> ATCC 10541	<i>R. equi</i> ATCC 6939	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 11733
SES080420-07B	800	*	*	*	*	*	*
ARTD030908-01B	*	*	*	*	*	*	15
ARTD030908-02A	30	150	100	*	*	50	80
ARTD030908-02C2	900	*	*	900	1000	800	700
ARTD030908-03A	15	150	60	*	40	30	50
ARTD030908-03D	20	200	50	*	20	40	100
SES080909-08A	*	*	*	*	*	*	900
SES080911-04A	30	150	100	*	60	150	100
SES080911-04A1	*	500	500	*	*	*	*
SES080911-10A	200	*	*	*	*	700	*
SES080921-03B	200	50	80	*	60	100	30
SES080922-03D	1000	*	*	*	*	*	*
SES080924-01A	800	*	*	*	*	*	*
SES080924-01A1	900	*	*	*	500	*	800
SES080924-01A2	900	*	*	*	*	*	*
SES080924-01B	300	*	*	*	600	*	*

* MIC > 1000 µg.mL

Tabela 3: MIC (µg.mL⁻¹) de extratos ativos sobre *Candida* spp.

Código do isolado	<i>C. albicans</i> CBS 562	<i>C. dubliniensis</i> CBS 7987	<i>C. glabrata</i> CBS 138	<i>C. krusei</i> CBS 573	<i>C. parapsilosis</i> CBS 604	<i>C. tropicalis</i> CBS 94
ARTD030908-02A	60	900	*	40	80	1000
ARTD030908-02C2	800	*	1000	*	*	*
ARTD030908-03A	40	700	*	15	125	*
ARTD030908-03D	60	1000	*	15	200	*
SES080909-08A	1000	*	*	*	*	*
SES080911-04A	10	800	*	125	200	*
SES080911-04A1	500	*	*	*	*	*
SES080911-10A	800	*	*	*	*	*

* MIC > 1000 µg.mL⁻¹

Dos extratos ativos, seis apresentaram maior espectro de ação, inibindo pelo menos 7 dos microrganismos estudados. Dentre esses extratos, cinco apresentaram baixos valores de MIC e podem ser destacados: ARTD030908-02A, ARTD030908-3A, ARTD030908-03D, SES080911-04A, SES080921-03B (espectro de ação restrito às bactérias Gram-positivas).

Os isolados ARTD030908-02A, ARTD030908-03A e ARTD030908-03D, apresentam o mesmo morfotipo, podendo ser pertencentes à mesma espécie e por esta razão, apenas um desses

representantes foram selecionados para prosseguimento dos estudos. Dentre estes três isolados, o que apresentou menores resultados de MIC foi a cepa ARTD030908-03A e esta foi selecionada para o estudo químico, em andamento, do(s) composto(s) com atividade antimicrobiana presente(s) no extrato.

O trabalho da mestrandia Tatiana de Freitas Costa de Carvalho tem como título: Leveduras associadas a formigas da tribo Attini (Hymenoptera: Formicidae). Os objetivos são: isolar, caracterizar e identificar leveduras de ninhos de formigas da tribo Attini, descrevendo espécies novas caso fossem isoladas durante a execução do projeto. Um Banco de Estirpes específico (temático) também foi preparado.

As leveduras foram isoladas de material orgânico dos ninhos constituído pelo jardim de fungos e outros de material de descarte. Foram feitas suspensões de 0,1% de cada material em Yeast Malt Broth (YMB) + 10 mg % cloranfenicol (Yarrow, 1998). Aliquotas dessas suspensões foram semeadas em placas de petri contendo os meios de isolamento Malt Yeast Peptone (MYP) (Bandoni, 1972), Yeast Malt Agar (YMA) (Yarrow, 1998), ambos com o antibiótico cloranfenicol e pH ajustado para 4,0. As placas foram incubadas a 22°C no escuro e monitoradas diariamente para isolamento das colônias, as quais foram selecionadas com base em seus diferentes morfotipos. Depois de purificadas, as estirpes foram estocadas em glicerol 15 % a -85°C (Centraalbureau Voor Schimmelcultures, 2008). Após a caracterização da morfologia colonial e celular de cada estirpe, foram realizados os testes fisiológicos, utilizando-se a metodologia descrita por Barnett et al. (2000) e Yarrow (1998). De acordo com essas análises, as estirpes semelhantes foram agrupadas. Um novo agrupamento foi feito através do método de “fingerprinting” (MSP-PCR) utilizando o primer (GTG)₅ de acordo com Meyer et al. (1993). Uma vez concluída esta etapa, foi possível reavaliar e, caso necessário, reagrupar os isolados. Um representante de cada grupo foi selecionado para seqüenciamento da região D1/D2 da subunidade maior (26S) do rDNA (Kurtzman; Robnett, 1998) utilizando os primers NL1 e NL4 (Sampaio et al., 2001). As seqüências foram comparadas com seqüências homólogas obtidas no banco de dados do GenBank/NCBI (National Center for Biotechnology Information) através da ferramenta de busca BLAST disponível no site do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) (Altschul et al., 1997).

Os ninhos de *Trachymyrmex* sp. foram coletados em três regiões distintas. Em Rio Claro (SP), três jardins de fungo dessa espécie (SES080618-01, SES080618-02, SES080618-03) foram coletados em 18/06/2008 e analisados no laboratório no dia posterior. Outros seis jardins de fungos (SES080921-01, TRS 080921-06, SES080922-03, SES080922-04, SES080924-02, SES080925-01) foram coletados na região de Uberlândia (MG) no período de 21 a 25/09/2008, sendo esses analisados no dia 30/09/2008. Entre os dias 9 e 10/03/2009, foram coletados dois jardins de fungo (SES090309-03 e SES090309-04) e um material de descarte (SES090310-02) na cidade de Taquara (RS), além de outro material de descarte (SES090309-02) coletado na cidade de Canela-SC, os quais foram analisados após sete dias em laboratório. Desses treze ninhos de *Trachymyrmex* sp, foram selecionadas trinta e nove estirpes distribuídas em seis ninhos (Tabela 4). Dos ninhos SES080921-01, SES080922-03, SES080922-04, SES080925-01 e SES090309-04 e dos materiais de descarte (SES090310-02 e SES090309-02), não foram isoladas leveduras.

Tabela 4: Códigos das leveduras encontradas em seis jardins de fungos de ninhos de *Trachymyrmex* sp

Ninhos	Meios de isolamento			Número total de estirpes (n)
	YMA	MYP	YMB*	
SES080618-01	-	-	TD (39 - 40 - 41 - 42)	4
SES080618-02	TD (47 - 48 - 49)	-	TD (43 - 44 - 45 - 46)	7
SES080618-03	TD (55 - 56)	-	TD (50 - 51 - 52 - 53 - 54)	7
SES080921-03	TD (2 - 4 - 7 - 8 - 9 - 10 - 11 - 12 - 13 - 14 - 15)	TD6	TD (3 - 5)	14
SES080924-02	-	TD (34 - 35 - 36 - 37)	-	4
SES090309-03	TE42	TE (40 - 41)	-	3
TOTAL				n=39

Legenda: * O restante do meio YMB, o qual continha o material orgânico, foi transferido em alíquotas de 200µl para placas contendo o meio YMA com pH 4.0 e cloranfenicol.

Finalizando o agrupamento das estirpes, através do MSP-PCR, formaram-se vinte grupos, sendo

treze desses representados por uma única estirpe (Tabela 5). Dois grupos, correspondentes às estirpes TD (3-5) e TD 49, serão novamente seqüenciados, pois suas seqüências não permitiram uma boa análise. As estirpes TE (40-41), que possuem 98% de similaridade com *Trichosporon chiarellii*, terão a região ITS seqüenciada para se averiguar a possibilidade de uma espécie nova de levedura. As duas espécies mais predominantes foram *Pichia guilliermondii*, com treze isolados, e *Candida gorgasii* com nove estirpes.

Tabela 5: Espécies encontradas nos jardins de fungos de cinco ninhos coletados em Rio Claro, Uberlândia e Taquara pertencentes a *Trachymyrmex* sp. de acordo com o seqüenciamento dos domínios D1/D2 da região 26S do rDNA.

Grupos (MSP-PCR)	Espécie	Id. Max.	Pares de bases	Código Genbank	Estirpes do grupo
1	<i>Candida gorgasii</i> ^d	98%	586	FJ614673.1	TD2*
2	<i>Candida</i> sp. ^d	99%	575	EU200785.2	TD10*
3	<i>Candida gorgasii</i> ^d	99%	555	FJ614673.1	TD (13* - 15)
4	<i>Cryptococcus laurentii</i> ^d	99%	588	FJ743631.1	TD14*
5	<i>Pichia</i> sp. ^a	99%	599	FN398021.1	TD39*
6	<i>Pichia</i> sp. ^{a,c}	99%	609	FN398021.1	TD (41* - 53)
7	<i>Pichia guilliermondii</i> ^a	99%	540	GQ140299.1	TD42*
8	<i>Pichia</i> sp. ^{a,b,c}	99%	607	FN398021.1	TD (40-43 a 45*-46-50 a 52
9	<i>Cryptococcus</i> cf. <i>podzolicus</i> ^b	100%	595	FJ743620.1	TD47*
10	<i>Pichia</i> sp. ^b	100%	585	FN398021.1	TD48*
11	<i>Pichia guilliermondii</i> ^c	99%	471	GQ140299.1	TD54*
12	<i>Pichia</i> sp. ^c	100%	596	FN398021.1	TD55*
13	<i>Cryptococcus</i> cf. <i>podzolicus</i> ^c	99%	614	FJ743620.1	TD56*
14	<i>Trichosporon loubieri</i> ^e	100%	509	AY101608.1	TD (34 - 35* - 36 - 37)
15	<i>Candida gorgasii</i>	98%	531	FJ743610	TD (4 - 6* - 8 - 9 - 12)
16	<i>Cryptococcus</i> sp. ^d	100%	593	AF444705	TD 7*
17	<i>Trichosporon chiarellii</i>	98%	574	EU030272	TE (40 - 41)**
18	<i>Rhodotorula</i> sp	99%	559	AY731807	TE 42*
19	<i>Candida gorgasii</i>	99%	542	FJ614673.1	TD 11*

Legenda: * Estirpes selecionadas para representar o grupo no seqüenciamento dos domínios da região 26S do rDNA. **A estirpe selecionada para representar esse grupo foi a TE39 isolada de jardim de fungo de ninho de *Myrmicocrypta* sp. As letras indicam os códigos dos ninhos dos quais as espécies foram encontradas - a: SES080618-01 (Rio Claro-SP), b: SES080618-02 (Rio Claro-SP), c: SES080618-03 (Rio Claro-SP), d: SES080921-03 (Uberlândia-MG), e: SES080924-02 (Uberlândia-MG), f: SES090309-03 (Taquara-RS).

O trabalho da pós-doutoranda, Ana Paula Terezan, tem como título: “Cultura de microorganismos (fungos e leveduras), ação inibitória sobre os mesmos, isolamento de seus constituintes químicos e biotransformações de produtos naturais com atividade sobre insetos” e objetivos de a) Identificar os componentes voláteis das estirpes de leveduras que vivem associadas às formigas: *Geotrichum candidum*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia caribbica* (*Candida fermentati*), *Pichia anomala* (*Pichia subpelliculosa*) e *Trichosporon dulcitum* por CG/EM(IE); b) Determinar através do método eletroantenográfico EAG e EAD a seletividade e sensibilidade dos receptores antenais de *A. sexdens rubropilosa* e quais são os voláteis bioativos das estirpes de leveduras em estudo e das biotransformações; c) Realizar ensaios comportamentais, teste do olfatômetro em “Y”, com o objetivo de se quantificar e qualificar a resposta motora do inseto frente aos voláteis isolados das leveduras produtoras de aromas que apresentarem maior resposta antenal; d) Investigar a capacidade de biotransformação das estirpes de leveduras e do fungo simbionte *Leucoagaricus gongylophorus* isolados do ninho de *Atta sexdens rubropilosa* utilizando como substrato compostos anteriormente isolados de planta com atividade sobre formigueiros; e) Identificar os produtos de biotransformação e testar suas ações inseticidas e/ ou fungicida no formigueiro de *Atta sexdens rubropilosa*.

O desenvolvimento deste trabalho completo e detalhes de execução podem ser vistos no relatório parcial da bolsista e resumidamente os resultados obtidos até o momento são descrito a seguir. As estirpes de leveduras estudadas foram provenientes dos ninhos de formigas cortadeiras de diferentes regiões do Brasil, como demonstrado na Tabela 6. Essas estirpes de leveduras e o fungo *Leucoagaricus gongylophorus* foram cedidos pelo Dr. Prof. Fernando Carlos Pagnocca do Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS) – UNESP – Rio Claro/SP.

Tabela 6: Estirpes de leveduras produtoras de aromas associadas às formigas cortadeiras.

Espécie Provável	Origem	Formiga Associada	Código
<i>Geotrichum candidum</i>	Blumenau,SC	<i>Acromyrmex disciger</i>	56b
<i>Pichia guilliermondii</i>	Lages /Vacaria RGS	<i>Acr. laticeps</i> <i>Acr. Subterraneus</i>	78b 16a2
<i>Pichia caribbica</i> ou <i>Candida fermentati</i>	Thermas de Santa Barbara,RGS	<i>Acromyrmex coronatus</i>	11 ^a
<i>Trichosporon dulcitum</i>	Chuveisca	<i>Acromyrmex lundii</i>	27b1
<i>Pichia anomala</i> ou <i>Pichia subpelliculosa</i>	São Paulo	<i>Mycocetpus goldii</i>	MY6-1

Os voláteis destas leveduras foram extraídos através da técnica de SPME utilizando diversos tipos de fibras, sendo a que apresentou melhor resultado foi a fibra CAR/PDMS. Foram identificados por CG/EM os componentes das estirpes e eles são indicados na Tabela 7.

Tabela 7: Compostos voláteis das diferentes estirpes de leveduras identificados por CG/EM(EI).

Estirpes	Compostos							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
56b	X	X			X	X	X	X
78b	X	X			X	X	X	
16a2	X		X	X				
MY6-1	X		X	X		X		

I- Propanoato de etila, II- 2-metil-propanoato de etila (isobutirato de etila), III - Derivado do 1-butanol, IV - 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico), V- 2-metil-butanoato de etila (2-metil-butirato de etila), VI- 3-metil-butanoato de etila, VII- Butanoato de etila, VIII- Tiglatato de etila.

Foram realizados experimentos de biotransformações com o fungo *Leucoagaricus gongylophuros* e com as leveduras. Os resultados parciais indicam a transformação da flavanona por *Geotrichum candidum* (56b), *Pichia guilliermondii* (78b e 16a2) e *Pichia anomala* (MY6-1) levando ao produto de redução da carbonila da flavanona.

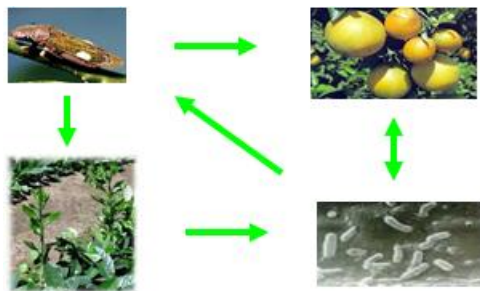
Os ensaios eletroantagráficos e em tubo Y para determinar a atratividade ou repelência dos voláteis das leveduras em formigas cortadeiras já foram iniciados com o treinamento inicial para-se obter as melhores respostas das antenas.

O trabalho do pós-doutorando Warley de Souza Borges relaciona o fungo *L. Gongylophuros* e outros microorganismos (fungo *Escovopsis* e actinobactéria *Pseudonocardia*) associados ao jardim de fungos de *Atta sexdens rubropilosa* e de outras cortadeiras. Neste estudo estão sendo verificadas as ações de extratos das actinobactéria sobre *Escovopsis* indicando que estas últimas devem ter papel importante no controle deste fungo patogênico ao formigueiro.

2. Doenças dos Citros, Insetos e Microorganismos associados

Estes estudos são realizados na UFSCar sob a coordenação dos professores Edson Rodrigues Filho, João B. Fernandes, M. Fátima G. F. da Silva, Moacir R. Forim e Paulo C. Vieira, e contando com o apoio Dra. Alessandra Alves de Souza e o Dr. Marcos A. Machado do Centro APTA Citros Sylvio Moreira, (INCT Citros).

2.1 Clorose Variegada dos Citros (CVC)



Enxerto e bioensaios com *Xylella fastidiosa*

A clorose variegada dos citros, também conhecida como “amarelinho dos citros”, foi observada pela primeira vez em 1987, nos pomares da região norte e noroeste, atacando as principais variedades de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck), independentemente do porta-enxerto utilizado. O agente causal desta doença é uma bactéria gram-negativa denominada *Xylella fastidiosa* que tem como preferência

infectar os vasos do xilema da planta. A transmissão se dá através das cigarrinhas da família Cicadellinea.

Com o conhecimento do perfil químico do enxerto de *Citrus sinensis* sobre *C. limon*, o passo seguinte foi desenvolver a bactéria *X. fastidiosa*, assim como metodologia de bioensaios de inibição de seu desenvolvimento. A *X. fastidiosa* possui diferentes fases de desenvolvimento, após aproximadamente 5 dias de crescimento da bactéria em meio líquido PW, esta se encontra na fase exponencial, onde ela está se multiplicando e se reproduzindo. Após 10 dias de crescimento, a bactéria encontra-se no início da sua fase estacionária, na qual ela se encontra em seu maior nível populacional, a partir deste período ela começa a parar de se reproduzir. Os ensaios iniciais foram realizados com a bactéria na fase estacionária, pois a literatura cita que é neste estágio que ela encontra-se mais resistente. Assim, a concentração mínima inibitória determinada seria suficiente para inibir a bactéria em qualquer uma das fases. No entanto, posteriormente resolveram-se fazer os ensaios em ambas as fases para verificar se as mudanças nos MICs seriam discrepantes ou discretas. Pode-se verificar que os resultados são relativamente próximos e que, portanto, não há diferenças discrepantes entre as duas fases. A partir destes dados começou-se a realizar os experimentos utilizando-se apenas a fase exponencial. Os resultados até o momento mostraram MICs muito bons, contudo não se tem dados na literatura para comparação, exceto com antibióticos de uso em humanos e o protocolo do ensaio foi diferente, ou seja, os antibióticos eram colocados junto com a bactéria para se desenvolver e não após esta já estar desenvolvida.

O projeto submetido ao INCT foi preparado e deu-se o início ao mesmo antes de sua aprovação, dando ênfase aos ensaios com *X. fastidiosa*. Com isto, no final de 2008 quando o projeto foi aprovado já estávamos publicando os primeiros resultados. O trabalho foi muito bem elogiado pelos avaliadores, pois foi feito um pequeno “review” sobre todos os estudos realizados pelo grupo com o enxerto de *Citrus sinensis* sobre *C. limon*, comparando com as respectivas plantas não enxertadas. Isto foi um grande ineditismo na literatura, além, dos ensaios com a bactéria *X. fastidiosa* (ver no item publicações). Entre as substâncias que mostraram boa atividade (Figura 1), flavanona hesperidina (3.3 μ M) e azadirachtina (2.2 μ M) são encontrados em grande quantidade em suas respectivas plantas, indicando potenciais aplicações *in vivo*. O óleo do Neem e extratos de *Azadirachta indica* A. Juss. foram nanoencapsulados para aumentar a estabilidade do princípio ativo (ver abaixo) e ensaios frente a *X. fastidiosa* estão em andamento. Ensaios com sais de metais como CuSO_4 mostraram bons resultados em inibição desta bactéria (Rodrigues et al., 2008), com isto, a flavanona hesperidina tem sido complexada com alguns metais entre eles o cobre (ver abaixo a preparação destes complexos) e em breve será avaliada frente ao desenvolvimento de *X. fastidiosa*. Uma das grandes vantagens destes complexos é o aumento de sua solubilidade em água, facilitando sua aplicação nos ensaios *in vitro* e *in vivo*.

Os ensaios são realizados por alunos de mestrado e doutorado da UFSCar junto ao Centro APTA Citros Sylvio Moreira, situado na cidade de Cordeirópolis-S.P, sob os cuidados da professora Dra. Alessandra Alves de Souza e Marcos A. Machado (INCT Citros). Como até o momento não foi encontrado nenhum inibidor com MIC próximo da faixa de micro ou nano molar, a procura por protótipos continua. A subclonagem do gene gumM, e expressão da enzima GumM, uma glicosiltransferase de *X. fastidiosa* tem sido estudada e resultados foram apresentados em congresso e fez parte de uma programa de iniciação científica de nossa colaboradora Dra. Dulce Helena Ferreira de Souza e sua aluna Bianca Endo.

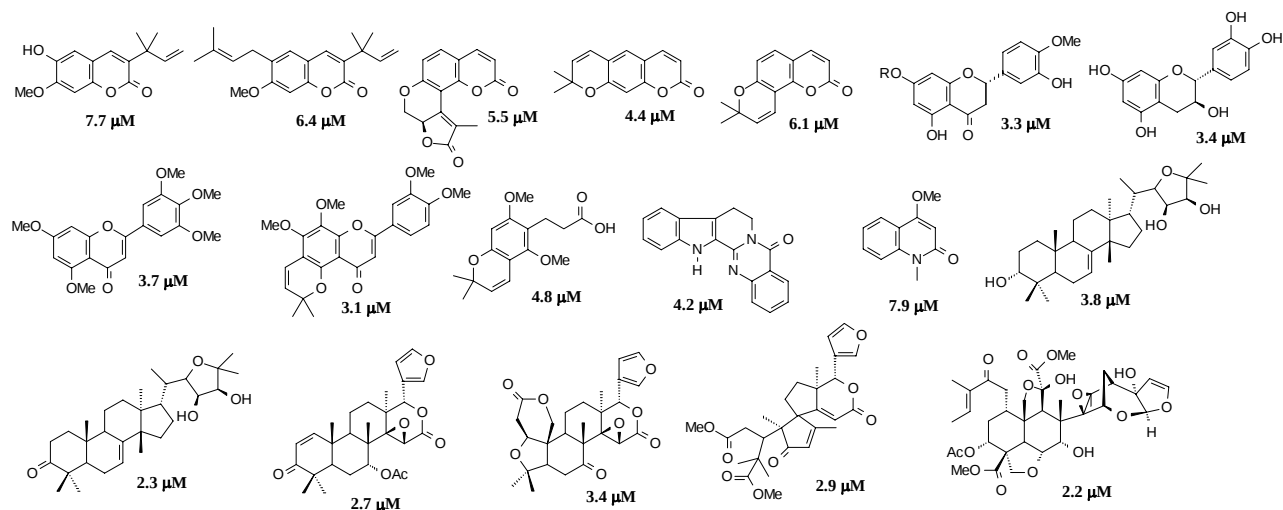
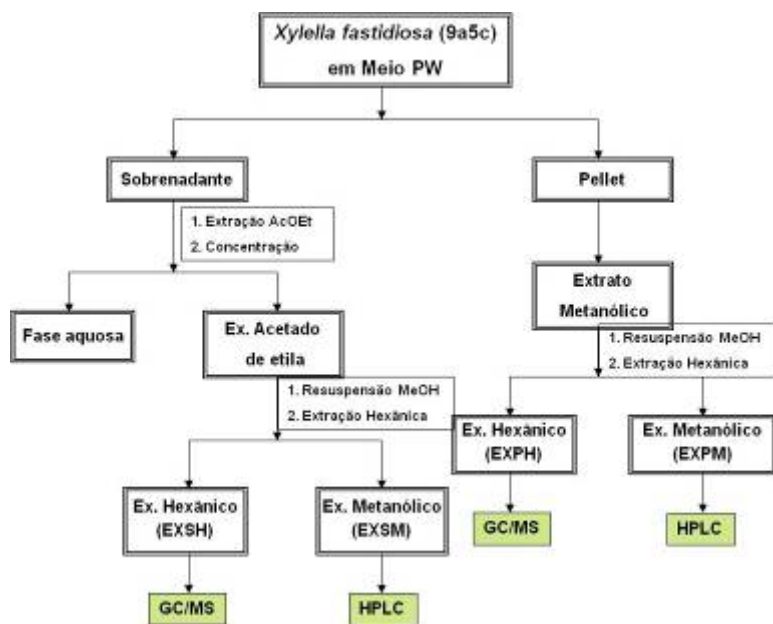


Figura 1. Efeito inibitório (MIC) dos compostos acima frente a *X. fastidiosa* 9a5c em fase estacionária e em mistura de células planctônicas e biofilme

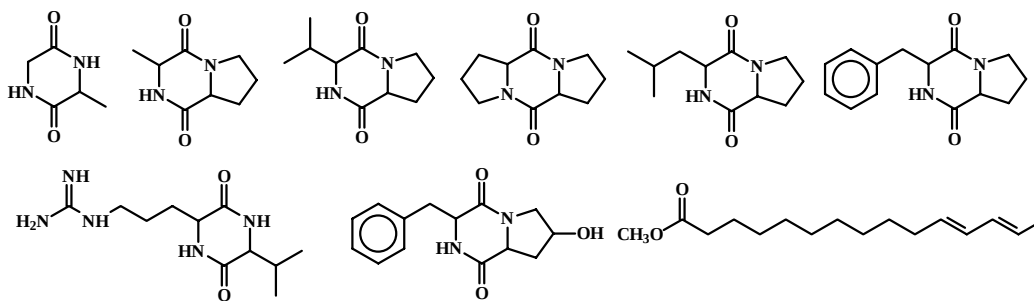
2.1.1 Estudo Químico de *X. fastidiosa*

Embora o sequenciamento do genoma da *X. fastidiosa* tenha sido concluído ainda não há medidas de controle satisfatórias que possam ser recomendados para esse patossistema. Uma alternativa para a inibição de crescimento, que é o modo de ação da maioria dos antibióticos tradicionais, pode ser a atenuação de produção de fator de virulência. Assim uma análise dos eventos metabólicos subjacentes à comunicação bacteriana intercelular e elucidação da biogênese das moléculas sinalizadoras podem contribuir à compreensão, como podem prover uma oportunidade para interferir no controle de produção de fator de virulência (Bredenbruch et al., 2005). Uma alternativa de entender e consequentemente inibir a formação do biofilme é realizar o estudo químico da *X. fastidiosa*. A bactéria foi desenvolvida em grande escala sob a orientação de Alessandra Alves de Souza e Marcos A. Machado no Centro APTA Citros Sylvio Moreira, como mostrado acima, e em seguida deu-se início ao estudo químico. O meio contendo a bactéria foi fracionado como mostra o esquema abaixo:

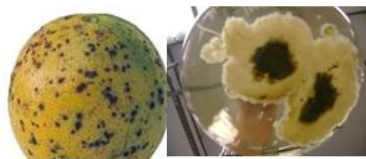


As dificuldades neste trabalho ainda são muito grandes, pois a colonização é muito lenta e extremamente dependente das condições ambientais, uma complexidade que afeta a produção em maior escala para o estudo químico. Com isto a massa das frações obtidas são pequenas, exigindo condições especiais para a separação e identificação de seus constituintes. Já se iniciou a importação pela FAPESP (verba INCT) de um aparelho de LC-NMR com as características de um 800 MHz, o qual permitirá concluir este trabalho. Acredita-se que em dois meses o aparelho estará no Brasil (DQ-UFSCar). Contudo várias substâncias já foram

identificadas e suas estruturas são apresentadas abaixo. **Solicita-se sigilo sobre estes dados, pois outros grupos fora do Brasil estão realizando estudos similares e encontrando dificuldades maiores.**



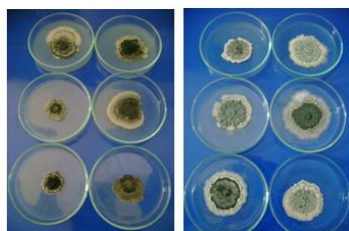
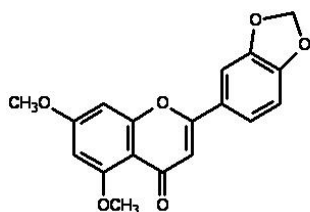
2.2 A Mancha Preta dos Citros: *Guignardia citricarpa*



A mancha preta dos citros (MPC) ou pinta preta, causada pelo fungo *Guignardia citricarpa*, foi descrita pela primeira vez em 1895, na Austrália, provocando perdas significativas em laranjeira Valência (Fawcett, 1936). Essa doença afeta laranjeiras, tangerineiras, limoeiros e pomeleiros, sendo constatada na África (Moçambique, Zimbabwe, Swazilândia e África do Sul), na Ásia (China, Filipinas, Taiwan e Indonésia), na Oceania (Austrália) e na América do Sul (Argentina, Brasil e Peru) (Sutton et al, 1966; Feichtenberger, 1996; Kotzé, 1996). No Estado de São Paulo, a MPC foi detectada pela primeira vez em 1992, infectando plantas de limoeiros verdadeiros e laranjeiras-doces de maturação tardia, nos municípios de Conchal e Engenheiro Coelho (Goes et al, 1993) e, atualmente vem se alastrando nas regiões citrícolas paulistas (Aguilar-Vildoso, 1997). Com exceção da laranjeira Azeda (*C. aurantium*) e seus híbridos (Kotzé, 1996), e da limeira ácida Tahiti (*C. latifolia*) (Aguilar-Vildoso, 1997), todas as variedades comerciais são suscetíveis, principalmente os limoeiros verdadeiros (*C. limon*), que têm papel fundamental no início das epidemias da doença (Kotzé, 1996), e as laranjeiras (*C. sinensis*) de maturação média-tardia (Pêra) a tardia (Natal e Valência).

Uma alternativa para se entender e conseqüentemente inibir o crescimento do fungo é realizar o estudo dos aspectos químicos envolvidos no processo de desenvolvimento do mesmo. Portanto o projeto teve como objetivo isolar estas moléculas envolvidas no desenvolvimento de *G. citricarpa* e entender os aspectos químicos em todo o seu ciclo. *G. citricarpa* foi cedida pelo Centro de Citricultura de Cordeirópolis, SP. Inicialmente foi avaliado o desenvolvimento do fungo em três meios de cultura, Czapeck, Czapeck enriquecido com 2% de malte e Batata-Dextrose. Deixou-se o fungo crescer por 45 dias e posteriormente foi feita uma partição (líquido-líquido) do meio líquido com acetato de etila, e o micélio foi extraído com metanol por 7 dias. Cada extrato foi estudado via CLAE-DAD. Verificou-se que o melhor meio para a produção de metabólitos secundários foi o Batata-Dextrose. Em seguida desenvolveu-se o fungo neste meio e foi avaliado um frasco a cada 5 dias como acima, e verificou-se que o tempo ideal de desenvolvimento foi em 25 e 35 dias. O fungo foi então colocado para se desenvolver em larga escala por 25 e 35 dias, já que o perfil químico nestes dois períodos eram um pouco diferente e rico em metabólitos secundários. O micélio em 25 dias rendeu um extrato etanólico de 20,5 g e em 35 dias 18,2 g. O meio líquido rendeu os seguintes extratos: 25 dias, acetato de etila 8,1 g; n-butanólico 2,4 g; 35 dias, acetato de etila 10,6 g; n-butanólico 7,1 g. O estudo químico destes extratos já foi iniciado.

Um segundo objetivo foi implantar os ensaios de avaliação da atividade antifúngica de metabólitos secundários frente à *G. citricarpa* junto ao laboratório de Produtos Naturais da UFSCar. Os mesmos poderão dar mais aplicabilidade aos constituintes de plantas isolados por vários alunos de PN e mesmo àqueles que realizam projetos em síntese orgânica, pois os ensaios estariam à disposição de todo o grupo de QO. Para este ensaio contou-se com o apoio do Dr. Sérgio F. Pascholati e os doutorandos Leonardo Toffano e Maria Cristina C. Rappussi da ESALQ. Estes ensaios já estão sendo desenvolvidos no laboratório de bioensaios do grupo de PN-UFSCar, mas ainda em fase de otimização. Foram ensaiadas apenas substâncias comerciais e encontradas em grande quantidade em plantas, como a flavona abaixo:



Flavanona

Controle

Foto dos ensaios preliminares em 6, 9, 12, 15, 18 e 21 dias.

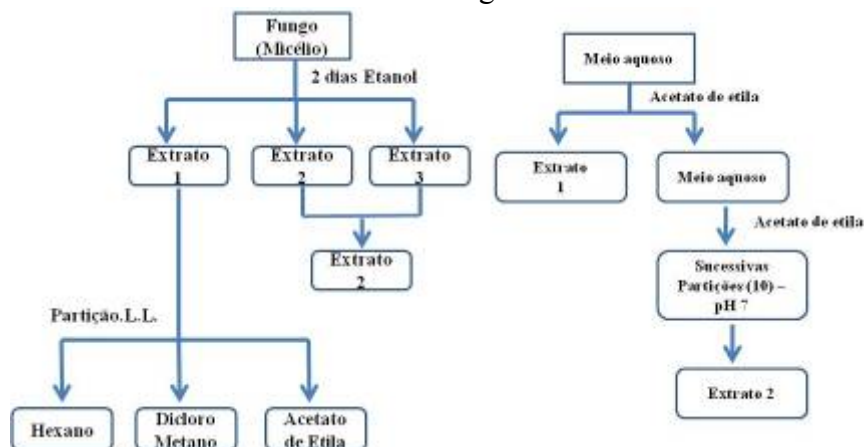
2.3 A mancha Marrom dos Citros: *Alternaria alternata*



Nos pomares de tangerinas e híbridos a mancha marrom de alternária causada pelo fungo *Alternaria alternata*, tem sido considerada uma das mais sérias doenças fúngicas existentes na atualidade. A doença foi primeiramente relatada em tangerina ‘Emperor’ (*Citrus reticulata* Blanco) na Austrália e, posteriormente, em tangerina ‘Dancy’ na Flórida (EUA) em 1974. Sua alta severidade em regiões de clima úmido, onde o controle da doença é muito difícil, tem ocasionado o abandono de plantios comerciais de variedades altamente suscetíveis

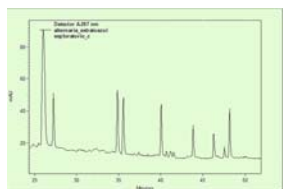
(Timmer, 1998). No Brasil a doença foi relatada pela primeira vez em tangerinas em 2001 (Pesq. Agropec. Bras., 2007). A doença também tem sido relatada em outros países, como: Israel, África do Sul, Espanha, Itália e Argentina. No Brasil, a presença da mancha marrom de alternária foi confirmada nos Estados de Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e São Paulo, afetando seriamente os pomares formados pela variedade de tangerina ‘Ponkan’ (*C. reticulata* Blanco) e tangor ‘Murcott’ (*C. sinensis* Osbeck x *C. reticulata* Blanco), as principais variedades cultivadas no País. A alta suscetibilidade dessas variedades vem inviabilizando a produção, principalmente da tangerina ‘Murcott’ no Estado de São Paulo, fazendo com que muito citricultores erradiquem seus pomares, em virtude do elevado número de pulverizações necessárias e, conseqüentemente, o drástico aumento no custo de produção (Bastianel, 2005).

Uma alternativa para se entender e conseqüentemente inibir o crescimento do fungo é realizar o estudo dos aspectos químicos envolvidos no processo de desenvolvimento do mesmo. Portanto o projeto teve como objetivo isolar estas moléculas envolvidas no desenvolvimento de *A. alternata* e entender os aspectos químicos em todo o seu ciclo. O fungo *A. alternata* foi obtido através da inoculação do mesmo em tangerina Murcott, as quais foram compradas em uma fazenda em Herculândia-SP, cujas plantas possuíam entre 6 meses a 1 ano, com ramo terminal ainda jovem. A suspensão de esporos (a uma concentração de 10^6 M), a qual foi inoculada na planta, foi cedida pelo Centro de Citricultura de Cordeirópolis, SP. Após a inoculação as plantas foram cobertas com sacos pretos com a finalidade de manter a temperatura e a umidade. Após 24 horas de espera do sintoma da doença, algumas folhas foram coletadas e após assepsia, cultivadas em placa de Petri contendo o meio de cultura sólido BDA (batata-dextrose-água), para o crescimento do fungo e posterior crescimento em larga escala. Após alguns experimentos verificou-se que o meio Czapek’s foi o que levou aos melhores rendimentos. O meio contendo o fungo foi fracionado como mostra o esquema abaixo:



As dificuldades neste trabalho ainda são muito grandes, a massa das frações obtidas são pequenas, exigindo condições especiais para a separação e identificação de seus constituintes. Já se iniciou a importação pela FAPESP (verba INCT) de um aparelho de LC-NMR com as características de um 800 MHz, o qual permitirá

concluir este trabalho. O extrato 1 oriundo do meio aquoso apresentava uma coloração azul e foi submetido à análise em CLAE e seus constituintes encontram-se em análise.



Coluna: Agilent C18 (Zorbax Eclipse Extra Densely Bonded (XDB), diâmetro: 4,6 mm e comprimento: 150 mm); 287 nm
Eluente: Metanol

2.4 Huanglongbing (HLB) ou Greening dos Citros

Este estudo conta com a participação dos professores da UFSCar, pesquisadores do Centro APTA Citros *Sylvio Moreira*, (INCT Citros), citados acima, e José Djair Vendramim e Paulo César Bogorni do Departamento de Entomologia e Acarologia, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, em Piracicaba, SP.



Huanglongbing (HLB) ou *greening* é uma das mais destrutivas doenças de citros. Em regiões onde ocorre, pode destruir completamente pomares se medidas de controle não forem adequadamente implementadas. O agente causal da doença é uma bactéria pleomórfica, gram-negativa e limitada ao floema. Duas variantes dessa bactéria são conhecidas: *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter africanus* as quais apresentam diferente comportamento em relação à temperatura e à patogenicidade.

Candidatus Liberibacter asiaticus foi recentemente identificada no Estado de São Paulo. O greening diagnosticado em São Paulo é atribuído majoritariamente a uma nova bactéria, denominada *Candidatus Liberibacter americanus*. A transmissão das formas africana e asiática ocorre por vetores, que são duas espécies de psíldeos: *Trioza erytreae* de ocorrência na África, e *Diaphorina citri* encontrada na Ásia, África e também nas Américas. No Estado de São Paulo acredita-se que a doença seja transmitida pelo psíldeo *D. citri*, comum nos pomares brasileiros e na planta ornamental conhecida como falsa murta, *Murraya paniculata*, (Rossetti, 2001; Teixeira et. al., 2005a,b). Todas estas informações mostram que o desenvolvimento de metodologias de diagnose mais eficazes é necessário e poderão facilitar estudos de distribuição espacial da doença, transmissão do agente causal e diagnose para fins de erradicação. Sendo assim, o objetivo geral deste trabalho é o de desenvolver metodologias analíticas que possibilitem estudar a patogenia greening de *Citrus*, proporcionando assim, diagnósticos mais precisos e a busca de inibidores mais eficazes no combate ao desenvolvimento dessas doenças. Inicialmente vem sendo estudado 21 genótipos de citros visando entender a interação entre estes e *D. citri*, atração e preferência. Para a realização da obtenção do óleo essencial foi necessário, inicialmente, determinar o tempo necessário de extração pelo método de destilação por arraste com vapor d'água, utilizando um aparelho tipo Clevenger modificado. Assim, extraíram-se os óleos essenciais das folhas (18,50g), aquecidas à temperatura de ebulição da água (ca. 6 horas); ao sistema, adicionou-se éter de petróleo no extrator para que todo composto volatilizado permanecesse miscível ao óleo e não retornasse ao balão e nem saísse do sistema, para evitar a perda do mesmo. Após coletado, o óleo foi mantido em um congelador para que não houvesse evaporação dos constituintes. Para o teste de repelência/atratividade da *D. citri* frente aos hospedeiros está sendo utilizado um olfatômetro em “Y”, que consiste em um tubo de vidro “pirex” em forma de Y com 3 cm de diâmetro e 25 cm de comprimento. O fluxo de ar produzido por uma bomba de vácuo é conduzido por mangueira de silicone, o ar é filtrado por carvão ativo e o sistema é umedecido através de borbulhamento com água destilada e o fluxo de ar calibrado para 0,2 mL/min por meio de um fluxômetro. Em uma extremidade do tubo tem-se o tratamento (óleo do hospedeiro e éter de petróleo) e na outra extremidade o controle (éter de petróleo). Para cada experimento são soltos 10 insetos adultos e avaliados por um período de 20 minutos. Os tratamentos consistem de 21 genótipos de citros e um padrão, *Murraya paniculata*, hospedeiro suscetível muito citado na literatura. Os testes em olfatômetro visam buscar assim maior compreensão a respeito da biodinâmica desses atraentes e de possíveis efeitos aditivos com voláteis de plantas, assim como, selecionar dentre os genótipos quais espécies são mais atrativas e/ou repelentes, estes por sua vez, serão submetidos a testes eletrofisiológicos por Cromatografia Gasosa acoplada ao Detector

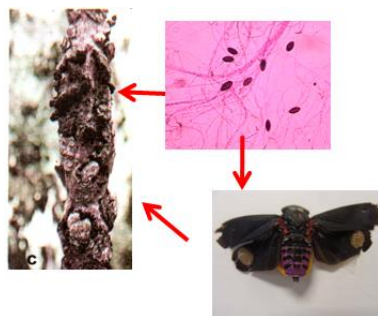
Eletroantenográfico, assim fornecendo subsídios para obtenção de um método biorracional de controle baseado na bioquímica fundamental do inseto-planta. Para comparação dos diversos genótipos foi calculado o Índice de Repelência (IR); $IR = 2G/(G+P)$, sendo: G = número de insetos atraídos pelo Óleo e P = número de insetos atraídos pela testemunha; e conforme Kogan & Goeden (1970) se o IR for menor que 1 é repelente e maior que 1 atraente. Os resultados obtidos até o momento já dão informações que permitem verificar quais os genótipos mais atrativos frente a *D. citri*. Dentre os genótipos com preferência significativa, estão os genótipos, tangerina Ponkan (IR 1,65), pomelo Marshseedless (IR 1,71), cidra comum (IR 1,43), *Murraya paniculata* (IR 1,79), assim como, alguns genótipos apresentaram-se repelentes, por exemplo, laranja Hamlin (IR 0,46), Tangor Murcott (IR 0,54), Citrange Trover (IR 0,79). Através dos dados obtidos pode-se observar uma não preferência por híbridos de citros como mostrado acima. Embora quatro dos genótipos tenham apresentado elevado grau de preferência, este dado isolado não permite uma conclusão exata entre atração inseto-planta, para contornar será realizado experimento por CG-EAD.

Um segundo objetivo é coletar materiais vegetais de *Citrus* sadios e doentes (casca dos frutos, folhas, ramos e casca do tronco) e desenvolver métodos analíticos via HPLC-DAD, HPLC-UV-MS e HPLC-MS/MS que permitam determinar o perfil químico das mesmas. Também se pretende desenvolver metodologia para o desenvolvimento da bactéria *Candidatus Liberibacter americanus*, visando avaliar o efeito dos compostos isolados na inibição do seu desenvolvimento. A coleta das plantas já foi efetuada em colaboração com FUNDECITRUS – Fundo de Defesa da Citricultura, e a análise de PCA do material doente para confirmar a presença da bactéria vem sendo feito pelo Centro APTA Citros Sylvio Moreira (Coordeirópolis, SP). O trabalho foi iniciado com o porta-enxerto de *Citrus sinensis* sobre *C. limonia*, e no momento metodologias de análise via HPLC estão em desenvolvimento.

3. Doença em madeira nobre

Estes estudos são realizados sob a coordenação dos professores João B. Fernandes, M. Fátima G. F. da Silva, Paulo C. Vieira, Edson Rodrigues Filho e Moacir R. Forim da UFSCar, e os pesquisadores Manfred Willy Muller e Jay Wallace da Silva e Mota do CEPLAC-Bahia e Pará.

3.1 Doença Similar a Cancros em *Khaya ivorensis*, Inseto e Microorganismo Associado



Os gêneros *Cedrela* (cedro) e *Swietenia* (mogno) são os principais gêneros de Meliaceae presentes nas Américas, nas regiões neotropicais. A *Hypsipyla grandella*, conhecida como broca-do-cedro, é o principal agente do fracasso dos plantios em monocultura destas árvores, para os vários fins comerciais. Em contrapartida espécies de *Khaya* (africano) introduzidos no Brasil não sofrem o ataque desta broca. As espécies de *Khaya* correspondem ao mogno africano de ótima qualidade. Com isto, tem-se intensificado a introdução de espécies deste gênero em substituição ao mogno brasileiro *S. macrophylla*, já que elas

vêm se mostrando resistentes a *H. grandella*. Recentemente o CEPLAC observou *K. ivorensis* atacadas por fungos em plantações modelo. O grupo PN-UFSCar expandiu sua linha de pesquisa nesta área, colocando dois alunos de doutorado para trabalharem com esta espécie de *Khaya* atacada pelo fungo. Um deles isolou, identificou o fungo e o desenvolveu para estudo químico. O segundo aluno fez o estudo da planta doente para entender a relação da planta com este fungo via possíveis fitoalexinas. A fitoalexina, ou melhor, fitoanticipina foi o limonóide angolensato de metila o qual aparece em grande quantidade na planta atacada pelo fungo quando comparado com a mesma sem sintoma da doença. Grande parte deste trabalho foi concluída e publicada, ver item publicações.

A identificação do fungo como *Botryosphaeria rhodina* foi complexa exigindo estudos genéticos, o que levou um tempo razoável devido ser uma área nova para o grupo. Os dados genéticos foram depositados no “GenBank” (ITS-1, ITS-2; GenBank EU276018). Os resultados do estudo químico deste fungo serão publicados em breve.

Segundo observação de campo, o inseto que parece estar disseminando o fungo para várias plantas

de *K. ivorensis* é a cigarrinha *Acraephia perspicillata* Fabricius – família Fulgoridae, ordem Hemiptera. A identificação deste inseto foi feita em colaboração com a Dr. Ana Paula Costa da Universidade Federal de Sergipe (Aracaju), em colaboração com Dr. Lois B. O'Brien da University of Arizona, USA. Este inseto foi coletado junto às plantações de *K. ivorensis* e foi isolado o fungo *B. rhodina*. Em seguida este fungo obtido da planta e do inseto foi inoculado em plantas saudáveis de *K. ivorensis*, visando confirmar o Postulado de Koch's. Os experimentos foram realizados em 16/04/09. Foi inoculado o fungo oriundo da planta e do inseto desenvolvidos em meio BDA e foram feitas três inoculações em cada planta. Após 7 meses de experimento os primeiros sinais da doença foram encontrados (ver figuras abaixo), portanto o postulado de Koch's foi confirmado.



- a) Aplicação do fungo crescido em meio BDA
- b) Aplicação do fungo em solução de esporos

Esta é uma linha de pesquisa do grupo que continua em desenvolvimento, um aluno de pós-doutorado vem dando sequência, estudando a biologia do

inseto, visando verificar o mecanismo de transmissão do fungo. O grupo prefere concluir o trabalho com o inseto para posterior submissão de um trabalho mais completo para publicação em um periódico de índice de impacto relevante. **Assim, solicita-se sigilo sobre estes dados.**

4. Pragas de diversas espécies de plantas cultivadas

Estes estudos são coordenados pelos professores João B. Fernandes, M. Fátima G. F. da Silva, Paulo C. Vieira, Edson Rodrigues Filho, Moacir R. Forim e Andréia Pereira Matos da UFSCar, José Djair Vendramim e Paulo César Bogorni da ESALQ/USP, e Francisco de Assis Marques da UFPR.

Os resultados de ensaios com várias substâncias e extratos de plantas da família Meliaceae, realizados pelo grupo de PN-UFSCar e citados na literatura, mostraram que as perspectivas para a obtenção de candidatos a inseticidas são muito boas, visto que algumas tiveram comportamento semelhante a alguns inseticidas empregados e disponíveis no mercado. Porém, com a vantagem que estudos realizados pelo grupo de PN-UFSCar mostraram que a classe de compostos com potencial inseticida, limonoíde, é em geral biodegradável e quase sem efeito tóxico sobre os mamíferos. Um exemplo bem conhecido e bastante estudado pelo grupo de PN-UFSCar é o óleo de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.). Apesar de serem produtos eficientes, biodegradáveis sem produzir resíduos, inócuos ao ambiente e ao homem, os constituintes do Neem apresentam um baixo tempo de residência em campo o que inviabiliza a sua aplicação em cultivos que demandam por uma proteção prolongada, e não apenas uma momentânea erradicação. Esta baixa estabilidade dos compostos ativos do Neem ocorre por serem sensíveis à luz do sol e a temperatura. Um segundo problema, agora pontual aos óleos emulsificados brasileiros, são os baixos teores de azadirachtina (principal princípio ativo) em contraste aos óleos importados. Sendo que as sementes nacionais mantêm o mesmo padrão quantitativo que as cultivadas em outros países, estes baixos teores no óleo não se devem a um problema de safra e sim tecnológico. Uma vez que estes teores são tidos como padrão de qualidade para os óleos no comércio nacional e internacional, o presente projeto propôs o desenvolvimento de procedimentos para o enriquecimento quantitativo e qualitativo dos óleos nacionais, podendo assim competir igualmente com produtos importados. Considerando a instabilidade dos princípios ativos que constituem o óleo, o projeto também teve como objetivo encapsular o óleo de Neem enriquecido. A remoção inicial dos interferentes apolares das sementes de Neem favoreceu o processo de preparação de extratos etanólicos com elevados teores de azadirachtina. A micronização prévia das sementes favorece o processo de difusão celular do composto ativo para o meio extrator. O extrato com elevados teores de azadirachtina mostrou-se prático e facilmente incorporado ao óleo. O conteúdo de azadirachtina no óleo foi afetado pela temperatura. A azadirachtina foi degradada por irradiação UV e umidade, mesmo estando inserida no óleo. A irradiação UV catalisa a hidrólise da azadirachtina. Estes resultados demonstraram a necessidade do desenvolvimento de técnicas de proteção da azadirachtina e outros limonóides similares para melhores resultados em campo. Pode-se produzir nanocápsulas (NC) e nanoesferas (NS) com diferentes teores de azadirachtina e diferentes biopolímeros. A técnica de preparação por

nanoprecipitação mostrou-se simples com resultados reprodutivos, e com possibilidades de transferência para escala industrial. A técnica de emulsificação-difusão precisa ser ainda melhor desenvolvida para nanoencapsulação de azadirachtina. Os biopolímeros PCL (poli- ϵ -(caprolactona) e PHB poli- β -(hidroxibutirato) foram usados no preparo de nanopartículas, podendo suas propriedades ser individualmente ou coletivamente (blendas) exploradas. As NC apresentaram um menor pH quando em suspensão e maior diâmetro de partícula que as NS. As nanopartículas possuíam formato esférico e homogêneo. O óleo e o tensoativo favoreceram a formação de nanopartículas (em modulo) com maiores valores de potencial zeta, conseqüentemente, mais estáveis. O potencial zeta foi fortemente dependente do pH no meio de dispersão. A técnica de preparação por nanoprecipitação proporcionou elevadas taxas de recuperação do composto ativo com uma eficiência média de encapsulação de 78%. A técnica de secagem por aspersão mostrou-se eficiente no preparo de pós nebulizados a partir das suspensões de nanocápsulas e nanoesferas com rendimentos satisfatórios. Parte deste trabalho foi submetida à publicação, uma delas já está “online” e outra aceita (Ver no item publicações). Estas nanocápsulas e nanoesferas foram ensaiadas frente ao desenvolvimento de alguns insetos citados abaixo.

Com os resultados promissores com os limonóides do Neem, extratos de outras plantas de Meliaceae foram também ensaiados frente aos insetos abaixo. Porém, como o projeto visa o estudo fitoquímico de várias espécies de diferentes ordens vegetais, alguns outros extratos também foram submetidos aos ensaios.

4.1 *Spodoptera frugiperda*



A lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), é uma das principais pragas da cultura do milho, podendo seu dano levar à redução de até 34 % no rendimento de grãos, dependendo principalmente do estágio de cultura em que ocorre o ataque (Valicente et al., 1991; Cruz, 1995).

No milho, a lagarta é usualmente controlada usando agrotóxicos como piretróides e organofosforados (Jesus et al, 2009), empregados quando a desfolhação é notada nas plantações. No entanto, há diversos problemas associados ao uso de pesticidas, especialmente a possibilidade de resistência e a redução de predadores e insetos parasitóides que compromete o controle natural (Cruz, 1995).

Os experimentos com o óleo do Neem frente a *S. frugiperda* foram realizados no Laboratório de Plantas Inseticidas, em condições controladas ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$, UR $60\pm 10\%$ e fotofase 14 horas), e em casa de vegetação, no Setor de Entomologia, Departamento de Entomologia e Acarologia, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, em Piracicaba, SP.

Nanoformulações com diferentes tipos de nanopartículas e de material polimérico envolvendo o óleo e o extrato de Neem foram produzidas e testadas em relação à bioatividade e ao efeito residual sobre *S. frugiperda*, em comparação a um produto comercial (Organic Neem[®]). Os polímeros utilizados foram PCL (poli- ϵ -caprolactona), PHB (poli- β -hidroxibutirato) e PMMA (polimetilmetacrilato), nas quantidades 0,25, 0,50 e 0,75g, e em dois tipos de nanopartículas, cápsulas (NC) e esferas (NS). Foram utilizados Tween[®] 80 e polivinil álcool (PVA) como agentes tensoativos. As nanoformulações foram produzidas em suspensão e em pó, diluídas em água no momento da aplicação, para obtenção da concentração letal de azadiractina para lagartas de *S. frugiperda*, previamente determinada com o produto comercial. As nanoformulações foram pulverizadas sobre dieta artificial que foi oferecida a lagartas de segundo instar de *S. frugiperda*, e também em plantas de milho mantidas em casa de vegetação, em que seções foliares foram oferecidas a lagartas de primeiro instar. Os parâmetros avaliados foram mortalidade e peso das lagartas após 10 dias. Nos bioensaios em dieta artificial as nanoformulações causaram apenas redução de peso de lagartas, enquanto nos bioensaios com folhas de milho, quatro nanoformulações apresentaram eficiência de controle entre 40 e 46% e redução de peso de lagartas: [P]NC-PCL(0,25)+PVA (pó de nanocápsulas de PCL com 0,25g de polímero e PVA), [S]NS-PHB(0,25) (suspensão de nanoesferas de PHB com 0,25g de polímero e Tween), [S]NS-PHB(0,50) (suspensão de nanoesferas de PHB com 0,50g de polímero e Tween) e [S]NC-PMMA(0,25) (suspensão de nanocápsulas de PMMA com 0,25 g de polímero e Tween). Estas foram então avaliadas

em relação ao efeito residual e preferência alimentar do inseto. Foram instalados três bioensaios, nos quais as folhas de milho tratadas com as quatro nanoformulações começaram a ser oferecidas às lagartas aos 1, 3 e 7 dias após a pulverização (DAP), considerando-se mortalidade e peso das lagartas após 10 dias. Simultaneamente, foram realizados testes de preferência alimentar com dupla escolha (tratamento x controle), no qual seções de folhas de milho pulverizadas com uma das formulações e pulverizadas com água destilada (controle) foram colocadas em lados opostos em uma arena, no centro da qual foi liberada uma lagarta de terceiro instar. As coletas de folhas foram feitas também aos 1, 3 e 7 DAP. Após 24 horas, foi feita a comparação da área consumida nos diferentes tratamentos por meio de um índice de não-preferência. O efeito residual da nanoformulação [P]NC-PCL(0,25)+PVA foi de 1 dia, e das nanoformulações [S]NS-PHB(0,25), [S]NS-PHB(0,50) e [S]NC-PMMA(0,25) de 3 dias, sendo inferiores ao do Organic Neem, que apresentou efeito residual de 7 dias. Apenas a nanoformulação [S]NS-PHB(0,25) e o Organic Neem causaram fagodeterrência nas lagartas de *S. frugiperda*, e somente no primeiro dia após a aplicação. Embora as nanoformulações tenham causado mortalidade larval e redução de peso das lagartas sobreviventes, elas não prolongaram o efeito residual do Neem, apresentando eficiência inferior à do produto comercial. Parte deste trabalho foi submetida à publicação (ver no item publicações em anexo; ver detalhes no relatório do PDJ Paulo César Bogorni)

Os ensaios com *S. frugiperda* também têm sido desenvolvidos no Laboratório de Bioensaios do Departamento de Química da UFSCar, mantido a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 5\%$ e fotofase de 12h. Foram realizados ensaios com as frações do extrato etanólico de *Andira paniculata* (Fabaceae) e extratos etanólicos de *Miconia* sp (Melastomataceae), *Myrcine* sp (Myrsinaceae), *Magonia pubescens* e *Matayba guianensis* (Sapindaceae). Com base nos resultados obtidos conclui-se que, dentre os extratos testados o dos frutos de *M. guianensis* foi o mais promissor para uso no controle de *S. frugiperda*. A alta taxa de mortalidade provocada por este extrato pode estar relacionada às substâncias que ainda não foram avaliadas e que deverão ser alvo de estudos futuros (ver detalhes no relatório da bolsista ATNS Andréia Pereira Matos). Também foram ensaiados limonóides isolados de *Cipadessa fruticosa* (meliaceae) o que levou a bons resultados e já publicados (ver item publicações).

4.2 *Bemisia tabaci*



Bemisia tabaci (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) foi introduzida no Brasil no início da década de 90 e, a partir de 1991, começou a causar prejuízos devido às altas infestações em diversas espécies de plantas cultivadas (Valle et al., 2002). Esse inseto apresenta uma ampla gama de plantas hospedeiras, podendo ser encontrado em mais de 600 espécies incluindo ornamentais e outras culturas economicamente expressivas (Oliveira et al., 2001). As espécies hospedeiras mais comuns são o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), meloeiro (*Cucumis melo* L.), hibisco (*Hibiscus esculentum* L.), crisântemo (*Chrysanthemum* spp.), couve [*Brassica oleracea* (L.)], soja [*Glycine max* (L.) Merrill], jiló (*Solanum gilo* Raddi) e maracujá (*Passiflora* spp.) (Oliveira et al., 1998, 2001).

Os experimentos foram realizados com *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae), no Laboratório de Plantas Inseticidas, no Setor de Entomologia, Departamento de Entomologia e Acarologia, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, em Piracicaba, SP.

Com os mesmos objetivos especificados acima, nanoformulações do óleo de Neem foram avaliadas em relação a sua eficácia sobre ninfas de *B. tabaci* em soja.

Primeiramente foi estabelecida a concentração letal 50% (CL50) de uma formulação comercial de óleo de Neem para as ninfas do inseto. Plantas de soja cv. IAC 18, cultivadas em casa de vegetação foram utilizadas como hospedeiro da praga. Foram liberados em cada planta 20 casais e mantidos numa gaiola cilíndrica de *voil*, por 24h. Após a eclosão das ninfas, selecionaram-se 10 ninfas por folha. As concentrações testadas foram: 0,125; 0,25; 0,5; 0,71; 1,0 e 1,3% (1,3 g de extrato/100mL de água) mais água destilada como controle, totalizando sete tratamentos com 10 repetições cada. No final de 10 dias a mortalidade total foi avaliada. A CL50 foi calculada pela análise de Probit. Posteriormente analisou-se a eficiência de seis nanoformulações com diferentes teores de azadiractina, sendo duas aquosas, com

teor de azadirachtina de 898,1 mg/L (nanopartículas de β -ciclodextrina com diâmetro de partícula médio de 33,8 nm; nanoformulação 1) e 875,0 mg/L (nanopartículas de β -ciclodextrina com diâmetro de partícula médio de 3,8 nm; nanoformulação 2); duas em pó, com teor de azadirachtina de 1.980,0 mg/Kg (nanopartículas de PCL preparados pelo método de nanoprecipitação; nanoformulação 3) e 2.160,0 mg/Kg (nanopartículas de PCL preparados pelo método de deslocamento do solvente, deposição interfacial; nanoformulação 4) e duas aquosa, uma com nanopartículas de em suspensão de β -ciclodextrina com diâmetro de partícula médio de 33,8 nm e de PCL preparados pelo método de deslocamento do solvente, deposição interfacial, com o teor de azadirachtina de 129,6 mg/L (nanoformulação 5) e outra com nanopartículas em suspensão de β -ciclodextrina com diâmetro de partícula médio de 3,8 nm e de PCL preparados pelo método de deslocamento do solvente, deposição interfacial com teor de azadirachtina de 129,6 mg/L (nanoformulação 6); mais o óleo de Neem (controle negativo) e água destilada (controle positivo), totalizando 8 tratamentos com 10 repetições cada e 10 ninfas em primeiro instar de mosca-branca por repetição. O volume de cada nanoformulação pulverizada foi calculado com base na CL50 obtida anteriormente. Ambos os bioensaios foram desenvolvidos em laboratório à temperatura de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $65\pm 10\%$ e fotofase de 14h. A CL50 do óleo de Neem foi de 0,40%. Como a quantidade de azadiractina no óleo foi de 384,3 mg/L, a quantidade de azadiractina correspondente à CL50 foi de 0,8 mg/L. No bioensaio com as nanoformulações observou-se que a mortalidade ninfal no controle foi baixa, indicando que a mortalidade ninfal nos tratamentos com as nanoformulações foi causada pelos compostos presentes nas mesmas. O óleo de Neem proporcionou maior mortalidade quando comparado às nanoformulações, levando-se em conta o teor de azadiractina em cada uma delas. A maior mortalidade ocorreu até o oitavo dia, com redução do efeito a partir desse dia. A nanoformulação 2 foi a mais eficiente, embora tenha causado, em média, 50% da mortalidade proporcionada pelo óleo. A nanoformulação 5, apesar de causar baixa mortalidade total, teve sua eficiência aumentada durante o experimento, o que sugere que, nesta nanoformulação a ruptura do polímero ocorreu de forma mais lenta. As nanoformulações não prolongaram o efeito residual da azadiractina, exceto a nanoformulação 5, mas com menor eficiência que constatada no óleo de Neem comercial.

Também foi avaliada a atividade inseticida de extratos aquosos de raízes de *Lonchocarpus floribundus*, *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae) e extratos brutos em diclorometano de folhas e ramos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach*, *Toona ciliata* e *Trichilia pallida* (Meliaceae), sobre ovos e ninfas de *B. tabaci* em tomateiro.

Os extratos aquosos de raízes de *L. floribundus* e de *C. spectabilis* foram ensaiados nas concentrações de 1, 3 e 5% (5g de extrato/100mL de água). Para os testes de efeito dos extratos sobre ovos, folíolos apicais do terço superior de tomateiro com 30 dias foram infestados com 30 casais de mosca-branca em gaiolas de Voile. Após 24 horas, os insetos foram retirados e os ovos contados com auxílio de um microscópio estereoscópico. Os folíolos foram então destacados e tratados pelo método de imersão por 2 segundos nos respectivos extratos e deixados sobre papel toalha por 30 minutos para evaporação do excesso de água. A seguir, os folíolos foram introduzidos pelo pecíolo em pedaços de canudo de refrigerante mergulhados em tubos de vidro contendo água destilada e tampados com parafilme. A mortalidade foi avaliada 10 dias após o tratamento, com base no número inicial de ovos e no número de ninfas eclodidas. Para os testes com ninfas a metodologia foi a mesma, porém os folíolos foram coletados dos tomateiros 10 dias após a infestação, quando as ninfas estavam no 1º ou 2º instar. As avaliações foram feitas aos 10 e 12 dias após o tratamento, sendo baseada no número inicial e final de ninfas vivas. Em ambos os testes, a testemunha utilizada foi água destilada. Para os dois testes foram realizadas 10 repetições de um folíolo de tomateiro cada, e o delineamento adotado foi o de blocos ao acaso. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. O extrato aquoso de raízes de *L. floribundus* provocou mortalidade de 37,2% dos ovos a 3% de concentração, não diferindo, no entanto, das duas outras concentrações, cujas mortalidades variaram entre 26 e 31%. Já sobre ninfas, este tratamento provocou mortalidade de 39,4% no 10º dia após a aplicação, atingindo 80,1% no 12º dia. A 5%, o mesmo tratamento causou 47,6% de mortalidade no 10º dia e 83% no 12º dia, tendo sido, portanto, o tratamento mais eficiente. A 1%, o referido extrato causou mortalidade de 26,1% dos ovos, de 22,7% de ninfas ao 10º dia e de 60,7%

destas ao 12º dia. Este aumento na mortalidade com o tempo sugere que os rotenóides presentes nas raízes dessa planta têm ação crônica sobre a mosca-branca. Já os extratos aquosos de raízes de *C. spectabilis* não apresentaram ação inseticida, provocando a 5% de concentração, mortalidade de 16,9% dos ovos e a 3%, 18,8% de mortalidade ninfal ao 12º dia após a aplicação. Os extratos aquosos de raízes de *L. floribundus*, a partir de 1% de concentração, apresentam atividade inseticida sobre ovos e ninfas de *B. tabaci*, sendo que este efeito tende a aumentar com a concentração e com o tempo após o contato com o inseto. Os extratos aquosos de raízes de *C. spectabilis* não apresentam atividade inseticida sobre a mosca-branca. Em seguida serão analisados os teores de rotenóides em ambas, visando verificar se nos extratos aquosos de raízes de *C. spectabilis* eles estão ausentes ou em baixa concentração.

Em relação às plantas de Meliaceae, inicialmente, utilizando o extrato em diclorometano de folhas de *T. pallida* determinou-se a concentração necessária para causar mortalidade de ninfas de 50 a 60%, sendo o valor obtido (0,56%; 0,56 g de extrato/100mL de que solvente) utilizado nos bioensaios subsequentes. Comparando-se os extratos brutos em diclorometano de folhas e ramos de *Azadirachta indica* (1F, 1R), *Melia azedarach* (2F, 2R), *Toona ciliata* (3F, 3R) e *T. pallida* (4F, 4R), verificou-se que os mesmos afetam significativamente tanto ovos como ninfas da mosca-branca. Já na comparação entre os extratos brutos em etanol de folhas e ramos de *A. indica* (5F, 5R), *M. azedarach* (6F, 6R), *T. ciliata* (7F, 7R) e *T. pallida* (8F, 8R), constatou-se que os mesmos afetam apenas as ninfas. Com base nesses resultados, selecionaram-se os extratos 4R, 5F, 5R, 6R, 3F e 3R, para os quais foi avaliado o efeito sobre a mortalidade de ovos e ninfas e o período embrionário, constatando-se que os extratos não apresentam efeito ovicida, porém afetam a sobrevivência das ninfas e que o 5R alonga o período embrionário do inseto. Na sequência, através de Cromatografia Líquida a Vácuo (CLV) foram obtidas as frações em hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol do extrato 4F e 4R, que foram testadas nas concentrações de 0,56 e 0,28%. As frações em diclorometano, acetato de etila e em metanol do extrato 4R afetam a sobrevivência de ninfas da mosca-branca em tomateiro, tanto a 0,56 como a 0,28%. Da mesma forma constata-se que as frações em hexano, diclorometano, acetato de etila e em metanol do extrato 4F afetam a sobrevivência de ninfas da mosca-branca em tomateiro, tanto a 0,56 como a 0,28%. A fração em acetato de etila do extrato 4F foi repelente a *B. tabaci* biótipo B e as frações em diclorometano do extrato 4R e em metanol do extrato 4F apresentaram efeito deterrente à oviposição de *B. tabaci* biótipo B. A fase de ninfa foi mais sensível aos extratos orgânicos obtidos das espécies de Meliaceae avaliadas do que a fase de ovo. Entre os extratos testados, os mais promissores para uso no controle de ninfas da mosca-branca são os em diclorometano de folhas de *T. ciliata* e de ramos de *T. pallida*.

4.3 *Tuta absoluta*



A expansão da área de cultivo do tomateiro, *Lycopersicon esculentum* Mill, favoreceu o desenvolvimento de várias pragas que afetam consideravelmente a sua produção, destacando-se, dentre essas, a traça do tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Provavelmente, a traça-do-tomateiro entrou no Brasil através dos países da América do Sul, pois foi constatada em Mendoza (Argentina) em 1967, sendo decorrente da importação de tomate chileno. Apesar de ter sido encontrada até mesmo no Japão, a importância dessa praga parece estar limitada a países como a Colômbia, Peru, Chile e mais recentemente Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil. No Brasil, esse inseto foi constatado pela primeira vez em 1980, no Estado de São Paulo. Entretanto, logo após a sua descoberta, sua ocorrência foi verificada também em outros estados brasileiros. A traça-do-tomateiro apresenta um grande potencial destrutivo, podendo atacar órgãos da planta em qualquer estágio de desenvolvimento (Souza et al., 1992).

Foi avaliado o potencial inseticida das nanoformulações do Neem e extrato etanólico de ramos e folhas de *Toona ciliata*. Folíolos de tomateiro (cv. Santa Clara) foram destacadas e pulverizadas com diferentes nanoformulações. Foram desenvolvidos três bioensaios: 1) nanocápsulas de Poli-ε-caprolactona (PCL) e Poli-β-hidroxibutirato (PHB); 2) nanoesferas de PCL e PHB; 3) nanocápsulas e nanoesferas usando polimetilmetacrilato (PMMA). Foram utilizadas duas testemunhas, água e óleo de

Neem (Organic Neem®). Em cada folíolo foi liberado quatro larvas (1^o instar), sendo cada tratamento composto por sete placas e quatro repetições, totalizando 112 larvas por tratamento. O experimento foi conduzido em condições controladas (25±20°C, UR.±70% e 14L:10D fotoperíodo) e a avaliação da mortalidade foi realizada diariamente até o décimo dia após a instalação, quando as larvas sobreviventes foram pesadas. Os dados foram analisados por Tukey (P<0,5) ou pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis. No primeiro bioensaio a maior mortalidade foi observada no tratamento nanocápsulas de PHB+Neem (40%), muito próximo do controle Neem (37%) e diferindo do controle água (7%). As demais nanoformulações não diferiram da testemunha. No segundo bioensaio, apenas o controle Neem teve mortalidade significativa em relação à testemunha água. A mortalidade comparada com o peso de larvas mostrou o atraso no desenvolvimento no controle Neem. No terceiro bioensaio com PMMA, uma nanoformulação causou mortalidade de 12%, similar à verificada na testemunha água 1%. As demais nanoformulações não diferiram do controle Neem (48%). O peso larval observado com nanoesferas em água (0,7mg) ou pó (0,7mg) e nanocápsulas em pó (0,6mg) não diferem do controle Neem (0,4mg). O peso para o tratamento nanocápsula em água (20mg) não diferiu do controle água (31mg). De uma forma geral, mesmo com mortalidades baixas, o peso larval foi afetado.

O experimento também foi desenvolvido no intuito de avaliar a concentração letal (CL₅₀) do extrato etanólico de ramos e folhas de *Toona ciliata* sobre larvas de *T. absoluta*. Folíolos de tomateiro (cv. Santa Clara) foram destacadas e pulverizadas com diferentes concentrações. Os tratamentos foram nas seguintes concentrações: 0,125, 0,25, 0,5, 1,2 e 4,0% do extrato, dissolvido em acetona (ou 4g/100mL de acetona), sendo na testemunha aplicado apenas acetona. Os folíolos pulverizados foram deixados em condição ambiente até evaporação do excesso de umidade e posteriormente colocados em placas de Petri (6 cm x 2 cm) com o pecíolo envolto em algodão umedecido para evitar a desidratação dos folíolos. Em cada folíolo foi liberado quatro larvas (1^o instar), sendo cada tratamento composto por sete placas e quatro repetições, totalizando 112 larvas por tratamento. O experimento foi conduzido em condições controladas (25±20°C, UR.±70% e 14L:10D fotoperíodo) e a avaliação realizada no décimo dia após a instalação. A análise de Probit foi utilizada para a definição da CL₅₀. A CL₅₀ estimada para o extrato etanólico de ramos e folhas *T. ciliata* foi de 1,1%. Estudos realizados com outros extratos orgânicos de espécies de Meliaceae têm mostrado valores superiores aos verificados nesse trabalho, mostrando assim o potencial dessa espécie no MIP de *T. absoluta*.

4.4 *Sitophilus zeamais*



O *Sitophilus zeamais* (Mots.) (Coleoptera: Curculionidae) é uma das pragas mais destrutivas em grãos armazenados em todo o mundo. Este inseto é considerado de grande importância no armazenamento do milho, trigo e arroz. Essa praga é tão nociva ao milho, que quando o ataque atinge a ordem de 25,9% de perda de peso, praticamente o valor nutricional do milho torna-se nulo (Gallo et al., 2000).

Para a realização deste bioensaio, os extratos foram diluídos em solvente apropriado de acordo com a polaridade do extrato. Todos os extratos foram aplicados sobre os grãos utilizando-se um microatomizador de baixa pressão, com um volume de calda de 20 L/t, de uma solução na concentração de 10.000 ppm. Após a pulverização, a mistura dos grãos com os extratos foi feita manualmente, em sacos plásticos com capacidade para 1 kg, os quais foram agitados por um minuto. Para cada tratamento e repetição foram utilizados sacos individuais. Após o tratamento, os grãos tratados foram deixados em câmara de fluxo laminar sob temperatura ambiente, por um período de 2 horas para evaporação do solvente utilizado. Para a realização deste ensaio, foram utilizadas caixas plásticas (6,0 cm de diâmetro e 2,1 cm de altura) contendo 10 g de milho, os quais foram tratados, separadamente, com os respectivos extratos, além de uma testemunha, a qual foi tratada com o solvente utilizado na re-suspensão dos extratos. Cada caixa plástica foi infestada por 20 adultos, não sexados e com idade entre 10 e 20 dias, utilizando-se 10 repetições por tratamento. A sobrevivência dos adultos foi avaliada ao décimo dia, contando-se e retirando-se os indivíduos mortos. Foi considerado morto aquele indivíduo que estivesse com suas extremidades completamente estendidas e que não apresentassem reação ao contato com um pincel, durante um período de um minuto. Na avaliação da progênie F1 as mesmas unidades amostrais do teste anterior foram utilizadas neste bioensaio. Os

grãos foram tratados com os respectivos extratos, infestados com 20 adultos não sexados e com idade entre 10 e 20 dias. Decorridos 10 dias da infestação, os adultos foram retirados e as unidades amostrais mantidas nas condições climáticas mencionadas anteriormente. Decorridos 60 dias da infestação inicial, o número de adultos emergidos foram contados em cada placa. Foram avaliados 14 extratos de diferentes polaridades do fungo *Altenaria alternata* provenientes do Departamento de Química da UFSCar, dos quais, seis apresentaram mortalidade significativa em relação à testemunha acetona/metanol (1:1) e um da testemunha metanol. Estes dados estão sendo repetidos para um melhor tratamento estatístico.

4.5 *Rhopalosiphum maidis*



O pulgão *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) é uma importante praga do sorgo em várias partes do mundo, podendo ocorrer também no milho, cana-de-açúcar, trigo, aveia, centeio, cevada e painço, bem como em gramíneas silvestres. Este pulgão é a espécie de inseto de ocorrência mais endêmica no milho, ele ataca as partes jovens da planta, preferencialmente o cartucho, mas pode infestar também o pendão e gemas florais (JAUSET et al., 1998).

Foram ensaiados os extratos de ramos e folhas em hexano, diclorometano e etanol das espécies *Trichilia pallida*, *T. clausenii*, *T. catiguá*, *Toona ciliata*, *Guarea guidonia*. No intuito de comprovar a eficiência da metodologia, efetuou-se um teste em plantas de sorgo em vasos com capacidade de 3,5 L, confinando ninfas de primeiro instar em gaiolas de *voil* confeccionadas com plástico transparente, em formato cilíndrico (3,0 cm de diâmetro x 1,0 cm de altura), tendo uma das bordas coberta com *voil* branco, e a outra coberta por espuma de 3,0 mm de espessura, chamadas de *clip cages*. Essas gaiolas foram afixadas no lado abaxial da última folha antes da folha bandeira por meio de um prendedor de alumínio, o qual apresenta uma das hastes presa no *voil* e a outra em um anel plástico. Em cada gaiola foram colocadas cinco ninfas, utilizando cinco gaiolas (unidades amostrais) por tratamento, que constou do extrato hexânico de ramos e folhas de *T. pallida* a 2% em acetona mais os controles acetona e água destilada. Ao utilizar esta técnica houve mortalidade dos insetos, indicando que esta metodologia pode ser utilizada em todos os experimentos. Após definido o procedimento metodológico foi realizado o screening dos extratos, utilizando como concentração discriminatória 2%. As avaliações foram feitas aos cinco dias após a instalação do experimento contando o número de indivíduos vivos e posteriormente corrigindo os dados para mortalidade. Observou-se pouca diferenciação entre os materiais, assim separando o extrato hexânico de ramos e folhas de *T. pallida* e extrato em diclorometano de ramos e folhas de *T. clausenii* para dar continuidade aos estudos quanto ao modo de ação, efeitos comportamentais e interação com controle biológico, pois foram estes que apresentaram maior mortalidade, com destaque para o primeiro que será utilizado para o fracionamento.

4.6 *Pissodes castaneus* e *Cinara atlântica* pragas de *Pinus*



No Brasil, árvores de *Pinus*, principalmente as espécies *P. taeda* e *P. elliotti*, são plantadas em escala comercial há mais de 30 anos (Ahrens, 2000), sendo que atualmente existe cerca de 2 milhões de hectares reflorestados com *Pinus*. Nas regiões Sul e Sudeste concentram-se cerca de 1,2 milhões de hectares de plantios de *Pinus*, principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Minas Gerais (Iede et al, 2004). O produto destes plantios destina-se, principalmente, à indústria madeireira e de papel e celulose (Cardoso et al, 2003). A espécie de *Pinus* mais comumente plantada no Brasil, *P. taeda*, é considerada a árvore ideal para reflorestamentos, uma vez que é resistente, versátil, tem capacidade para se reproduzir e crescer em diversos locais, além ter um grande rendimento por hectare. As espécies de *Pinus* plantadas no Brasil são atacadas por pragas, principalmente a vespa-da-madeira (*Sirex noctilio*), pulgões do gênero *Cinara* e, mais recentemente, o gorgulho-do-pinus, *Pissodes castaneus* (Iede et al, 2004). *P. castaneus*, é originário da Europa e do Norte da África e foi detectado no Brasil em junho de 2001, no município de São José dos Ausentes, no Rio Grande do Sul, e hoje se encontra disperso por toda a região Sul do país em plantios de *P. taeda* com idade variando entre 2 e 6 anos (Iede et al, 2004). O inseto tem um ciclo biológico complexo e os

adultos vivem até 20 meses. A oviposição, que é realizada sob a casca, ocorre entre meados da primavera ao início do verão e no final do verão ao início do outono. O Período larval dura cerca de dois meses (Cisternas et al, 1993). Durante o inverno, uma parte das larvas hiberna no ramo atacado, enquanto os adultos hibernam escondidos no solo ou em ranhuras da casca. O principal dano é causado pelas larvas, que se alimentam na região do câmbio e da casca, onde formam uma galeria preenchida com excrementos e fibras finas de madeira. As árvores, quando atacadas pelas larvas, apresentam coloração marrom-avermelhada na parte superior da copa e também puncturas na casca. Geralmente, o ataque causa a morte da árvore. Um dano secundário é causado pelos adultos, que se alimentam do broto terminal (gema apical). O inseto mata os brotos, causando perdas de crescimento e multifurcação. Este inseto representa uma ameaça à produção florestal brasileira, faz-se, então, necessária a criação de mecanismos de resistência a este inseto, assim como o desenvolvimento de um programa de Manejo Integrado de Pragas. Dois compostos produzidos exclusivamente por machos de *P. castaneus* foram identificados e a atividade biológica destes compostos foi determinada através de bioensaios realizados em olfatômetro na forma de Y. Os compostos atraíram exclusivamente as fêmeas tratando-se, portanto, de feromônio sexual. A atividade destes compostos não foi aumentada quando os mesmos foram testados em conjunto com pedaços da planta hospedeira, mostrando não haver efeito sinérgico ou aditivo entre o feromônio e possíveis caimônios. As estruturas químicas destes compostos, grandisal e grandisol, foram identificadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. As estereoisômeros absolutos foram estabelecidas através da técnica de cromatografia gasosa realizada em coluna com fase estacionária quiral. Um artigo está sendo elaborado no momento e será submetido à publicação no *Journal of Chemical Ecology*.

Os voláteis emitidos por diferentes espécies de *Pinus* (*P. eliottii*, *P. taeda*, *P. maximinoi*, *P. caribaea*) foram identificados. Os resultados mostram que as espécies de pinus analisadas produzem compostos majoritários, que podem atuar como marcadores de espécie, como o silvestreno no caso do *P. taeda* e o δ -2-careno para o *P. maximinoi*. Há, entretanto, uma proximidade grande entre os compostos produzidos pelas quatro espécies, em que só varia a sua quantidade relativa. Exemplo disso são α -pineno, β -pineno e mirceno, compostos comuns no gênero *Pinus* e produzidos por todas as quatro espécies. Estudos comportamentais estão sendo efetuados para se determinar se estão envolvidos na comunicação química entre essas espécies de *Pinus* e duas importantes pragas *Cinara atlantica* e *P. castaneus*. Foi observado que, quando atacados por *P. castaneus*, as árvores de *P. taeda* tendem a produzir uma quantidade maior de α -pineno e β -pineno, além de compostos que não eram produzidos quando saudável, como prezizaeno e *trans*-muurola-4(14),5-dieno, este último, provavelmente um produto do α -muuruleno, produzido pela planta sadia.

Em 1998, foi registrado o pulgão-gigante-do-pinus, *Cinara atlantica* (Wilson 1919), verificada inicialmente em plantios de *P. taeda* e *P. eliottii*, no município de Lages, SC, juntamente com colônias de *C. pinivora* (Lazzari et al., 2000). *C. atlantica* está presente nos estados do Sul do Brasil, MG e SP em *P. taeda*, *P. eliottii* e em espécies de *Pinus* tropicais (Penteado 2000). Os afídeos do gênero *Cinara* são exclusivamente fitófagos e formam grandes colônias, causando clorose, deformação e queda prematura das acículas, com posterior entortamento do fuste, superbrotação devido à destruição do broto apical, e redução do desenvolvimento e até a morte da planta. A eliminação de uma substância açucarada “honeydew” pelos pulgões serve como substrato para o desenvolvimento da fumagina, reduzindo a área fotossintética e dificultando os processos de respiração e transpiração da planta, interferindo, assim, no seu desenvolvimento (Penteado et al., 2000). *C. atlantica* foram aerados para se verificar a produção de um possível feromônio de agregação bem como de um possível feromônio de alarme. Os resultados preliminares não evidenciaram a produção de tais semioquímicos. A continuidade destes estudos será retomada a partir de maio de 2010 quando os insetos voltam a aparecer em campo. A toxicidade dos óleos essenciais do algodão (*Gossypium barbadense*) e *Eucalypto* sp foi testada frente à *Cinara atlantica*. A mortalidade dos insetos dos tratamentos foram estatisticamente igual à mortalidade observada no controle. Mais testes estão em andamento. Estes estudos foram realizados na UFPR sob a responsabilidade do Dr. Francisco.

4.7 *Glycaspis brimblecombei*



A utilização das espécies de eucalipto nos reflorestamentos tem crescido no Brasil, contudo, o ataque de psilídeo *Glycaspis brimblecombei* (psilídeo-de-concha) tem sido um problema sério. A primeira detecção de *G. brimblecombei* foi em junho de 2003, no estado de São Paulo, atacando *E. camaldulensis* e *E. tereticornis*, causando redução no tamanho, deformação da folha e presença de fumagina. Árvores altamente infestadas pelo psilídeo apresentavam desfolha de 100% sem possibilidade de recuperação (Wilcken et al., 2003). Atualmente, o psilídeo-de-concha encontra-se espalhado por todas as regiões produtoras de eucaliptos no Brasil. No Paraná esta praga foi detectada em novembro de 2003, com altas infestações no município de Paranavaí. Posteriormente foi detectado nos municípios de Sengés, Telêmaco Borba e Curitiba (Santana et al., 2003). A toxicidade dos óleos essenciais do algodão (*Gossypium barbadense*) e *Eucalipto sp* foi testada frente à *G. brimblecombei* e foram eficientes contra ninfas desse psilídeo. Estudos com mais repetições para tratamento estatístico estão em desenvolvimento. Estes estudos foram realizados na UFPR.

5. Modelos para obtenção de inseticidas: Complexação de produtos naturais bioativos com íons inorgânicos.

Estes estudos são coordenados pela professora de inorgânica Rose Maria Carlos e com a participação de João B. Fernandes e M. Fátima G. F. da Silva da UFSCar.

Estes estudos visam contribuir para a elucidação dos mecanismos de ação de inseticidas naturais quando livres e coordenados a íons metálicos e no desenvolvimento de novos inseticidas comerciais que sejam efetivos inicialmente no controle das formigas cortadeiras e da bactéria *X. fastidiosa*, mas que ao mesmo tempo não alterem o ecossistema local e não apresentem riscos ao meio ambiente em geral. Para isso foi proposto preparar uma série de complexos polipiridínicos de Ru(II) do tipo *cis*-[Ru(phen)(L)]⁺L (L sendo hesperidina, hesperitina, naringina e naringenina) e avaliar suas propriedades espectroscópicas (UV-vis, FTIR, RMN de próton) e eletroquímicas (voltametria cíclica e diferencial de pulso). Os seguintes complexos já foram preparados *cis*-[RuCl₂(phen)₂], *cis*-[Ru(phen)₂(hesperidina)]PF₆, *cis*-[Ru(phen)₂(naringina)]PF₆, [Mg(phen)(hesperidina)(MeOH)₂]₂

Os ensaios *in vivo* com *Atta sexdens rubropilosa* realizados até o momento com os compostos livres e coordenados ao centro metálico de Ru(II) foram promissores, visto que as atividades inseticidas dos complexos foram superiores às dos flavonóides livres, sugerindo que a interação Ru(II)-flavonóide favorece este efeito tóxico. No entanto, o complexo [Mg(phen)(hesp)(MeOH)₂]₂ possui ação inseticida ainda maior que as apresentadas pelos complexos de Ru(II) e semelhante à ação do inseticida comercial sulfluramida, Figura 2. A alta toxicidade deste inseticida comercial levou a sua retirada do mercado em muitos países europeus. No Brasil, conforme instruções do ministério da Agricultura e Meio Ambiente, propõe-se a retirada da sulfluramida do mercado, desde que haja o tempo necessário para sua eliminação progressiva e para que novas alternativas entrem em seu lugar. Para isso, segundo o ministério, é preciso estimular pesquisas e dar tempo para que as indústrias desenvolvam comercialmente os produtos alternativos. Portanto, é importante ressaltar este importante resultado para o complexo Mg(II)-hesperidina, pois além de tal composto apresentar considerável ação inseticida, o metal magnésio por si só é um fertilizante para o solo, evitando possíveis complicações ambientais por parte deste metal.

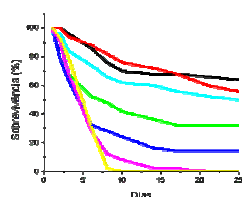


Figura 2. Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens rubropilosa* submetidas ao bioensaio da dieta pura (preto) e da incorporação da dieta artificial por ingestão das substâncias: Hesperidina (vermelho), *cis*-[RuCl₂(phen)₂] (verde), *cis*-[Ru(phen)₂(hesp)]PF₆ (azul escuro), *cis*-[Ru(phen)₂(ngina)]PF₆ (azul claro), [Mg(phen)(hesp)(MeOH)₂]₂ (pink) e Sulfluramida (amarelo), na concentração de 2mg/mL.

O mecanismo de ação dos inseticidas propostos será avaliado inicialmente pela inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase que atua diretamente no sistema neurológico das formigas. Os experimentos iniciais de inibição enzimática realizados com os inseticidas livres e com os complexos *cis*-[Ru(phen)₂(L)]⁺ obtidos até o momento mostraram que a inibição da atividade da

acetilcolinesterase (em solução) pelos complexos ocorre via mecanismo de inibição competitiva reversível. Os resultados obtidos até o momento indicam que o fragmento $[\text{Ru}(\text{phen})_2]^{2+}$ apresenta características estruturais as quais são essenciais para a ação inseticida dos compostos naturais estudados até o momento. Em breve estes complexos também serão ensaiados frente ao desenvolvimento da bactéria *X. fastidiosa*, como comentado no item doenças dos citros.

Os estudos com *X. fastidiosa* mostraram que CuSO_4 e a flavanona hesperidina inibem o desenvolvimento desta bactéria. Com isto, hesperidina e sua aglicona hesperitina foram complexadas com acetato de cobre. Frente aos bons resultados com formigas cortadeiras mostrados acima, naringina e sua aglicona naringenina também foram complexadas com acetato de cobre. Os rendimentos destes complexos foram excelentes.

Em breve estes complexos serão avaliadas frente ao desenvolvimento de *X. fastidiosa* e na sobrevivência de operárias de *A. sexdens rubropilosa*. Uma das grandes vantagens destes complexos é o aumento de sua solubilidade em água, facilitando sua aplicação nos ensaios *in vitro* e *in vivo*. **Solicita-se sigilo sobre estes dados, pois os mesmos estão sendo submetidos a patente.**

6. Métodos de Desenvolvimento de Tecnologias de “High Throughput Screening”

6.1 Imobilização de enzimas em colunas para cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Estes estudos são coordenados pela Prof. Quezia B. Cass da UFSCar e Carmen Lucia Cardoso da FFCL-Ribeirão Preto.

6.1.1 Biorreatores de acetilcolinesterase

A enzima acetilcolinesterase (AChE) está presente no sistema nervoso central de insetos e hidrolisa o neurotransmissor acetilcolina em acetato e colina, finalizando assim a transmissão sináptica, desempenhando um papel fundamental na transmissão do impulso nervoso colinérgico (Calderón *et al.* 2001). Dois genes, Ace1 e Ace2, foram caracterizados em diferentes classes de insetos e duas mutações pontuais em Ace1 foram associadas com resistência em mosquitos (Gomes, 2006). Portanto a ação de produtos naturais sobre acetilcolinesterase e seu mecanismo de ação devem ser exploradas para o controle de insetos pragas. IMERs-AChE (*immobilized enzymes reactors*) foram preparados e utilizados na avaliação da atividade enzimática frente a variações no procedimento de pré-tratamento do capilar, processo este, que foi otimizado com sucesso (Cardoso et al, 2006; 2008). Os estudos da atividade enzimática do reator sob variações de pH e na presença de diferentes solventes orgânicos também foram realizados. A fim de verificar o comportamento do biorreator na presença de inibidores e validar o biorreator, quatro inibidores conhecidos de acetilcolinesterase foram avaliados e os valores de IC50 determinados.

Tabela 8. Comparação dos valores de IC50 do IMER-AChE e AChE livre em solução

Composto	IMER-AChE	IMER-AChE Literatura *	AChE (solução)	AChE (solução) Literatura
Propídio	48,9 ± 7,9 µM	341 ± 0,25 µM	35,6 ± 9,2 µM	32,3 ± 0,22 µM*
Galantamina	12,8 ± 2,4 µM	42,4 ± 0,21 µM	1,27 ± 0,15 µM	4,24 ± 0,21 µM*
Tacrina	85,94 ± 16,15 nM	0,45 ± 0,03 µM	262,5 ± 50,3 nM	0,44 ± 17,6 µM **
Rivastigmina	20,6 ± 4,9 µM	6,40 ± 0,93 µM	-	0,73 µM

*(Andrisano, et al. 2001; 2005) ** (Alvarez, et al. 1998)

Os resultados obtidos evidenciaram a sensibilidade do biorreator frente aos inibidores. Para o inibidor tacrina observou-se maior sensibilidade se comparada ao ensaio em solução, e com valores encontrados na literatura para biorreatores construídos utilizando suporte diferente (Andrisano, et al 2001) uma vez que foi obtido o valor de IC50 em escala de nanomol. Tal diferença pode estar relacionada ao efeito do suporte sobre o sítio ativo da biomolécula. Esses resultados corroboram a possibilidade da utilização desses biorreatores na triagem de coleções de compostos inibidores da acetilcolinesterase. O passo seguinte será ensaiar substâncias as quais apresentaram atividade de inibição nos insetos acima.

6.1.2 Desenvolvimento de um IMER para triagem em larga escala de inibidores de atividade pectinolítica

O grupo de Controle Biorreacional de Insetos Pragas (INCT-CBIP) encontra-se focado, entre outros temas, na triagem de inibidores de pectinases de *Leucoagaricus gongylophorus*, simbiote das formigas forrageiras presente também no fluido fecal de formigas cortadeiras. O atual projeto prevê a construção de um biorreator de enzimas imobilizadas (IMER) com atividade pectinolítica para avaliação e triagem destes inibidores. A aplicação de um IMER como coluna de afinidade de um sistema de cromatografia bidimensional acoplado a espectrometria de massas para determinação da atividade enzimática convergem no desempenho desta tarefa. (Ver detalhes no relatório do PDJ Paulo R Adalberto). Embora a natureza da enzima comercial não reflita a especificidade requerida para os objetivos deste projeto, seu emprego mostrou-se valioso na definição de parâmetros necessários para a construção do biorreator. As enzimas do extrato comercial apresentaram características termofílicas e acidofílicas e foram testadas na técnica de imobilização empregada, denominada de CLEAs (cross-linked enzyme aggregates). O método envolve a agregação da enzima seguida de intercrossamentos com o emprego de reagentes bifuncionais. A precipitação do extrato de *A. niger* foi conduzida com sulfato de amônio e butanol sendo que, diferente do primeiro tratamento, o segundo teve como efeito um aumento na atividade da enzima. Selecionado o método de precipitação (Butanol 90%) procedeu-se o entrecruzamento com glutaraldeído (0,1 e 0,05 mol.L⁻¹). Os efeitos de transferência de massa, limite conhecido do processo catalisado por enzimas imobilizadas, foram observados nos testes conduzidos. Os resultados obtidos com as pectinases de *A. niger* indicam que a intervenção convenientemente conduzida na estrutura terciária das enzimas tem seus efeitos na proteção dos sítios de inativação e que, ainda que certos aspectos da imobilização mereçam melhor definição, a técnica aplicada é um caminho viável para o desenvolvimento do IMER pretendido.

6.2 Desenvolvimento de um biossensor enzimático para avaliação de atividade inseticida em extratos vegetais.

Estes estudos são coordenados pelo Prof. da química analítica Ronaldo Censi Faria da UFSCar.

Os detectores eletroquímicos têm sido bastante utilizados em técnicas cromatográficas e de eletroforese, devido à alta sensibilidade e seletividade, e à simplicidade do arranjo experimental que este tipo de sensor pode fornecer. Neste aspecto, objetivou-se à construção de detectores eletroquímicos para acoplamento a equipamentos de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e/ou de eletroforese, para uso em detecção de atividade inseticida em extratos vegetais. Para tanto, foi selecionada inicialmente uma metodologia baseada na construção, caracterização e aplicação de um sensor eletroquímico modificado com enzima colinesterase, objetivando avaliação de atividade inseticida, respondendo analiticamente pela variação de ação catalítica enzimática via processos de inibição da reação de catálise normal de seus substratos. Como materiais eletródicos foram selecionados os eletrodos do tipo impressos descartáveis (ouro, platina e carbono). Cada superfície foi caracterizada eletroquimicamente, de acordo com os objetivos propostos e a que melhor se adequar será selecionado para estudos posteriores. A esta superfície foram imobilizadas as respectivas enzimas, sendo que, primeiramente a acetilcolinesterase (AChE) foi empregada, objetivando melhor compreensão dos processos envolvidos. Estudos de imobilização da enzima, segundo técnicas baseadas em reagentes específicos, como: glutaraldeído, álcool polivinílico e náfon, serão efetuados, visando à melhor maneira de acoplamento da enzima na superfície do sensor, garantindo estabilidade e atividade enzimática satisfatórias. Posteriormente, o monitoramento da atividade enzimática frente ao substrato será otimizado e o sensor será avaliado frente a extratos vegetais de ação inseticida já conhecida. A variação de sinal analítico devido aos processos de inibição enzimática será monitorada e correlacionada com o grau de inibição. Uma vez determinadas às condições ótimas de análise, distintas amostras de extratos serão investigadas. De acordo com os dados obtidos para colinesterases, serão efetuadas as propostas para as enzimas amilase e pectinase. Os eletrodos impressos estão se apresentando como plataformas versáteis. Seus comportamentos eletroquímicos são semelhantes aos dos eletrodos convencionais. Os ensaios de caracterização e de velocidade de varredura indicaram ótimos substratos eletródicos para construção de biossensores baseados em monitoramento amperométrico. Os potenciais elevados relativos aos processos redox do substrato iodeto de

acetilcolina e do produto gerado, tiocolina, podem ser considerados empecilhos para construção de biossensores de monitoramento direto, visto que várias substâncias podem ser oxidadas em conjunto, superestimando o sinal analítico. Estes processos redox influenciaram na superfície de ouro, passivando parte do eletrodo de trabalho, porém, esta passivação não foi significativa para as outras superfícies. O azul de meldola apresentou pico possível de monitoramento eletroanalítico sobre todas as superfícies em estudo, com picos de oxidação melhor resolvidos em ouro, bem como potenciais mais baixos. Tanto o eletrodo modificado com ftalocianina quanto o modificado com azul de meldola denotaram diferença de sinal analítico em presença de solução catalisada, indicando previamente que estes podem ser utilizados na construção do biossensor enzimático.

Etapas de estudos de imobilização com náfion e de estudos de relação entre a quantidade ideal de enzima-substrato a ser utilizada (amperometria e espectrofotometria) já foram iniciadas. Buscam definir as melhores condições de imobilização da enzima e a quantidade ideal de substrato a ser utilizada nos ensaios posteriores, que forneça o melhor sinal analítico a ser monitorado. (Ver detalhes no relatório d PDJ Paulo Roberto Brasil de Oliveira Marques).

6.3 Ressonância magnética nuclear, sua associação com HPLC e mecanismos de ações

Estes estudos são coordenados pelos professores Dr. Antonio Gilberto Ferreira e Dr. Tiago Venâncio da UFSCar.

Uma segunda alternativa para se inibir o desenvolvimento de um microorganismo seria entender os eventos metabólicos relacionados à comunicação intercelular nele próprio, com seus hospedeiros e vetores. Os metabólitos envolvidos nestas interações estão em escala muito pequena, em poucos miligramas, microgramas, ou menos. O projeto tem como objetivo isolar estas moléculas envolvidas nestas interações e entender os aspectos químicos em todo o seu ciclo. Isto exige instrumentações especiais, como um equipamento de RMN de 800 MHz. Considerando a grande importância destes estudos a verba aprovada pela FAPESP foi toda ela aplicada na compra de equipamento de RMN, 14,09 Tesla - 600 MHz para frequência do hidrogênio. O equipamento estará configurado para executar todos os experimentos de RMN e, além do equipamento em si, têm-se os seguintes acessórios: LC-NMR, LC-SPE-NMR e uma cryo-sonda de 5mm. Para a modalidade LC-NMR, as análises poderão ser em fluxo contínuo e em fluxo parado. Porém, será necessário, em qualquer uma delas, a utilização de pelo menos um solvente deuterado. Normalmente a escolha desse solvente recai sobre o D₂O uma vez que ele é o de menor custo. Na modalidade LC-SPE-NMR não é necessário se fazer o uso de solventes deuterados para a separação via HPLC, mas é imprescindível a sua utilização na extração dos cartuchos da unidade SPE. A cryo-sonda sonda de 5mm irá propiciar um aumento da sensibilidade comparável a um equipamento de 21,1 Tesla (900 MHz para frequência do hidrogênio). Este aparelho permitirá o estudo das interações entre substâncias químicas com potencial uso como inseticida, fungicida e farmacológico e os seus potenciais receptores como: proteínas, enzimas, etc. Toda essa infraestrutura ainda não existe na América do Sul. Portanto o laboratório será o primeiro a contar com esse arsenal de ferramentas para elucidação estrutural de compostos orgânicos. Este aparelho será instalado no período de maio-julho próximo. A infraestrutura para este aparelho ser instalado no DQ-UFSCar já está toda pronta e o grupo possui dois pesquisadores experientes para desenvolver pesquisas sobre o mesmo em colaboração com toda a equipe do INCT-CBIP, são eles Dr. Antonio Gilberto Ferreira e Dr. Tiago Venâncio.

7. Estudo Químico de plantas superiores e microorganismos

Os estudos químicos ocorrem sob a coordenação dos professores Paulo César de Lima Nogueira e Valéria Regina de Souza Moraes na Universidade Federal de Sergipe, e João B. Fernandes, M. Fátima G. F. da Silva, Paulo C. Vieira, Edson Rodrigues Filho e Moacir R. Forim na Federal de São Carlos. Os estudos químicos de várias plantas e microorganismos visam obter compostos potencialmente ativos frente aos diferentes ensaios discutidos acima. Assim, substâncias puras e extratos estudados são, ou serão submetidos a estes ensaios. As plantas e microorganismos em estudo podem ser vistos no título das diferentes teses e dissertações sob orientação abaixo.

8. Toxicidade de produtos naturais e viabilidade de uso.

A toxicidade para o ambiente aquático vem sendo determinada para alguns compostos que têm mostrado atividade sobre formigas cortadeiras pelo grupo utilizando como modelo peixe paulistinha, *Danio rerio* (FERNANDES *et al.* 2004) e estes estudos estão de acordo com a forma de trabalho do grupo que tem como meta não poluir o ambiente.

Este estudo terá sequência com o estudo dos compostos mais ativos obtidos neste primeiro ano de desenvolvimento do projeto e estão sendo determinadas condições para melhor reprodutibilidade dos resultados e para conhecer os mecanismos de ações dos compostos ativos nos peixes.

Referencias

- Aguiar-Menezes, E.L. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, 2005. 58p. (EMBRAPA Agrobiologia, Documentos, 205).
- Aguilar-Vildoso, C.I. Pinta preta espalha-se por São Paulo. Citricultura Atual, 1 (2), 8, 1997.
- Ahrens, S. Manejo e silvicultura de plantações de *Pinus* na pequena propriedade rural. In: Galvão, A. P. M. (Org.). Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais: um guia para ações municipais e regionais. Brasília: *Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; Colombo: Embrapa Florestas*, p. 219-239, 2000.
- Altschul, S.F., et al. "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs." *Nucleic Acids Res.* v. 25, p. 3389-3402, 1997. Visualizado Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>>. Acesso em: 14 abr. 2008.
- Alvarez, A, Alarcón, R. Opazo, C, Campos, E.O, Munhoz, F.J. Calderón, F.H., Dajas, F. Gentry, M.K, Doctor, B.P, De Mello, F. G., Inestrosa, N. C, Stable Complexes Involving Acetylcholinesterase and Amyloid-b Peptide Change the Biochemical Properties of the Enzyme and Increase the Neurotoxicity of Alzheimer's Fibrils. *J. Neurosci.*, 18(9):3213–3223, 1998.
- Andrisano V., Bartolini, M. Gotti, R. Cavrini, V. Felix. G. Determination of inhibitors' potency (IC50) by a direct high-performance liquid chromatographic method on an immobilized acetylcholinesterase column. *J. Chromatogr. B*, 753: 375-383, 2001.
- Andrisano V., Bartolini, M. Gotti, Cavrini, R. Batchwise covalent immobilization of human acetylcholinesterase: Kinetic and inhibition spectrophotometric study. *Anal. Biochem.* 342, 163–166. 2005.
- Arab, A.; Costa-Leonardo, A.M.; Batista-Pereira L.G.; Santos, M.G.; Corrêa A.G. and Blanco Y.C. Trail-pheromone specificity of two sympatric termites (Rhinotermitidae) from southeastern Brazil. *Sociobiology*, 43: 377-387, 2004.
- Bacci Jr., M.; Anversa, M. M. and Pagnocca, F. C. Cellulose Degradation by *Leucocoprinus grongylophorus*, the Fungus Cultured by, Antonione Van Leeuwenhoeck, 67: 385-386, 1995.
- Bandoni, R.J. Terrestrial occurrence of some aquatic hyphomycetes. *Can. J. Bot.*, Ottawa, v. 50, p. 2283-2288, 1972.
- Barnett, J.A.; Payne, R.W.; Yarrow, D. Yeasts: characteristics and identification. 3. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. 1152p.
- Barreiro, E.J. e Fraga, C.A.M. Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos, Artmed, Porto Alegre, 2001.
- Barrows, W.M. The reactions of the pomace fly, *Drosophila ampelophila* Loew, to odorous substances. *J. Exp. Zool.*, 4: 515-537, 1907.
- Bastianel, M.; Azevedo, F. A., Cristofani, M.; Machado, M. A. Mancha marrom de alternária: uma interação fungo, toxina e tangerina LARANJA. Cordeirópolis, v.26, (2), 323-336, 2005.
- Batista-Pereira, L.G.; Santos, M.G.; Corrêa A.G.; Fernandes J.B.; Dietrich, C.R.R.C.; Pereira, D.A.; Bueno, O. and Costa-Leonardo, A.M. Electroantennographic responses of *Heterotermes tenuis* (Isoptera: Rhinotermitidae) to synthetic (3Z,6Z,8E)-3,6,8-Dodecatrien-1-ol. *J. Braz. Chem. Soc.*, 15: 372-377, 2004b.
- Batista-Pereira, L.G.; Wilcken, C.F.; Pereira Neto, S.D. and Marques, E.N. Comportamento de chamamento de *Thyrinteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) em *Psidium guajava*, *Eucalyptus grandis* e em dieta artificial. *Neotropical Entomology*, 33: 21-28, 2004c.

- Batista-Pereira, L.G.; Dos Santos, M.G.; Corrêa, A.G.; Fernandes, J.B.; Arab, A.; Costa-Leonardo, A.M.; Dietrich, C.R.R.C.; Pereira, D.A. and BUENO, O.C. Cuticular hydrocarbons of *Heterotermes tenuis* (Isoptera: Rhinotermitidae): analyses and electrophysiological studies. *Z. Naturforschungs*, 59c, 135-139, 2004a.
- Berti Filho, E.; Marchini, L. C. e Nakano, O. Curso de entomologia aplicada à agricultura. IN: (Parra *et. al.*). *Formigas cortadeiras e cupins*, p. 631-671. Piracicaba, FEALQ. 1992,
- Boaretto, M.A.C. e Forti, L.C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. *Série Técnica IPEF*, 11: 31-46, 1997.
- Bomfim, S. M. Isolamento de metabólitos antifúngicos de *Streptomyces* sp., UFPEDA 3347, endófito de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), 2008, 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.
- Bredenbruch, F.; Nimtz, M.; Wray, V.; Morr, M.; Mu'ller, R.; A'Ussler, S. Biosynthetic Pathway of *Pseudomonas aeruginosa* 4-Hydroxy-2-Alkylquinolines. *Journal of Bacteriology*, v. 187 (11), p. 3630-3635, 2005.
- Cara, F.; Immirzi, B.; Ionata, E.; Mazzella, A.; Portofino, S.; Orsello, G.; Prisco, P.P. Biodegradation of poly- ϵ -caprolactone/poly- β -hydroxybutyrate blend. *Polymer Degradation and Stability*, Barking v.79, p.37-43, 2003.
- Cardoso, J. T., Lázzari, S. M. N., Freitas, S., Iede, E. T. Ocorrência e flutuação populacional de *Chrysopidae* (Neuroptera) em áreas de plantio de *Pinus taeda* (L.) (Pinaceae) no sul do Paraná. *Revista Brasileira de Entomologia* 47(3): 473-475, 2003.
- Cardoso, C.L.; Lima, V.V.; Zottis, A.; Oliva, G.; Andricopulo, A.D.; Wainer, I.W.; Moaddel, R.; Cass, Q.B. Development and characterization of an immobilized enzyme reactor (IMER) based on human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase for on-line enzymatic studies. *J Chromatogr A*, 1120(1-2): 151-7, 2006.
- Cardoso, C. L., de Moraes, M. C., Guido, R. V. C., Oliva, G., Andricopulo, A. D., Wainer, I. W. and Cass, Q. B. The development of an immobilized enzyme reactor containing glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*: The effect of species' specific differences on the immobilization. *Analyst*, 133: 93-99, 2008.
- Carreiro, S. C.; Pagnocca, F. C.; Bacci, M. Jr.; Lachance, M. A.; Bueno, O. C.; Hebling, M. J. A.; Ruivo, C. C. C.; Rosa, C. A. *Sympodiomyces attinorum* sp. nov., a yeast species associated with nests of the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. *Int J Syst Evol Microbiol* 54: 1891-1894, 2004.
- Centraalbureau Voor Schimmelculturesbs. CBS Yeast Collections: Maintenance and storage of cultures. Disponível em: <<http://www.cbs.knaw.nl/yeast/Defaultpage.aspx>>. Acesso em: 30 mai. 2008.
- Cherrett, J.M. History of the leaf-cutting ant problems. IN: Lofgren, C. & Vander Meer, R. K. (Eds.). *Fire ants and leaf-cutting ants – biology and management*, p. 10-17. Boulder and London Westview Press, Londres, 1986.
- Cisternas, M. B., Martinez, L. C., Auter, S. H., Lfuschlocher, M. E. L., Bannen, C. V. Manuela de reconocimiento de plagas forestales cuarentenárias. Santiago: Ministério de Agricultura, Servicio Agrícola y Ganadero, 1993.
- Costa, M.A.G. e Cruz, A.S. Efeitos do Inseticida Fipronil em Diferentes Ecossistemas. Disponível em: http://www.jornaldomeioambiente.com.br/JMA-txt_importante/importante67.asp. Acessado em 24/03/06.
- Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; Murillo, C.A. and Bochmann, M. *Advanced inorganic chemistry*, 6^a Ed., John, Wiley & Sons, New York. 2000.
- Cruz, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa/CNPMS. 1995. 45p. (EMBRAPA-CNPMS, Circular Técnica, n. 21).
- Fawcett, H.S. Citrus diseases and their control, 656 pp. McGraw-Hill Publishing Company, London, UK, 1936.
- Feichtenberger, E. Mancha-preta dos citros no Estado de São Paulo. *Laranja*, v. 17, p. 93-108, 1996.
- Fisher, P.J.; Stradling, D.J. and Pegler, D. N. Leaf-cutting ants, their fungus gardens and the formation of basidiomata of *Leucoagaricus gongylophorus*. *Mycologist.*, 8: 128-132, 1994.

- Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Baptista, G.C.; Berti Filho, E.; Parra, J.P.R.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.D.; Marchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. Manual de Entomologia Agrícola. Ed. 3. São Paulo. Agronômica Ceres. 2000, p.649.
- Goes, A. de; Feichtenberger, E. Ocorrência da mancha preta causada por *Phyllosticta citricarpa* (Mc Alp) Van der Aa (*Guignardia citricarpa* Kiely) em pomares cítricos do Estado de São Paulo. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 18, 318, 1993.
- Gomes, I. V. C. A. Análise estrutural e funcional do cDNA para a enzima Acetilcolinesterase de *Lutzomyia longipalpis*. Dissertação de Mestrado. UFPe, 2006, p. 104
- González, I.; Ayuso-Sacido, A.; Anderson, A.; Genilloud, O. Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences. FEMS Microbiology Ecology, Amsterdam, v.54, p.401-415, 2005.
- Iede, E. T., Reis Filho, W., Penteado, S. R. C. Ocorrência de *Pissodes castaneus* (De Geer) (Coleoptera: Curculionidae) em Pinus, na Região Sul do Brasil. Embrapa: Comunicado Técnico, Colombo: Embrapa Florestas, 2004.
- Jauset, A. M.; Muñoz, M. P.; Pons, X. Karyotypes of *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) in the Lleida Basin. Integrated Control in Cereal Crops, [S.l.], v. 21, n. 8, p. 15-20, 1998.
- Jesus, F. L.; Boiça Junior, A. L. Uso de variedades resistentes no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) na cultura do algodoeiro. In: Tópicos em Entomologia Agrícola II. Editores: Silva, A.G.; Rodrigues, C. A.; Becaro, C. K.; Bottega, D. B.; Haddad, G. K.; Alvez, G. C. S.; Janini, J. C. Jaboticabal: Funep. 2009. 164p.
- Kotzé, J. M. History and epidemiology of citrus black spot in South Africa. In: International Citrus Congress, 8, Sun City, 1996. Proceedings. Sun City: International Society of Citriculture, 1296-1299, 1996.
- Kurtzman, C.P.; Robnett, C.J. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. Antonie van Leeuwenhoek, Amsterdam, v.73, p.331-371, 1998.
- Lazzari, S.M.N.; Zonta de Carvalho, R.C. Aphids (Homóptera : Aphididae : Lachninae : Cinarini) on *Pinus* spp. and *Cupressus* SP. in Southern Brazil. In: International Congresso f Entomology, XXI. Foz do Iguaçu, PR. Anais. p. 493. 2000.
- Mariconi, F. A. M. *As Saúvas*. Agronômica Ceres, São Paulo, 1970, 167p.
- Martin, M.M.; Boyd, M.J.; Gieselmann, M.J. and Silver, R.G. Activity of faecal fluid of a leaf-cutting ant toward plant cell wall polysaccharides. *J. Insect Phys.*, 21: 1887-1892, 1975.
- Meyer, W., et al. Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the Polymerase Chain Reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, v.31, n.9, p. 2274-2280, 1993.
- Middelhoven, W. J.; Fonseca, A.; Carreiro, S. C.; Pagnocca, F. C.; Bueno, O. C. *Cryptococcus haglerorum*, sp. nov., an anamorphic basidiomycetous yeast isolated from nests of the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. Antonie van Leeuwenhoek 83: 167-174, 2003.
- Mordue (Luntz), A.J.; Morgan, E.D.; Nisbet, A.J. Azadirachtin, a natural product in insect control. In: GILBERT, L.; IATROU, K.; GILL, S.S. Comprehensive molecular insect science. Amsterdam: Elsevier BV, v.6, 2005. p.117-135.
- Oliveira, M.R.V.; Lima, L.H.C.; Ferreira, D.M.N.; Vieira, P.R.G. *Avaliação das populações de Bemisia tabaci (Gennadius) através de RAPD-PCR, no Brasil*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 6p.
- Oliveira, M.R.V.; Henneberry, T.J.; Anderson, P. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection*, v.20, n.9, p.709-723, 2001.
- Pagnocca, F. C., Victor, S. R., Bueno, F. C., Crisóstomo, F., Castral, T. C., Fernandes, J. B., Corrêa, A. G., Bueno, O. C., Bacci, M., Hebling, M. J. A., Vieira, P. C., da Silva, M. F.G. F., "Synthetic Amides toxic to the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens rubropilosa* L. and its Symbiotic Fungus", *Agric. Forest. Entomol.* 8, 17-23, 2006.
- Pagnocca, F.C.; Ribeiro, S.B.; Torkomian, V.L.; Hebling, M.J.A.; Bueno, O.C.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; da Silva, M.F.G.F. and Ferreira, A.G. Toxicity of lignans to symbiotic fungus of leaf-

- cutting ants. *J. Chem. Ecol.*, 22: 1325-1329, 1996.
- Penteado, S.R.C. Pulgão do Pinus – Nova Praga Florestal. In: 1º Simpósio do cone sul sobre manejo de pragas e doenças de Pinus. Curitiba, PR. Anais. Série técnica IPEF. V. 13, nº 33. 2000.
- Penteado, S.R.C.; Trentini, R.F.; Iede, E.T.; Reis Filho, W. Ocorrência, distribuição, danos e controle de pulgões do gênero *Cinara* em *Pinus* spp. no Brasil. Curitiba, PR. Revista Floresta. v. 30, nº1 e 2, p. 55-64, 2000.
- Pereira, L.G.B., Castral, T. C., Silva, M.T.M., Amaral, B. R., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Silva, M. F. G. F., Corrêa, A. G., “Insecticidal Activity of Synthetic Amides on *Spodoptera frugiperda*”, *Z. Naturforsch. C*, 61, 196-202, 2006.
- Rodionova, N.A. and Bezborodov, A.M. Localization of enzyme systems that degrade cell wall polysaccharides in higher plants: pectinases (Review). *Appl. Biochem. Microb.*, 33: 415-432, 1997.
- Rodrigues, C. M.; Takita, M. A.; Coletta-Filho, H. D.; Olivato, J. C.; Caserta, R.; Machado, A. M.; Souza, A. A. Copper resistance of biofilm cells of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77, 1145-1157, 2008.
- Rosseti, V. V. Manual Ilustrado de Doenças dos Citros. Piracicaba: FEALQ-FUNDECITRUS. 207p. 2001.
- Saadoun, I.; Gharaibeh, R. The Streptomyces flora of Badia region of Jordan and its potencial as a source of antibiotics active against antibiotic-resistant bacteria. *Journal of Arid Environments*, London, v. 53, p.365-371, 2003.
- Sakai, T.; Sakamoto, T. and Hallaert, J. Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties and applications. *Adv. Appl. Microb.*, 39: 213-294, 1993.
- Sampaio, J. P., et al. Polyphasic taxonomy of basidiomycetous yeasts genus *Rhodospiridium*: *Rhodospiridium kratochvilovae* and related anamorphic species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, Reading, v.51, p.687-697, 2001.
- Santana, D. L. Q.; A. M. Menezes Jr; H. Da Silva; A. F. J. Bellote & R. M. Favaro. O psilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) em eucalipto. EMBRAPA Comunicado técnico 105: 1-3, 2003.
- Severino, R.P.; Vieira, A.; Bacci Jr., M.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C. and da Silva, M.F.G.F.; Efeito do Óleo de *Anacardium occidentale* L. na Atividade de Pectinase Presente no Intestino de Formigas *Atta sexdens*. Resumo XVI Simpósio de Mirmecologia, anexo do livro de resumos, Florianópolis, SC, 2003.
- Silva, A. *Participação do fungo Leucocoprinus gongylophorus na Produção de Enzimas Intestinais da Formiga Atta sexdens*. Rio Claro, Instituto de Biociências - UNESP, 1999. Dissertação de Mestrado. 104 p.
- Silva, A.; Bacci Jr., M.; Siqueira, C.G.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C. and Hebling, M.J.A. Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. *J. Insect Phys.*, 49: 307-313, 2003.
- Singer, R. *The agaricales in modern taxonomy*, 4ª ed. Koenigstein: Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Geman, 1986, 477p.
- Siqueira, C.G. *Estudo do potencial metabólico do fungo Leucocoprinus gongylophorus Heim, associado aos ninhos de Atta sexdens rubropilosa Forel (Hymenoptera: Formicidae)*. Rio Claro, Instituto de Biociências - UNESP, 1997. Dissertação de Mestrado. 66 p.
- Siqueira, C.G.; Bacci Jr., M.; Pagnocca, F.C.; Bueno O.C. and Hebling M.J.A. Metabolism of plant polysaccharides by *Leucoagaricus gongylophorus*, the symbiotic fungus of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 4820-4822, 1998.
- Souza, J.C. de; Reis, P.R. Traça do tomateiro: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízo e controle. Belo Horizonte: EPAMIG, 1992. 20p. (Boletim técnico, 38).
- Souza, N.A.; Fernandes, J.B.; Fernandes, M.N. e Leite, E.R. Distribuição de sensilas nas antenas de duas castas estéreis de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae), CIC UFSCar, 2006.
- Sutton, B.C.; Waterston, J.M. *Guignardia citricarpa*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria n. 85. CAB International, Wallingford, UK, 1966.
- Teixeira, D. C.; Danet, J. L.; Eveillard, S.; Martins, E. C.; de Jesus Junior, W. C.; Yamamoto, P. T.;

- Lopes, S. A.; Bassanezi, R. B.; Ayres, A. J.; Bove, J. M. Citrus Huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR Detection of the “Candidatus liberibacter” Species Associated With the Disease. *Mol. Cell Probes*. 19, 173-179, 2005a.
- Teixeira, D. C.; Saillard, C.; Eveillard, S.; Danet, J. L.; Costa, P. I.; Ayres, A. J.; Bove, J. M. “Candidatus liberibacter americanus”, Associated With Citrus Huanglongbing (Greening Disease) in São Paulo State, Brazil. *Inst. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 1857-1862, 2005b.
- Thakur, B.R.; Singh, R.K. and Handa, A.K. Chemistry and uses of pectin – A Review. *Crit. Food Sc. Nutr.*, 37: 47-73, 1997.
- Timmer, I. W.; Solel, Z.; Gottwald, T. R.; Ibañez, A. M.; Zitko, S. E. Environmental factors affecting production, release, and field populations of conidia of *Alternaria alternata*, the cause of brown spot of citrus. *Phytopathology*, v. 88 (11), 1218-1223, 1998.
- Valicente, F. H.; Cruz, I. Controle biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* com baculovirus. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS. 1991. 23p. (EMBRAPA/CNPMS. Circular Técnica, n. 115).
- Valle, G.E.; Lourenção, A.L. Resistência de genótipos de soja a *Bemisia tabaci* (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotropical Entomology*, v.31, n.2, p.285-295, 2002.
- Wilcken, C. F.; E. B. Couto; C. Orlato; P. J. Ferreira-Filho & D. C. Firmino. Ocorrência do psilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) (Hemiptera, Psyllidae) em florestas de eucalipto no Brasil. Circular técnica – IPEF 201: 1-11, 2003
- Yarrow, D. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. In: Kurtzman, C.P., Fell, J.W. The Yeasts, a Taxonomic Study. Amsterdam: Elsevier, 1998. p.77-100.
- Zavan, C.; Bacci Jr., M.; Bueno, O.C.; Hebling, M.J.A.; Leite, A.C. and Fernandes, J.B. Organic extracts from *Cedrela fissilis* inhibit pectinases from the gut of leaf-cutting ants. Programa e Resumos da XXXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, L-04, p.130, Caxambu, MG, 2003.

Apresentação de trabalhos em congressos

Eventos nacionais:

Foram apresentados 77 trabalhos em congressos nacionais, os quais podem ser vistos no anexo.

Eventos internacionais:

- Costa, E. V. ; Maia, B ; Pinheiro, M. L.; Braga, R. M. ; Marques, F. A.; Ruiz, A.L.T.G. ; Carvalho, J. E. Bioactive constituents from the leaves of *Guatteria friesiana* (Annonaceae). In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 09 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos, 2009. v. 1. Pôster.
- Costa, E. V.; Maia, B; Pinheiro, M.; Marques, F. A.; Braga, R. M.; Delarmelina, C.; Duarte, M. C. T. Antimicrobial activity of the aporphine alkaloids isolated from the bark of *Guatteria friesiana* (Annonaceae). In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 09 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos, 2009. v. 1. Pôster.
- de Hoog, G. S.; Attali-Angelis, D.; Rodrigues, A.; Pagnocca, F. C. Chaetothyriales associated with leafcutter ants: opportunistic species. In: The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology, 2009, Tokyo. Annals of The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology, 2009.
- Domingues V. C.; Cazal C. Cazal; Fernandes J. B.; Bueno O. C.; Ceccato M.; Silva, M. F. G. F.; Vieira P. C. SEARCH OF INSECTICIDAL COMPOUNDS OF *Trichilia sp.* (MELIACEAE). Congresso: 2nd BCNP- Brazilian Conference on Natural Products. São Pedro, 2009.
- Forim, M. R., da Silva, M. F. das G. F., Rodrigues-Filho, E., Fernandes, J. B., Vieira, P. C. Chemical characterization of *Azadirachta indica* (Neem) grafted on *Melia azedarach*, nanoencapsulation of Neem oil and its insecticidal effect (Poster). 42nd IUPAC Congress, 02-07 August 2009, In Glasgow, Escócia.
- Gomes, S.V.F.; Santos, A.D.C.; Martins, L.R.R.; Viana, M.D.; Moraes, V.R.S.; Nogueira, P.C.L.;

- Cass, Q.B.; Alves, P.B.; Machado, S.M.F.; Pereira Filho, E.; Blank, A.F. Differentiation of *Lippia gracilis* Shauer Genotypes by High Performance Liquid Chromatography Fingerprint and Chemometrics Analysis. PS114. 2nd Brazilian Conference on Natural Products (Abstracts, 2009), São Pedro-SP (09 a 12 de novembro de 2009).
- Gomes, W.F.; Santos, A.D.C.; Nogueira, P.C.L. Sazonal and drying evaluation on volatile composition from leaves of *Hancornia speciosa* Gomes. PS-195. 2nd Brazilian Conference on Natural Products (Abstracts, 2009), São Pedro-SP (09 a 12 de novembro de 2009).
- Kitamura, R.O.S.; Silva, M.F.G.F.; Vieira, P.C.; Fernandes, J.B. Phytochemistry study in Picramniaceae: determination of an anthraquinone and steroid isolated from *Picramnia bahiensis*. 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 2009. 09 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos, 2009. v. 1. Pôster.
- Marques, F. A. ; Fischer, M. L ; Ramires, E. N.; Delay, C. E. ; Fontana, J. D.; Marques-da-Silva, E.; Schulz, S . Chemical Signals Involved in the Attraction and Courtship Behavior of the Brown Spider *Loxosceles Intermedia*. In: 25th Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology, 23/08 a 27/08 2009, Neuchatel, Suíça. Apresentação oral.
- Moure, V. R. ; Fabricio, C. ; Frensch, G. ; Marques, F. A. ; Mitchell, D. ; Krieger, N. . Influence of Immobilization and Temperature on The Resolution of Racemic Secondary Allylic Alcohols Catalyzed By *Burkholderia cepacia* LTEB11 lipase. In: 13th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 2009, São Pedro – SP, 31/08 a 04/09, Book of abstracts – Pôster.
- Moure, V. R. ; Wosch, C. L.; Marques, F. A. ; Mitchell, D. ; Krieger, N. . Effect of organic solvent on the kinetic resolution of (R,S)-1-(4-chlorophenyl)prop-2-en-1-ol catalyzed by *Burkholderia cepacia* LTEB11 lipase immobilized on accurel. 2009. In: 13th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 31/08 a 04/09 2009, São Pedro – SP, Book of abstracts – Pôster.
- Ribeiro, S.S.; Nogueira, P.C.L.; Moraes, V.R.S.; . Pessoa, A.M.S; Silva-Mann, R. Volatile compounds from leaves of *Jatropha curcas* L.” PS-190. 2nd Brazilian Conference on Natural Products (Abstracts, 2009), São Pedro-SP (09 a 12 de novembro de 2009).
- Rocha, M. E.; Pinto, M.M., Corrêa, A. G. Microwave-Assisted Synthesis of Xanthenes, 1st National Meeting on Medicinal Chemistry, 2008, Porto, Portugal.
- Santos, A.D.C.; Sampaio, T.S.; Moraes, V.R.S.; Nogueira, P.C.L.. Chemical profile of the latex from *Hancornia speciosa* Gomes by HPLC-DAD-ELSD.” PS-257. 2nd Brazilian Conference on Natural Products (Abstracts, 2009), São Pedro-SP (09 a 12 de novembro de 2009).
- Santos, D.S.; Jesus, J.R.; Martins, L.R.R.; Navickiene, S.; Santos, C.A.; Blank, A.F.; Nogueira, P.C.L.. A Fingerprint method by high performance liquid chromatography for evaluation of spilanthol content among *Spilanthes acmella* L. genotypes. PS-212. 2nd Brazilian Conference on Natural Products (Abstracts, 2009), São Pedro-SP (09 a 12 de novembro de 2009).
- Santos, E. L.; Magalhães, E. G.; Tozzi, A. M.; Marques, F. A.; Maia, B . Dibenzoylmethanes from *Lonchocarpus filipes* (Leguminosae) root bark. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 09 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos, 2009. v. 1. Pôster.
- Sarria A. L. F.; Nebo L.; Terezan A. P.; Fernandes J. B.; Vieira P. C.; Silva, M. F. G. F. Antimicrobial activity of dimeric chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* – Anacardiaceae. 2nd BCNP (Brazilian Conference on Natural Products). São Pedro SP, novembro de 2009.
- Severino, V. G. P., Freitas, S. D. L., R. Lucarini, Silva, M. F. G. F., J. B. Fernandes, P. C. Vieira, M.G.S. Mendes, C.H.G. Martins; Antimicobacterial Activity of Crude Extracts and Compounds isolated from leaves of *Hortia oreadica* (RUTACEAE) In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 09 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos, 2009. v. 1. Pôster.
- Soares, M.S., Forim, M.R., da Silva, M. F. G. F., Rodrigues-Fo, E., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Cass, Q.B., Souza, A.S., Machado, M.A. Quantification of the chemical profile induced in healthy *Citrus sinensis* and *C. limonia* by inoculation with *Xylella fastidiosa* (Poster). 57th International Congress and Annual Meeting of The Society for Medicinal Plant and Natural Product Research,

17-20 August 2009, In Genébra, Suíça

Vaz, N. P.; Braga, R. M. ; Marques, F. A.; Mikich, S. B.; Maia, B. Caavuranamide a new steroidal alkaloid from the ripe fruits of *Solanum caavurana* Vell (Solanaceae). In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 9 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos. SBQ : Sociedade Brasileira de Química, 2009. v. 1. Pôster.

Wosch, C. L.; Marques, F. A. ; Maia, B. H. L. N. S.; Lenz, C. A.; Guerrero Junior, P. G.. Enantioselective Addition of Diethylzinc to Aldehydes. 2009. In: 13th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 2009, São Pedro – SP, 31/08 a 04/09, Book of abstracts – Pôster.

Atividades de formação e capacitação de recursos humanos

Mestrado

Orientador: Antonio Gilberto Ferreira UFSCar

1. Maiara da Silva Santos; Título da dissertação: Avaliação do Emprego de Técnicas de RMN e IV Aliados a Métodos Quimiométricos na Investigação de Autenticidade da Droga Vegetal Comercial “Quebra-Pedra”; Data da defesa: 06/02/2009.

Orientador: Edson Rodrigues Filho UFSCar

1. Luciana da Silva Amaral; Título da dissertação: Análise dos Metabólitos Secundários Produzidos por Fungos Endofíticos Associados à *Cupressus lusitanica*; Data da defesa: 12/02/2009.

2. Taicia Pacheco Fill; Título da dissertação: Biossíntese de Bis-Fenilpropanoides Produzidos pelo Fungo *Penicillium brasilianum*, um Endofítico de *Melia azedarach*; Data da defesa: 12/02/2009.

3. Thaís Gimenes Greco; Título da dissertação: Estudo do Perfil Químico de Microorganismos Endofíticos de *Murraya paniculata*; Data da defesa: 31/07/2009.

Orientador: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Vanice Fátima Schneider; Título da Dissertação: Avaliação da existência de semioquímicos voláteis e de contato mediando a comunicação inter e intraespecífica do caramujo invasor *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca:Achatinidae): perspectivas para o manejo. Data da defesa: 30/06/2009.

Orientador: João Batista Fernandes UFSCar

1. Tatiani Mesquita Bondancia; Título da dissertação: Estudo Fitoquímico Biomonitorado das Folhas e Caule de *Rauia* sp Sobre Formigas Cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa*) e Sobre a Lagarta do Cartucho-do-Milho (*Spodoptera frugiperda*); Data da defesa: 11/09/2009.

2. Mayra Elisa Rodrigues Silva; Título da dissertação: Estudo Fitoquímico de *Helieta puberula* (Rutaceae) e *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae); Data da defesa: 24/09/2009.

Orientador Dr. José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Angelina Maria Marcomini; Título da Dissertação: Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de óleo e extrato de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith); Data da defesa: 09/10/2009.

Orientador: Maria Fátima das G. F. da Silva UFSCar

1. Barbara Sayuri Belleste; Título da dissertação: Estudo Fitoquímico de *Conchocarpus marginatus* (RUTACEAE) e Avaliação do Potencial Biológico dos Compostos Isolados; Data da defesa: 27/03/2009.

Orientadora: Quezia Bezerra Cass UFSCar

1. Kenia Lourenço Vanzolini; Título da dissertação: Métodos para a Determinação Enantiomérica dos Fármacos Omeprazol, Lansoprazol e Pantoprazol em Águas Residuais e de Estuário; Data da defesa: 17/04/2009.

Doutorado

Orientador: Antonio Gilberto Ferreira UFSCar

1. Elisângela Fabiana Boffo; Título da tese: Utilização da RMN Aliada a Métodos Quimiométricos na Análise de Méis e Aguardentes; Data da defesa: 17/02/2009.

Orientador: Edson Rodrigues Filho UFSCar

1. Gezimar Donizetti de Souza; Título da tese: Toxinas Produzidas por Fungos dos Gêneros *Alternaria* e *Fusarium*: Aspectos Analíticos e Químico-Ecológicos; Data da defesa: 02/02/2009.

2. Bianca Ferreira da Silva; Título da tese: Estudo do Potencial de Micro-organismos Endofíticos para a

Biotransformação de Produtos Naturais e Análogos Sintéticos; Data da defesa: 27/11/2009.

Orientador: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Scheila Ribeiro Messa Zaleski; Título da tese: *Pissodes castaneus* (De Geer) (Coleoptera, Curculionidae): Bioecologia, Feromônio sexual, Variabilidade genética e aspectos do Monitoramento e Controle; Data da defesa: 23 de junho de 2009.

2. Crisleide Maria Lazzarotto; Título da tese: Adaptabilidade das espécies exóticas *Greenidea ficicola* Takahashi e *Greenidea psidii* van der Goot (Hemiptera: Aphididae) modelada pela Lógica fuzzy; Data da defesa: 22 de junho de 2009.

Orientador: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Gerane Celly Dias Bezerra; Título da Tese: Efeito de extratos brutos e frações de meliáceas (Rutales: Meliaceae) na sobrevivência e no comportamento de *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomateiro; Datas da defesa: 11/05/2009.

Pós-doutorado

Supervisor: M. Fátima das G.F. da Silva UFSCar

1. Thiago André Moura Veiga; Título do projeto: Busca por Candidatos a Herbicidas Inibidores da Fotossíntese a partir de Produtos Naturais; Bolsa: FAPESP.

2. Sebastião da Cruz Silva, Título do projeto: Confirmação de *Botryosphaeria rhodina* como fitopatógeno do Cancro em *Khaya ivorensis*, análise do inseto transmissor deste fungo e busca de fungicidas; Bolsa: FAPESP.

Supervisor: Paulo Cesar de Lima Nogueira UFSE.

1. Emmanoel Vilaça Costa; Título do projeto: Investigação Química de Espécies de Annonaceae de Sergipe na Busca de Biocidas Naturais; Bolsa: INCT.

Orientações em fase final:

Mestrado

Orientador: Valéria Regina de Souza Moraes. Co-orientador: Paulo Cesar de Lima Nogueira UFSE.

1. Sandra Santos Ribeiro. Título da Dissertação: Estudo Fitoquímico e Atividade Biológica de *Jatropha curcas* (defesa da dissertação prevista para março/2010).

Orientador: Paulo Cesar de Lima Nogueira UFSE.

1. Daniele Silva dos Santos. Título da Dissertação: Desenvolvimento e Validação de Método Cromatográfico por CLAE para Controle de Qualidade de Plantas Medicinais: *Spilanthes acmella* (L.) Murray e *Lippia gracilis* Shauer. (defesa da dissertação prevista para março/2010).

2. Wesley Faria Gomes. Título da Dissertação: Estudo Químico de Recursos Naturais Renováveis do Estado de Sergipe: *Hancornia speciosa* Gomes. (defesa da dissertação prevista para março/2010).

Orientação em andamento:

Pós-Doutorado:

Supervisor: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Scheila Ribeiro Messa Zaleski; Título do projeto: Análise da toxicidade de materiais de origem botânica frente ao pulgão gigante do Pinus e ao Psilídeo de Concha, importantes pragas florestais; Bolsa: INCT.

Supervisor: João Batista Fernandes UFSCar

1. Ana Paula Terezan; Título do projeto: Cultura de microorganismos (fungos e leveduras), ação inibitória sobre os mesmos, isolamento de seus constituintes químicos e biotransformações de produtos naturais com atividade sobre insetos; Bolsa: INCT.

Supervisor: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Paulo César Bogorni; Título do projeto: Avaliação da ação inseticida de extratos vegetais sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Bemisia tabaci* (Gennadius); Bolsa: INCT.

Supervisor: M. Fátima G.F. da Silva UFSCar

1. Ana Cristina Leite; Título do projeto: Elicitação de metabólitos secundários de espécies de *Citrus*; Bolsa: INCT.

Supervisor: Odair Corrêa Bueno UNESP-Rio Claro

1. Eduardo Arrivabene Diniz; Título do projeto: O papel da comunicação sonora na liberação dos comportamentos de preparação do substrato, cuidado com a prole e rainha em formigas cortadeiras; Bolsa: INCT.
2. Gabriela Ortiz; Título do projeto: Larvas de “Attini basais” (Hymenoptera: Myrmicinae) com depósitos de fungo na sua superfície: estudo das relações entre os dois sistemas baseado nos perfis morfológico e bioquímico da cutícula; Bolsa: CNPq-Cota Supervisor.
3. Sandra Verza da Silva; Título do projeto: Lixo de formigas cortadeiras: microbiota e seu impacto na colônia, disposição e comportamento de manuseio; Bolsa FAPESP

Supervisora: Quezia Bezerra Cass UFSCar

1. Paulo R Adalberto; Título do projeto: Desenvolvimento de um imer para triagem em larga escala de inibidores de atividade pectinolítica; Bolsa: INCT.

Supervisor: Ronaldo Censi Faria UFSCar, Co-Supervisor João B. Fernandes UFSCar

1. Paulo Roberto Brasil de Oliveira Marques; Título do projeto: Desenvolvimento de um biossensor enzimático para avaliação de atividade inseticida em extratos vegetais; Bolsa: INCT.

Doutorado:

Orientador: Antonio Gilberto Ferreira UFSCar

1. Eduardo Sanches Pereira do Nascimento; Título do projeto: Análise via RMN da urina de ratos submetidos à ingestão de mercúrio e chumbo; Bolsista: CAPES
2. Katyuscia Veloso Leão; Título do projeto: Aplicação das Técnicas Espectroscópicas e Quimiométricas no Controle de Qualidade de Drogas Vegetais: Embaúba, Malva e Ginseng Brasileiro; Bolsista: CNPq.
3. Luiz Henrique Keng Queiroz Júnior; Título do projeto: Uso do RMS no estado sólido, aliada à análise quimiométrica, para a caracterização de polimorfismo em fármacos; Sem bolsa.

Orientador: Edson Rodrigues Filho UFSCar

1. Bianca Ferreira da Silva; Título do projeto: Estudo do potencial de Micro-organismos Endofíticos para a Biotransformação de Produtos Naturais e Análogos Sintéticos; Bolsista FAPESP.
2. Luciana da Silva Amaral; Título do projeto: a definir; Bolsista CNPq.
3. Taicia Pacheco Fill; Título do projeto: Estudo Genético, Enzimático e Metabólico do microorganismo *Penicillium brasilianum*; Bolsista FAPESP.

Orientador: João Batista Fernandes UFSCar

1. André Lucio Franceschini Sarria; Título do projeto: Obtenção de inseticida e fungicida contra formigas cortadeiras e seu fungo simbionte em *Myracrodruon urundeuva* e de complexos de coordenação com metais de compostos ativos para controle desta praga; Bolsa: FAPESP
2. Cristiane de Melo Cazal; Título do projeto: Estudo fitoquímico de *Trichilia sp* (Meliaceae) associado ao controle de formigas cortadeiras e desenvolvimento de processo de nanoencapsulação; Bolsa: CAPES.
3. Hercules Vicente Ferreira; Título do projeto: Biotransformação de produtos naturais utilizando microorganismos de formigueiro (fungos e leveduras); Bolsa: CAPES
4. Liliane Nebo; Título do projeto: Estudo de *Schinus terebinthifolius*, *Anacardium humile* e *Macairea urundeuva* no controle das formigas cortadeiras; Bolsa: FAPESP.
5. Maria da Paz do N. Moreno; Título do projeto: Isolamento, modificação estrutural e avaliação biológica de frações, compostos isolados e seus derivados da *Hyptis Fructicosa* (Lamiaceae). Bolsa: CAPES
6. Rodrigo Ossamu Saga Kitamura; Título do projeto: Estudo fitoquímico biomonitorado em *Picramnia bahiensis* e *Thyrsodium schomburgkianum* – Obtenção de inseticida, fungicida contra formigas cortadeiras e seu fungo simbionte e microencapsulação de compostos ativos; Bolsa: FAPESP.
7. Tatiani Mesquita Bondancia; Título do projeto: Estudos biomonitorados de *Rauia sp* sobre *Atta sexdens rubropilosa* e *Leucoagaricus gongylophorus*, de *Stryphnodendron polyphyllum* sobre *Apis mellifera* e obtenção de biorreator de maltose; Bolsa: CAPES.
8. Karla da Silva Malaquias; Título do Projeto: Estudo químico e histoquímico das glândulas metapleurais e labiais de formigas cortadeiras e a influência destas nas relações simbióticas presentes nos

jardins de fungo; Bolsa: CNPq

Orientador: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Fátima Teresinha Rampelotti-Ferreira; Título do projeto: Avaliação de formulações nanoencapsuladas de nim e extratos orgânicos de outras Meliaceae sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) e o efeito associado ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*; Bolsa: CNPq.

2. Rafael Major Pitta; Título do projeto: Efeito inseticida de extratos orgânicos de meliáceas sobre *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Hemiptera: Aphididae) e seletividade ao seu parasitóide *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Aphidiidae); Bolsa: CAPES.

Orientadora: Maria Fátima das G. F. da Silva UFSCar

1. Barbara Sayuri Belleste; Título do projeto: Estudo da variação do perfil químico entre plantas de citrus com greening e sadias, visando obter metabólitos indicativos de mecanismo de defesa; Bolsa: CAPES.

2. Katia Roberta Prieto; Título do projeto: Estudo Químico do Fungo *Alternaria alternata* obtido do Citrus Tangerina *Murcott*; Bolsa: CNPq.

3. Márcio Santos Soares

Título do projeto: Estudo da Variação do Perfil Químico no Enxerto de *Citrus sinensis* sobre *C. limonia* com Sintoma de CVC após a Inoculação de *Xylella fastidiosa*, sem sintoma mas com a Bactéria presente e Planta Sadia; Bolsista CNPq.

4. Marsele Machado Isidoro; Título do projeto: Estudo da variação do perfil químico da laranja pêra e tangerina tangor “Murcott” após a inoculação do fungo *Alternaria alternata*; Bolsa: CNPq.

5. Moacir dos Santos Andrade; Título do projeto: Estudo Químico da bactéria *Xylella fastidiosa*, *Diaphorina citri* e interações com citros; Bolsa: CNPq.

6. Murilo Marinho de Castro Lima

Título do projeto: Estudo Fitoquímico, Farmacognóstico e Agroquímico de *Waltheria brachypetala* e *Melochia spicata* (Malvaceae) na busca de novos candidatos a fármacos e inseticidas; Bolsista CAPES.

7. Olívia Moreira Sampaio

Título do projeto: Busca por possíveis inibidores da fotossíntese (herbicidas) em plantas da ordem Sapindales; Bolsista FAPESP.

8. Vanessa Gisele Pasqualotto Severino; Título do projeto: Estudo Químico de Plantas de *Hortia* e do Fungo *Guignardia citricarpa*: Busca de Compostos de Partida Bactericidas à *Xylella fastidiosa* e Fungicidas à *G. citricarpa*; Bolsa: FAPESP.

Orientador: Odair Corrêa Bueno UNESP-Rio Claro

1. Amanda Aparecida Carlos; Título do projeto: Semioquímicos e comunicação sonora em formigas cortadeiras (Hymenoptera, Formicidae); Bolsa: FAPESP

Orientadora: Quezia Bezerra Cass UFSCar

1. Bianca Rebelo Lopes Simões; Título do projeto: Quantificação de Fármacos em Leite Materno de Nutrizes com doenças Crônicas por Cromatografia Líquida Multidimensional; Bolsa: CNPq.

2. Marcela Cristina de Moraes; Título do projeto: Desenvolvimento e Aplicação de Biorreatores Capilares para a triagem de Inibidores da Purina Nucleosídeo Fosforilase; Bolsa: FAPESP .

3. Thais Correa Castral; Título do projeto: Desenvolvimento de Métodos para Análise de Glucuronídeos em Urina Humana por Cromatografia Líquida; Bolsa: CAPES.

4. Kenia Lourenço Vanzolini; Título do projeto: a ser definido; Bolsista CNPq.

Orientador: Rose Maria Carlos UFSCar

1. Regina Maria Mendes de Oliveira; Título do projeto: Novos Complexos Metálicos de Inseticidas Naturais: Atividade tóxica, sítios ativos e mecanismos de ação; Bolsa: CAPES.

Mestrado:

Orientador: Carmen Lucia Cardoso -FFCLRP

1. Joyce Izidoro da Silva; Título do projeto: Desenvolvimento de colunas capilares com a enzima acetilcolinesterase e butirilcolinesterase para a triagem on-line de inibidores seletivos on line; Bolsa: FAPESP (2008/07526-0).

Orientador: Edson Rodrigues Filho UFSCar

1. Diego Zulkiewicz Gomes; Título do projeto: a definir; Bolsa: Cota Orientador CNPq.

2. Florisvaldo Clementino Santos Filho; Título do projeto: Análise de compostos orgânicos voláteis fixos em culturas de microorganismos endofíticos; Bolsa: CNPq.
3. José Vinícius da Silva; Título do projeto: a definir; Bolsa: Cota Orientadora CNPq.
4. Livia Soman de Medeiros; Título do projeto: Estudo Químico de Metabólicos Secundários Produzidos por Microorganismos Endofíticos Isolados de Banana, Pêra e Goiaba; Bolsa: FAPESP.
5. Marília Almeida Trapp; Título do projeto: a definir; Bolsa: FAPESP.

Orientador João Batista Fernandes UFSCar

1. Keylla Utherdyany Bicalho

Título do projeto: Estudo do perfil fitoquímico de *Spondia dulcis*, isolamento de lignanas de *Virola sebifera* e desenvolvimento de processo de nanoencapsulação; Bolsa: CAPES.

2. Maria Fernanda Martinez Villari; Título do projeto: Estudos fitoquímicos de *Astronium graveolens*, *Pilocarpus giganteus* e *P. ridelianus* e da ação de seus constituintes sobre formigueiros; Bolsa: CNPq.

Orientador: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Angelina Maria Marcomini; Título do projeto: Efeito de extratos e compostos de origem vegetal sobre aspectos fisiológicos da lagarta *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith); Bolsa: CAPES.

2. Leandro do Prado Ribeiro; Título do projeto: Bioprospecção de extratos vegetais e sua interação com protetores de grãos no controle de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae); Bolsa: CAPES.

Orientadora: Maria Fátima das G. F. da Silva UFSCar

1. Cristovam do Nascimento Cerqueira

Título do projeto: Estudo fitoquímico-quimiossistemático de espécies de *Galipea* e avaliação do potencial biológico dos compostos isolados; Bolsa: CAPES.

2. Israel Cívico Gil de Sá; Título do projeto: Busca por possíveis metabólitos secundários inibidores da fotossíntese; Bolsa: FAPESP.

3. Sâmia Danielle Lima de Freitas; Título do projeto: Estudo quimiossistemático de espécies de *Hortia* (Rutaceae) e busca de fungicidas à *Guignardia citricarpa*; Bolsa: CNPq.

Orientador: Odair Corrêa Bueno UNESP-Rio Claro

1. Tais Garcia Freitas; Título do projeto: Toxicidade de extratos de *Rauia* sp. (Rutaceae) para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae); Bolsa: FAPESP

Orientador: Paulo Cesar de Lima Nogueira UFSE

1. Valéria Santos Santana; Título do Projeto: Caracterização Química de Hidrolatos de Plantas Aromáticas e Medicinais através de CG-EM e CG-enantiosseletiva; Bolsa: FAPITEC/SE.

Orientadora: Quezia Bezerra Cass UFSCar

1. Ricardo da F. Sprenger; Título do projeto: Espectrometria de múltiplos estágios para a diferenciação química de quatro espécies do gênero *Phyllanthus* através do uso de LC-MS; Bolsa: CNPq.

2. Tiago de Campos Lourenço; Título do projeto: Estudos de separação enantiosseletiva para uma série de sulfóxidos quirais em colunas poliméricas; Bolsa: FAPESP.

3. Vinicius Augusto Perasolo e Carvalho; Título do projeto: Caracterização química por cromatografia de alta eficiência e a análise quimiométrica de espécies vegetais de *Bauhinia* (Fabaceae) e aplicação em controle de qualidade de amostras comerciais de “pata-de-vaca”; Bolsa: CAPES.

Orientador: Tiago Venâncio UFSCar

1. Claudimar Junker Duarte; Título do projeto: a definir; Bolsa: CAPES.

Orientador: Valéria Regina de Souza Moraes UFSE.

1. Pedro Ernesto Oliveira da Cruz; Título do projeto: Investigação Química e Biológica de *Annona salzmannii* A.DC. (Annonaceae); Bolsa: sem bolsa.

Iniciação científica:

Orientador: André Rodrigues, Coorientador: Fernando Carlos Pagnocca UNESP-Rio Claro

1. Lucas Andrade Meirelles; Título do projeto: Caracterização polifásica de *Escovopsis* sp. (Hypocreales: Ascomycota) associados aos ninhos das formigas cortadeiras; Bolsa: INCT.

Orientador: Carmen Lucia Cardoso -FFCLRP

1. Adriana Ferreira Lopes Vilela; Título do projeto: Desenvolvimento de colunas enzimáticas e métodos de triagem específicos para a Butirilcolinesterase; Bolsa: INCT.

Orientador: Edson Rodrigues Filho UFSCar

1. Heloisa B. Rodrigues Asenha; Título do projeto: Isolamento e produção de compostos inseticidas produzidos pelo fungo *Penicillium sp*, isolado como endofítico de *Melia azedarach*; Bolsa: INCT.

Orientador: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Lais Francine Santos; Título do projeto: Identificação de Cairomônios Mediando a Comunicação Interespecífica entre *P. castaneus* de Diferentes Espécies de Pinus; Bolsa: INCT.

2. Karen Mary Mantovani; Identificação do feromônio sexual do gorgulho da casca do pinus *Pissodes castaneus*; Bolsa: INCT.

Orientador: João Batista Fernandes UFSCar

1. Vanessa de Cássia Domingues; Título do projeto: Estudo fitoquímico de *Trichilia sp* (Meliaceae) associado ao controle de formigas cortadeiras; Bolsa: CNPq - PIBIC e FAPESP.

2. Jaqueline Raquel Batalhão; Título do Projeto: Estudo de extratos e substâncias puras de *Ricinus communis* para controle de formigas cortadeiras - obtenção de ricinina em grande escala – microencapsulamento; Bolsa: CNPq - PIBIC e FAPESP.

3. Viviane Magrini; Título do projeto: Estudo de extratos e substâncias puras de *Ricinus communis* para controle de formigas cortadeiras - obtenção de ricinina em grande escala - microencapsulamento Bolsa: PIBIC – CNPq.

4. Rodney Henrique Bendassolli; Título do projeto: Obtenção de formulação inseticida a base de gergelim; Bolsa: PIBIC - CNPq

5. Ana Carolina Volante; Título do projeto: Ensaios inseticidas e manutenção de *Spodoptera frugiperda*; Bolsa: CNPq - Cota

6. Denise Cristina Martins; Título do projeto: Ensaios fungicidas de plantas da ordem Sapindales frente ao fungo simbionte (*Leucoagaricus gongylophorus*) e ações do extrato metanólico de *Spiranthera odoratissima* no ninho das formigas cortadeiras; Bolsa: INCT.

Orientador: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Marcella Arcaro de Lima; Título do projeto: Efeito de extratos botânicos sobre a traça *Tuta absoluta* (Meyrick); Bolsa: INCT.

Orientador: M. Fátima G.F. da Silva UFSCar

1. Evandro Luis Prieto; Título do projeto: Auxiliar no projeto de doutorado: Obtenção de extratos dos citros laranja pêra e tangerina tangor ‘Murcott’ após a inoculação do fungo *Alternaria alternata*, e Estudo Microbiológico do fungo *Alternaria alternata* e *Botryosphaeria rhodina*; Bolsa: INCT.

2. Tamyris Paschoal Pereira; Título do projeto: Busca de Metabólitos Secundários de *Euclea Natalensis* visando Atividades Biológicas; Bolsa: INCT.

3. Daniela Cristina Coleti Zanetti; Título do projeto: Estudo químico do fungo *Guignardia citricarpa* patogênico de Citrus; Bolsa: FAPESP.

Orientador: Odair Corrêa Bueno UNESP-Rio Claro

1. Amanda Maria Picelli; Título do projeto: Toxicidade de extratos de *Astronium graveolens* e compostos de substâncias puras para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae); Bolsa: INCT.

2. Juliana Werchajzer; Título do projeto: Comportamento de cuidado com a prole de operárias adultas de *Trachymyrmex tucumanus* Forel, 1914 (Hymenoptera, Formicidae); Bolsa: PIBIC – CNPq

3. Manuela de Oliveira Ramalho; Título do projeto: Toxicidade de extratos vegetais para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) e sequenciamento de um fragmento do DNA mitocondrial de *Pachycondyla villosa* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera, Formicidae) e *Camponotus textor* (Forel, 1899) (Hymenoptera, Formicidae); Bolsa: CNPq

4. Pâmela Décio; Título do projeto: Análise Morfológica dos túbulos de Malpighi, do ventrículo e das glândulas pós-faríngeas de operárias adultas de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com hidrametilnona; Bolsa: CNPq

5. Gustavo A. S. Vassão; Título do projeto: Toxicidade de *Astronium graveolens* para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* forel (Hymenoptera: Formicidae); Bolsa: sem.

Orientador: Paulo Cesar de Lima Nogueira UFSE

1. Jemmyson Romário de Jesus; Título do Projeto: Estudo da Composição Química de Plantas Medicinais através CG-EM e CLAE-DAD: Jambú (*Spilanthes acmella* L.) e Velame-do-Campo (*Croton Campestris*); Bolsa: INCT.
2. Thanany Brasil da Silva; Título do Projeto: Estudo Fitoquímico de *Lantana rugosa* Thunb. (Verbenaceae); Bolsa: INCT.
3. Hugo César Ramos de Jesus; Título do Projeto: Recursos Naturais Renováveis do Estado de Sergipe: Estudo Químico do Látex da Mangabeira; Bolsa: COPES/UFSE.

Orientador: Valéria Regina de Souza Moraes. Co-orientador: Emmanoel Vilaça Costa UFSE

1. Aline Menezes de Jesus; Título do Projeto: Estudo Fitoquímico de *Kielmeyera rugosa* Choisy (Clusiaceae) visando à obtenção de metabólitos bioativos; Bolsa: FAPITEC/SE.

Alunos de Atribuição Técnica de Nível Superior

Orientador: Clélia Mara de Paula Marques

1. Priscyla Bettin; Título do projeto: Apoio à atividades de divulgação de ciência; Bolsa: INCT

Orientador: Carmen Lucia Cardoso -FFCLRP

1. Joyce I. Silva; Título do projeto: Desenvolvimento de colunas capilares com a enzima acetilcolinesterase e butirilcolinesterase para a triagem on-line de inibidores seletivos on line; Bolsa: INCT.

Orientador: Fernando Carlos Pagnocca UNESP-Rio Claro

1. Diogo Barcot Tintor; Título do projeto: Efeito de bio-extratos sobre o fungo simbionte de formigas cortadeiras; Bolsa: INCT.

Orientador: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Grece Aparecida Senhorini; Título do projeto: Apoio às atividades de pesquisa do laboratório de ecologia química e síntese de produtos naturais da UFPR; Bolsa: INCT.

Orientador: João Batista Fernandes UFSCar

1. Andréia Pereira Matos; Título do projeto: Atividade inseticida de espécies da ordem Sapindales; Bolsa: INCT

Orientador: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Vanessa Minuzzi Bidinoto; Título do projeto: Efeito de extratos de origem vegetal sobre algumas pragas de importância agrícola; Bolsa: INCT.

Orientador: M. Fátima das G.F. da Silva

1. Eliana P. Soares; Título do projeto: Auxílio na administração do projeto INCT-CBIP; Bolsa: INCT.
2. Graciele G. Juarez; Título do projeto: Auxílio na administração do projeto INCT-CBIP; Bolsa: INCT

Alunos de Atribuição Técnica de Nível Médio

Orientador: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Maria Leticia Cordeiro; Título do projeto: Apoio às atividades de pesquisa do laboratório de ecologia química e síntese de produtos naturais da UFPR; Bolsa: INCT

Orientador: João Batista Fernandes UFSCar

1. João César Bosquetti; Título do projeto: Recuperação de Solventes Orgânicos; Bolsa: INCT
2. Roberta Ligabó Murarolli; Título do projeto: Treinamento em atividades técnicas do projeto INCT-CBIP; Bolsa: INCT

3. Priscila Maria Gonçalves; Título do projeto: Treinamento em atividades técnicas do projeto temático de controle de formigas cortadeiras; Bolsa: FAPESP

Orientador: Odair Corrêa Bueno UNESP-Rio Claro

1. Lucas Gomes Martins; Título do projeto: Toxicidade de extratos das folhas de *Anacardium humile*, tronco de *Hortia oreádica* e conjunto de derivados Diidrocinâmico para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae); Bolsa: INCT.

2. Marcela Ceccato; Título do projeto: Atividade inseticida do extrato e frações do caule de *Trichilia* sp. (Meliaceae) sobre *Atta sexdens rubropilosa*; Bolsa: CNPq

Orientadora: M. Fátima das G.F da Silva UFSCar

1. Sonia Pinto Cardoso; Título do projeto: Discriminação das atividades técnicas realizadas no laboratório de bioensaio na UFSCar; Bolsa: INCT.

Orientador: Valéria Regina de Souza Moraes. Co-orientador: Emmanoel Vilaça Costa

1. Charlene Souza dos Anjos; Título do Projeto: Estudo Fitoquímico do Caule de *Kielmeyera rugosa* Choisy (Clusiaceae); Bolsa: INCT.

Perspectivas e futuros desdobramentos.

- Realizar no segundo semestre de 2010 o II Workshop sobre Avaliação de Desempenho do INCT-CBIP.
- Manter e ampliar as atividades de cooperação entre INCT's e com outras instituições.
- Dar seqüência aos estudos químicos de plantas e microorganismos e submeter as substâncias isoladas nos ensaios citados abaixo.
- Dar seqüência aos estudos com formigas cortadeiras, seu fungo simbiote e outros microorganismos.
- Concluir a síntese e/ou a modificação de grupos funcionais das moléculas ativas isoladas de plantas e de substâncias com esqueletos carbônicos iguais e semelhantes àquelas que têm atividade tóxica, porém com substituintes diferentes, visando maior poder de ação sobre as pragas e menor toxicidade ao homem e outros mamíferos
- Dar seqüência ao levantamento da diversidade de leveduras associadas a insetos sociais (com destaque para formigas Attini e Vespidae), conhecer o seu papel nesta interação e desenvolver ensaios que possam ser utilizados para controle de formigas cortadeiras. Pretende-se disponibilizar o acesso ao acervo para outros pesquisadores que desejarem interagir com o laboratório Microbiologia do CEIS, ampliando o site <http://estirpes.wii-records.com/>.
- Dar seqüência aos estudos e ensaios biológicos que permitirão entender e combater a Clorose Variegada dos Citros (CVC).
- Dar seqüência aos estudos e ensaios biológicos que permitirão entender e combater a Mancha Preta dos Citros: *Guignardia citricarpa*.
- Dar seqüência aos estudos e ensaios biológicos que permitirão entender e combater a mancha Marrom dos Citros: *Alternaria alternata*
- Dar seqüência aos estudos e ensaios biológicos que permitirão entender e combater a Huanglongbing (HLB) ou Greening dos Citros
- Dar seqüência aos estudos e ensaios biológicos que permitirão entender e combater os Cancros em *Khaya ivorensis*, e em outras madeiras nobres.
- Dar seqüência aos estudos e ensaios biológicos que permitirão combater os ataques das seguintes pragas: *Spodoptera frugiperda*, *Bemisia tabaci*, *Tuta absoluta*, *Sitophilus zeamais*, *Rhopalosiphum maidis*, *Pissodes castaneus*, *Cinara atlântica*, *Glycaspis brimblecombei*, *Diaphorina citri*. Ampliar o número de insetos no estudo, como: iniciar ensaios com cigarrinhas da família Cicadellinae e da família Fulgoridae, especificamente *Acraephia perspicillata*.
- Dar seqüência aos estudos de complexação de produtos naturais bioativos com íons inorgânicos. Concluir os ensaios com aqueles já sintetizados e submeter para patente (em fase final) a metodologia de síntese, os produtos obtidos e ensaios biológicos daqueles que apresentaram excelente atividade.
- Dar seqüência aos estudos com biorreatores de acetilcolinesterase e com outras enzimas. Iniciar os ensaios de extratos e substâncias naturais com estes biorreatores.
- Dar seqüência aos estudos com biorreator com atividade pectinolítica. Iniciar os ensaios de extratos e substâncias naturais com estes biorreatores.
- Dar seqüência aos estudos com biossensor de acetilcolinesterase. Iniciar os ensaios de extratos e substâncias naturais com estes biossensores.
- Com a chegada do equipamento de RMN, 14,09 Tesla - 600 MHz para frequência do hidrogênio em junho próximo, concluir os trabalhos de interação planta-inseto-microorganismos, cujas interações se dão via substâncias presente em escala abaixo daquela detectável no aparelho atual do grupo.
- Analisar a toxicidade de produtos naturais que apresentaram excelentes atividades nos ensaios acima, visando avaliar suas viabilidades de uso.
- Concluir as atividades de formação e capacitação de recursos humanos ao nível de IC, mestrado, doutorado, pós-doutorado, etc.
- Submeter para publicações os resultados com os estudos acima.
- Organizar a II Oficina de Ciências intitulada "Controle Biorracional de Pragas" junto à semana

Nacional de Ciência e Tecnologia.

- Continuar colaborando com o Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência, um programa da CAPES que visa promover a participação dos alunos do Curso de Licenciatura em Química da UFSCar em ações colaborativas junto aos professores de Química e de Ciências de escolas públicas de São Carlos. A participação do INCT-CBIP tem sido principalmente em feiras de ciências.

Publicações da equipe (Ver abstracts em anexo)

- Cardoso, C.L., de Moraes, M.C. Cass, Q.B. Imobilização de enzimas em suportes cromatográficos: uma ferramenta na busca por substâncias bioativas Quim. Nova, Vol. 32, No. 1, 175-187, 2009.
- Cazal C.D., Domingues V.D., Batalhão J.R., Bueno, O. C., Rodrigues Fº., E., Silva, M. F. G. F., Vieira, P. C., Fernandes, J. B. Isolation of xanthyletin, an inhibitor of ant's symbiotic fungus, by high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatography (Print). , v.1216, p.4307 - 4312, 2009.
- Cazal C.D.; Batalhão J.R.; Domingues V.D.; Bueno, O. C.; Rodrigues Fº. E.; Forim, M. R.; Silva, M. F. G. F.; Vieira, P. C.; Fernandes; J. B. High-speed counter-current chromatographic isolation of ricinine, an insecticide from *Ricinus communis*. Journal of Chromatography (Print). v.1216, p.4290 - 4294, 2009.
- Carlos A.A.; Forti L.C.; Camargo R.S.; Moreira S.M.; Verza S.S.; Diniz E.A.; Attractiveness of Different Citrus Pulp to the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, v. 54, n. 3, p. 799-805. 2009.
- Coelho A.R., Tachi M, Pagnocca F.C., Nobrega G.M., Hoffmann F.L., Harada K, Hirooka E.Y. Purification of *Candida guilliermondii* and *Pichia ohmeri* killer toxin as an active agent against *Penicillium expansum*. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 26(1):73-81, 2009.
- Costa, E. V.; Marques, F. A.; Pinheiro, M. L. B.; Vaz, N. P. ; Duarte, M. C. T.; Delarmina, C. ; Braga, R. M.; Maia, B. H. L. N. S.. 7,7-Dimethylaporphine Alkaloids from the Stem of *Guatteria friesiana*. Journal of Natural Products (Print), v. 72, p. 1516-1519, 2009. DOI: 10.1021/np800788n.
- Costa, E. V.; Pinheiro, M. L. B.; Marques, F. A. ; Braga, R. M. ; Maia, B. H. L. N. S. First report of alkaloids in the genus *Guatteria* (Annonaceae). Biochemical Systematics and Ecology, v. 37, p. 43-45, 2009. DOI: 10.1016/j.bse.2008.11.010.
- Diniz, Eduardo Arrivabene, Bueno, O. C., Almeida, R. N. A. Substrate preparation for the cultivation of the symbiotic fungus in leaf-cutting ants of the genus *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*. , v.53, p.651 - 666, 2009.
- Diniz, E. A., Bueno, O. C., Carlos, A.A. Behavioral Repertoire of Basal Fungus-Growing Ant Sexuals (Hymenoptera: Formicidae) in the Parental Nest. *Sociobiology*. v.55, p.1 - 7, 2010.
- Fischer, M. L.; Cokl, A ; Ramires, E. N.; Marques-da-Silva, E.; Delay, C.; Fontana, J. D.; Donatti, L.; Schneider, V. F.; Marques, F. A. Sound is involved in multimodal communication of *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão, 1934 (Araneae; Sicariidae). Behavioural Processes (Print), v. 82, p. 236-243, 2009. DOI: 10.1016/j.beproc.2009.06.013.
- Forim, M. R., Cornélio, V. E., da Silva, M. F. das G. F., Rodrigues-Filho, E., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Matinez, S. S., Napolitano, M. P., Yost, R. A. Chemical characterization of *Azadirachta indica* grafted on *Melia azedarach* and analyses of azadirachtin by HPLC-MS-MS (SRM) and meliatoxins by MALDI-MS Phytochemical Analysis, Published Online: Mar 23 2010 1:06AM; DOI: 0.1002/pca.1208
- Lazzari, S. M. N. ; Starkey, S. ; Reese, J. ; Ray-Chandler, A. ; McCubrey, R. ; Smith, C.M. . Feeding behavior of Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotype 2 in response to wheat genotypes exhibiting antibiosis and tolerance resistance. Journal of Economic Entomology, v. 102, p. 1291-1300, 2009. DOI: 10.1603/029.102.0356.
- Marques, F. A. ; Wendler, E. P.; Macedo, A. ; Wosch, C. L.; Maia, B. H. L. N. S.; Mikami, A. Y. ; Arruda-Gatti, I. C. ; Pissinatti, A. ; Mingotte, F. L. C.; Alves, A. ; Ventura, M. U.. Response of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) to 1,4-Dimethoxybenzene and Analogs in

- Common Bean Crop. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 52, p. 1333-1340, 2009.
- Matos, A. P.; Leite, A. C.; Batista-Pereira, L. G.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B. and da Silva, M. F. G. F. Effects of limonoids from *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) on survival, growth and development of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Z. Natuforschung, 64c: 441, 2009).
- Matos, A. P.; Nebo, L.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; da Silva, M. F. G. F. and Ribiero, R. R. Constituintes Químicos e Atividade Inseticida dos Extratos de Frutos de *Trichilia elegans* e *T. catigua* (Meliaceae) (Química Nova, 32: 1553-1556, 2009).
- Navarro-Silva, M. A.; Marques, F. A.; Luna, J. E. D. Review of Semiochemicals that Mediate the Oviposition of Mosquitoes: a Possible Sustainable Tool for the Control and Monitoring of Culicidae. Revista Brasileira de Entomologia (Impresso), v. 53, p. 1-6, 2009.
- Penãflor, M. F. G. V., Almeida, R. N. A., Simote, S. Y., Yamane, Sayuini E., Bueno, O. C., Hebling, M. J. A., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Silva, M. F. G. F., Pagnocca, F. C.. Toxicity of substances isolated from *Simarouba versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) to the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. BioAssay (Piracicaba). v.4, p.1 - 6, 2009.
- Rodrigues A., Cable R.N., Mueller U.G., Bacci M. Jr., Pagnocca F.C. Antagonistic interactions between garden yeasts and microfungus garden pathogens of leaf-cutting ants. Antonie van Leeuwenhoek. 96(3):331-42, 2009.
- Roma, G. C., Bueno, O. C., Camargo-Mathias, M. I. Ultrastructural analysis of the fat body in workers of Attini ants (Hymenoptera: Formicidae). Animal Biology (Print). v.59, p.241 - 262, 2009.
- Rosa C.A., Jindamorakot S., Limtong S., Nakase T., Lachance M.A., Fidalgo-Jiménez A., Daniel H.M., Pagnocca F.C., Inácio J., Moraes P.B. Synonymy of the yeast genera *Moniliella* and *Trichosporonoides* and proposal of *Moniliella fonsecae* sp. nov. and five new species combinations. Int J Syst Evol Microbiol. 59(2):425-9, 2009.
- Santos, D.A.P. dos; Braga, P.A.C.; Silva, M.F.G.F. da; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Magalhães, A.F.; Magalhães, E.G.; Marsaioli, A.J.; Moraes, V.R.S.; Rattray, L., Croft, S.L. Anti-African trypanocidal and antimalarial activity of natural flavonoids, dibenzoylmethanes and synthetic analogues. Journal of Pharmacy and Pharmacology 61, 257-266, 2009. (ISSN 0022-3573; DOI 10.1211/jpp/61.02.0017).
- Santos, E. L.; Costa, E. V.; Marques, F. A.; Vaz, N. P.; Maia, B. H. L. N. S.; Magalhaes, E. G.; Tozzi, A. M. A. Toxicidade e Atividade Antioxidante de Flavonóides das Cascas das Raízes de *Lonchocarpus filipes*. Química Nova (Impresso), v. 32, p. 2255-2258, 2009.
- Severino, V.G.P., Casal, C.M., Forim, M.R., da Silva, M.F.G.F., Rodrigues-Filho, E., Fernandes, J.B., Vieira, P.C. Isolation of secondary metabolites from *Hortia oreadica* (Rutaceae) leaves through high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatography A, 1216, 4275–4281, 2009. doi:10.1016/j.chroma.2009.02.009
- Vieira, Alexsandro Santana, Bueno, Odair Correa, Camargo-Mathias, Maria Izabel The functional morphology of the metapleural gland of the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Formicidae: Attini). Micron (Oxford. 1993). , v.41, p.149 - 157, 2010.

No Prelo (Ver abstracts em anexo)

- Forim, M. R.; Matos, A. P.; da Silva, M. F. G. F.; Cass, Q. B.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B. Uso de CLAE no Controle de Qualidade em Produtos Comerciais de Nim: Reprodutibilidade da Ação Inseticida (aceito para Química Nova).
- Matos, A. P.; Myamoto D. T.; Alves, A. R.; Leite, A. C.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; and da Silva, M. F. G. F. Potencial inseticida das espécies *Cedrela fissilis* e *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. S. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (aceito Bioassay).
- Matos, A. P., Nebo, L., Vieira, P. C., Fernandes, J. B., da Silva, M. F. das G. F., Rodrigues, R. R. Constituintes químicos e atividade inseticida dos extratos de frutos de *Trichilia elegans* e *T. catigua* (Meliaceae). Quim. Nova, Vol. XY, No. 00, 1-4, 2010.
- Nebo, L.; Matos, A. P.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; da Silva, M. F. G. F. e Rodrigues, R. R.

Atividade inseticida dos frutos de *Trichilia clausenii* (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (aceito para Química Nova).

Pagnocca F.C., Legaspe M.F., Rodrigues A., Ruivo C.C., Nagamoto N.S., Bacci M Jr., Forti, L.C. Yeasts isolated from a fungus-growing ant nest, including the description of *Trichosporon chiarellii* sp. nov., an anamorphic basidiomycetous yeast. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009. (in press).

Rodrigues, A. ; Silva, A. ; Bacci Jr, M. ; Forti, L. C. ; Pagnocca, F.C. Filamentous fungi found on foundress queens of leaf-cutting ants. (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, 2009. (in press).

Roma, G.C.; Bueno, O.C.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Morpho-physiological analysis of the insect fat body: a review. *Micron* – 2010.

Rosa C.A., Jindamorakot S., Limtong S., Nakase T., Pagnocca F.C., Lachance MA. *Candida golubevii* sp. nov, an asexual yeast related to *Metschnikowia lunata*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009. (in press).

Terezan, A.P.; Rossi, R.A.; Almeida, R.N.A.; Freitas, T.G.; Fernandes, J.B.; Silva, M.F.G.F.; Vieira, P.C.; Bueno, O.B.; Pagnocca, F.C.; Pirani, J.R. Activities of extracts and compounds from *Spiranthera odoratissima* St. Hil. (Rutaceae) in leaf-cutting ants and their symbiotic fungus. *J. Braz. Chem. Soc.*, 2010.

Livro

Corrêa, A. G., Zuin, V. G., “*Química Verde: Fundamentos e Aplicações*”, 1ª. ed. EdUFSCar, São Carlos, 170 p., 2009. ISBN: 978-85-7600-150-8.

Capítulo de livro

Dias, R. L. A.; Corrêa, A.G. “Química Combinatória”, in: *Química Medicinal. Métodos e Fundamentos em Planejamento de Fármacos*. Carlos A. Montanari (ed.), EDUSP, 2010.

Malaspina, Osmar, Bueno, O. C., Augusto, A. V. L., Palma M. S. *Biologia dos Himenópteros Sociais*. In: *Alergia a venenos de insetos*. 1 ed. Barueri, SP : Editora Manole Ltda., 2009, p. 5-36.

da Silva, M. F. das G. F., Vieira, P. C., Fernandes, J. B., Oliva, G. A diversidade molecular dos metabólitos especiais da ordem rutales e sua importância na química medicinal, in: *Química Medicinal. Métodos e Fundamentos em Planejamento de Fármacos*. Carlos A. Montanari (ed.), EDUSP, 2010.

Equipamentos adquiridos

UFS

Liofilisador

Lyophilizer: Freeze-Drying



UNESP-Rio Claro

Ultrafreezer



ESALQ

Casa de Vegetação (Green House)





**FEDERAL UNIVERSITY OF SÃO CARLOS
CENTER OF EXACT SCIENCES AND
TECHNOLOGY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**



**NATIONAL INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY FOR
THE BIORATIONAL CONTROL OF PEST-INSECT
NIST-BCPI**

<http://www.cbip.ufscar.br/>

**ANNUAL ACTIVITY REPORT
PERIOD: From 12/26/2008 to 12/26/2009**

Coordinator: Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva

MANAGEMENT COMMITTEE

UFSCar: Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva
João Batista Fernandes

UNESP- Rio Claro: Fernando Carlos Pagnocca
Odair Corrêa Bueno

ESALQ-USP: José Djair Vendramim

FFCLRP-USP: Carmen Lucia Cardoso

UFPR: Francisco de Assis Marques

CEPLAC: Manfred Willy Muller

UFSE: Paulo César de Lima Nogueira
Valéria Regina de Souza Moraes

UFSCar - Federal University of São Carlos

UNESP- Rio Claro: São Paulo State University at Rio Claro

ESALQ-USP: Luiz de Queiroz College of Agriculture- University of São Paulo

FFCLRP-USP: Faculty of Philosophy, Sciences and Letters of Ribeirão Preto -
University of São Paulo

UFPR: Federal University of Paraná

CEPLAC: Executive Commission for the Development of Cacao

UFSE: Federal University of Sergipe

COLLABORATOR RESEARCHERS

UFSCar

Antonio Gilberto Ferreira
Clélia M. de Paula Marques
Edson Rodrigues Filho
Moacir Rossi Forim
Quézia Bezerra Cass
Ronaldo Censi Faria
Rose Maria Carlos
Tiago Venâncio

Vânia G. Zuin

UNESP-Rio Claro

André Rodrigues

UFPR

Edson Tadeu Iede

Sonia Maria Noemberg Lazzari

CEPLAC-Belém

Jay Wallace da Silva e Mota

COMMITTEE MEETINGS AND DECISIONS TAKEN

First Committee meeting - 09/02/2009

Issues Discussed:

- Distribution of available funds
- Distribution of fellowships
- Goal Planning: Each management coordinator discussed the tables previously sent by CNPq (Council for Scientific and Technological Development) with the goal planning respective items:
- Committee workshops
- Workshops with other NIST (National Institute of Science and Technology)

The meeting was held at the Institutional Support for the Scientific and Technology Development Foundation, UFSCar, in the meeting room facility with a video conference service. The collaborating researchers from other states participated the meeting via conference, which successfully allowed interactive debate among the participants located

in São Carlos, Curitiba, Aracaju and Brasília. Manfred Willy Muller was in Brasília; therefore, the first meeting was less expensive. Each participant gave a brief presentation (15 to 20 min) about the goal planning tables that had been sent them and were supposed to be filled in.

The meeting results were included in the goal planning tables that had already been sent to CNPq.

Second Committee meeting – 11/30/ to 12/01//2009

1st Performance Evaluation Workshop

All NIST-BCIP (National Institute of Science and Technology-Biorational Control of Insect-Pest) researchers attended this workshop, which was held at the PPGQ-UFSCar conference room. The students from São Paulo state attended the meeting. The results of the studies that were carried out by students from other states were presented by their respective advisors, orally or in a poster format.

Objectives:

The objective was to gather all NIST-BCIP (National Institute of Science and Technology- Biorational Control of Insect-Pest) project participants for an initial development performance and future perspectives. The discussions contributed to preparation the first report to be submitted to CNPq and FAPESP. The workshop results are presented in this first report.

Program

11/30/2009

8:30 am Welcome session

8:45 am - 9:00 am

Clélia M. P. Marques e Francisco de Assis Marques

Transfer of Knowledge to High School

Citrus Diseases

9:00 am – 9:15 am

M. Fátima G. F. da Silva

Citrus Variegated Chlorosis (CVC)-

Xylella fastidiosa bacteria –

Oncometopia facialis (leafhoppers)

9:15 am– 9:30 am

Moacir Rossi Forim

Alternaria alternata f.sp. citri (alternaria brown spot)

Guignardia citricarpa (Citrus black spot).

9:30 am– 9:45 am

Paulo C. Bogorni and Moacir S.

Andrade

Citrus Greening (Huanglongbing) -

Diaphorina citri

9:45 am– 10:00 am Discussion Session

10:00 am – 10:15 am Coffee Break

Other insects

10:15 am– 10:30 am

José Djair Vendramim and Paulo C. Bogorni

Bioactivity of extracts/vegetable compounds on *Bemisia tabaci*

Bioactivity of extracts/vegetable compounds on *Tuta absoluta*

Bioactivity of extracts/vegetable compounds on *Sitophilus zeamais*

Bioactivity of extracts/vegetable compounds on *Rhopalosiphum maidis*

10:30 am– 10:40 am

M. Fátima G. F. da Silva

African Mahogany Disease

Khaya ivorensis –Fungal Plant

Pathogen, *Botryosphaeria rhodina* – leafhoppers *Acraephia* sp

10:40 am– 10:55 am

Francisco de Assis Marques

Giant conifer aphid - *Cinara pinivora*

Vegetables

10:55 am– 11:15 am

Paulo Cesar de Lima Nogueira and João

Batista Fernandes

Harvest, identification, and chemical study of new vegetables.

11:15 am – 11:30 am Discussion Session

NMR

11:30 am – 11:40 am

A. Gilberto Ferreira

The use of coupled HPLC-NMR.

11:40 am – 12:00 am Discussion Session

12:00 am – 14:00 am Lunch Break

Other Insects

2:00 pm am – 2:15 pm

Andréia Pereira Matos

Bioactivity of extracts/vegetable compounds on *Spodoptera frugiperda*

Development of New Assays

2:15 pm – 2:30 pm

Dulce Helena Ferreira de Souza

Pectinase as a target to control leaf-cutting ants

2:30 pm – 2:40 pm

Paulo R. Adalberto

Pectinase of *Leucoagaricus gongylophorus* (the symbiotic fungus of the leaf-cutting ants).

2:40 pm – 2:55 pm

Rose Maria Carlos

Complexes and natural products with inorganic ions

2:55 pm – 3:05 pm

Ronaldo Censi Faria

Obtaining Biosensors

3:05 pm – 3:20 pm Discussion Session

3:20 pm – 4:00 pm

M. Fátima G. F. da Silva

Finances

4:00 pm – 7:00 pm Poster Session and Coffee Break

01/12/2009

Ants

8:30 am – 8:45 am

Odair Corrêa Bueno

Atta sexdens rubropilosa (leaf-cutting ant)

Mass rearing creation of the insect and pesticidal activity assays

8:45 am – 9:00 am

João Batista Fernandes – Ana Paula Terezan

Behavior of leaf-cutting ants towards plant volatiles and yeasts associated with ant colonies

9:00 am – 9:30 am

Fernando Carlos Pagnocca

Microorganisms involved in ant colonies

9:30 am – 9:45 am

Fernando C. Pagnocca

Microorganism database involved in ant colonies

9:45 am – 10:00 am Discussion Session

10:00 am – 10:15 am Coffee Break

10:15 am – 10:25 am

Fernando C. Pagnocca, André Rodrigues

Filamentous microfungi in ant colonies

10:25 – 10:35

Fernando C. Pagnocca, Thaís D. Mendes

Actinomycetes in ant colonies

10:35 – 10:50

Edson Rodrigues Filho, Taícia Fill

Pesticidal compounds produced by

Penicillium brasiliense fungus

10:50 am – 11:05 am

Carmem Lucia Cardoso

Immobilized enzymes in chromatographic column -

Acetylcholinesterase

11:05 am – 11:20 am Discussion Session

11:20 am – 11:30 am Closing Session.

Presentation summaries available at:
<http://www.cbip.ufscar.br/>

NIST-COOPERATIVE GROUP ACTIVITIES

- *Natural Products Group-Department of Chemistry, UFSCar and Center for the Study of Social Insects (CEIS), São Paulo State University (UNESP), Rio Claro*: The search for new methodologies for the control of leaf-cutting ants using natural compounds that are more selective and less harmful to the environment has been a major subject of study of these two research groups. The participation and contribution of the students involved in the studies on this subject are frequently monitored, and, weekly, pure substances and /or extracts have been taken to the city of Rio Claro for assays.

- *Natural Products Group-Department of Chemistry, UFSCar and Faculty of Philosophy, Sciences, and Letters of Ribeirão Preto- USP*: Enzymes that degrade vegetal polysaccharides (pectinase and amylases) in reducing sugars were detected in the symbiotic fungus and in the fecal fluid of the leaf-cutting ants being studied, *Atta sexdens rubropilosa*. Those ants use the symbiotic fungus to promote the degradation process since they are not able to degrade pectin directly. Dr. Quézia Cass (UFSCar) together with a postdoctoral student has been working on the development of an immobilized enzyme-based bioreactor (IMER) with pectinase activity for the evaluation and triage of inhibitors.

The enzyme acetylcholinesterase (AChE) is present in the insect central nervous system, and it hydrolyzes the neurotransmitter acetylcholine into acetate and choline thus ending the synaptic transmission playing a fundamental role in the transmission of cholinergic nervous impulse. Therefore, this the second interesting enzyme for the biorational control of insects. Hence, Dr. Quézia (UFSCar) and Carmen Cardoso (FFCLRP) have been developing analytical methods to measure the acetylcholinesterase activity and/or identify inhibitors of that enzyme using 2D-HPLC. When the IMERs are developed, extracts and/or pure substances from the PN-UFSCar group laboratory will be assayed.

- *Natural Products Group-Department of Chemistry, UFSCar and Luiz de Queiroz College of Agriculture, Department of Entomology, ESALQ-USP*: The use of pesticide plant extracts, due to the quick degradation of its compounds and low amount of residue left in the environment and foods, have proved a promising practice to the integrated pest management. The evaluation of the pesticide activity of extracts from the arborous species of the Brazilian flora, produced in the PN-UFSCar group laboratory, has been carried at ESALQ. Pest species of great economic importance, such as *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Tuta absoluta* (Meyrick), *Bemisia tabaci* (Gennadius) B biotype, *Diaphorina citri*, *Sitophilus zeamais* (Mots.), and *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) have been used as bioindicators. The participation and contribution of the students involved in the studies on this subject are frequently monitored, and, weekly, pure substances and /or extracts have been taken to the city of Piracicaba for assays.

- *Natural Products Group-Department of Chemistry, UFSCar and Executive Commission for the Development of Cacao (CEPLAC)*: Due to high susceptibility of the Brazilian mahogany (*Swietenia macrophylla* King) to *Hypsipyla grandella*, it has been substituted for the African mahogany species *Khaya ivorensis*, *K. senegalensis*, *K. nyasica*, and *K. antiotheca*. These species present high resistance to *H. grandella*, when introduced into tropical Latin America. Nevertheless, Dr. Manfred W. Müller, Executive Commission for the Development of Cacao, Salvador – Bahia (CEPLAC), observed that *K. ivorensis* have been found in diseases caused by fungi in model agricultural crops grown in experimental farms of this institution. The NPG-UFSCar has been investigating this issue, and the fungus responsible for the disease has been identified and investigated. A doctoral student has been carrying out the study of reinoculation of the fungus in healthy crops in the CEPLAC's experimental farm in Salvador, state of Bahia. More students are expected to participate in this project by conducting a master dissertation and a doctorate thesis research. They will also investigate plants growing in the experimental station in Belém. In this case there, is less integration between the research groups due to the distance between the two respective centers. Nonetheless, the results are excellent, as shown further in this report.

- *Natural Products Group-Department of Chemistry, UFSCar and Federal University of Paraná, Department of Chemistry, Curitiba, PR*: The research group coordinated by Dr. Francisco de Assis Marques has been working on the isolation and identification of pheromones of insect pests in the region, such as *Pissodes castaneus* and *Cinara atlantica*, Pinus pest; *Glycaspis brimblecombei*, eucalyptus pest. The test of toxicity of natural extracts from UFSCar towards some of these insects were performed and showed good results. Due to the distance, the extracts were sent through the post

office, and the students were frequently in touch through voice calls over the internet (skype).

- *Natural Products Group-Department of Chemistry, UFSCar and Federal University of Sergipe, Aracaju*: the UFSE research group coordinated by Dr. Paulo Cesar de Lima Nogueira has been studying plants of the Northeast. Extracts and pure substances of those plants have been assayed against the development of insects and fungi involved in this project. UFSE students have been especially trained on fungicide and pesticide assays at UFSCar aiming at further transfer of those assays to UFSE.

COOPERATION ACTIVITIES BETWEEN NISTs AND OTHER INSTITUTIONS

NICTs

- *National Institute of the Science and Technology of Genomics for Citrus Improvement (NIST citrus) - Marcos A. Machado*: The NPG-UFSCar and this NIST have been developing new methodologies for the control of citrus diseases using natural compounds that are more selective and less harmful to the environment. The main diseases being investigated are: Citrus black spot and *Alternaria* brown spot caused by *Guignardia citricarpa* and *Alternaria alternata* f.sp. *citri* fungi, respectively; Greening (studies on *Diaphorina citri* vector), and Citrus variegated chlorosis (CVC) (studies on *Xylella fastidiosa* bacteria). The students involved in those studies are frequently monitored, and, weekly, pure substances and /or extracts have been taken to the city of Cordeirópolis for assays, or the students go there to perform inoculation of fungi or bacteria in citrus plants for further chemistry analysis. Collaborative publications are included in the annex.

- *National Institute of the Science and Technology of Semiochemicals in Agriculture - José Roberto Postal Parra*: The research group coordinated by Dr. José Djair Vendramim, ESALQ -Department of Entomology, has been establishing a close relationship with Dr. Parra by sharing equipment and holding discussions about methods for rearing certain insects.

- *National Institute of S&T of Structural Biotechnology and Medicinal Chemistry in Infectious Diseases - Glaucius Oliva*: The NPG-UFSCar has maintained a close interaction with Dr. Glaucius Oliva's group. In general, almost all substances isolated from plants, fungi, or bacteria by the NPG-UFSCar have been assayed target enzymes for a number of tropical diseases. Those assays are coordinated by Dr. Paulo C. Vieira, a member of the NPG-UFSCar, which is a collaborator researcher of the NIST coordinated by Dr. Glaucius Oliva. Collaborative publications are included in the annex.

- *Hympar-Southeast National Institute of S&T - Angélica Maria Penteado-Dias*: The NPG-UFSCar has maintained a close interaction with Dr. Dias' group. They have been exchanging information about the sustainable use of insect biodiversity, classification, and behavior as well as equipment use.

- *Group of coordinators focused on governance and cooperation between NISTs*: Aiming at discussing governance in the National Institutes while strengthening their scientific and technological collaboration, at divulging scientific production, and focusing on teachers' education, the following institutes gathered in Fortaleza de São Lourenço, in the city of Itaparica, BA, on September 19-21, 2009: NIST for Functional Complex Materials (Coordinator: Dr. Fernando Galembeck, UNICAMP), NIST of Drugs and Medicaments (Coordinator: Dr. Eliezer Jesus Barreiro, UFRJ), NIST for Continent-Ocean Materials Transfer (Coordinator: Dr. Luiz Drude de Lacerda, UFC), NIST for the Biorational Control of Insect-Pest (Coordinator: Dr. Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva, UFSCar), and NIST of Energy and Environment (Coordinator: Dr. Jailson Bittencourt de Andrade, UFBA).

Several scientific interaction activities have been agreed on: courses on a variety of subjects, combined experiments, participation in summer and winter schools in Rio de Janeiro, São Carlos, Ceará, and Salvador, and the organization of an Experimental School focused on Baía de Todos os Santos. It is noteworthy that the workshop was considered highly relevant by those who attended it and stressed that it should be held more frequently as a discussion FORUM with the participation of all NISTs to stimulate cooperation, convergence, and interdisciplinarity. The creation of the **I5+** was supported and decided. It would represent the start point. It was suggested that the next meeting should be in Rio de Janeiro, under the coordination of the NIST of Drugs and Medicaments and supported by CNPq, and that the **I5+** should be posted on the participant NISTs' website (<http://www.cbip.ufscar.br/>).

Other Institutions:

- National Program of Academic Cooperation – PROCAD focused on the focal theme of the NIST. These interactions aim at the academic education of graduate students enrolled in five graduate programs UFPR, UFSE, UFPA, UFGO and UFSCar. The latter, transfers technology and offers large sized equipment.
- CAPES International Cooperation Program, UFSCar - College of Pharmacy, University of Porto, Portugal - M. Madalena Pinto: This interaction is focused on human resources development using the expertise of both countries by exchanging students, to carry out their graduate research, and researchers, to teach courses and conduct studies.
- Department of Infections and Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK: The NIST project aims at the photochemical study of plants of different orders. Therefore, the group relies on large isolated secondary metabolites, which has been assayed against several targets. The interaction with this institution was established through the assays performed with a great number of compounds such as trypanocidal agents by sending students to conduct sandwich doctoral studies under the supervision of Dr. Lauren Rattray and Simon L. Croft (see publication in the annex).

Companies:

The NIST supports companies through quality control and technology transfer. The following companies are supported by the patent held by the NPG-UFSCar through the Neem pesticide analyses (see <http://www.cbip.ufscar.br/>):

- **Baraúna industry and commerce Ltda** (CNPJ 00.208.638/0001-12), represented by Roberto Antônio Malimpence, (roberto@barauna.agr.br) – city of Catanduva-SP.
- **Ribeirão Fértil Substratum –Agriculture and Commerce Ltda** (CNPJ: 04.509.533/0001-54), represented by CEO Carlos Elpidio Pereira, (financeiro@basefertilagricola.com.br) – city of Cravinhos - SP.

MAJOR TECHNICAL AND SCIENTIFIC RESULTS

Introduction

The efficient control of insects and the search for biologically active compounds that are closely related to human survival are important issues to be studied. Insects are the greatest mankind competitors with regard to food, besides being vectors of a number of diseases that affect humans, herds, and, plants. The objective of this project is to carry out studies to control biorationally pest insect and microorganisms associated such as fungi, bacteria, and yeasts.

1. Leaf-Cutting Ants and Microorganisms Associated

1.1. Leaf-Cutting Ants – its symbiotic fungus and other microorganisms



Leaf-cutting ants are known for their power of destruction of a variety of vegetable species and for the economic loss they can cause to agriculture (Mariconi, 1970; Berti Filho et al., 1992). Almost all vegetable crops are attacked and destroyed by ants that cut leaves and twigs out and can destroy the plant completely. In tropical systems, they can consume 17% of the forest. (Cherrett, 1986). They have caused serious economic loss to the Brazilian agriculture and silviculture and are considered the major economic targets of *Eucalyptus* and *Pinus* species (Boaretto and Forti, 1997).

The symbiotic relationship between leaf-cutting ants and their symbiotic fungus, *Leucoagaricus gongylophorus*, has been mentioned in several studies (Singer, 1986, Fisher et al., 1994, Pagnocca et al. 1996), and it is responsible for their survival.

Rodionova and Bezborodov (1997) argue that the ants feed the fungiculture with vegetable substrate that consists of complex polymers which account for 70 to 90% of its dry weight. The pectins present in the vegetable substrate act as a moisturizer and a binder for the cellulose fiber network (Sakai et al., 1993; Thakur et al., 1997). They account for one third of the dry weight of the vegetable tissue of Dicotyledons and some monocotyledons. An enzymatic complex is necessary for the pectin degradation in the vegetable tissue. Enzymes that degrade the vegetable polysaccharide in reducing₃

sugars were detected in the symbiotic fungus (Siqueira et al. 1998; Silva, 1999; Silva et al. 2003), and they can also be found in the fecal fluid of *A. colombica tonsipes* (Martin et al. 1975) and *A. sexdens rubropilosa* (Siqueira, 1997; Silva, 1999).

These sugars are the major source of energy for the ant colonies (Bacci Jr. et al. 1995). Therefore, the ants use the symbiotic fungus to promote the process of degradation since they are not able to degrade pectin directly. Thus, pectinases, through their inhibition, are a feasible target for the control of leaf-cutting ants. Based on these studies, inhibition assays of those enzymes (pectinase and amylase) using extracts and pure natural products were performed (Severino et al., 2003; Zavan et al., 2003) aiming at the ant control.

Due to their foraging habits, the *Attini* ants take microorganisms to their nests, and this microhabitat is a suitable place for prospecting new species. For example, previous studies conducted at the Center for the Study of Social Insects (CEIS), São Paulo State University (UNESP) at Rio Claro, evidenced two new yeast species, [*Cryptococcus haglerorum* (Middelhoven et al., 2003) and *Sympodiomyces attinorum*, (Carreiro et al., 2004)], which were found in leaf-cutting ant nests, *Atta sexdens rubropilosa*. Other species that have not been described yet were also found associated with other *Attini* ants and should be accounted for soon.

Due to studies on microorganisms associated to social insects carried out at CEIS, a considerable number of yeasts have been isolated and identified over the last years. Recently, a thematic microorganism's database has been created with the microorganisms obtained in these studies to be used in further research to enhance the understanding and for better control of leaf-cutting ants. One of the potentials to be investigated is selecting the lineage of the yeasts and actinobacteria that present antagonist activity against the other microorganisms (antibiosis).

The objectives proposed for the control of leaf-cutting ants are described below, and major results obtained are discussed for each one.

a) To determine the toxic effects on *Atta sexdens rubropilosa* (leaf-cutting ants) and also on their symbiotic fungi, *Leucoagaricus gongylophorus*, inhibitors of fungal enzymes by organic extracts of potentially toxic plants, which result from chemical fractionation of those extracts and of pure compounds isolated or synthesized based on previous results. Such results have been obtained at CEIS-UNESP and the Natural Products Bioassay laboratory, DQ-UFSCar, under the responsibility of Dr. Odair Correa Bueno, Dr. Fernando Carlos Pagnocca, Dr. João Batista Fernandes, Dr. Maria Fátima das G. Fernandes da Silva and Dr. Ana Paula Terezan.

The assays of pesticide activity and inhibition of the *Leucoagaricus gongylophorus* fungus have been performed with plant extract, natural products, metal complex natural products, synthetic substances derived from natural products. Five studies have been published related to this objective (see list in the published studies section), and the complexes of natural products with metals are under study and have already presented promising results (see item 5). The preliminary results obtained have already been presented in different scientific conferences (see list in the conferences section).

The actions of a variety of plants on ants were investigated: *Astronium graveolens*, *Trichilia catigua* and *Trichilia sp*, *Virola sebifera*, *Myracrodruon urundeuva*, *Trichilia elegans*, *Schinus terebintifolius*, *Macairea urundeuva*, *Pilocarpus giganteus* and *P. ridelianu*, *Hortia oreadica*, and *Anacardium humile* [small quantities of quercetin, kampeferol, apigenin, hypolaetin, quercetin and 3-O- β -galactopiranosil –quercetin were isolated from the latter] and *Zingiber officinale*. The substances isolated and assayed with potential use as pesticides were alizarin, 2-metilanthaquinone, anthraquinone, menadione, 1,4-naftoquinone, narnin, naringin, ricinin, sesamin, quercetin, methyl gallate, and a mixture of alkyl catecol known as urushiols.

The studies on fungal enzymes inhibition are currently in the phase of obtaining reactors and electrode detectors with them (pectinase and amylase) and with acetilcolinesterase, which are related to the control of ant colonies. The results are discussed in item 6.

This is the final step of the development of a new methodology for the symbiotic fungus (*L. gongylophyros*) inhibition bioassays, and whose analysis will allow improved accuracy of results and assay reproducibility. Extracts and complex of flavonoid-metal were assayed, and the results obtained are promising with regard to inhibition and the new methodology. Its methods will be analyzed by

chemometrics, which is feasible due to the new way of verifying inhibition. A study on this methodology is to be presented in the 12th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, which will be held in Melbourne, Australia, in July 2010. This methodology was applied using complexes of natural products with metal (discussed in the item 5), extracts and fraction of *Astronium graveolens* and *Anacardium lumile*. The results are equivalent to the active standard and are likely to be used in the control of leaf-cutting ants.

b) To fraction organic extracts of active plants focusing on isolating and characterizing the molecules responsible for the activities.

Leaf-cutting ants can be controlled through mechanical, biological, and chemical methods. Powder mixtures containing toxic chemical products applied directly to the nests, and also liquids, gases, or granular baits are considered chemical methods used in the control of leaf-cutting ants (Boaretto and Forti, 1997). Baits are considered an appealing substrate when are in the form of pellets and are mixed with a toxic active ingredient.

Essential oils can be either attractive or repellent to ants, and they can be used in the control of these insects. During foraging, the worker ants notice the volatiles released by the plants, and if they interests them, a sequence of behavior patterns characteristic of the species is then triggered. Once the source of odor is isolated by chemical procedures, it is necessary to determine the components responsible for the behavioral activities of the insect. It is fundamental to perform bioassays that show clearly the responses stimulated by the odor source compounds in order to detect whether a semiochemical is indeed attracting the insect. Bioassays using a Y-tube olfactometer (Barrows, 1907) provide information about the mechanisms involved in the insects' orientation towards the odor source.

The terms attraction (positive response) and repulsion (negative response) describe the movement response to stimuli that result from the decrease or increase, respectively, of the distance between the message receptor and sender. Studies of electronic microscopy mapping (Souza et al. 2006) and electroantennographic mapping (Arab et al. 2004; Batista-Pereira et al. 2004a-c) have been developed, so that it is possible to perform assays with essential oils detecting those that act on the antennas under very small concentrations and quickly. Therefore, the combination of electroantennography and olphatometry techniques should be extensively investigated in order to enable the use of the results in the control of leaf cutting ants and other insects included in this study.

The search for methods to control leaf-cutting ants using natural compounds that are more selective and less harmful to the environment has been widely investigated in the studies within the group research lines. The studies include plants that are potentially toxic to those ants, symbiotic fungus, other organisms present in the ant colony, and enzymes related to the ant-plant-fungi-microorganisms interaction. The studies that have been carried out so far consider economic and environmental aspects focusing on feasible strategies for the control of leaf-cutting ants in agricultural areas.

This objective has been pursued under the supervision of Dr. João Batista Fernandes, Dr. Paulo Cezar Vieira, Dr. Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva, Dr. Edson Rodrigues Filho, and Dr. Moacir Rossi Forim.

Due to their action on ants, the following plants *Astronium graveolens*, *Trichilia catigua* and *Trichilia sp*, *Virola sebifera*, *Myracrodruon urundeuva*, *Trichilia elegans*, *Schinus terebintifolius*, *Macairea urundeuva*, *Pilocarpus giganteus* and *P. ridelianu*, *Hortia oreadica*, and *Anacardium humile* have been the target of fractionation. From *Anacardium humile* were isolated in small quantities of quercetin, kampeferol, apigenin, hypolaetin, quercetin and 3-*O*- β -galactopiranosil – quercetin. Other substances isolated and assayed with potential use as pesticides were alizarin, 2-metilanthaquinone, anthraquinone, menadione, 1,4-naftoquinone, narnin, naringin, ricinin, sesamin, quercetin, methyl gallate, and a mixture of alkyl catecol known as urushiol.

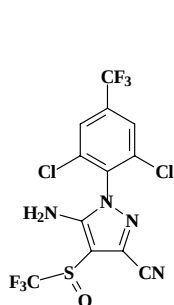
Aiming at improving the activity of the compounds (stability, and/or availability in the place of action) and at developing a new form to control ants and the other pest insects under study, the microencapsulation of ricinin, azadirachtin, and xantiletin have been performed. The preliminary results are promising with regard to the microencapsulation and to the action on ant colonies. A study on this methodology is to be presented in the 12th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry,

which will be held in Melbourne, Australia, in July 2010. Part of those results should be used for a patent application.

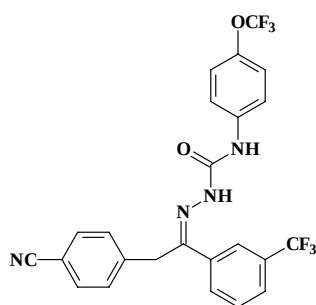
c) To determine the effect of baits containing sub-fractions of extracts and toxic substances extracted from plants on *A. sexdens* field and laboratory ant colonies, to develop new baits containing simultaneously attractant, pesticide, and fungicide substances, and to develop new baits with alternative attractants to *Atta* in sugar cane crops.

Dr. Odair Corrêa Bueno and Dr. João Batista Fernandes are the coordinators of these activities which will start to take place in the next period after defining the extracts and/or fractions and/or natural products and/or byproducts that present higher effect on the ant colonies and enough amounts for the field assays.

d) To synthesize and/or modify functional groups of active isolated molecules of plants and substances with carbonic skeleton similar and equal to those with toxic activity but different substituents focusing on more power over pests and less toxicity to humans and other mammals. Fipronil is the main pesticide used to control pest-insects in Brazil due to its molecule efficiency even though its use has been prohibited in France after studies revealed unsatisfactory control results (Costa e Cruz, 2006).



Fipronil



Metaflumizone

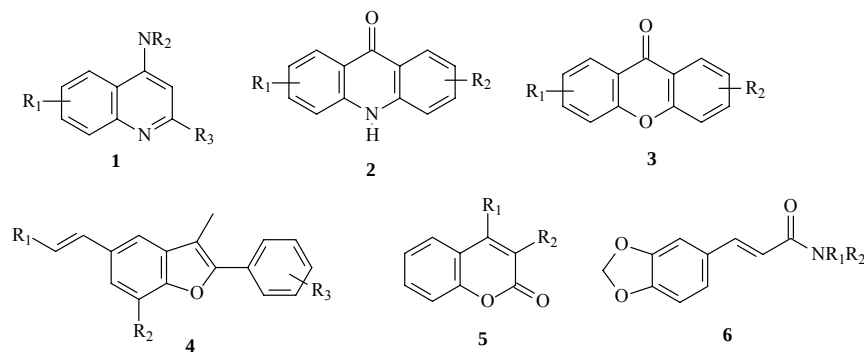
Fipronil is a pesticide that belongs to the fenilpirazol chemical group. It was discovered in 1987 by Rhone-Poulenc Agro. In the USA, it has a number of different formulas varying from attractive baits for the control of *Atta* to sprays used in the control of tick, flea (frontline), and mite besides the use in the control of corn root pests and rice water weevil. Fipronil represents the second generation of pesticides that are potent inhibitors of the gamma-aminobutyric acid (GABA)

Cyclodiene, endosulfan and lindane represent the first generation pesticides. Fipronil is an extremely active

molecule that affects the insect central nervous system especially due to the fact it interferes with the passage of chloride ions through GABA, which is an important neurotransmitter in vertebrates and invertebrates. In the later, it causes a malfunction of the central nervous system, overexcitement, and subsequent death. Like the Fipronil, another pesticide from BASF that has been used nowadays, metaflumizone, has two trifluorometil (CF_3) groups. Some groups modify drastically the physicochemical properties and activities of substances (Barreiro and Fraga, 2001). Hence, the obtention of byproducts of natural products that are somewhat active or synthetic products that are based on them, and which have trifluorometil groups, ought to be investigated.

Therefore, the combinatorial synthesis of analogous natural products isolated by the research group that had effect on leaf-cutting ants, their symbiotic fungus, and *Spodoptera frugiperda* is developed. The syntheses were performed at the Natural Products Synthesis laboratory, DQ-UFSCar, whose major research focus is the combinatorial synthesis of analogous of natural products focusing on optimizing the biological activity and the determination of the structure-activity relationship. It is coordinated by Dr. Arlene Gonçalves Correa.

The objectives of this stage were: a) the synthesis of 4-quinoline alkaloids (**1**), acridone (**2**), xantones (**3**), neoglinans (**4**), coumarins (**5**), and piperamids (**6**) among others through methods described in the literature and/or new synthetic routes; b) to perform bioassays to verify the pesticidal activity of these compounds against *Atta sexdens* and *Spodoptera frugiperda*; c) to study possible structure changes to prepare analogous products from the identification of an original compound that presents activity against insects; and d) to prepare combinatorial collection using solid phase and solution synthesis as well as to evaluate their components in terms of pesticide activity.



Synthetic compounds analogous to natural products.

During the year of this project, several collections of compounds were synthesized according to the classes mentioned above. Recent studies carried out by our research group show that the amides analogous to piperine is active against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, leaf-cutting ants, *Atta sexdens*, and its symbiotic fungus (Pereira et al., 2006 and Pagnocca et al. 2006). In order to continue those studies, new amides, such as the one shown in Scheme 1, were prepared. The amide shown in Scheme 1 was tested on *S. frugiperda* and on ants. The best results of the bioassay were those with amide **8** with *S. frugiperda*, as shown in Table 1.

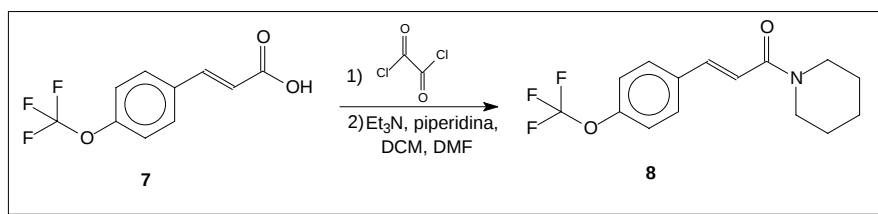


Table 1: Mortality associated with amide **8** under different concentrations over second instar larvae of *S. frugiperda*.

Concentração (mg/mL)	Dose (µg/mg larva)	Mortalidade Média (%) ± DP
10,0	2,94	64,0 ± 15,17 a
1,0	0,26	38,0 ± 17,89 ab
0,1	0,026	24,0 ± 11,40 b
0,01	0,0029	16,0 ± 23,02 b
Controle	-	4,0 ± 5,48 b

Means followed by the same letter in the column did not differ from each other according to Tukey test ($P \leq 0,05$).

e) To obtain other natural product metal complex aiming at increasing the fungicidal or inhibitory activity and to get to know the action mechanisms and their active sites.

f) To develop bioreactors (enzyme immobilization in HPLC columns and in electrodes) and use them in high-throughput screening assays in order to obtain active compounds such as pesticides or ant colony controllers through the inhibition of pectinases and amylases.

The major results of objectives **e** and **f** are discussed in sections 5 and 6 since they can be applied to almost all pest-insects which are the target of this study.

g) To survey the diversity of yeasts associated to social insects (especially *Attini* and *Vespidae* ants) and understand their role in this interaction, as well as to develop assays that can be used for the control of leaf-cutting ants.

The activities described in this section have been developed under the supervision of Dr. Fernando Carlos Pagnocca, Dr. Ana Paula Terezan, Dr. João Batista Fernandes, Dr. Warley de Souza Borges and CEIS and UFSCar graduate fellowship recipients.

The CEIS microbiology laboratory researchers have been working on characterizing the microbiota associated to social insects, especially *Attini* ants and wasps. This involves the isolation, identification, and selection of the lineages with characteristics that can be used in different fields such as the biocontrol and production of compounds with diverse biological activities.

The major isolation sources of microorganisms have been the nests of *Attini* ants and wasps. The activities of this area are focused on creating a microorganism database.

After being isolated in different environments, the microorganisms under study have been purified and stored in ultrafreezer at -85°C. Next, tests for identification and lineage selection were performed. Many undergraduate and graduate students are involved with these studies. Due to the great number of microorganisms handled constantly in the laboratory, a computerized Microbial Collection Management System has been developed, with the financial support provided by IC-PIBIC.

Therefore, the major goal was creating a database of cultures containing yeast species associated to social insects and, in the future, adding other data on this species in this database, such as photos, biological classification, physiological tests, and sequence results.

At first, a small collection of yeasts isolated from the *Polybia paulista* wasp was organized as a pilot of this methodology. This collection included 110 lineages that were stored in ultrafreezer and whose data were placed in the database.

Firstly, the data of the yeast isolated by André Rodrigues were organized and categorized as part of his doctoral studies. He isolated 52 lineages of yeasts from 5 species of ants (*Atta texana*, *Cyphomyrmex wheeler*, *Trachymyrmex septentrionalis*, *Acromyrmex coronatus* and *Trachymyrmex turrifex*) and the *Eurysternus* sp. Beetle. Fifty lineages of yeasts and three species of ants, *Atta laevigata*, *Mycocepurus goeldii* and *Mycetarotes* sp. were further added.

Some of these lineages were sequenced. Other 49 lineage of yeasts from 10 species of ants (*Acromyrmex ambiguus*, *Acromyrmex crassipinus*, *Acromyrmex disciger*, *Acromyrmex* sp, *Acromyrmex heyeri*, *Acromyrmex laticeps*, *Acromyrmex lundii*, *Acromyrmex subterraneus*, *Atta laevigata*, and *Trachymyrmex* sp.) were also added to the database, and so on. To the moment, 1700 lineages have already been added to the database, and this number is supposed to reach 2.500 lineages by the end of the project. This process, which started in August 2008, is still undergoing and upon isolation new microorganisms are being added to the database.

At the end of the Project, the complete database should be available to researchers who are interested in interacting with CEIS Microbiology laboratory.



The survey conducted so far and the database updating can be accessed at <http://estirpes.wii-records.com/>.

Professional discretion/secretcy is required since the database is still underdevelopment. As an example, on the left is the Microorganism database homepage.

Other relevant selected results of various studies that have been carried out by Applied Microbiology graduate students and which are part of this project are presented next.



Actinobacteria in
Trachymyrmex sp.

The following undergoing research, “Bioprospection of products with antibacterial and anti-Candida activity on actinobacteria isolated from Attini ants” has been conducted by the master’s degree student Thaís Demarchi Mendes. Forty four actinobacteria were isolated from the cuticle of *Trachymyrmex* spp and *Acromyrmex* spp. worker ants.

The lineages were cultivated in an MPE modified medium (Bomfim, 2008) at 28°C for 120 hours under stirring of 150 rpm. After incubation, the cultures were centrifuged to remove the molecular mass and the supernatant was subject to liquid-liquid extraction using ethyl acetate as the immiscible solvent. The organic phase was evaporated until dry using a roataevaporator and the residues

were evaluated in terms of antimicrobial activity against the following microorganisms: *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Enterococcus faecium* CCT 5079, *E. hirae* ATCC 10541, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388, *Rhodococcus equi* ATCC 6939, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708, *S. tiphymurium* ATCC14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 11733, *Candida albicans* CBS 562, *C.*

dubliniensis CBS 7987, *C. glabrata* CBS 138, *C. krusei* CBS 573, *C. parapsilosis* CBS 604, *C. and tropicalis* CBS 94. The assays of microbial activity were performed using the microdilution method according to M7-A6 (bacteria), CLSI (2005), and M27-A2 (yeasts), (CLSI, 2002).

The triage results of the extracts with antimicrobial activity are shown in Table 2 and 3. Among the 44 extracts evaluated, 15 (34.09%) presented inhibitory activity against at least one of the lineages. None of the extracts activity against gram-negative bacteria, under the concentrations tested, and the 15 active extracts presented activity for at least one of the gram-positive bacteria. The yeast of the *Candida* genus had their growth inhibited by 8 extracts (18.18%). The growth of yeasts of the *Candida* genus was inhibited by 8 extracts (18.18%).

Gram-negative bacteria are less sensitive to agents with antibacterial activity due to fact that their wall is less permeable to these molecules. Consequently, the triage of antibacterial compounds, generally, results in higher rates of inhibition against gram-positive bacteria. Other evaluation studies of antimicrobial activity of actinobacteria found similar results (Saadoun;Gharaibeh, 2003; González et al., 2005). The lack of growth inhibition of all gram-negative bacteria studied can not guarantee that theses group of actinobacteria do not produce compounds with antimicrobial activity.

The *B. subtilis* bacterium was the most sensitive microorganism. It was inhibited 13 times by extracts with MIC between 15 and 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. The most resistant bacteria were *C. glabrata* and *C. tropicalis*, which were inhibited by only one of the extracts.

Table 2: MIC ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) of the active extracts against bacteria

Isolated Extract code	<i>B. subtilis</i> ATCC 6051	<i>E. faecium</i> CCT 5079	<i>E. hirae</i> ATCC 10541	<i>R. equi</i> ATCC 6939	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 11733
SES080420-07B	800	*	*	*	*	*	*
ARTD030908-01B	*	*	*	*	*	*	15
ARTD030908-02A	30	150	100	*	*	50	80
ARTD030908-02C2	900	*	*	900	1000	800	700
ARTD030908-03A	15	150	60	*	40	30	50
ARTD030908-03D	20	200	50	*	20	40	100
SES080909-08A	*	*	*	*	*	*	900
SES080911-04A	30	150	100	*	60	150	100
SES080911-04A1	*	500	500	*	*	*	*
SES080911-10A	200	*	*	*	*	700	*
SES080921-03B	200	50	80	*	60	100	30
SES080922-03D	1000	*	*	*	*	*	*
SES080924-01A	800	*	*	*	*	*	*
SES080924-01A1	900	*	*	*	500	*	800
SES080924-01A2	900	*	*	*	*	*	*
SES080924-01B	300	*	*	*	600	*	*

* MIC > 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$

Table 3: MIC ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) of the active extracts against *Candida* spp.

Isolated Extract code	<i>C. albicans</i> CBS 562	<i>C. dubliniensis</i> CBS 7987	<i>C. glabrata</i> CBS 138	<i>C. krusei</i> CBS 573	<i>C. parapsilosis</i> CBS 604	<i>C. tropicalis</i> CBS 94
ARTD030908-02A	60	900	*	40	80	1000
ARTD030908-02C2	800	*	1000	*	*	*
ARTD030908-03A	40	700	*	15	125	*
ARTD030908-03D	60	1000	*	15	200	*
SES080909-08A	1000	*	*	*	*	*
SES080911-04A	10	800	*	125	200	*
SES080911-04A1	500	*	*	*	*	*
SES080911-10A	800	*	*	*	*	*

* MIC > 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$

Among the active extracts, six presented higher range of action inhibiting at least 7 of the

microorganisms studied. Among these extracts, five presented low values of MIC and can be highlighted ARTD030908-02A, ARTD030908-3A, ARTD030908-03D, SES080911-04A, and SES080921-03B (range of action restricted to gram-positive bacteria). The isolated extracts ARTD030908-02A, ARTD030908-03A, and ARTD030908-03D, present the same morphotype and most likely belong to the same species, and therefore only one of them was selected for further studies. Among these three isolated extracts, the one that presented the smallest MIC results was the strain ARTD030908-03A, which was selected for the undergoing chemical study of the compound (s) with microbial activity present in the extract.

The study being conducted by Tatiana de Freitas Costa de Carvalho, a master's degree student, is entitled "Yeasts associated to ants in the tribe Attini (Hymenoptera: Formicidae)". The objectives are to isolate, characterize, and indentify yeasts of nests of ants in the tribe Attini (Hymenoptera: Formicidae) describing new species that were isolated during the project. A specific database of lineage (thematic) was also created.

The yeasts were isolated from an organic material of the nests made of fungus garden and other discarded materials. Suspensions of 0.1% of each material were prepared in Yeast Malt Broth (YMB) + 10 mg % Chloramphenicol (Yarrow, 1998). Aliquots were sowed in Petri dishes containing the isolation media Malt Yeast Peptone (MYP) (Bandoni, 1972), and Yeast Malt Agar (YMA) (Yarrow, 1998). Both of them contained the antibiotic Chloramphenicol and the pH was adjusted to 4.0. The dishes were incubated at 22°C in the dark and were monitored daily to isolate the colonies, which were selected based on their different morphotypes. After purification, the strains were stored in glycerol 15% at -85°C (Centraalbureau Voor Schimmelcultures, 2008). After characterization of the colony and cellular morphology of each strain, physiological tests were performed using the physiological methodology described by Barnett et al. (2000) and Yarrow (1998). The similar strains were grouped according to these analyses. A new strain was grouped through the "fingerprinting" (MSP-PCR) method using the (GTG)₅ primer according to Meyer et al. (1993). Once this step was finished, it was possible to reevaluate and, if necessary, to regroup the extracts isolated. One member of each group was selected for D1/D2 sequencing of the larger subunit (26S) of the rDNA (Kurtzman; Robnett, 1998) using the NL1 and NL4 primers (Sampaio et al., 2001).

Nests of *Trachymyrmex* sp. were collected from three different regions. In the city of Rio Claro, three fungus gardens of this specie (SES080618-01, SES080618-02, and SES080618-03) were collected on 06/18/2008 and were analyzed at the laboratory on the next day. Six other fungus gardens (SES080921-01, TRS 080921-06, SES080922-03, SES080922-04, SES080924-02, and SES080925-01) were collected in the region of Uberlândia (MG) in the period from 09/21/2008 to 09/25/2008 and were analyzed on 09/30/2008. Between 03/09/2009 and 03/10/2009, two fungus gardens (SES090309-03 and SES090309-04) and a discarded material (SES090309-02) were collected in the city of Taquara (RS) plus another discarded material (SES090310-02), which was collected in the city of Canela SC and was analyzed after seven days in the laboratory. Among these thirteen *Trachymyrmex* sp nests, thirty nine strains distributed into six nests (Table 4) were selected. Among the nests SES080921-01, SES080922-03, SES080922-04, SES080925-01, and SES090309-04 and the discarded materials (SES090310-02 and SES090309-02), yeasts were not isolated.

Table 4: Codes of the yeasts found in six fungus of the *Trachymyrmex* sp

Nests	Isolation media			Total count of strain (n)
	YMA	MYP	YMB*	
SES080618-01	-	-	TD (39 - 40 - 41 - 42)	4
SES080618-02	TD (47 - 48 - 49)	-	TD (43 - 44 - 45 - 46)	7
SES080618-03	TD (55 - 56)	-	TD (50 - 51 - 52 - 53 - 54)	7
SES080921-03	TD (2 - 4 - 7 - 8 - 9 - 10 - 11 - 12 - 13 - 14 - 15)	TD6	TD (3 - 5)	14
SES080924-02	-	TD (34 - 35 - 36 - 37)	-	4
SES090309-03	TE42	TE (40 - 41)	-	3
TOTAL				n=39

Subtitle: * The remaining of the YMB medium, which contained the organic material, was transferred in aliquots of 200µl to Petri dishes containing the YMA medium with pH 4,0 and Chloramphenicol.

After finishing the strain grouping through MSP-PCR, the total count of groups was 20 and thirteen of them are represented by a single strain (Tabela 5). Two groups, corresponding to the TD (3-5) e TD 49, strains will be sequenced again since their sequences did not allow proper analysis. The strains TE (40-41), which has for 90% of similarity with *Trichosporon chiarellii* will have the ITS region sequenced in order to verify the likeability of a new yeast species. The most predominant species were *Pichia guilliermondii* with thirteen isolated and *Candida gorgasii* with nine strains.

Table 5: Species found in the fungus gardens of Five nests collected in the city of Rio Claro, Uberlândia and Taquara, which belong to *Trachymyrmex* sp according to the sequencing of D1/D2 domains of the region 26S of rDNA.

Espécies encontradas nos jardins de fungos de cinco ninhos coletados em Rio Claro, Uberlândia e Taquara pertencentes a *Trachymyrmex* sp de acordo com o sequenciamento dos domínios D1/D2 da região.

Groups (MSP-PCR)	Species	Id. Max.	Base pairs	Genbank Code	Group strains
1	<i>Candida gorgasii</i> ^d	98%	586	FJ614673.1	TD2*
2	<i>Candida</i> sp ^d	99%	575	EU200785.2	TD10*
3	<i>Candida gorgasii</i> ^d	99%	555	FJ614673.1	TD (13* - 15)
4	<i>Cryptococcus laurentii</i> ^d	99%	588	FJ743631.1	TD14*
5	<i>Pichia</i> sp ^a	99%	599	FN398021.1	TD39*
6	<i>Pichia</i> sp ^{a,c}	99%	609	FN398021.1	TD (41* - 53)
7	<i>Pichia guilliermondii</i> ^a	99%	540	GQ140299.1	TD42*
8	<i>Pichia</i> sp ^{a,b,c}	99%	607	FN398021.1	TD (40-43 a 45*-46-50 a 52
9	<i>Cryptococcus</i> cf. <i>podzolicus</i> ^b	100%	595	FJ743620.1	TD47*
10	<i>Pichia</i> sp ^b	100%	585	FN398021.1	TD48*
11	<i>Pichia guilliermondii</i> ^c	99%	471	GQ140299.1	TD54*
12	<i>Pichia</i> sp ^c	100%	596	FN398021.1	TD55*
13	<i>Cryptococcus</i> cf. <i>podzolicus</i> ^c	99%	614	FJ743620.1	TD56*
14	<i>Trichosporon loubieri</i> ^c	100%	509	AY101608.1	TD (34 - 35* - 36 - 37)
15	<i>Candida gorgasii</i>	98%	531	FJ743610	TD (4 - 6*- 8- 9 - 12)
16	<i>Cryptococcus</i> sp. ^d	100%	593	AF444705	TD 7*
17	<i>Trichosporon chiarellii</i>	98%	574	EU030272	TE (40 - 41)**
18	<i>Rhodotorula</i> sp	99%	559	AY731807	TE 42*
19	<i>Candida gorgasii</i>	99%	542	FJ614673.1	TD 11*

Subtitle:: * species selected to represent the group in the sequencing of D1/D2 domains in the region 26S of rDNA. **TE39 is the strain selected to represent this group that was isolated from a fungus gardens of the *Myrmicocrypta* sp. nest. ** The letters indicate the nest codes from which the species were collected – a: SES080618-01 (Rio Claro-SP), b: SES080618-02 (Rio Claro-SP), c: SES080618-03 (Rio Claro-SP), d: SES080921-03 (Uberlândia-MG) and: SES080924-02 (Uberlândia-MG), and f: SES090309-03 (Taquara-RS).

Ana Paula Terezan has been carrying out a study entitled “Microorganisms culture (fungi and yeasts), inhibitory action against themselves, isolation of their chemical constituents, and biotransformation of natural products with activity against insects”. The objectives of this research are: a) to identify the volatile compounds of yeast strains that are associated to ants: *Geotrichum candidum*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia caribbica* (*Candida fermentati*), *Pichia anomala* (*Pichia subpelliculosa*), and *Trichosporon dulcitum* by GC/MS(IE); b) To determine through the EAG and EAD electroantennographic models the selectivity and sensitivity of the antennal receptors of *A. sexdens rubropilosa* and to determine the strain bioactive volatiles of the yeasts under study and transformations.

c) To perform behavioral assays, Y-tube olfactometer tests, to qualify the insect motor answer to the isolated volatiles of the aroma producer yeasts that present the best antennal response; d) To investigate the biotransformation capacity of the yeast and symbiotic fungus (*Leucoagaricus gongylophorus*) strains isolated from the nests of *Atta sexdens rubropilosa* using as substrates compounds that were previously isolated from plants and have activity against ant colonies; e) To identify the biotransformation products and to test their insecticide and/or fungicide action on the *Atta sexdens rubropilosa* ant colony.

The detailed development and execution of this study is described in the partial report prepared by this student, who is a graduate fellowship recipient. The results obtained so far are briefly discussed below. The yeasts strains studied were collected from leaf-cutting ant nests from different regions in Brazil, as shown in Table 6. Those yeast strains and the *Leucoagaricus gongylophorus* fungus were supplied by Dr. Fernando Carlos Pagnocca from the Center for the Study of Social Insects (CEIS), UNESP, Rio Claro/SP.

TABLE 6: Strains of aroma producer yeasts associated to leaf cutting ants.

Probable species	Origin	Associated ant	Code
<i>Geotrichum candidum</i>	Blumenau,SC	<i>Acromyrmex disciger</i>	56b
<i>Pichia guilliermondii</i>	Lages /Vacaria RGS	<i>Acr. laticeps</i> <i>Acr. Subterraneus</i>	78b 16a2
<i>Pichia caribbica</i> ou <i>Candida fermentati</i>	Thermas de Santa Barbara,RGS	<i>Acromyrmex coronatus</i>	11 ^a
<i>Trichosporon dulcitum</i>	Chувиска	<i>Acromyrmex lundii</i>	27b1
<i>Pichia anomala</i> ou <i>Pichia subpelliculosa</i>	São Paulo	<i>Mycocepurus goldii</i>	MY6-1

Volatile compounds from this these yeast were extracted by SPME using CAR/PDMS fiber. Compounds were identified by GC/MS and are showed at table 7.

TABLE 7: Volatile compounds of the different yeast strains identified by GC/MS(EI).

Strains	Componds							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
56b	X	X			X	X	X	X
78b	X	X			X	X	X	
16a2	X		X	X				
MY6-1	X		X	X		X		

I- Ethyl propanoate, **II-** ethyl 2-methyl-propanate (ethyl isobutyrate), **III-** 1-butanol derivative, **IV-** 3-methyl-1-butanol (isoamilic alcohol), **V-** ethyl 2-methy-butanoate (ethyl 2-methyl-butyrate), **VI-** ethyl 3-methyl-butanoate, **VII-** ethyl tiglate.

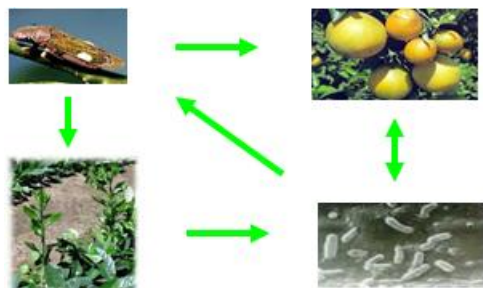
Biotransformation experiments were conducted with the *Leucoagaricus gongylophorus* fungus and the yeasts. The partial results indicate the flavone transformation by *Geotrichum candidum* (**56b**), *Pichia guilliermondii* (**78b** e **16a2**), and *Pichia anomala* (**MY6-1**) resulting in the flavone carbonyl reduction product. The electroantennographic and Y-tube assays to determine the attractiveness or repulse of the yeast volatiles in leaf-cutting ants have already started with the initial training in order to obtain the best antennal responses.

The study of Warley de Souza Borges, a postdoctoral student, relates the fungus *L. gongylophorus* and other microorganisms (the fungus *Escovopsis* and the actinobacteria *Pseudonocardia*) associated to the fungus garden of *Atta sexdens rubropilosa* and other leaf-cutting ants. In this study, the actions of the actinobacteria extracts on the *Escovopsis* indicating that the latter should have an important role in the control of this pathogenic fungus over the ant colony have been investigated.

2. Insects and Microorganisms Associated to Citrus Diseases

These studies have been carried out at UFSCar under the supervision of Dr. E. Rodrigues Fo, Dr. J.B. Fernandes, Dr. M.F.G.F. da Silva, Dr. M.R. Forim, and Dr. P.C. Vieira with the support of Dr. A.A. de Souza and Dr. Marcos A. Machado from Sylvio Moreira APTA Citrus Center (NIST Citrus).

2.1 Citrus Variegated Chlorosis (CVC)



Grafting and bioassays with *Xylella fastidiosa*

The citrus variegated chlorosis, also knows as little yellow disease, was first observed in 1987 in the Northern and Northeastern orchards that attacked sweet oranges (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) regardless of the rootstock used. The causal agent of this disease is a gram-negative bacterium called *Xylella fastidiosa*, whose preference is to infect the plant's xylem. It is transmitted by sharpshooters of the Cicadellinea

family.

Knowing the chemical profile of the grafting of *Citrus sinensis* on *C. limon*, the next step was developing the *Xylella fastidiosa* bacterium and the methodology of inhibiting bioassays of its development. The *X. fastidiosa* has different growth phases. After approximately 5 days of growth on liquid PW medium, it is in the exponential phase, in which it reproduces rapidly multiplying exponentially. After 10 days of growth, the bacterium is in the beginning of the stationary phase, in which it attains the maximum population. Next, it starts to reduce reproduction. The initial assays were performed with the bacterium in the stationary phase since it was found in the literature that this is the growth phase in which the bacterium is most resistant. Therefore, the minimum inhibitory concentration determined would be enough to inhibit the bacterium in any phase.

Nevertheless, afterwards it was decided to perform assays in both growth phases to verify whether the MIC changes would be discrepant or indiscrepant. It can be noted that the results are relatively close and, therefore, there are no discrepancies between the two phases. From these data, the experiments were conducted in the exponential phase only. The results obtained so far indicate very good MIC values. However, no data were found in the literature for comparison, except for those using human antibiotics and with a different assay protocol, i.e., the antibiotics were placed together with the bacterium for growth instead of placing them after the bacterium growth.

The project submitted to the NIST was conceived and launched even before being approved focusing on the assays with *X. fastidiosa*. Hence, at the end of 2008 when the project was actually approved, the preliminary results were already being published. The study was got very positive reviews since a brief “review” of all studies carried out on grafting of *Citrus sinensis* on *C. limon* comparing it with these respective plants was presented. This means it is actually a pioneering research in the literature besides the assays with the bacterium *X. fastidiosa* (see publications section). Among the substances that showed good activity (Figure 1), the flavanone hesperidin (3.3 μ M) and azadirachtin (2.2 μ M) are found in great amount in their respective plants, which indicates potential *in vivo* applications.

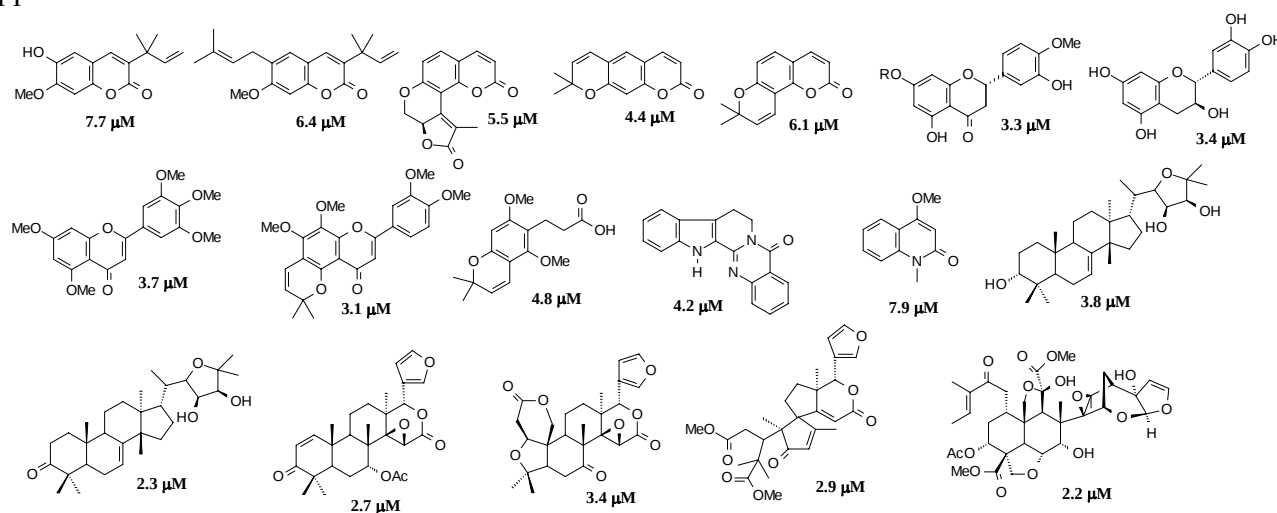


Figure 1: Inhibitory effect (MIC) of the compounds above on *X. fastidiosa* 9a5c in the stationary phase and in a mixture of planktonic cells and biofilm.

The Neem oil and extracts of *Azadirachta indica* A. Juss were nanoencapsulated in order to improve the stability of the active ingredient (see below), and assays against *X. fastidiosa* are ongoing. Assays with metal salts such as CuSO_4 showed good results inhibiting this bacterium (Rodrigues et al., 2008), thus the flavanone hesperidin has been complexed with some metals, including copper (see the preparation of these complexes below), and soon they will be evaluated in terms of the development of *X. fastidiosa*. One of the greatest advantages of these complexes is an increase in their solubility in water facilitating their application in *in vivo* and *in vitro* assays.

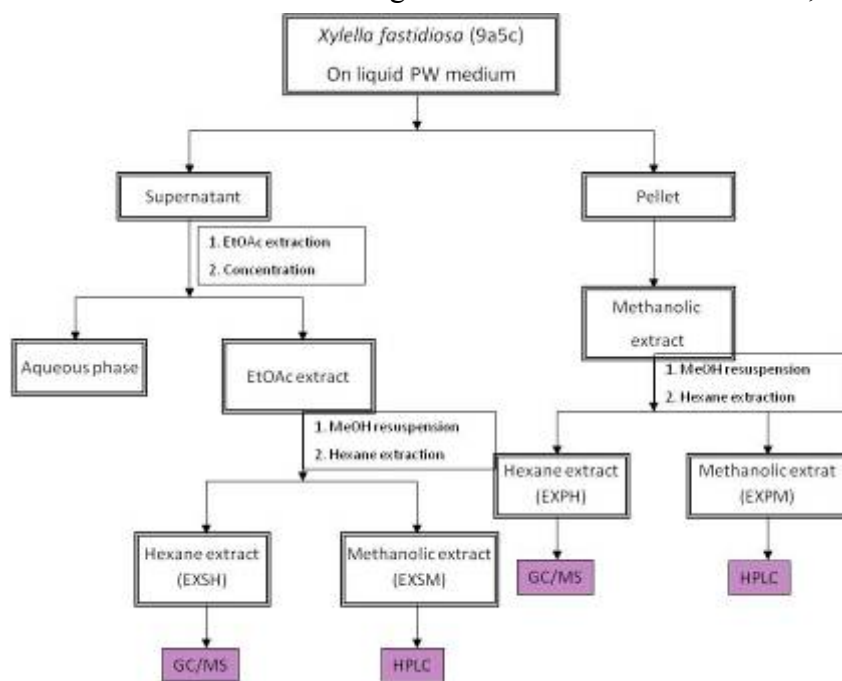
The assays have been performed by master and doctoral UFSCar students at the Sylvio Moreira

Apta Citrus Center, located in the city of Cordeirópolis-S.P, under the supervision of Dr. Alessandra Alves de Souza and Marcos A. Machado (NIST Citrus). Since no inhibitor with MIC close to the micro or nanomolar range has been found yet, the search for prototypes has still been conducted.

The subcloning of the gumM gene and expression of the enzyme GumM, a glucosyltransferase of *X. fastidiosa* has been studied, and the results have been presented in conferences and were part of a Scientific Initiation Program (undergraduate Studies) supervised by Dr. Dulce Helena Ferreira de Souza and carried out by her student Bianca Endo.

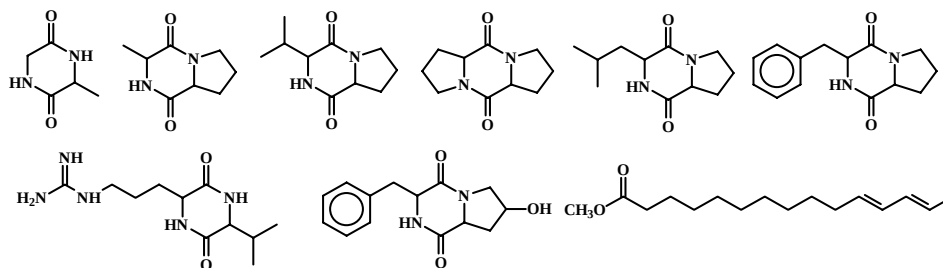
2.1.1. *X. fastidiosa* Chemical Study

Although the *X. fastidiosa* genome sequencing has been completed, no satisfactory control measures that could be indicated for this pathosystem have been considered. An alternative to growth inhibition, which is the action mode of most traditional antibiotics, can be the attenuation of the virulence factor production. Thus, an analysis of the metabolic events subjacent to the intercellular bacterial communication and the elucidation of the biogenesis of the signaling molecules can contribute to the understanding and provide an opportunity to interfere in the control of the virulence factor production (Bredenbruch et al., 2005). An alternative for understanding and thus inhibiting the formation of a biofilm is to carry out the *X. fastidiosa* chemical study. The bacterium was developed in large scale under the supervision of Dr. Alessandra Alves de Souza and Dr. Marcos A. Machado at the Sylvio Moreira Apta Citrus Center (NIST Citrus), as mentioned above, and next, the chemical study started. The medium containing the bacterium was fractionated, as shown below.

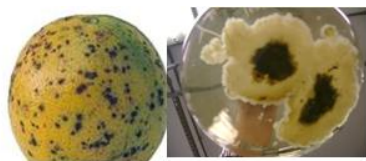


The difficulties of this study are still considerable because the colonization is extremely slow and dependent on the environmental conditions, which is a complexity that affects the larger scale production for the chemical study. Hence, the fraction mass obtained is small demanding especial conditions for the separation and identification of its constituents. A LC-NMR with the characteristics of a 800 MHz has been imported, with the financial support of FAPESP (NIST funding) and will allow the conclusion of this study. This equipment must arrive in Brazil (DQ-UFSCar), within two months. Some compounds were

isolated and identified and their structures are showed below. **Professional discretion/secretcy is required since other groups outside of the country have been carrying out similar studies and have been finding difficulties.**



2.2 Citrus Black Spot: *Guignardia citricarpa*



The Citrus Black spot (CBS) caused by the fungus *Guignardia citricarpa*, was first identified in 1895, in Australia, causing significant losses in Valencia orange tree (Fawcett, 1936). This disease affects orange, tangerine, lemon, and pummelo trees, and it is common in Africa (Mozambique, Zimbabwe, Swaziland, and South Africa), Asia (China, Philippines, Taiwan, and Indonesia), Oceania (Australia), and South America (Argentina, Brazil, and Peru) (Sutton et al, 1966; Feichtenberger, 1996; Kotzé, 1996). In the state of São Paulo, the CBS was detected for the first time in 1992, infecting plants of real lemon and late ripening sweet orange trees in the cities of Conchal and Engenheiro Coelho (Goes et al, 1993). Nowadays it has been spreading in the citrus regions of the state of São Paulo (Aguilar-Vildoso, 1997). Except for the sour orange (*C. aurantium*) and its hybrids and Tahiti lime (*C. latifolia*) (Aguilar-Vildoso, 1997), all commercial varieties are susceptible, especially the real lemon trees (*C. limon*), which have an essential role in an outbreak of this disease (Kotzé, 1996) and the medium-late (Sweet Pear) and late ripening orange tress (Natal and Valencia).

An alternative for understanding and thus inhibiting the growth of the fungus is to carry out a study of the chemical aspects involved in its development process. Therefore, the objective of the project was to isolate the molecules involved in the development of the *G. citricarpa* and understand the chemical aspects of the whole cycle. The *G. citricarpa* was supplied by the Citrus Center, Cordeirópolis, SP. At first, the development of the fungus was evaluated in three different media, Czapeck, Czapeck enriched with 2% of de malt and Potato-Dextrose Agar. The fungus grew for 45 days, and then a liquid-liquid partitioning was applied with ethyl acetate, and the mycelium was extracted with methanol for 7 days.

Each exudate was studied via HPLC-DAD. It was verified that the best medium for the production of secondary metabolites was Potato-Dextrose. Next, the fungus grew in this medium and one flask was evaluated every 5 days, as mentioned above, and it was verified that the ideal growth time was between 25 and 35 days. The fungus grew in large scale for 25 and 35 days since the chemical profile was different and rich in secondary metabolites in these two periods of time. In 25 days, the mycelium yielded an ethanol extract of 20.5g and 18.2 in 35 days. The liquid medium yielded the following extracts: 25 days ethyl acetate, 8.1g; n-butanolico 2.4 g; 35 days, ethyl acetate 10.6 g; and n-butanolico 7,1 g. The chemical study of these extracts is ongoing.

The second objective was to perform the evaluation assays of the anti-fungal activity of secondary metabolites against *G. citricarpa* at the Natural Products Laboratory, UFSCar. They can be increase the applicability of the constituents of plants isolated by several Natural product students and also those who are involved in organic synthesis projects since the assays would be available for the entire organic chemistry group. This assay had the support of Dr. Sérgio F. Pascholati and the doctoral students Leonardo Toffano and Maria Cristina C. Rappussi from ESALQ. Those assays have been performed at the bioassay Laboratory of the Natural Products group, UFSCar, although it is still being optimized. Only commercial substances and those which tare present in great amounts in plants, such as flavones (below), have been assayed.

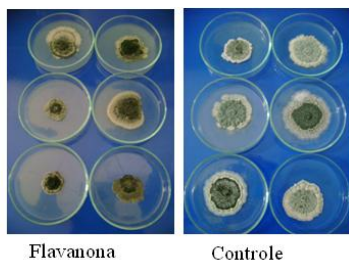
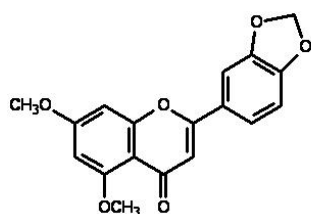


Photo of the preliminary assays in 6, 9, 12, 15, 18, and 21 days.

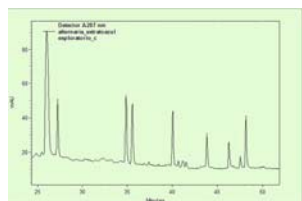
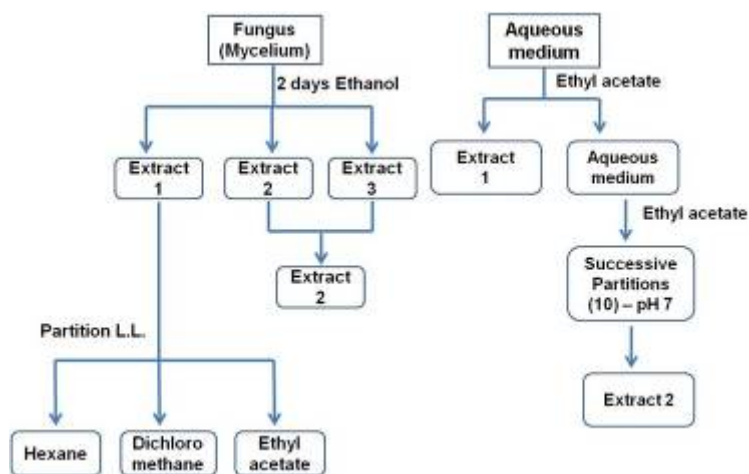
2.3 Alternaria Brown Spot: *Alternaria alternata*



In tangerine and its hybrid orchards, the alternaria brown spot, caused by the fungus *Alternaria alternata*, has been considered one of the most serious fungal diseases nowadays. It was first identified in “Emperor” tangerines (*Citrus reticulata* Blanco) in Australia and next in “Dancy” tangerines in Florida (USA) in 1974. Its high severity in humid climate regions, where the control of this disease is quite difficult, it has caused the abandon of commercial varieties crops that are highly susceptible (Timmer, 1998). In Brazil, the disease was first observed in tangerines in 2001 (Pesq. Agropec. Bras., 2007). It has also been identified in other countries such as Israel, South Africa, Spain, Italy, and Argentina.

In Brazil, the presence of the alternaria brown spot was confirmed in the states of Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, and São Paulo affecting seriously the orchards of the “Ponkan” tangerine variety (*C. reticulata* Blanco) and tangor ‘Murcott’ (*C. sinensis* Osbeck x *C. reticulata* Blanco), which are the major varieties cultivated in the country. The high susceptibility of these varieties have been making the production unsustainable, especially the production of Murcott’ in the state of São Paulo, where farmers have been abandoning their orchards due to the need for frequent pulverization and, consequently, the drastic increase in the production costs (Bastianel, 2005).

An alternative for understanding and thus inhibiting the growth of the fungus is to carry out a study of the chemical aspects involved in its development process. Therefore, the objective of the project was to isolate the molecules involved in the development of the *A. alternata* and understand the chemical aspects of the whole cycle. The fungus *A. alternata* was obtained through its inoculation in Murcott tangerines, which were purchased from a farm in Herculândia-SP and whose plants were 6 months to 1 year old with a young terminal branch. The spore suspension (under the concentration of 10^6 M), which was inoculated in the plant, was supplied by the Citrus Center, Cordeirópolis, SP. After the inoculation, the plants were wrapped in black bags in order to stabilize moisture and temperature. After 24 hours waiting for symptoms of the disease, some leaves were collected and after asepsis, they were cultivated on a Petri dish with the solid culture medium PDA (potato-dextrose agar) for the growth of the fungus and further large scale growth. After some experiments, it was verified that the Czapek’s medium was the one that resulted in higher yields. The medium containing the fungus was fractionated as shown below:

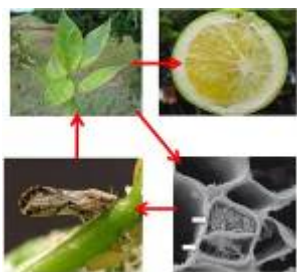


Column: Agilent C18 (Zorbax Eclipse Extra Densely Bonded (XDB), diameter: 4,6 mm and lenght: 150 mm); 287 nm
Eluant: Methanol

The difficulties of this study are still considerable because the mass of the fractions obtained are small demanding especial conditions for the separation and identification of its constituents. A LC-NMR with the characteristics of an 800 MHz has been imported, with the financial support of FAPESP (NIST funding) and will allow the conclusion of this study. The extract 1 obtained from the aqueous medium was bluish and was submitted to analysis in HPLC and its constituents are undergoing analysis.

2.4 Huanglongbing (HLB) or Citrus Greening

This study has been supported by some UFSCar professors and researches of the Sylvio Moreira APTA Citrus Center (NIST Citrus), as mentioned previously, and Dr. José Djair Vendramim and Dr. Paulo César Bogorni, Department of Entomology and Acarology, Luiz de Queiroz College of Agriculture- ESALQ/USP, Piracicaba, SP.



Huanglongbing (HLB) or Citrus Greening is one of the most destructive citrus diseases. It can destroy orchards completely if control measures are not adequately adopted. The causal agent of this disease is a gram-negative pleomorphic bacterium, which is limited to the phloem. Two variants of this bacterium are known: *Candidatus Liberibacter asiaticus* and *Candidatus Liberibacter africanus*, which exhibit different behavior towards temperature and pathogenicity. *Candidatus Liberibacter asiaticus* was recently identified in the state of São Paulo. The citrus greening diagnosed is attributed mostly to a new bacterium called *Candidatus Liberibacter americanus*. The transmission of the African and Asian forms occurs through vectors, which are two psyllid species: *Trioza erytreae*, which occurs in Africa, and *Diaphorina citri*, which occurs in Asia, Africa, and Americas. It is believed that in the state of São Paulo the disease is transmitted by *D. citri*, psyllid, which is common in Brazilian orchards and in the ornamental plant known as murta, *Murraya paniculata* (Rossetti, 2001; Teixeira et. al., 2005a,b).

This information shows that the development of more efficient diagnosis methodologies is necessary and can facilitate the studies on the spatial distribution of the disease, transmission of the causal agent, and diagnosis in order to eradicate it. Therefore, the general objective of this study is to develop analytical methodologies that enable to study the pathogenesis of this disease providing more accurate diagnoses and to search for more efficient inhibitors to fight against the development of the disease. Twenty one citrus genotypes have been studied aiming at understanding the interaction between them and *D. citri*, attraction/preference. In order to obtain the essential oil, it was necessary to determine the exact time of extraction through the steam distillation method using a modified Clevenger apparatus.

Hence, the essential oil was extracted from the leaves (18.50g) that were boiled (ca. 6 hours). Petrol ether was added to the system in the extractor in order to keep the volatilized compound miscible to the oil and did not reflux to the system to avoid its loss. After collected, the oil was kept in a freezer to avoid the evaporation of the constituents. A Y-tube olfactometer has been used for the tests of attractiveness /repulse of *D. citri* against the hosts. The Y tube consists of a glass tube (pyrex) of 3 cm diameter and 25 cm length, The air flow produced by a vacuum pump is taken through the silicon hose. The air is filtered by an activated charcoal, and the system is moisturized by distilled water bubbling, and the air flow is calibrated to 0.2 mL/min using a fluxmeter. The treatment (host oil and petrol ether) occurs in one end of the tube and the control (petrol ether) occurs in the opposite end. For each experiment, 10 insects were released and evaluated for 20 min.

The treatment consists of 21 citrus genotypes and a standard, *Murraya paniculata*, susceptible to the host and frequently mentioned in the literature. The tests in the olfactometer aim at a better understanding of the biodynamic of these attractants and possible additive effects with plant volatiles. It also aims at selecting, among the genotypes, those that are more attractive and/or repulsive, and which will be subject to electrophysiological tests by gas chromatography coupled to electroantennographic detector helping the obtention of a biorational control based on the fundamental biochemistry of the insect-plant. In order to compare the various genotypes, the Repellency Index (RI) $RI = 2G/(G+P)$ was determined, where G= number of insects attracted by the oil; and P= number of insects attracted by the control (*M. paniculata*); and according to Kogan & Goeden (1970), if the RI is smaller than 1, it is repellent; if it is higher than 1, it is attractant.

The results obtained so far already indicate that it will be possible to identify the more attractive genotypes to *D. citri*. Among the genotypes, those with significant preference are: Ponkan tangerine

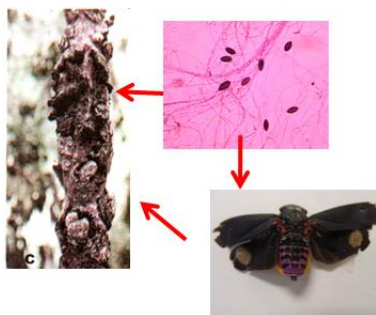
(RI 1,65), pummelus Marshseedless (RI 1,71), common cider (RI1,43), and *Murraya paniculata* (RI 1,79). Some genotypes, however, proved repellant, such as Hamlin orange (RI 0.46), Tangor Murcott (RI 0,54), Citrange Trover (RI 0,79). From the data obtained, it can be said that there is no preference for citrus hybrids, as shown above. Although the genotypes studied presented a high preference level, this isolated result does not allow drawing an exact conclusion about the insect-plant attraction. Therefore, the experiment will be conducted using a GC-EAD.

Another objective is to collect vegetable material from sick and healthy citrus (fruit peelings, leaves, branches, and stem bark) and to develop analytical methods via HPLC-DAD, HPLC-UV-MS and HPLC-MS/MS that allow determining their chemical profile. One more goal is to develop a methodology for the growth of the bacterium *Candidatus Liberibacter americanus* focusing on evaluating the effect of the compounds isolated in the inhibition of its growth. The collection of plants has been supported by Fundecitrus (the Citriculture Defense Fund), and the PCA analysis of the sick material, to confirm the presence of bacteria, has been conducted at the Sylvio Moreira APTA Citrus Center, Cordinópolis, SP. This study began with the rootstock of *Citrus sinensis* on *C. limonia*, and some HPLC analyses are ongoing.

3. Hardwood Tree Diseases

These studies have been carried out under the supervision of Dr. João B. Fernandes, Dr.M. Fátima G. F. da Silva, Dr. Paulo C. Vieira, Dr.Edson Rodrigues Filho, and Dr.Moacir R. Forim from UFSCar and the researchers Dr.Manfred Willy Muller and Dr. Jay Wallace da Silva e Mota from CEPLAC-Bahia and Pará.

3.1 Disease similar to Canker in *Khaya ivorensis*, Insect and Microorganism associated



The genera *Cedrela* (cedar) and *Swietenia* (mahogany) are the main Meliaceae genera present in the Americas, in the neotropical regions. The *Hypsipyla grandella*, also known as cedar borer, is the major cause of crop failure in the monoculture of these trees for commercial purposes. On the other hand, species of *Khaya* (African) that were introduced in Brazil were not attacked by this borer. The *Khaya* species correspond to African mahogany of excellent quality. Thus, more species of this genus have been introduced substituting for the Brazilian mahogany *S. macrophylla* since they have proved more resistant to *H.*

grandella. Recently, the CEPLAC has identified *K. ivorensis* attacked by fungi in model agricultural crops. The PN-UFSCar group has broadened its research line in this area; therefore, there are doctoral students working with *Khaya* species attacked by the fungus. One of them isolated, identified, and grew the fungus for chemical studies.

Another student investigated the sick plant to understand the relationship of the plant and the fungus via possible phitoalexins. The phitoalexin, or phytoanticipin was the limonoid methyl angolensate, which is present in great amounts in the plant attacked by the fungus if compared with the same plant without symptoms of the disease. Great part of this study has been completed and published (see publications section).

The identification of the fungus as *Botryosphaeria rhodina* was complex and demanded genetic studies, which consumed a fair amount of time since the topic was new to the research group. The genetic data were added to the “GenBank” (ITS-1, ITS-2; GenBank EU276018). The results of the chemical study of this fungus will be published soon.

According to the field research, the insect that seems to be disseminating the fungus to various plants of *K. ivorensis* is the *Acraephia perspicillata* Fabricius – family Fulgoridae – Order Hemiptera. The identification of this insect had the support of Dr. Ana Paula Costa from the Federal University of Sergipe (Aracaju) and the collaboration of Dr. Lois B. O’Brien from the University of Arizona, USA.

This insect was collected from the *K. ivorensis* crop plantations, and the *B. rhodina* fungus was isolated. Next, this fungus obtained from the plant and the insect was inoculated in healthy plants of *K. ivorensis* in order to confirm Koch’s postulate. The experiments were performed on 09/16/2009. The

fungus obtained from the plant and the insect was inoculated in PDA medium reaching the total of three inoculations per plant. After 7 months of experiment, the first signals of the disease were identified (see Figures below), and therefore, Koch's postulate was confirmed.



a) Application of the fungus in PDA medium
b) Application of the fungus in a spore solution

This research line is ongoing. A postdoctoral student has been studying the biology of the insect focusing on the fungus transmission mechanism. The group has decided to complete the study on the insect first, and then submit a more complete study for publication in a major relevant journal. Therefore, **professional discretion/secrecy to protect these data is required.**

4. Pests of Different Species of Cultivated Plants

These studies have been coordinated by Dr. João B. Fernandes, Dr. M. Fátima G. F. da Silva, Dr. Paulo C. Vieira, Dr. Edson Rodrigues Filho, Dr. Moacir R. Forim, and Dr. Andréia Pereira Matos from UFSCar, and Dr. José Djair Vendramim and Dr. Paulo César Bogorni from ESALQ/USP, and Dr. Francisco de Assis Marques from UFPR.

The assay results with several substances and extracts of plants of the Meliaceae family performed by the PN-UFSCar research group and mentioned in the literature show that the perspectives for finding new insecticides are quite promising since some of them exhibited a similar behavior to insecticides adopted and available in the market. However, given the advantage of the studies carried out by the PN-UFSCar research group, it can be said that compounds with insecticide potential, liminoid, is, in general, biodegradable and non-toxic to mammals. A well known example and widely studied by the PN-UFSCar research group is the Neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss.).

Although being efficient, biodegradable without producing residues, and harmless to humans and the environment, the Neem oil present low residence time in the field which makes its application unfeasible in cultivations that require longer protection instead of a short momentaneous eradication. Such low stability of the Neem's active ingredients is due to the sensibility to sunlight and temperature. Another problem, specifically of the emulsified Brazilian oils, is the low contents of azadirachtin (main active ingredient) in comparison to imported oils. Since the national seeds maintain the same quantitative pattern than those cultivated in other countries, these low contents in the oil are not due to a harvest issue, but to a technological issue. Once the low contents are considered as the oil quality pattern in the national and international market, the present project proposes the development of procedures for the quantitative and qualitative improvement of the national oils, which will become able to compete equally with imported products.

Considering the instability of the oil's main active ingredients, another goal of the project is to encapsulate the Neem oil enriched. The initial removal of the unpolar interferon of the Neem seeds facilitated the process of preparation of ethanol extracts with high contents of azadirachtin. A previous micronization of the seeds facilitates the process of cellular diffusion of the active ingredient to the extractor medium. The extract with high contents of azadirachtin proved practical and easily incorporated into the oil. The content of azadirachtin in the oil was affected by the temperature. The azadirachtin was degraded by UV irradiation and moisture, even being inserted in the oil. The UV irradiation catalyzes the azadirachtin hydrolysis. These results indicate the necessity of developing techniques for the protection of azadirachtin and other similar limonoids for best field results. Nanocapsules (NC) and nanoespheres (NS) can be produced with different contents of azadirachtin and different bio polymers.

The nanoprecipitation preparation technique proved simple with reproducible results and the possibility of transferring to industrial scale. The emulsification-diffusion technique needs to be

improved for the nanoencapsulation of azadirachtin. The biopolymers PCL (poli- ϵ -(caprolactone) and PHB poli- β -(hidroxibutirate) were used for the preparation of nanoparticles, and their properties can be individually or collectively (blends) explored. The NC presented lower pH in suspension and higher particle diameter than that of NS. The nanoparticles were spherical and homogenous. The oil and surfactants favored the formation of nanoparticles (in modules) with higher zeta potential values, and consequently, more stability too. The zeta potential was highly dependent on the dispersion medium pH.

The nanoprecipitation preparation technique provided high recuperation rates of the active ingredient with medium encapsulation efficiency of 78%. The aspersation drying technique proved efficient in the preparation of post-nebulized from the suspension of nanocapsules and nanospheres with satisfactory yields. Part of this study was submitted for publication, and one is already available online and the other has already been accepted (see publications section). These nanocapsules and nanospheres were assayed against the development of some insects described below.

Due to the promising results obtained with the limonoids and Neem oil, the extracts of other Meliaceae plants were also assayed against the insects below. However, since the project aims at a phytochemical study of various species from different vegetable orders, some other extracts were also submitted to assays.

4.1 *Spodoptera frugiperda*



The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), is one of the major pests of corn crops. It can result in a reduction of 34% of the yield of grains, depending mainly on the cultivation stage in which the crop is attacked (Valicente et al., 1991; Cruz, 1995). In the corn crop, the worm is usually controlled using insecticides such as pyrethroid and organophosphate (Jesus et al, 2009), applied during defoliation. Nevertheless, there are problems associated with use of insecticides, especially the possibility of resistance and reduction of predators and parasitoid insects that would compromise the natural control (Cruz, 1995).

The experiments with Neem oil against *S. frugiperda* were performed at the Insecticide Plants Laboratory, under controlled conditions ($25\pm3^{\circ}\text{C}$, UR $60\pm10\%$ and photofase 14 hours), and in the greenhouse in the Entomology Sector, department of Entomology and Acarology, Luiz de Queiroz College of Agriculture- ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Nanoformulations with different kinds of nanoparticles and polymeric material involving the oil and the extract of Neem were produced and tested in terms of bioactivity and the residual effect on *S. frugiperda*, in comparison with a commercial product (Organic Neem[®]). The polymers used were PCL (poli- ϵ -caprolactone), PHB (poli- β -hidroxibutirate), and PMMA (polimetilmetacrilate), in the quantities of 0.25, 0.50, and 0.75g and in two kinds of nanoparticles, capsules (NC) and spheres (NS). Tween[®]80 and polyvinyl alcohol (PVA) were used as surfactants. The nanoformulations were produced in suspension and in powder, and were diluted in water upon application in order to obtain the lethal concentration of azadirachtin for worms of *S. frugiperda*, which was previously determined with the commercial product. The nanoformulations were pulverized over artificial diet offered to second instar worms of *S. frugiperda* and also over corn plants kept in greenhouse in which foliar sessions were offered to first instar worms.

The parameters evaluated were mortality and weight of the worms after 10 days. In the bioassays of artificial diet, the nanoformulations caused only the reduction in the weight of the worms. On the other hand, the bioassays with corn leaves, four nanoformulations presented efficiency in the control between 40 and 46% and the reduction in weight of the worms: [P]NC-PCL(0,25)+PVA (PCL nanocapsules powder with 0.25g of polymer and PVA), [S]NS-PHB(0,25) (suspension of PHB nanospheres with 0.25g of polymer and Tween), [S]NS-PHB(0,50) (suspension of PHB nanospheres com 0.50g de polymer and Tween), and [S]NC-PMMA(0,25) (suspension of PMMA nanocapsules with 0.25 g of polymer and Tween).

These were evaluated in terms of the residual effect and feeding preference of the insect. Three

bioassays were performed, in which the corn leaves treated with the four nanoformulations were given to the worms at 1, 3, and 7 days after pulverization (DAP) considering the mortality and weight of the worms after 10 days. Simultaneously, feeding preference tests were performed with double choice (treatment x control), in which sessions of corn leaves pulverized with one of the formulations and with distilled water (control) were placed on opposite sides in an arena, and a third instar worm was placed in the arena center. The leaves were also collected at 1, 3, and 7 DAP. After 24 hours, the first comparison of the area consumed in the different treatments was made using a non-preference index.

The residual effect of the nanoformulation [P]NC-PCL(0,25)+PVA was 1 day and of the nanoformulations [S]NS-PHB(0,25), [S]NS-PHB(0,50) and [S]NC-PMMA(0,25) were 3 days; and they were lower than those of the Organiv Neem which presented causal effect of 7 days. Only the nanoformulation [S]NS-PHB(0,25) and the Organic Neem caused phagodeterrence in the worms of *S. frugiperda* on the first day after application. Although the nanoformulations caused larval mortality and reduction in weight of the worms that survived, they did not extend the residual effect of Neem. They presented lower efficiency than that of the commercial product. Part of this study was submitted for publication (see publications section; see details in the Paulo César Bogorni d PDJ report).

The assays of the *S. frugiperda* have also been performed at the Natural Products Bioassay laboratory, DQ-UFSCar, under $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR of $70 \pm 5\%$ and photofase of 12h. The fractions of the ethanol extract of *Andira paniculata* (Fabaceae), *Miconia* sp (Melastomataceae), *Myrcine* sp (Myrsinaceae), *Magonia pubescens*, and *Matayba guianensis* (Sapindaceae) were assayed. Based on the results obtained, it can be concluded that among the extracts tested, the *M. guianensis* was the most promising for the control of *S. frugiperda*. The high mortality rate caused by this extract can be related to the substances which have not been evaluated and should be the target of further studies (see details in the ATNS Andréia Pereira Matos report). Limonoids isolated of *Cipadessa fruticosa* (meliaceae) were also assayed resulting in good findings which have been already published (see publications section).

4.2 *Bemisia tabaci*



Bemisia tabaci (Genn) biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) was introduced in Brazil in the beginning of 1990s, and from 1991s onwards it started to cause damages due to heavy infestations in several species of cultivated plants (Valle et al., 2002). This insect has a wide range of host plants, and therefore it can be found in more than 600 species including ornamental plants and other cultures that are economically expressive (Oliveira et al., 2001). The most common host species are the crops of: beans (*Phaseolus vulgaris* L.), tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), cotton (*Gossypium hirsutum* L.), melon (*Cucumis melo* L.), Hibiscus syriacus (*Hibiscus esculentum* L.), chrysanthus (*Chrysanthemum* spp.), Wild Cabbage [*Brassica oleracea* (L.)], soy beans [*Glycine max* (L.) Merrill], Solanum gilo (*Solanum gilo* Raddi) and passion fruit (*Passiflora* spp.) (Oliveira et al., 1998, 2001).

The experiments were performed with *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) at the Laboratory of Pesticide Plants, Entomology Sector, Department of Entomology and Acarology, Luiz de Queiroz College of Agriculture- ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Having the same objectives specified above, nanoformulations of the Neem oil were evaluated in terms of its effectiveness over nymphs of *B. tabaci* in soy beans.

Firstly, the lethal concentration 50% (CL50) was established from a commercial formulation of NEEM oil to the nymphs of the insect. Soy bean plants cv. IAC 18, cultivated in greenhouse were used as the pest host. Twenty couples were released on each plant and kept in a voile cylinder cage for 24 hours. After the hatch 10 nymphs per leaf were chosen. The concentrations tested were 0.125, 0.25; 0.5; 0.71; 1.0 e 1.3% (1.3 g of the extrato/100mL of water) plus distilled water as the control totalizing 7 treatments with 10 repetitions each. At the end of 10 days, the mortality was evaluated.

CL50 was calculated using Probit analysis. Afterwards, the efficiency of six nanoformulations with different contents of azadiractin were analyzed, among which two were aqueous, with azadiractin content of 898,1 mg/L (nanoparticles of β -cyclodextrina, average particle diameter of 33,8 nm;

nanoformulation 1) and 875,0 mg/L (nanoparticles of β -ciclodextrina, average particle diâmetro of 3,8 nm; nanoformulation 2); two were powder, with azadiractin content of 1.980,0 mg/L (PCL nanoparticles prepared by the nanoprecipitation method; nanoformulation 3) and 2.160,0 mg/Kg (PCL nanoparticles prepared by the solvent separation method; interfacial deposition, nanoformulation 4); and two were aqueous, one with nanoparticles in suspension of β -ciclodextrina, average particle diameter of 33,8 nm; and PCL prepared by the solvent separation method; interfacial deposition with azadiractin content of 129,6 mg/L (nanoformulation 5) and the other with nanoparticles in suspension of β -ciclodextrina, average particle diameter of 3,8 nm; and PCL prepared by the solvent separation method; interfacial deposition with azadiractin content of 129,6 mg/L (nanoformulation 6); plus the Neem oil (negative control) and distilled water (positive control) totalizing 8 treatments with 10 repetitions each and 10 first instar nymphs of white fly per repetition

The volume of each nanoformulation pulverized was calculated based on the CL50 obtained before. The two bioassays were performed in a laboratory, at temperature of $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR of $65\pm 10\%$ and photofase of 14h. The Neem oil CL50 was 0.40%. Since the amount of azadiractinin in the oil was 384,3 mg/L, the amount of azadiractinin corresponding to CL50 was 0,8 mg/L. In the bioassay with the formulations, it was observed that the nymphal mortality in the control was low indicating that the nymphal mortality in the treatments with nanoformulations caused by the compounds present. The Neem oil provided higher mortality rate if compared to the nanoformulations, considering the content of azadiractinin in each one. The highest mortality rate occurred until the eighth day, and then it reduced. Nanoformulation 2 was the most efficient although it accounted for 50%, on average, of the mortality caused by the oil. Nanoformulation 5, although causing low total mortality rate, had its efficiency increased during the experiment, which suggests that in this nanoformulation the polymer rupture occurred more slowly. The nanoformulations did not extend the residual effect of azadiractinin, except for nanoformulation 5, but with lower efficiency than that of the commercial Neem oil.

The insecticide activity of the aqueous extracts of the roots of *Lonchocarpus floribundus*, *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae) and extracts in dicloromethane of leaves and branches of *Azadirachta indica*, *Melia azedarach*, *Toona ciliate*, and *Trichlia pallida* (Meliaceae), on eggs and nymphs of *B. tabaci* in tomato tree were also evaluated.

The aqueous extracts of the roots of *L. floribundus* and *C. spectabilis* were assayed in the concentrations of 1, 3 and 5 % (5g of extract/100mL of water). For the tests of extract activity on eggs, the 30 days old apical leaflets of the top third of a tomato tree were infested with 30 white-fly couples in a voile cage. After 24 hours, the insects were removed and the eggs were counted using a stereoscopic microscope. The leaflets were then detached and treated by the immersion method for 2 seconds in the respective extracts and left on a paper towel for 30 min for complete evaporation of the excess of water. Next, the leaflets were introduced through the petiole using pieces of soda straw immerse in glass tubes containing distilled water and sealed with parafilm. The mortality rate was evaluated 10 days after the treatment based on the initial counts of eggs and nymphs hatched.

For the tests with the nymphs, the methodology was the same, but the leaflets were collected from tomato tree 10 days after infestation, when nymphs were in the first and second instar. The evaluations were conducted at 10 and 12 days after the treatment based on the initial and final number of nymphs that were alive. In both tests, the control used was distilled water. Ten repetitions of a single tomato tree leaflet were carried out for the two tests, and the randomized complete block design was applied. The data were submitted to variance analysis compared by the Tukey test (5% of error probability). The aqueous extract of the roots of *L. floribundus* caused mortality of 37.2% of the eggs at 3% of concentration, which did not differ from the two other concentrations which presented the mortality rates varying from 26 and 31%. With regard to the nymphs, this treatment caused mortality of 39.4% on the tenth day after application and reached 80.1% on the twelfth day.

At 5 %, the same treatment caused 47,6% of mortality on the 10th day and 83% on the 12th day, so it was considered the most efficient treatment. At 1%, the referred extract caused mortality of 26.1% of the eggs of 22% of the nymphs on the 10th day and 60,7% of them on the 12th day. The increase in mortality rate over the time suggests that the rotenoids present on the roots of this plant

have chronic action on the white-fly. The aqueous extracts of the roots of *C. spectabilis* did not present insecticide action causing, at 5% concentration, mortality of 16.9% of the eggs, and at 3%, 18.8% of nymphal mortality on the 12th day after application. The aqueous extracts of the roots of *L. floribundus*, with the concentration of 1% onwards, presented insecticide action on eggs and nymphs of *B. tabaci*, and this effect tends to increase with concentration and over time after the contact with the insect. The aqueous extracts of the roots of *C. spectabilis* did not present insecticide action on the white-fly. Next, the rotenoid contents in both of them will be analyzed in order to verify if they are absent or in low concentration in the aqueous extracts of the roots of *C. spectabilis*.

With regard to the Meliaceae plant, using at first the extract in dicloromethane of the leaves of *T. pallida*, it was possible to determine the necessary concentration to cause mortality of the nymphs from 50 to 60%, and the values obtained (0.56%; 0.56 g of extracto/100mL of solvent) were used in the subsequent bioassays. Comparing the extracts in dicloromethane of the leaves and branches of *Azadirachta indica* (1F, 1R), *Melia azedarach* (2F, 2R), *Toona ciliata* (3F, 3R), and *T. pallida* (4F, 4R), it was verified that they affect significantly the eggs and the nymphs of the white-fly. Comparing the extracts in ethanol of leaves and branches of *A. indica* (5F, 5R), *M. azedarach* (6F, 6R), *T. ciliata* (7F, 7R), and *T. pallida* (8F, 8R), it was verified that they affect only the nymphs. Based on these results, the extracts 4R, 5F, 5R, 6R, 3F e 3R were selected, and the effect on the mortality of eggs and nymphs and on the embryo period was evaluated. It was verified that the extracts did not present ovicidal action, but they affect the survival rate of the nymphs, and that the 5R extract extends the embryo period of the insect. Subsequently, through VLC, Vacuum Liquid Chromatography the fractions of hexane, dicloromethane, ethyl acetate of the extracts 4F and 4R were obtained, which were tested at concentrations of 0.56% and 0.28%.

The fractions in dicloromethane, ethyl acetate, and in methanol of the extract 4R affected the rate of nymphs of the white-fly in tomato trees at 0.56 and 0.28%. Similarly, it was verified that the fractions in hexane, dicloromethane, ethyl acetate, and methanol of the extract 4F affected the survival rate of nymphs of the white-fly in tomato trees at 0.56 and 0.28%. The fraction in ethyl acetate of the extract 4F was repellent to *B. tabaci* biotype B, and the fractions in dicloromethane of the extract 4R and in methanol of the extract 4F presented deterrent effect to oviposition of *B. tabaci* biotype B. The nymph phase was the most sensitive to the organic extracts obtained from the species of Meliaceae evaluated than the egg phase. Among the extracts tested, the most promising for the control of nymphs of the white-fly are in dicloromethane of the leaves of *T. ciliata* and branches of *T. pallida*.

4.3 *Tuta absoluta*



The expansion of crop land of the tomato tree, *Lycopersicon esculentum* Mill, favored the development of various pests that affect considerably its production, mainly the tomato moth, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). It is likely that the tomato moth was introduced in Brazil in 1967, resulting from tomato imports from Chile. Although it has been found all over, even in Japan, its importance seems limited to countries such as Colombia, Peru, Chile, and more recently, Argentina, Uruguay, Brazil and Paraguay. In Brazil, this insect was first identified in 1980, in the state of São Paulo. Nevertheless, right after its discovery, it was also identified all over the country. The tomato moth has a great destructive potential, and it can attack parts of the plant in any stage of its development (Souza et al., 1992).

The insecticide potential of the nanoformulations of the Neem oil and ethanol extract of the branches and leaves of *Toona ciliata* were evaluated. Leaflets of the tomato tree (cv. Santa Clara) were detached and pulverized with different nanoformulations. Three bioassays were developed: 1) nanocapsules of Poli-ε-caprolactona (PCL) and Poli-β-hidroxibutirato (PHB); 2) PCL and PHB nanospheres; 3) nanocapsules and nanospheres using polimethylmetacrilate (PMMA). Two controls were used, water and Neem oil (Organic Neem®). Four larvae (1st instar) were released on each leaflet, and each treatment consisted of 7 dishes and 4 repetitions totalizing 112 larvae per treatment. The experiment was conducted under controlled conditions (25±20°C, UR±70% and 14L:10D photoperíodo) and the mortality evaluation was carried out daily until the 10th day after application,

when the surviving larvae were weighed. The data were analyzed using the Tukey test ($P < 0,5$) or the Kruskal Wallis parametric test.

In the first bioassay, the highest mortality rate was observed in the PHB+Neem (40%), nanocapsule treatment, which was very close to the control Neem (37%) and different from the water control (7%). The other nanoformulations did not differ from the water control. In the second bioassay, only the Neem control presented significant mortality rate in relation to the water control. The mortality rate compared to the weigh of the larvae indicates the slow development of the control Neem. In the third bioassay with PMMA, one nanoformulation caused mortality of 12%, similar to that verified for the water control 1%. The other nanoformulations did not differ from the control Neem (48%). The larval weigh observed with the nanospheres in water (0.7mg) or powder (0.7mg), and powder nanocapsules (0.6mg) did not differ from the control Neem (0.4mg). The weigh for the nanocapsule treatment in water (20 mg) did not differ from the water control (31mg). In general, even with low mortality rates, the larval weigh was altered.

The experiment was also performed aiming at evaluating the lethal concentration (CL_{50}) of the ethanol extract of branches and leaves of *Toona ciliata* on larvae of *T. absoluta*. Leaflets of the tomato tree (cv. Santa Clara) were detached and pulverized with different concentrations. The concentrations of treatments were: 0,125, 0,25, 0,5, 1,2, and 4,0% of the extract dissolved in acetone (or 4g/100mL of acetone), but only acetone was applied to the control assay. The leaflets pulverized were left to ambient conditions until complete evaporation of the excess of moisture, and next they were placed on Petri dishes (6 cm x 2 cm) with the petiole wrapped in moistened cotton to avoid the dehydration of the leaflets. Four larvae (1st instar) were released on each leaflet, and each treatment consisted of 7 dishes and 4 repetitions totalizing 112 larvae per treatment. The experiment was conducted under controlled conditions ($25 \pm 20^\circ\text{C}$, UR. $\pm 70\%$ and 14L:10D photoperiod), and the evaluation was carried out daily until the 10th day after application. The Probit analysis was used to determine CL_{50} . The CL_{50} estimated for the ethanol extract of branches and leaves of *T. ciliata* were 1.1%. Studies carried out with other organic extracts of the Meliaceae species have shown higher values than those verified in this study indicating the potential of this species in the MIP of *T. absoluta*.

4.4 *Sitophilus zeamais*



Sitophilus zeamais (Mots.) (Coleoptera: Curculionidae) is one of the most destructive pests in grains stored all over the world. This insect is considered of great importance in the storage of corn, wheat, and rice. This pest is so harmful to the corn that when the attack reaches around 25.9% of weight loss, the nutritional value of the corn became null (Gallo et al., 2000).

In order to perform this bioassay, the extracts were diluted in an appropriate solvent according to the polarity of the extract. All extracts were applied over the grains using a low pressure microatomizer, with a spray volume of 20 L/t, of a solution at the concentration of 10.000 ppm. After the pulverization, the mixture of the grains with the extracts was stirred manually in 1 Kg plastic bags for 1 min. For each treatment and repetition, individual plastic bags were used. After the treatment, the grains treated were placed in a laminar air flow chamber at room temperature for 2 hours until complete evaporation of the solvent used. Plastic boxes (6.0 cm diameter and 2.1 cm height) containing 10g of corn, which were treated separately with the respective extracts and a control treated with the solvent used in the resuspension of the extracts.

Each Box was infested with 20 non-sexed adult insects, aged between 10 and 20 days, with 10 repetitions per treatment. The survival rate of the adult insects was determined on the 10th day by counting and removing the dead individuals. Those that presented completely stretched body extremities and tactile stimuli elicited no visible normal reaction to the touch of a brush for a period of 1min were considered dead. The same sample units of the prior test were used in this bioassay for the evaluation of F1 progeny. The grains were treated with the respective extracts infested with 20 non-sexed adults aged between 10 and 20 days. After 10 days of infestation, the adults were removed and the sample units were kept under the climate conditions mentioned above. After 60 days of the initial

infestation, the number of adults emerged was determined per each dish. Fourteen extracts with different polarities of the *Altenaria alternata* fungus (provided by the department of Chemistry-UFSCar) were evaluated. Among them, six presented significant mortality rate compared to the acetone/methanol (1:1) control and one compared to the methanol control. These data are being retested for improved statistic accuracy

4.5 *Rhopalosiphum maidis*



The *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) aphid is an important pest of sorghum in various parts of the world. It can also attack corn, sugarcane, wheat, oat, rye, barley, and millet as well as wild grass. This aphid is most feared corn endemic species. It attacks young parts of the plant, especially the stem, but it can also infest the tassel and flower buds (JAUSET et al., 1998).

Extracts of branches and leaves of the species *Trichilia pallida*, *T. clausenii*, *T. catiguá*, *Toona ciliata*, *Guarea guidonia* were assayed in hexane, dichloromethane, and ethanol. Aiming at proving the method efficiency, a test was performed in sorghum planted in vases with capacity of 3.5L, enclosing nymphs of first instar in voile cages made of transparent cylindrical plastic (3.0 cm thickness x 10 cm height), in which one of the ends was covered with white voile and the other with foam (3.0 mm thickness), called clip cages. These cages were attached to the abaxial side of the last leaf before the highest leaf (flag) by using an aluminum clip that was clipped on the voile and on plastic ring holding them together.

In each cage 5 nymphs were placed. Five cages were used per treatment (sample units) containing hexane extract of branches of *T. pallida* (2%) in acetone and the controls (acetone) and distilled water. The use of this technique resulted in a mortality of the insects indicating that it this methodology can be used to in all experiments. After having defined the methodology procedure, the screening of the extracts was conducted using a 2% concentration as the discriminatory concentration. The evaluations were carried out 5 days after the experiment started by counting the number of live individuals and correcting the mortality data. Only a small difference between the materials was observed. Then the hexane extract of branches and leaves of *T. clausenii* were separated for new studies in terms of action, behavioral effects, and interaction with biological control since these were the conditions which resulted in higher mortality rate. The former will be used for the fractioning experiment.

4.6 *Pissodes castaneus* and *Cinara atlântica* - Pinus pests



In Brazil, *Pinus* trees, mainly the species *P. taeda* and *P. elliotti* have been planted in commercial scale for more than 30 years (Ahrens, 2000). Nowadays, there are around 2 million hectares reforested with Pinus. In the South and Southern regions, there are around 1.2 million hectares of Pinus, especially in the states of Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, and Minas Gerais (Iede et al, 2004). These crops are used mainly for logging, paper, and cellulose industry (Cardoso et al, 2003).

The most common Pinus species grown in Brazil, *P. taeda*, is considered the ideal tree for reforestation since it is very resistant, versatile, and it can reproduce and grow easily in several different locations. In addition, it produces high yields per hectare. The species of Pinus grown in Brazil are attacked by pests, mainly the woodwasp (*Sirex noctilio*), aphids of *Cinara* genus, and more recently, the banded pine weevil, *Pissodes castaneus* (Iede et al, 2004). *P. castaneus* is originated from Europe and North of Africa, and it was detected in Brazil in June 2001 in the city of São José dos Ausentes, in the states of Rio Grande do Sul. Today, it has spread all over the southern region in the country in *P. taeda* crops aged between 2 and 6 years old (Iede et al, 2004). The biological cycle of this insect is complex, and the adults can live up to 20 months.

The oviposition on the tree bark occurs between mid spring and the beginning of summer and from the end of summer to the beginning of fall. The larval period lasts around two months (Cisternas

et al, 1993). During winter, part of the larvae hibernates in the branch infested while the adults hibernate hidden in the soil or in tree bark slits. The major damage is caused by the larvae, which feed in the region of *cambium* and bark, where it forms a gap filled with excrements and wood fine fibers. The canopy of the trees attacked by the larvae become brown-reddish and the tree bark become punctured. Generally, this attack leads to the death of the tree. Another kind of damage is caused by the adults, which feed on the apical bud. The insect kills the buds causing growth and multifurcation interruption.

This insect is a threat to the Brazilian forest; thus the development of resistance mechanisms against this insect has become a necessity as well as the development of a program of Integrated Pest Management. Two compounds produced exclusively by *P. castaneus* males were identified and their biological activity was determined through the bioassays conducted using a Y-olfactometer. The compounds attracted only females; therefore, it is a sexual pheromone. The activity of these compounds was not increased when they were tested together with pieces of the host plant indicating non-synergistic or auditory effects between the pheromone and possible kairomones. The chemical structures of these compounds, grandisal and grandisol, were identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The absolute stereochemistry was established by gas chromatography in a column with chiral stationary phase. An article has been written and will be submitted to the Journal of Chemical Ecology.

The volatiles emitted by different species of *Pinus* (*P. eliotti*, *P. taeda*, *P. maximinoi*, and *P. caribaea*) were identified. The results indicate that the *Pinus* species analyzed produce major effects that can act as species markers such as the silvestren, in the case of *P. taeda* and the δ -2-carene for the *P. maximinoi*. Nevertheless, there is a similarity between the compounds produced by the four species, in which only their relative quantity varies. Examples are the α -pinene, β -pinene, and mircene, which are common compounds of the *Pinus* genus and are produced by the four species. Behavioral studies have been carried out to determine whether they are related to the chemical communication between the species of *Pinus* and the two important pests *Cinara atlantica* and *P. castaneus*. It was observed that when attacked by *P. castaneus*, the *P. taeda* trees tend to produce higher amounts of α -pinene and β -pinene besides the compounds that were not produced when they were healthy, such as prezizaene and *trans*-muurola-4(14),5-dien. The later is probably a α -muurulene product produced by the healthy tree.

In 1998, the giant conifer aphid, *Cinara atlantica* (Wilson 1919) was initially identified in *P. taeda* and *P. eliottii* crops, in the city of Lages, SC, together with colonies of *C. pinivora* (Lazzari et al., 2000). *C. atlantica* is present in Brazil in the southern states, MG and SP in *P. taeda*, *P. eliottii* and in species of tropical *Pinus* (Penteado 2000). The aphids of the *Cinara* genus are exclusively phytophagous and form huge colonies causing chlorosis, deformation, and fall of premature *aciculas*, *fuste* bend, and over sprouting due to the destruction of the apical bud and reduction of growth until the death of the tree.

The elimination of a substance called honeydew by the aphids, acts as the substract for the development of fumagine reducing the photosynthetic area and making it difficult the process of respiration and transpiration of the plant thus affecting its development (Penteado et al., 2000). *C. atlantica* was aird to verify the production of a possible aggregation pheromone and an alarm pheromone. The preliminary results do not indicate the production of these semiochemicals. These studies will resume in May 2010, when the insects are present in the fields again. The toxicity of the essential oils of cotton (*Gossypium barbadense*) and *Eucalipto sp* were tested against *Cinara atlantica*. The mortality rate in the treatments was statistically identical to the control. More tests are ongoing. The studies carried out at UFPR were supervised by Dr. Francisco.

4.7 *Glycaspis brimblecombei*



The use of species of eucalyptus in reforestation has grown in Brazil. However, the attack of the psyllid *Glycaspis brimblecombei* (red gum lerp psyllid) has been a serious problem. *G. brimblecombei* was first detected in June 2003 in the state of

São Paulo, attacking *E. camaldulensis* and *E. tereticornis*, causing size reduction, leaves deformation, and presence of sooty molds. Tree heavily infested with the psyllid presented defoliation with no possibility of recovery whatsoever (Wilcken et al., 2003). Nowadays, the red gum lerp psyllid has spread to all eucalyptus production regions in Brazil. In the state of Paraná, this pest was detected in November 2003 with heavy infestation in the city of Paranaíba. Later, it was also detected in the cities of Sengés, Telêmaco Borba and Curitiba (Santana et al., 2003). The toxicity of the essential oils of cotton (*Gossypium barbadense*) and *Eucalypto sp* were tested against *G. brimblecombei* and proved efficient against nymphs of this psyllid. Studies with more repetitions are ongoing at the UFPR for improved statistic treatment.

5. Models for the obtention of insecticides: Complexation of bioactive natural products with inorganic ions.

These studies were coordinated by the inorganic chemistry professor Dr. Rose Maria Carlos with the support of Dr. João B. Fernandes and Dr. M. Fátima G. F. da Silva from UFSCar.

These studies aim at contributing to the elucidation of the mechanisms of action of natural insecticides when free and coordinated with metallic ions and also at developing new commercial insecticides effective for the initial control of leaf cutting ants and the bacterium *X. fastidiosa*, but which, at the same time, would not affect the local ecosystem and do not pose risks to the environment in general. Therefore, a series of polipiridinic complexes of Ru(II) such as *cis*-[Ru(phen)(L)]⁺L (L where L is hesperidine, hesperitine, naringine and naringenine) were proposed as well as the analysis of their spectroscopic (UV-vis, FTIR, and proton RMN) and electrochemical (cyclic and differential-Pulse voltametry) properties. The following complexes have already been prepared *cis*-[RuCl₂(phen)₂], *cis*-[Ru(phen)₂(hesperidine)]PF₆, *cis*-[Ru(phen)₂(naringine)]PF₆, [Mg(phen)(hesperidine)(MeOH)₂]₂

To the moment, the *in vivo* assays with *Atta sexdens rubropilosa* that have been performed with the free and coordinated to the Ru (II) metallic center compounds were promising since the insecticide activity of the complexes was higher to that of the free flavonoids suggesting that the interaction of Ru (II)-flavonoid favors the toxic effect. Nonetheless, the complex [Mg(phen)(hesp)(MeOH)₂]₂ presents even higher insecticide activity than that presented by the Ru (II) and similar activity presented by sulfluramid, a commercial insecticide, shown in Figure 2. The high toxicity of this commercial insecticide resulted in its removal from the market in several European countries. In Brazil, according to instructions of the Ministry of Agriculture and Environment, sulfluramid should be removed from the market if there is enough time for its progressive elimination and new alternative insecticides can replace it. Hence, according to the Ministry, it is necessary to stimulate research and allow time for industries to develop alternative products commercially. Therefore, it is noteworthy this important finding for the Mg(II)-hesperidine complex, which is, per se, a soil fertilizer avoiding possible environment complications resulting from the use of this metal.

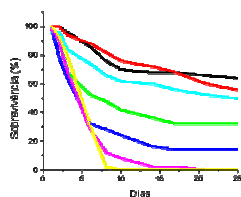


Figure 2. Survival curves for *Atta sexdens rubropilosa* worker ants submitted to the pure diet bioassay (black) and the incorporation of artificial diet by the ingestion of substances. Hesperidine (red), *cis*-[RuCl₂(phen)₂] (green), *cis*-[Ru(phen)₂(hesp)]PF₆ (dark blue), *cis*-[Ru(phen)₂(narina)]PF₆ (light blue), [Mg(phen)(hesp)(MeOH)₂]₂ (pink) and Sulfluramid (yellow), in the concentration of 2mg/mL.

The mechanisms of action of the insecticides proposed will firstly be evaluated by the inhibition of the activity of the enzyme acetylcholinesterase, which affects directly the neurological system of the ants. The initial enzymatic inhibition experiments that have been performed with the free insecticides and *cis*-[Ru(phen)₂(L)]⁺ complexes indicate that the inhibition activity of acetylcholinesterase (in solution) by the complexes takes place through the reversible competitive inhibition mechanism. The findings obtained so far show that the fragment [Ru(phen)₂]²⁺ presents essential structural characteristics for the insecticide activity of the natural compounds studied. Soon, these complexes will also be assayed against the growth of the bacterium *X. fastidiosa* as mentioned in the citrus diseases

section.

The studies with *X. fastidiosa* indicate that the CuSO₄ and flavanone hesperidin inhibit the growth of this bacterium. Thus, hesperidin and its aglycone hesperitin were complexed with copper acetate. Due the good results with leaf cutting ants, as shown above, naringin and its aglycone naringenin were also complexed with copper acetate. These complexes produced excellent yields.

Soon, these complexes will be evaluated against the growth of *X. fastidiosa* and the survival rate of the *A. sexdens rubropilosa* workers. One of the great advantages of these complexes is the increase in water solubility facilitating its application in the *in vivo* and *in vitro* assays.

Professional discretion/secretcy is required since those data are patent pending.

6. Technology Development methods of High Throughput Screening

6.1 Immobilization of enzymes in columns for High performance liquid chromatography

These studies were coordinated by Dr. Quezia B. Cass, UFSCar, and Carmen Lucia Cardoso, FFCL-Ribeirão Preto.

6.1.1 Acetylcholinesterase Bioreactors

The enzyme acetylcholinesterase (AChE) is present in the central nervous system of insects and hydrolyzes the neurotransmitter acetylcholine in acetylcholine acetate finalizing the synaptic transmission and playing an important role in transmitting a nervous impulse cholinergic (Calderón *et al.* 2001). Two genes Ace1 and Ace2 were characterized into different classes of insects, and two punctual mutations in Ace1 were associated with the resistance in flies (Gomes, 2006). Therefore, the action of insecticides on acetylcholinesterase and its mechanism of action should be explored for the control of pest-insects.

IMERs-AChE (immobilized enzymes reactors) were developed and used for the evaluation of the enzyme activity on the variations of the procedure of the capillary pre-treatment. This process was successfully optimized (Cardoso *et al.*, 2006; 2008). The studies of the reactor enzymatic activity under pH variations and the presence of different organic solvents were also carried out. In order to verify the behavior of the bioreactor in the presence of inhibitors and validate the bioreactor, four known inhibitors of acetylcholinesterase were evaluated and the values of IC₅₀ were determined.

Table 8 Comparison of IC₅₀ values of IMER-AChE and free in solution

Compound	IMER-AChE	IMER-AChE Literature *	AChE (solution)	AChE (solution) Literature
Propyl	48,9 ± 7,9 µM	341 ± 0,25 µM	35,6 ± 9,2 µM	32,3 ± 0,22 µM*
Galantamine	12,8 ± 2,4 µM	42,4 ± 0,21 µM	1,27 ± 0,15 µM	4,24 ± 0,21 µM*
Tacrine	85,94 ± 16,15 nM	0,45 ± 0,03 µM	262,5 ± 50,3 nM	0,44 ± 17,6 µM **
Rivastigmine	20,6 ± 4,9 µM	6,40 ± 0,93 µM	-	0,73 µM

*(Andrisano, *et al.* 2001; 2005) ** (Alvarez, *et al.* 1998)

The results obtained indicate the sensitivity of the bioreactor against the inhibitors. For the inhibitor tacrine, it was observed higher sensitivity compared to that of the assay in solution and with several values found in the literature for the bioreactors built using different support (Andrisano, *et al.* 2001) once the IC₅₀ value in nanomole scale was obtained. Such difference can be related to the support effect over the molecule active site. These results corroborate the possibility of using these bioreactors in the triage of collections of acetylcholinesterase inhibitor compounds. The next step will be the assay of substances that can present inhibition activity in the insects mentioned above.

6.1.2 Development of an IMER for the large scale triage of inhibitors of pectinolytic activity.

(See details of PDJ Paulo R Adalberto report). Although the nature of the commercial enzyme does not indicate the required specificity for the objectives of this study, its employment proved essential in the definition of the parameters necessary for the bioreactor construction. The commercial extract enzymes present thermophilic and acidophilic characteristics and were tested using the immobilization technique called cross-linked enzyme aggregates. The method involves an aggregation of the enzyme followed by the intercrossing with the employment of bifunctional reagents.

The precipitation of the *A. niger* extract was conducted with ammonium sulfate and butanol. Unlike the first experiment, in the second there was an increase in the activity of the enzyme. Once the precipitation method was selected (Butanol 90%), the intercrossing with glutaraldehyde (0.1 and 0.05 mol.L⁻¹) was performed. The effects of mass transferring, known limit of the process catalyzed by processed enzymes, were observed in the tests performed. The results obtained with the *A. niger* pectinases indicate that the convenient intervention conducted in the third structure of the enzymes has effects on the protection of the inactivation sites, and that even though certain aspects of immobilization deserve better definition, the technique applied is a feasible way to the development of the IMER proposed.

6.2 Development of an enzymatic biosensor for the evaluation of the insecticide activity in plant extracts

The electrode materials selected were the disposable electrodes (gold, platinum, and carbon). Each surface was characterized electrochemically according to the objectives proposed and the most adequate surface for future studies. To each surface, the respective enzymes were immobilized, and firstly the acetylcholinesterase (AChE) was employed aiming at a better understanding of the processes involved based on techniques. Studies of enzyme immobilization, according to techniques based on specific reagents such as glutaraldehyde, polyvinyl alcohol, and nafion will be carried out focusing on the best way to couple the enzyme to the sensor surface guaranteeing satisfactory stability and enzymatic activity.

Next, the monitoring of the enzymatic activity against the substrate will be optimized and the sensor will be evaluated in terms of already known insecticide action of plant extracts. The variation of the analytical signal due to the enzymatic inhibition processes will be monitored and correlated with the level of inhibition. When the optimum analysis conditions are determined, different samples of extracts are investigated. According to the data obtained for the cholinesterase, the proposals for the amylase and pectinase enzymes are considered.

The screen-printed electrodes are versatile platforms. Their electrochemical behavior is similar to that of the conventional electrodes. The characterization and scan velocity assays indicated optimum electrode substrates for the construction of biosensors based on amperometric monitoring. The high potentials related to the redox processes of the substrate acetylcholine iodide and the product generated, tiocoline, can be considered obstacles for the construction of direct monitoring biosensors since several substances can be oxidized together as a group, overestimating the analytical signal.

These redox processes influenced the gold surface passivating part of the work electrode, but this passivation was not significant for the other surfaces. The meldola blue presented a pick that is possible to be monitored electroanalytically over all surfaces being studied with oxidation picks with better results in gold as well as very low potentials. Both the electrode modified with phtaloyinine and the one modified with meldola blue presented differences in the analytical signal in the presence of the solution catalyzed indicating that they can be used in the construction of an enzymatic biosensor.

Studies on the mobilization with nafion and on the relationship between ideal quantity of enzyme-substrate solution to be used (amperometry and spectrophotometry) are already being carried out. They aim at defining better immobilization conditions of the enzyme and the ideal substrate quantity to be used in further assays that provide the best analytical signal to be monitored (see details in the Paulo Roberto Brasil de Oliveira Marques d PDJ report).

6.3 Nuclear Magnetic Resonance and its association with HPLC and mechanisms of action

These studies were coordinated by Dr. A. Gilberto Ferreira and Dr. Tiago Venâncio, UFSCar.

A second alternative to inhibit the growth of a microorganism would be to understand the metabolic events related to the intercellular communication with its hosts and vectors. The metabolites involved in these interactions are present in a very small scale, a few milligrams, micrograms, or less. This project's objective is to isolate the molecules involved in these interactions and to understand the chemical aspects in the whole cycle. This demands special instrumentation as an NMR equipment of 800 MHZ. Considering the great importance of these studies, the grant provided by FAPESP was

entirely used in the purchase of the NMR 14.09 Tesla - 600 MHz, for the hydrogen frequency.

The equipment is set to perform all NMR experiments; and besides the equipment per se, there are the following devices: LC-NMR, LC-SPE-NMR and a 5mm cryoprobe. For the LC-NMR modality, the analyses can be performed in continuous and stopped flow. Nevertheless, it is necessary the use of at least one deuterated solvent. In general, the choice for this solvent is D₂O once it is the least expensive. For the LC-SPE-NMR modality, the use of deuterated solvents for the separation via HPLC is not necessary, but its use is essential in the extraction of SPE. The 5 mm cryoprobe will lead to an increase in the sensibility compared to a 21.1 Tesla-900 MHz for the hydrogen frequency equipment.

This equipment will allow the study of the interactions between chemical substances that can be used as insecticide or fungicide, as well as with pharmacological potential, and its main receptors: proteins, enzymes, etc. Such infrastructure is still not available in South America. Thus, this laboratory will be the first one to have this equipment and tools for the structural elucidation of organic compounds. This equipment will be installed in May or June, 2009. The infrastructure for the installation of this equipment at the DQ-UFSCar is ready and the group has experienced researchers to conduct studies using it counting with the support of the NIST-BCIP research team, namely Dr. Antonio Gilberto Ferreira and Dr. Tiago Venâncio.

7. Chemical study of plants and microorganisms

These chemical studies were coordinated by Dr. Paulo César de Lima Nogueira and Dr. Valéria Regina de Souza Moraes, Federal University of Sergipe and Dr. João B. Fernandes, M. Fátima G. F. da Silva, Paulo C. Vieira, Edson Rodrigues Filho, and Moacir R. Forim, UFSCar. The chemical studies of various plants and microorganisms are focused on obtaining compounds potentially active against the different assays discussed above. Therefore, pure substances and the extracts studied are or will be submitted to these assays. The plants and microorganisms under study can be found in the titles of the ongoing dissertations and theses, shown below.

8. Toxicidade de produtos naturais e viabilidade de uso.

A toxicidade para o ambiente aquático vem sendo determinada para alguns compostos que têm mostrado atividade sobre formigas cortadeiras pelo grupo utilizando como modelo peixe paulistinha, *Danio rerio* (FERNANDES *et al.* 2004) e estes estudos estão de acordo com a forma de trabalho do grupo que tem como meta não poluir o ambiente.

Este estudo terá sequência com o estudo dos compostos mais ativos obtidos neste primeiro ano de desenvolvimento do projeto e estão sendo determinadas condições para melhor reprodutibilidade dos resultados e para conhecer os mecanismos de ações dos compostos ativos nos peixes.

8. Toxicity of natural products and viability of use

The toxicity for the aquatic environment has been determined for some compounds which have proved some activity on leaf cutting ants by the sample group used, the zebrafish, *Danio rerio* (FERNANDES *et al.* 2004), and these studies are in accordance with the group goals, which is avoiding polluting the environment.

This study will be followed by the study on the most active compounds obtained in this first year of the development of this project. Some conditions are being determined for better reproducibility of the results and to identify mechanisms of actions of the active compounds on the fish.

References

- Aguiar-Menezes, E.L. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, 2005. 58p. (EMBRAPA Agrobiologia, Documentos, 205).
- Aguilar-Vildoso, C.I. Pinta preta espalha-se por São Paulo. Citricultura Atual, 1 (2), 8, 1997.
- Ahrens, S. Manejo e silvicultura de plantações de *Pinus* na pequena propriedade rural. In: Galvão, A. P. M. (Org.). Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais: um guia para ações municipais e regionais. Brasília: *Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; Colombo: Embrapa Florestas*, p. 219-239, 2000.
- Altschul, S.F., et al. "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search

- programs." *Nucleic Acids Res.* v. 25, p. 3389-3402, 1997. Visualizado Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>>. Acesso em: 14 abr. 2008.
- Alvarez, A, Alarcón, R. Opazo, C, Campos, E.O, Munhoz, F.J. Calderón, F.H., Dajas, F. Gentry, M.K, Doctor, B.P, De Mello, F. G., Inestrosa, N. C, Stable Complexes Involving Acetylcholinesterase and Amyloid- β Peptide Change the Biochemical Properties of the Enzyme and Increase the Neurotoxicity of Alzheimer's Fibrils. *J. Neurosci.*, 18(9):3213–3223, 1998.
- Andrisano V., Bartolini, M. Gotti, R. Cavrini, V. Felix. G. Determination of inhibitors' potency (IC₅₀) by a direct high-performance liquid chromatographic method on an immobilized acetylcholinesterase column. *J. Chromatogr. B*, 753: 375-383, 2001.
- Andrisano V., Bartolini, M. Gotti, Cavrini, R. Batchwise covalent immobilization of human acetylcholinesterase: Kinetic and inhibition spectrophotometric study. *Anal. Biochem.* 342, 163–166. 2005.
- Arab, A.; Costa-Leonardo, A.M.; Batista-Pereira L.G.; Santos, M.G.; Corrêa A.G. and Blanco Y.C. Trail-pheromone specificity of two sympatric termites (Rhinotermitidae) from southeastern Brazil. *Sociobiology*, 43: 377-387, 2004.
- Bacci Jr., M.; Anversa, M. M. and Pagnocca, F. C. Cellulose Degradation by *Leucocoprinus grongylophorus*, the Fungus Cultured by, Antonione Van Leeuwenhoeck, 67: 385-386, 1995.
- Bandoni, R.J. Terrestrial occurrence of some aquatic hyphomycetes. *Can. J. Bot.*, Ottawa, v. 50, p. 2283-2288, 1972.
- Barnett, J.A.; Payne, R.W.; Yarrow, D. Yeasts: characteristics and identification. 3. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. 1152p.
- Barreiro, E.J. e Fraga, C.A.M. Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos, Artmed, Porto Alegre, 2001.
- Barrows, W.M. The reactions of the pomace fly, *Drosophila ampelophila* Loew, to odorous substances. *J. Exp. Zool.*, 4: 515-537, 1907.
- Bastianel, M.; Azevedo, F. A., Cristofani, M.; Machado, M. A. Mancha marrom de alternária: uma interação fungo, toxina e tangerina LARANJA. Cordeirópolis, v.26, (2), 323-336, 2005.
- Batista-Pereira, L.G.; Santos, M.G.; Corrêa A.G.; Fernandes J.B.; Dietrich, C.R.R.C.; Pereira, D.A.; Bueno, O. and Costa-Leonardo, A.M. Electroantennographic responses of *Heterotermes tenuis* (Isoptera: Rhinotermitidae) to synthetic (3Z,6Z,8E)-3,6,8-Dodecatrien-1-ol. *J. Braz. Chem. Soc.*, 15: 372-377, 2004b.
- Batista-Pereira, L.G.; Wilcken, C.F.; Pereira Neto, S.D. and Marques, E.N. Comportamento de chamamento de *Thyrintina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) em *Psidium guajava*, *Eucalyptus grandis* e em dieta artificial. *Neotropical Entomology*, 33: 21-28, 2004c.
- Batista-Pereira, L.G.; Dos Santos, M.G.; Corrêa, A.G.; Fernandes, J.B.; Arab, A.; Costa-Leonardo, A.M.; Dietrich, C.R.R.C.; Pereira, D.A. and BUENO, O.C. Cuticular hydrocarbons of *Heterotermes tenuis* (Isoptera: Rhinotermitidae): analyses and electrophysiological studies. *Z. Naturforschung*, 59c, 135-139, 2004a.
- Berti Filho, E.; Marchini, L. C. e Nakano, O. Curso de entomologia aplicada à agricultura. IN: (Parra et. al.). *Formigas cortadeiras e cupins*, p. 631-671. Piracicaba, FEALQ. 1992,
- Boaretto, M.A.C. e Forti, L.C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. *Série Técnica IPEF*, 11: 31-46, 1997.
- Bomfim, S. M. Isolamento de metabólitos antifúngicos de *Streptomyces* sp., UFPEDA 3347, endófito de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), 2008, 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.
- Bredenbruch, F.; Nimtz, M.; Wray, V.; Morr, M.; Mu'ller, R.; A'Ussler, S. Biosynthetic Pathway of *Pseudomonas aeruginosa* 4-Hydroxy-2-Alkylquinolines. *Journal of Bacteriology*, v. 187 (11), p. 3630-3635, 2005.
- Cara, F.; Immirzi, B.; Ionata, E.; Mazzella, A.; Portofino, S.; Orsello, G.; Prisco, P.P. Biodegradation of poly- ϵ -caprolactone/poly- β -hydroxybutyrate blend. *Polymer Degradation and Stability*, Barking v.79, p.37-43, 2003.
- Cardoso, J. T., Lázzari, S. M. N., Freitas, S., Iede, E. T. Ocorrência e flutuação populacional de

- Chrysopidae* (Neuroptera) em áreas de plantio de *Pinus taeda* (L.) (Pinaceae) no sul do Paraná. Revista Brasileira de Entomologia 47(3): 473-475, 2003.
- Cardoso, C.L.; Lima, V.V.; Zottis, A.; Oliva, G.; Andricopulo, A.D.; Wainer, I.W.; Moaddel, R.; Cass, Q.B. Development and characterization of an immobilized enzyme reactor (IMER) based on human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase for on-line enzymatic studies. J Chromatogr A, 1120(1-2): 151-7, 2006.
- Cardoso, C. L., de Moraes, M. C., Guido, R. V. C., Oliva, G., Andricopulo, A. D., Wainer, I. W. and Cass, Q. B. The development of an immobilized enzyme reactor containing glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*: The effect of species' specific differences on the immobilization. Analyst, 133: 93-99, 2008.
- Carreiro, S. C.; Pagnocca, F. C.; Bacci, M. Jr.; Lachance, M. A.; Bueno, O. C.; Hebling, M. J. A.; Ruivo, C. C. C.; Rosa, C. A. *Sympodiomyces attinorum* sp. nov., a yeast species associated with nests of the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. Int J Syst Evol Microbiol 54: 1891-1894, 2004.
- Centraalbureau Voor Schimmelculturesbs. CBS Yeast Collections: Maintenance and storage of cultures. Disponível em: <<http://www.cbs.knaw.nl/yeast/Defaultpage.aspx>>. Acesso em: 30 mai. 2008.
- Cherrett, J.M. History of the leaf-cutting ant problems. IN: Lofgren, C. & Vander Meer, R. K. (Eds.). *Fire ants and leaf-cutting ants – biology and management*, p. 10-17. Boulder and London Westview Press, Londres, 1986.
- Cisternas, M. B., Martinez, L. C., Auter, S. H., Lfuschlocher, M. E. L., Bannen, C. V. Manuela de reconocimiento de plagas forestales cuarentenárias. Santiago: Ministério de Agricultura, Servicio Agrícola y Ganadero, 1993.
- Costa, M.A.G. e Cruz, A.S. Efeitos do Inseticida Fipronil em Diferentes Ecossistemas. Disponível em: http://www.jornaldomeioambiente.com.br/JMA-txt_importante/importante67.asp. Acessado em 24/03/06.
- Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; Murillo, C.A. and Bochmann, M. *Advanced inorganic chemistry*, 6^a Ed., John, Willey & Sons, New York. 2000.
- Cruz, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa/CNPMS. 1995. 45p. (EMBRAPA-CNPMS, Circular Técnica, n. 21).
- Fawcett, H.S. Citrus diseases and their control, 656 pp. McGraw-Hill Publishing Company, London, UK, 1936.
- Feichtenberger, E. Mancha-preta dos citros no Estado de São Paulo. Laranja, v. 17, p. 93-108, 1996.
- Fisher, P.J.; Stradling, D.J. and Pegler, D. N. Leaf-cutting ants, their fungus gardens and the formation of basidiomata of *Leucoagaricus gongylophorus*. Mycologist., 8: 128-132, 1994.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Baptista, G.C.; Berti Filho, E.; Parra, J.P.R.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.D.; Marchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. Manual de Entomologia Agrícola. Ed. 3. São Paulo. Agronômica Ceres. 2000, p.649.
- Goes, A. de; Feichtenberger, E. Ocorrência da mancha preta causada por *Phyllosticta citricarpa* (Mc Alp) Van der Aa (*Guignardia citricarpa* Kiely) em pomares cítricos do Estado de São Paulo. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 18, 318, 1993.
- Gomes, I. V. C. A. Análise estrutural e funcional do cDNA para a enzima Acetilcolinesterase de *Lutzomyia longipalpis*. Dissertação de Mestrado. UFPe, 2006, p. 104
- González, I.; Ayuso-Sacido, A.; Anderson, A.; Genilloud, O. Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity abd detection of biosynthetic gene sequences. FEMS Microbiology Ecology, Amsterdam, v.54, p.401-415, 2005.
- Iede, E. T., Reis Filho, W., Penteado, S. R. C. Ocorrência de *Pissodes castaneus* (De Geer) (Coleoptera: Curculionidae) em Pinus, na Região Sul do Brasil. *Embrapa: Comunicado Técnico*, Colombo: Embrapa Florestas, 2004.
- Jauset, A. M.; Muñoz, M. P.; Pons, X. Karyotypes of *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) in the Lleida Basin. Integrated Control in Cereal Crops, [S.l.], v. 21, n. 8, p. 15-20, 1998.
- Jesus, F. L.; Boiça Junior, A. L. Uso de variedades resistentes no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) na cultura do algodoeiro. In: Tópicos em Entomologia Agrícola II. Editores: Silva,

- A.G.; Rodrigues, C. A.; Becaro, C. K.; Bottega, D. B.; Haddad, G. K.; Alvez, G. C. S.; Janini, J. C. Jaboticabal: Funep. 2009. 164p.
- Kotzé, J. M. History and epidemiology of citrus black spot in South Africa. In: International Citrus Congress, 8, Sun City, 1996. Proceedings. Sun City: International Society of Citriculture, 1296-1299, 1996.
- Kurtzman, C.P.; Robnett, C.J. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie van Leeuwenhoek*, Amsterdam, v.73, p.331–371, 1998.
- Lazzari, S.M.N.; Zonta de Carvalho, R.C. Aphids (Homóptera : Aphididae : Lachninae : Cinarini) on *Pinus* spp. and *Cupressus* SP. in Southern Brazil. In: International Congresso f Entomology, XXI. Foz do Iguaçu, PR. Anais. p. 493. 2000.
- Mariconi, F. A. M. *As Saúvas*. Agronômica Ceres, São Paulo, 1970, 167p.
- Martin, M.M.; Boyd, M.J.; Gieselmann, M.J. and Silver, R.G. Activity of faecal fluid of a leaf-cutting ant toward plant cell wall polysaccharides. *J. Insect Phys.*, 21: 1887-1892, 1975.
- Meyer, W., et al. Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the Polymerase Chain Reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, v.31, n.9, p. 2274-2280, 1993.
- Middelhoven, W. J.; Fonseca, A.; Carreiro, S. C.; Pagnocca, F. C.; Bueno, O. C. *Cryptococcus haglerorum*, sp. nov., an anamorphic basidiomycetous yeast isolated from nests of the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. *Antonie van Leeuwenhoek* 83: 167-174, 2003.
- Mordue (Luntz), A.J.; Morgan, E.D.; Nisbet, A.J. Azadirachtin, a natural product in insect control. In: GILBERT, L.; IATROU, K.; GILL, S.S. Comprehensive molecular insect science. Amsterdam: Elsevier BV, v.6, 2005. p.117-135.
- Oliveira, M.R.V.; Lima, L.H.C.; Ferreira, D.M.N.; Vieira, P.R.G. *Avaliação das populações de Bemisia tabaci (Gennadius) através de RAPD-PCR, no Brasil*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 6p.
- Oliveira, M.R.V.; Henneberry, T.J.; Anderson, P. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection*, v.20, n.9, p.709-723, 2001.
- Pagnocca, F. C., Victor, S. R., Bueno, F. C., Crisóstomo, F., Castral, T. C., Fernandes, J. B., Corrêa, A. G., Bueno, O. C., Bacci, M., Hebling, M. J. A., Vieira, P. C., da Silva, M. F.G. F., “Synthetic Amides toxic to the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens rubropilosa* L. and its Symbiotic Fungus”, *Agric. Forest. Entomol.* 8, 17-23, 2006.
- Pagnocca, F.C.; Ribeiro, S.B.; Torkomian, V.L.; Hebling, M.J.A.; Bueno, O.C.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; da Silva, M.F.G.F. and Ferreira, A.G. Toxicity of lignans to symbiotic fungus of leaf-cutting ants. *J. Chem. Ecol.*, 22: 1325-1329, 1996.
- Penteado, S.R.C. Pulgão do Pinus – Nova Praga Florestal. In: 1º Simpósio do cone sul sobre manejo de pragas e doenças de Pinus. Curitiba, PR. Anais. Série técnica IPEF. V. 13, nº 33. 2000.
- Penteado, S.R.C.; Trentini, R.F.; Iede, E.T.; Reis Filho, W. Ocorrência, distribuição, danos e controle de pulgões do gênero *Cinara* em *Pinus* spp. no Brasil. Curitiba, PR. Revista Floresta. v. 30, nº1 e 2, p. 55-64, 2000.
- Pereira, L.G.B., Castral, T. C., Silva, M.T.M., Amaral, B. R., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Silva, M. F. G. F., Corrêa, A. G., “Insecticidal Activity of Synthetic Amides on *Spodoptera frugiperda*”, *Z. Naturforsch. C*, 61, 196-202, 2006.
- Rodionova, N.A. and Bezborodov, A.M. Localization of enzyme systems that degrade cell wall polysaccharides in higher plants: pectinases (Review). *Appl. Biochem. Microb.*, 33: 415-432, 1997.
- Rodrigues, C. M.; Takita, M. A.; Coletta-Filho, H. D.; Olivato, J. C.; Caserta, R.; Machado, A. M.; Souza, A. A. Copper resistance of biofilm cells of the plant patogen *Xylella fastidiosa*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77, 1145-1157, 2008.
- Rosseti, V. V. Manual Ilustrado de Doenças dos Cítrus. Piracicaba: FEALQ-FUNDECITRUS. 207p. 2001.
- Saadoun, I.; Gharaibeh, R. The *Streptomyces* flora of Badia region of Jordan and its potencial as a

- source of antibiotics active against antibiotic-resistant bacteria. *Journal of Arid Environments*, London, v. 53, p.365-371, 2003.
- Sakai, T.; Sakamoto, T. and Hallaert, J. Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties and applications. *Adv. Appl. Microb.*, 39: 213-294, 1993.
- Sampaio, J. P., et al. Polyphasic taxonomy of basidiomycetous yeasts genus *Rhodosporeidium*: *Rhodosporeidium kratochvilovae* and related anamorphic species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, Reading, v.51, p.687-697, 2001.
- Santana, D. L. Q.; A. M. Menezes Jr; H. Da Silva; A. F. J. Bellote & R. M. Favaro. O psilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) em eucalipto. EMBRAPA Comunicado técnico 105: 1-3, 2003.
- Severino, R.P.; Vieira, A.; Bacci Jr., M.; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C. and da Silva, M.F.G.F.; Efeito do Óleo de *Anacardium occidentale* L. na Atividade de Pectinase Presente no Intestino de Formigas *Atta sexdens*. Resumo XVI Simpósio de Mirmecologia, anexo do livro de resumos, Florianópolis, SC, 2003.
- Silva, A. *Participação do fungo Leucocoprinus gongylophorus na Produção de Enzimas Intestinais da Formiga Atta sexdens*. Rio Claro, Instituto de Biociências - UNESP, 1999. Dissertação de Mestrado. 104 p.
- Silva, A.; Bacci Jr., M.; Siqueira, C.G.; Bueno, O.C.; Pagnocca, F.C. and Hebling, M.J.A. Survival of *Atta sexdens* workers on different food sources. *J. Insect Phys.*, 49: 307-313, 2003.
- Singer, R. *The agaricales in modern taxonomy*, 4^a ed. Koenigstein: Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Geman, 1986, 477p.
- Siqueira, C.G. *Estudo do potencial metabólico do fungo Leucocoprinus gongylophorus Heim, associado aos ninhos de Atta sexdens rubropilosa Forel (Hymenoptera: Formicidae)*. Rio Claro, Instituto de Biociências - UNESP, 1997. Dissertação de Mestrado. 66 p.
- Siqueira, C.G.; Bacci Jr., M.; Pagnocca, F.C.; Bueno O.C. and Hebling M.J.A. Metabolism of plant polysaccharides by *Leucoagaricus gongylophorus*, the symbiotic fungus of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 4820-4822, 1998.
- Souza, J.C. de; Reis, P.R. Traça do tomateiro: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízo e controle. Belo Horizonte: EPAMIG, 1992. 20p. (Boletim técnico, 38).
- Souza, N.A.; Fernandes, J.B.; Fernandes, M.N. e Leite, E.R. Distribuição de sensilas nas antenas de duas castas estéreis de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae), CIC UFSCar, 2006.
- Sutton, B.C.; Waterston, J.M. *Guignardia citricarpa*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria n. 85. CAB International, Wallingford, UK, 1966.
- Teixeira, D. C.; Danet, J. L.; Eveillard, S.; Martins, E. C.; de Jesus Junior, W. C.; Yamamoto, P. T.; Lopes, S. A.; Bassanezi, R. B.; Ayres, A. J.; Bove, J. M. Citrus Huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR Detection of the “*Candidatus liberibacter*” Species Associated With the Disease. *Mol. Cell Probes*. 19, 173-179, 2005a.
- Teixeira, D. C.; Saillard, C.; Eveillard, S.; Danet, J. L.; Costa, P. I.; Ayres, A. J.; Bove, J. M. “*Candidatus liberibacter americanus*”, Associated With Citrus Huanglongbing (Greening Disease) in São Paulo State, Brazil. *Inst. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 1857-1862, 2005b.
- Thakur, B.R.; Singh, R.K. and Handa, A.K. Chemistry and uses of pectin – A Review. *Crit. Food Sc. Nutr.*, 37: 47-73, 1997.
- Timmer, I. W.; Solel, Z.; Gottwald, T. R.; Ibañez, A. M.; Zitko; S. E. Environmental factors affecting production, release, and field populations of conidia of *Alternaria alternata*, the cause of brown spot of citrus. *Phytopathology*, v. 88 (11), 1218-1223, 1998.
- Valicente, F. H.; Cruz, I. Controle biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* com baculovirus. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS. 1991. 23p. (EMBRAPA/CNPMS. Circular Técnica, n. 115).
- Valle, G.E.; Lourenção, A.L. Resistência de genótipos de soja a *Bemisia tabaci* (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotropical Entomology*, v.31, n.2, p.285-295, 2002.
- Wilcken, C. F.; E. B. Couto; C. Orlato; P. J. Ferreira-Filho & D. C. Firmino. Ocorrência do psilídeo-de-concha (*Glycaspis brimblecombei*) (Hemiptera, Psyllidae) em florestas de eucalipto no Brasil.

Circular técnica – IPEF 201: 1-11, 2003

- Yarrow, D. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. In: Kurtzman, C.P., Fell, J.W. The Yeasts, a Taxonomic Study. Amsterdam: Elsevier, 1998. p.77-100.
- Zavan, C.; Bacci Jr., M.; Bueno, O.C.; Hebling, M.J.A.; Leite, A.C. and Fernandes, J.B. Organic extracts from *Cedrela fissilis* inhibit pectinases from the gut of leaf-cutting ants. Programa e Resumos da XXXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, L-04, p.130, Caxambu, MG, 2003.

Presentations of scientific works at conferences

National events:

About 77 scientific works were presented in national conferences, which can be found in the annex.

International events:

- Costa, E. V. ; Maia, B ; Pinheiro, M. L.; Braga, R. M. ; Marques, F. A.; Ruiz, A.L.T.G. ; Carvalho, J. E. Bioactive constituents from the leaves of *Guatteropsis friesiana* (Annonaceae). In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 09 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos, 2009. v. 1. Pôster.
- Costa, E. V.; Maia, B; Pinheiro, M.; Marques, F. A.; Braga, R. M.; Delarmelina, C.; Duarte, M. C. T. Antimicrobial activity of the aporphine alkaloids isolated from the bark of *Guatteropsis friesiana* (Annonaceae). In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 09 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos, 2009. v. 1. Pôster.
- de Hoog, G. S.; Attili-Angelis, D.; Rodrigues, A.; Pagnocca, F. C. Chaetothyriales associated with leafcutter ants: opportunistic species. In: The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology, 2009, Tokyo. Annals of The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology, 2009.
- Domingues V. C.; Cazal C. Cazal; Fernandes J. B.; Bueno O. C.; Ceccato M.; Silva, M. F. G. F.; Vieira P. C. SEARCH OF INSECTICIDAL COMPOUNDS OF *Trichilia sp.* (MELIACEAE). Congresso: 2nd BCNP- Brazilian Conference on Natural Products. São Pedro, 2009.
- Forim, M. R., da Silva, M. F. das G. F., Rodrigues-Filho, E., Fernandes, J. B., Vieira, P. C. Chemical characterization of *Azadirachta indica* (Neem) grafted on *Melia azedarach*, nanoencapsulation of Neem oil and its insecticidal effect (Poster). 42nd IUPAC Congress, 02-07 August 2009, In Glasgow, Escócia.
- Gomes, S.V.F.; Santos, A.D.C.; Martins, L.R.R.; Viana, M.D.; Moraes, V.R.S.; Nogueira, P.C.L.; Cass, Q.B.; Alves, P.B.; Machado, S.M.F.; Pereira Filho, E.; Blank, A.F. Differentiation of *Lippia gracilis* Shauer Genotypes by High Performance Liquid Chromatography Fingerprint and Chemometrics Analysis. PS114. 2nd Brazilian Conference on Natural Products (Abstracts, 2009), São Pedro-SP (09 a 12 de novembro de 2009).
- Gomes, W.F.; Santos, A.D.C.; Nogueira, P.C.L. Sazonal and drying evaluation on volatile composition from leaves of *Hancornia speciosa* Gomes. PS-195. 2nd Brazilian Conference on Natural Products (Abstracts, 2009), São Pedro-SP (09 a 12 de novembro de 2009).
- Kitamura, R.O.S.; Silva, M.F.G.F.; Vieira, P.C.; Fernandes, J.B. Phytochemistry study in Picramniaceae: determination of an anthraquinone and steroid isolated from *Picramnia bahiensis*. 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 2009. 09 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos, 2009. v. 1. Pôster.
- Marques, F. A. ; Fischer, M. L ; Ramires, E. N.; Delay, C. E. ; Fontana, J. D.; Marques-da-Silva, E.; Schulz, S . Chemical Signals Involved in the Attraction and Courtship Behavior of the Brown Spider *Loxosceles Intermedia*. In: 25th Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology, 23/08 a 27/08 2009, Neuchatel, Suíça. Apresentação oral.
- Moure, V. R. ; Fabricio, C. ; Frensch, G. ; Marques, F. A. ; Mitchell, D. ; Krieger, N. . Influence of Immobilization and Temperature on The Resolution of Racemic Secondary Allylic Alcohols

- Catalyzed By Burkholderia cepacia LTEB11 lipase. In: 13th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 2009, São Pedro – SP, 31/08 a 04/09, Book of abstracts – Pôster.
- Moure, V. R. ;Wosch, C. L.; Marques, F. A. ; Mitchell, D. ; Krieger, N. . Effect of organic solvent on the kinetic resolution of (R,S)-1-(4-chlorophenyl)prop-2-en-1-ol catalyzed by Burkholderia cepacia LTEB11 lipase immobilized on accurel. 2009. In: 13th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 31/08 a 04/09 2009, São Pedro – SP, Book of abstracts – Pôster.
- Ribeiro, S.S.; Nogueira, P.C.L.; Moraes, V.R.S.; . Pessoa, A.M.S; Silva-Mann, R. Volatile compounds from leaves of *Jatropha curcas* L.” PS-190. 2nd Brazilian Conference on Natural Products (Abstracts, 2009), São Pedro-SP (09 a 12 de novembro de 2009).
- Rocha, M. E.; Pinto, M.M., Corrêa, A. G. Microwave-Assisted Synthesis of Xanthenes, 1st National Meeting on Medicinal Chemistry, 2008, Porto, Portugal.
- Santos, A.D.C.; Sampaio, T.S.; Moraes, V.R.S.; Nogueira, P.C.L.. Chemical profile of the latex from *Hancornia speciosa* Gomes by HPLC-DAD-ELSD.” PS-257. 2nd Brazilian Conference on Natural Products (Abstracts, 2009), São Pedro-SP (09 a 12 de novembro de 2009).
- Santos, D.S.; Jesus, J.R.; Martins, L.R.R.; Navickiene, S.; Santos, C.A.; Blank, A.F.; Nogueira, P.C.L.. A Fingerprint method by high performance liquid chromatography for evaluation of spilanthol content among *Spilanthes acmella* L. genotypes. PS-212. 2nd Brazilian Conference on Natural Products (Abstracts, 2009), São Pedro-SP (09 a 12 de novembro de 2009).
- Santos, E. L.; Magalhães, E. G.; Tozzi, A. M.; Marques, F. A.; Maia, B . Dibenzoylmethanes from *Lonchocarpus filipes* (Leguminosae) root bark. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 09 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos, 2009. v. 1. Pôster.
- Sarria A. L. F.; Nebo L.; Terezan A. P.; Fernandes J. B.; Vieira P. C.; Silva, M. F. G. F. Antimicrobial activity of dimeric chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* – Anacardiaceae. 2nd BCNP (Brazilian Conference on Natural Products). São Pedro SP, novembro de 2009.
- Severino, V. G. P., Freitas, S. D. L., R. Lucarini, Silva, M. F. G. F., J. B. Fernandes, P. C. Vieira, M.G.S. Mendes, C.H.G. Martins; Antimicobacterial Activity of Crude Extracts and Compounds isolated from leaves of *Hortia oreadica* (RUTACEAE) In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 09 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos, 2009. v. 1. Pôster.
- Soares, M.S., Forim, M.R., da Silva, M. F. G. F., Rodrigues-Fo, E., Fernandes, J.B., Vieira, P.C., Cass, Q.B., Souza, A.S., Machado, M.A. Quantification of the chemical profile induced in healthy *Citrus sinensis* and *C. limonia* by inoculation with *Xylella fastidiosa* (Poster). 57th International Congress and Annual Meeting of The Society for Medicinal Plant and Natural Product Research, 17-20 August 2009, In Genébra, Suíça
- Vaz, N. P.; Braga, R. M. ; Marques, F. A.; Mikich, S. B.; Maia, B . Caavuranamide a new steroidal alkaloid from the ripe fruits of *Solanum caavurana* Vell (Solanaceae). In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 9 a 12 novembro 2009, São Pedro. Livro de Resumos. SBQ : Sociedade Brasileira de Química, 2009. v. 1. Pôster.
- Wosch, C. L.; Marques, F. A. ; Maia, B. H. L. N. S.; Lenz, C. A.; Guerrero Junior, P. G.. Enantioselective Addition of Diethylzinc to Aldehydes. 2009. In: 13th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, 2009, São Pedro – SP, 31/08 a 04/09, Book of abstracts – Pôster.

Human Resources Capacitation Activities

Master Dissertations

Adviser: Antonio Gilberto Ferreira UFSCar

1. Maiara da Silva Santos; Título da dissertação: Avaliação do Emprego de Técnicas de RMN e IV Aliados a Métodos Quimiométricos na Investigação de Autenticidade da Droga Vegetal Comercial “Quebra-Pedra”; Data da defesa: 06/02/2009.

Adviser: Edson Rodrigues Filho UFSCar

1. Luciana da Silva Amaral; Título da dissertação: Análise dos Metabólitos Secundários Produzidos por Fungos Endofíticos Associados à *Cupressus lusitanica*; Data da defesa: 12/02/2009.

2. Taicia Pacheco Fill; Título da dissertação: Biossíntese de Bis-Fenilpropanoides Produzidos pelo Fungo *Penicillium brasilianum*, um Endofítico de *Melia azedarach*; Data da defesa: 12/02/2009.
3. Thaís Gimenes Greco; Título da dissertação: Estudo do Perfil Químico de Microorganismos Endofíticos de *Muraya paniculata*; Data da defesa: 31/07/2009.

Adviser: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Vanice Fátima Schneider; Título da Dissertação: Avaliação da existência de semioquímicos voláteis e de contato mediando a comunicação inter e intraespecífica do caramujo invasor *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca:Achatinidae): perspectivas para o manejo. Data da defesa: 30/06/2009.

Adviser: João Batista Fernandes UFSCar

1. Tatiani Mesquita Bondancia; Título da dissertação: Estudo Fitoquímico Biomonitorado das Folhas e Caule de *Rauia* sp Sobre Formigas Cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa*) e Sobre a Lagarta do Cartucho-do-Milho (*Spodoptera frugiperda*); Data da defesa: 11/09/2009.

2. Mayra Elisa Rodrigues Silva; Título da dissertação: Estudo Fitoquímico de *Helieta puberula* (Rutaceae) e *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae); Data da defesa: 24/09/2009.

Adviser: Dr. José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Angelina Maria Marcomini; Título da Dissertação: Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de óleo e extrato de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith); Data da defesa: 09/10/2009.

Adviser: Maria Fátima das G. F. da Silva UFSCar

1. Barbara Sayuri Belleste; Título da dissertação: Estudo Fitoquímico de *Conchocarpus marginatus* (RUTACEAE) e Avaliação do Potencial Biológico dos Compostos Isolados; Data da defesa: 27/03/2009.

Adviser: Quezia Bezerra Cass UFSCar

1. Kenia Lourenço Vanzolini; Título da dissertação: Métodos para a Determinação Enantiomérica dos Fármacos Omeprazol, Lansoprazol e Pantoprazol em Águas Residuais e de Estuário; Data da defesa: 17/04/2009.

Doctorate Theses

Adviser: Antonio Gilberto Ferreira UFSCar

1. Elisângela Fabiana Boffo; Título da tese: Utilização da RMN Aliada a Métodos Quimiométricos na Análise de Méis e Aguardentes; Data da defesa: 17/02/2009.

Adviser: Edson Rodrigues Filho UFSCar

1. Gezimar Donizetti de Souza; Título da tese: Toxinas Produzidas por Fungos dos Gêneros *Alternaria* e *Fusarium*: Aspectos Analíticos e Químico-Ecológicos; Data da defesa: 02/02/2009.
2. Bianca Ferreira da Silva; Título da tese: Estudo do Potencial de Micro-organismos Endofíticos para a Biotransformação de Produtos Naturais e Análogos Sintéticos; Data da defesa: 27/11/2009.

Adviser: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Scheila Ribeiro Messa Zaleski; Título da tese: *Pissodes castaneus* (De Geer) (Coleoptera, Curculionidae): Bioecologia, Feromônio sexual, Variabilidade genética e aspectos do Monitoramento e Controle; Data da defesa: 23 de junho de 2009.
2. Crisleide Maria Lazzarotto; Título da tese: Adaptabilidade das espécies exóticas *Greenidea ficicola* Takahashi e *Greenidea psidii* van der Goot (Hemiptera: Aphididae) modelada pela Lógica fuzzy; Data da defesa: 22 de junho de 2009.

Adviser: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Gerane Celly Dias Bezerra; Título da Tese: Efeito de extratos brutos e frações de meliáceas (Rutales: Meliaceae) na sobrevivência e no comportamento de *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomateiro; Datas da defesa: 11/05/2009.

Postdoctoral Theses

Supervisor: M. Fátima das G.F. da Silva UFSCar

1. Thiago André Moura Veiga; Título do projeto: Busca por Candidatos a Herbicidas Inibidores da Fotossíntese a partir de Produtos Naturais; Bolsa: FAPESP.
2. Sebastião da Cruz Silva; Título do projeto: Confirmação de *Botryosphaeria rhodina* como fitopatógeno do Cancro em *Khaya ivorensis*, análise do inseto transmissor deste fungo e busca de

fungicidas; Bolsa: FAPESP.

Supervisor: Paulo Cesar de Lima Nogueira UFSE.

1. Emmanoel Vilaça Costa; Título do projeto: Investigação Química de Espécies de Annonaceae de Sergipe na Busca de Biocidas Naturais; Bolsa: INCT.

Master Dissertations - Final Stage

Adviser: Valéria Regina de Souza Moraes. Co- adviser: Paulo Cesar de Lima Nogueira UFSE.

1. Sandra Santos Ribeiro. Título da Dissertação: Estudo Fitoquímico e Atividade Biológica de *Jatropha curcas* (defesa da dissertação prevista para março/2010).

Adviser: Paulo Cesar de Lima Nogueira UFSE.

1. Daniele Silva dos Santos. Título da Dissertação: Desenvolvimento e Validação de Método Cromatográfico por CLAE para Controle de Qualidade de Plantas Medicinais: *Spilanthes acmella* (L.) Murray e *Lippia gracilis* Shauer. (defesa da dissertação prevista para março/2010).

2. Wesley Faria Gomes. Título da Dissertação: Estudo Químico de Recursos Naturais Renováveis do Estado de Sergipe: *Hancornia speciosa* Gomes. (defesa da dissertação prevista para março/2010).

Ongoing Adversion

Postdoctoral Theses

Supervisor: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Scheila Ribeiro Messa Zaleski; Título do projeto: Análise da toxicidade de materiais de origem botânica frente ao pulgão gigante do Pinus e ao Psílideo de Concha, importantes pragas florestais; Bolsa: INCT.

Supervisor: João Batista Fernandes UFSCar

1. Ana Paula Terezan; Título do projeto: Cultura de microorganismos (fungos e leveduras), ação inibitória sobre os mesmos, isolamento de seus constituintes químicos e biotransformações de produtos naturais com atividade sobre insetos; Bolsa: INCT.

Supervisor: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Paulo César Bogorni; Título do projeto: Avaliação da ação inseticida de extratos vegetais sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Bemisia tabaci* (Gennadius); Bolsa: INCT.

Supervisor: M. Fátima G.F. da Silva UFSCar

1. Ana Cristina Leite; Título do projeto: Elicitação de metabólitos secundários de espécies de *Citrus*; Bolsa: INCT.

Supervisor: Odair Corrêa Bueno UNESP-Rio Claro

1. Eduardo Arrivabene Diniz; Título do projeto: O papel da comunicação sonora na liberação dos comportamentos de preparação do substrato, cuidado com a prole e rainha em formigas cortadeiras; Bolsa: INCT.

2. Gabriela Ortiz; Título do projeto: Larvas de “Attini basais” (Hymenoptera: Myrmicinae) com depósitos de fungo na sua superfície: estudo das relações entre os dois sistemas baseado nos perfis morfológico e bioquímico da cutícula; Bolsa: CNPq-Cota Supervisor.

3. Sandra Verza da Silva; Título do projeto: Lixo de formigas cortadeiras: microbiota e seu impacto na colônia, disposição e comportamento de manuseio; Bolsa FAPESP

Supervisora: Quezia Bezerra Cass UFSCar

1. Paulo R Adalberto; Título do projeto: Desenvolvimento de um imer para triagem em larga escala de inibidores de atividade pectinolítica; Bolsa: INCT.

Supervisro: Ronaldo Censi Faria UFSCar, Co-Supervisor João B. Fermnandes UFSCar

1. Paulo Roberto Brasil de Oliveira Marques; Título do projeto: Desenvolvimento de um biossensor enzimático para avaliação de atividade inseticida em extratos vegetais; Bolsa: INCT.

Doctorate Theses

Adviser: Antonio Gilberto Ferreira UFSCar

1. Eduardo Sanches Pereira do Nascimento; Título do projeto: Análise via RMN da urina de ratos submetidos à ingestão de mercúrio e chumbo; Bolsista: CAPES

2. Katyuscia Veloso Leão; Título do projeto: Aplicação das Técnicas Espectroscópicas e Quimiométricas no Controle de Qualidade de Drogas Vegetais: Embaúba, Malva e Ginseng Brasileiro; Bolsista: CNPq.

3. Luiz Henrique Keng Queiroz Júnior; Título do projeto: Uso do RMS no estado sólido, aliada à análise quimiométrica, para a caracterização de polimorfismo em fármacos; Sem bolsa.

Adviser: Edson Rodrigues Filho UFSCar

1. Bianca Ferreira da Silva; Título do projeto: Estudo do potencial de Micro-organismos Endofíticos para a Biotransformação de Produtos Naturais e Análogos Sintéticos; Bolsista FAPESP.

2. Luciana da Silva Amaral; Título do projeto: a definir; Bolsista CNPq.

3. Taicia Pacheco Fill; Título do projeto: Estudo Genético, Enzimático e Metabólico do microorganismo *Penicillium brasilianum*; Bolsista FAPESP.

Adviser: João Batista Fernandes UFSCar

1. André Lucio Franceschini Sarria; Título do projeto: Obtenção de inseticida e fungicida contra formigas cortadeiras e seu fungo simbionte em *Myracrodruon urundeuva* e de complexos de coordenação com metais de compostos ativos para controle desta praga; Bolsa: FAPESP

2. Cristiane de Melo Cazal; Título do projeto: Estudo fitoquímico de *Trichilia sp* (Meliaceae) associado ao controle de formigas cortadeiras e desenvolvimento de processo de nanoencapsulação; Bolsa: CAPES.

3. Hercules Vicente Ferreira; Título do projeto: Biotransformação de produtos naturais utilizando microorganismos de formigueiro (fungos e leveduras); Bolsa: CAPES

4. Liliane Nebo; Título do projeto: Estudo de *Schinus terebinthifolius*, *Anacardium humile* e *Macairea urundeuva* no controle das formigas cortadeiras; Bolsa: FAPESP.

5. Maria da Paz do N. Moreno; Título do projeto: Isolamento, modificação estrutural e avaliação biológica de frações, compostos isolados e seus derivados da *Hyptis Fruticosa* (Lamiaceae).

Bolsa: CAPES

6. Rodrigo Ossamu Saga Kitamura; Título do projeto: Estudo fitoquímico biomonitorado em *Picramnia bahiensis* e *Thyrsodium schomburgkianum* – Obtenção de inseticida, fungicida contra formigas cortadeiras e seu fungo simbionte e microencapsulação de compostos ativos; Bolsa: FAPESP.

7. Tatiani Mesquita Bondancia; Título do projeto: Estudos biomonitorados de *Rauia sp* sobre *Atta sexdens rubropilosa* e *Leucoagaricus gongylophorus*, de *Stryphnodendron polyphyllum* sobre *Apis mellifera* e obtenção de biorreator de maltose; Bolsa: CAPES.

8. Karla da Silva Malaquias; Título do Projeto: Estudo químico e histoquímico das glândulas metapleural e labial de formigas cortadeiras e a influência destas nas relações simbiotes presentes nos jardins de fungo; Bolsa: CNPq

Adviser: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Fátima Teresinha Rampelotti-Ferreira; Título do projeto: Avaliação de formulações nanoencapsuladas de nim e extratos orgânicos de outras Meliaceae sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) e o efeito associado ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*; Bolsa: CNPq.

2. Rafael Major Pitta; Título do projeto: Efeito inseticida de extratos orgânicos de meliáceas sobre *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Hemiptera: Aphididae) e seletividade ao seu parasitóide *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Aphididae); Bolsa: CAPES.

Adviser: Maria Fátima das G. F. da Silva UFSCar

1. Barbara Sayuri Belleto; Título do projeto: Estudo da variação do perfil químico entre plantas de citrus com greening e sadias, visando obter metabólitos indicativos de mecanismo de defesa; Bolsa: CAPES.

2. Katia Roberta Prieto; Título do projeto: Estudo Químico do Fungo *Alternaria alternata* obtido do Citrus Tangerina Murcott; Bolsa: CNPq.

3. Márcio Santos Soares

Título do projeto: Estudo da Variação do Perfil Químico no Enxerto de *Citrus sinensis* sobre *C. limonia* com Sintoma de CVC após a Inoculação de *Xylella fastidiosa*, sem sintoma mas com a Bactéria presente e Planta Sadia; Bolsista CNPq.

4. Marsele Machado Isidoro; Título do projeto: Estudo da variação do perfil químico da laranja pêra e

tangerina tangor “Murcott” após a inoculação do fungo *Alternaria alternata*; Bolsa: CNPq.

5. Moacir dos Santos Andrade; Título do projeto: Estudo Químico da bactéria *Xylella fastidiosa*, *Diaphorina citri* e interações com citros; Bolsa: CNPq.

6. Murilo Marinho de Castro Lima

Título do projeto: Estudo Fitoquímico, Farmacognóstico e Agroquímico de *Waltheria brachypetala* e *Melochia spicata* (Malvaceae) na busca de novos candidatos a fármacos e inseticidas; Bolsista CAPES.

7. Olívia Moreira Sampaio

Título do projeto: Busca por possíveis inibidores da fotossíntese (herbicidas) em plantas da ordem Sapindales; Bolsista FAPESP.

8. Vanessa Gisele Pasqualotto Severino; Título do projeto: Estudo Químico de Plantas de *Hortia* e do Fungo *Guignardia citricarpa*: Busca de Compostos de Partida Bactericidas à *Xylella fastidiosa* e Fungicidas à *G. citricarpa*; Bolsa: FAPESP.

Adviser: Odair Corrêa Bueno UNESP-Rio Claro

1. Amanda Aparecida Carlos; Título do projeto: Semioquímicos e comunicação sonora em formigas cortadeiras (Hymenoptera, Formicidae); Bolsa: FAPESP

Adviser: Quezia Bezerra Cass UFSCar

1. Bianca Rebelo Lopes Simões; Título do projeto: Quantificação de Fármacos em Leite Materno de Nutrizes com doenças Crônicas por Cromatografia Líquida Multidimensional; Bolsa: CNPq.

2. Marcela Cristina de Moraes; Título do projeto: Desenvolvimento e Aplicação de Biorreatores Capilares para a triagem de Inibidores da Purina Nucleosídeo Fosforilase; Bolsa: FAPESP .

3. Thais Correa Castral; Título do projeto: Desenvolvimento de Métodos para Análise de Glucuronídeos em Urina Humana por Cromatografia Líquida; Bolsa: CAPES.

4. Kenia Lourenço Vanzolini; Título do projeto: a ser definido; Bolsista CNPq.

Adviser: Rose Maria Carlos UFSCar

1. Regina Maria Mendes de Oliveira; Título do projeto: Novos Complexos Metálicos de Inseticidas Naturais: Atividade tóxica, sítios ativos e mecanismos de ação; Bolsa: CAPES.

Master Dissertations

Adviser: Carmen Lucia Cardoso -FFCLRP

1. Joyce Izidoro da Silva; Título do projeto: Desenvolvimento de colunas capilares com a enzima acetilcolinesterase e butirilcolinesterase para a triagem on-line de inibidores seletivos on line; Bolsa: FAPESP (2008/07526-0).

Adviser: Edson Rodrigues Filho UFSCar

1. Diego Zulkiewicz Gomes; Título do projeto: a definir; Bolsa: Cota Orientador CNPq.

2. Florisvaldo Clementino Santos Filho; Título do projeto: Análise de compostos orgânicos voláteis fixos em culturas de microorganismos endofíticos; Bolsa: CNPq.

3. José Vinícius da Silva; Título do projeto: a definir; Bolsa: Cota Orientadora CNPq.

4. Livia Soman de Medeiros; Título do projeto: Estudo Químico de Metabólicos Secundários Produzidos por Microorganismos Endofíticos Isolados de Banana, Pêra e Goiaba; Bolsa: FAPESP.

5. Marília Almeida Trapp; Título do projeto: a definir; Bolsa: FAPESP.

Adviser: João Batista Fernandes UFSCar

1. Keylla Utherdyany Bicalho

Título do projeto: Estudo do perfil fitoquímico de *Spondia dulcis*, isolamento de lignanas de *Virola sebifera* e desenvolvimento de processo de nanoencapsulação; Bolsa: CAPES.

2. Maria Fernanda Martinez Villari; Título do projeto: Estudos fitoquímicos de *Astronium graveolens*, *Pilocarpus giganteus* e *P. ridelianus* e da ação de seus constituintes sobre formigueiros; Bolsa: CNPq.

Adviser: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Angelina Maria Marcomini; Título do projeto: Efeito de extratos e compostos de origem vegetal sobre aspectos fisiológicos da lagarta *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith); Bolsa: CAPES.

2. Leandro do Prado Ribeiro; Título do projeto: Bioprospecção de extratos vegetais e sua interação com protetores de grãos no controle de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae); Bolsa: CAPES.

Adviser: Maria Fátima das G. F. da Silva UFSCar

1. Cristovam do Nascimento Cerqueira

Título do projeto: Estudo fitoquímico-quimiossistemático de espécies de *Galipea* e avaliação do potencial biológico dos compostos isolados; Bolsa: CAPES.

2. Israel Cívico Gil de Sá; Título do projeto: Busca por possíveis metabólitos secundários inibidores da fotossíntese; Bolsa: FAPESP.

3. Sâmya Danielle Lima de Freitas; Título do projeto: Estudo quimiossistemático de espécies de *Hortia* (Rutaceae) e busca de fungicidas à *Guignardia citricarpa*; Bolsa: CNPq.

Adviser: Odair Corrêa Bueno UNESP-Rio Claro

1. Tais Garcia Freitas; Título do projeto: Toxicidade de extratos de *Rauia* sp. (Rutaceae) para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae); Bolsa: FAPESP

Adviser: Paulo Cesar de Lima Nogueira UFSE

1. Valéria Santos Santana; Título do Projeto: Caracterização Química de Hidrolatos de Plantas Aromáticas e Medicinais através de CG-EM e CG-enantiosseletiva; Bolsa: FAPITEC/SE.

Adviser: Quezia Bezerra Cass UFSCar

1. Ricardo da F. Sprenger; Título do projeto: Espectrometria de múltiplos estágios para a diferenciação química de quatro espécies do gênero *Phyllanthus* através do uso de LC-MS; Bolsa: CNPq.

2. Tiago de Campos Lourenço; Título do projeto: Estudos de separação enantiosseletiva para uma série de sulfóxidos quirais em colunas poliméricas; Bolsa: FAPESP.

3. Vinicius Augusto Perasolo e Carvalho; Título do projeto: Caracterização química por cromatografia de alta eficiência e a análise quimiométrica de espécies vegetais de *Bauhinia* (Fabaceae) e aplicação em controle de qualidade de amostos comerciais de “pata-de-vaca”; Bolsa: CAPES.

Adviser: Tiago Venâncio UFSCar

1. Claudimar Junker Duarte; Título do projeto: a definir; Bolsa: CAPES.

Adviser: Valéria Regina de Souza Moraes UFSE.

1. Pedro Ernesto Oliveira da Cruz; Título do projeto: Investigação Química e Biológica de *Annona salzmännii* A.DC. (Annonaceae); Bolsa: sem bolsa.

Scientific Initiation Program: Undergraduate Studies

Adviser: André Rodrigues, Co-adviser: Fernando Carlos Pagnocca UNESP-Rio Claro

1. Lucas Andrade Meirelles; Título do projeto: Caracterização polifásica de *Escovopsis* sp. (Hypocreales: Ascomycota) associados aos ninhos das formigas cortadeiras; Bolsa: INCT.

Adviser: Carmen Lucia Cardoso -FFCLRP

1. Adriana Ferreira Lopes Vilela; Título do projeto: Desenvolvimento de colunas enzimáticas e métodos de triagem específicos para a Butirilcolinesterase; Bolsa: INCT.

Adviser: Edson Rodrigues Filho UFSCar

1. Heloisa B. Rodrigues Asenha; Título do projeto: Isolamento e produção de compostos inseticidas produzidos pelo fungo *Penicillium* sp, isolado como endofítico de *Melia azedarach*; Bolsa: INCT.

Adviser: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Lais Francine Santos; Título do projeto: Identificação de Cairomônios Mediando a Comunicação Interespecífica entre *P. castaneus* de Diferentes Espécies de Pinus; Bolsa: INCT.

2. Karen Mary Mantovani; Identificação do feromônio sexual do gorgulho da casca do pinus *Pissodes castaneus*; Bolsa: INCT.

Adviser: João Batista Fernandes UFSCar

1. Vanessa de Cássia Domingues; Título do projeto: Estudo fitoquímico de *Trichilia* sp (Meliaceae) associado ao controle de formigas cortadeiras; Bolsa: CNPq - PIBIC e FAPESP.

2. Jaqueline Raquel Batalhão; Título do Projeto: Estudo de extratos e substâncias puras de *Ricinus communis* para controle de formigas cortadeiras - obtenção de ricinina em grande escala – microencapsulamento; Bolsa: CNPq - PIBIC e FAPESP.

3. Viviane Magrini; Título do projeto: Estudo de extratos e substâncias puras de *Ricinus communis* para controle de formigas cortadeiras - obtenção de ricinina em grande escala - microencapsulamento Bolsa: PIBIC – CNPq.

4. Rodney Henrique Bendassolli; Título do projeto: Obtenção de formulação inseticida a base de gergelim; Bolsa: PIBIC - CNPq

5. Ana Carolina Volante; Título do projeto: Ensaios inseticidas e manutenção de *Spodoptera frugiperda*; Bolsa: CNPq - Cota

6. Denise Cristina Martins; Título do projeto: Ensaios fungicidas de plantas da ordem Sapindales frente ao fungo simbionte (*Leucoagaricus gongylophorus*) e ações do extrato metanólico de *Spiranthera odoratissima* no ninho das formigas cortadeiras; Bolsa: INCT.

Adviser: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Marcella Arcaro de Lima; Título do projeto: Efeito de extratos botânicos sobre a traça *Tuta absoluta* (Meyrick); Bolsa: INCT.

Adviser: M. Fátima G.F. da Silva UFSCar

1. Evandro Luis Prieto; Título do projeto: Auxiliar no projeto de doutorado: Obtenção de extratos dos citros laranja pêra e tangerina tangor ‘Murcott’ após a inoculação do fungo *Alternaria alternata*, e Estudo Microbiológico do fungo *Alternaria alternata* e *Botryosphaeria rhodina*; Bolsa: INCT.

2. Tamyris Paschoal Pereira; Título do projeto: Busca de Metabólitos Secundários de *Euclea Natalensis* visando Atividades Biológicas; Bolsa: INCT.

3. Daniela Cristina Coleti Zanetti; Título do projeto: Estudo químico do fungo *Guignardia citricarpa* patogênico de Citrus; Bolsa: FAPESP.

Adviser: Odair Corrêa Bueno UNESP-Rio Claro

1. Amanda Maria Picelli; Título do projeto: Toxicidade de extratos de *Astronium graveolens* e compostos de substâncias puras para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae); Bolsa: INCT.

2. Juliana Werchajzer; Título do projeto: Comportamento de cuidado com a prole de operárias adultas de *Trachymyrmex tucumanus* Forel, 1914 (Hymenoptera, Formicidae); Bolsa: PIBIC – CNPq

3. Manuela de Oliveira Ramalho; Título do projeto: Toxicidade de extratos vegetais para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) e sequenciamento de um fragmento do DNA mitocondrial de *Pachycondyla villosa* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera, Formicidae) e *Camponotus textor* (Forel, 1899) (Hymenoptera, Formicidae); Bolsa: CNPq

4. Pâmela Décio; Título do projeto: Análise Morfológica dos túbulos de Malpighi, do ventrículo e das glândulas pós-faríngeas de operárias adultas de *Atta sexdens rubropilosa* tratadas com hidrametilnona; Bolsa: CNPq

5. Gustavo A. S. Vassão; Título do projeto: Toxicidade de *Astronium graveolens* para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* forel (Hymenoptera: Formicidae); Bolsa: sem.

Adviser: Paulo Cesar de Lima Nogueira UFSE

1. Jemmyson Romário de Jesus; Título do Projeto: Estudo da Composição Química de Plantas Medicinais através CG-EM e CLAE-DAD: Jambú (*Spilanthes acmella* L.) e Velame-do-Campo (*Croton Campestris*); Bolsa: INCT.

2. Thanany Brasil da Silva; Título do Projeto: Estudo Fitoquímico de *Lantana rugosa* Thunb. (Verbenaceae); Bolsa: INCT.

3. Hugo César Ramos de Jesus; Título do Projeto: Recursos Naturais Renováveis do Estado de Sergipe: Estudo Químico do Látex da Mangabeira; Bolsa: COPES/UFSE.

Adviser: Valéria Regina de Souza Moraes. Co-orientador: Emmanoel Vilaça Costa UFSE

1. Aline Menezes de Jesus; Título do Projeto: Estudo Fitoquímico de *Kielmeyera rugosa* Choisy (Clusiaceae) visando à obtenção de metabólitos bioativos; Bolsa: FAPITEC/SE.

Students of Higher & Technical Education

Adviser: Clélia Mara de Paula Marques

1. Priscyla Bettin; Título do projeto: Apóio à atividades de divulgação de ciência; Bolsa: INCT

Adviser: Carmen Lucia Cardoso -FFCLRP

1. Joyce I. Silva; Título do projeto: Desenvolvimento de colunas capilares com a enzima acetilcolinesterase e butirilcolinesterase para a triagem on-line de inibidores seletivos on line; Bolsa: INCT.

Adviser: Fernando Carlos Pagnocca UNESP-Rio Claro

1. Diogo Barcot Tintor; Título do projeto: Efeito de bio-extratos sobre o fungo simbiote de formigas cortadeiras; Bolsa: INCT.

Adviser: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Grece Aparecida Senhorini; Título do projeto: Apoio às atividades de pesquisa do laboratório de ecologia química e síntese de produtos naturais da UFPR; Bolsa: INCT.

Adviser: João Batista Fernandes UFSCar

1. Andréia Pereira Matos; Título do projeto: Atividade inseticida de espécies da ordem Sapindales; Bolsa: INCT

Adviser: José Djair Vendramim – ESALQ/USP

1. Vanessa Minuzzi Bidinoto; Título do projeto: Efeito de extratos de origem vegetal sobre algumas pragas de importância agrícola; Bolsa: INCT.

Adviser: M. Fátima das G.F. da Silva

1. Eliana P. Soares; Título do projeto: Auxílio na administração do projeto INCT-CBIP; Bolsa: INCT.

2. Graciele G. Juarez; Título do projeto: Auxílio na administração do projeto INCT-CBIP; Bolsa: INCT

Students of Secondary & Technical Education

Adviser: Francisco de Assis Marques - UFPR

1. Maria Letícia Cordeiro; Título do projeto: Apoio às atividades de pesquisa do laboratório de ecologia química e síntese de produtos naturais da UFPR; Bolsa: INCT

Adviser: João Batista Fernandes UFSCar

1. João César Bosquetti; Título do projeto: Recuperação de Solventes Orgânicos; Bolsa: INCT

2. Roberta Ligabó Murarolli; Título do projeto: Treinamento em atividades técnicas do projeto INCT-CBIP; Bolsa: INCT

3. Priscila Maria Gonçalves; Título do projeto: Treinamento em atividades técnicas do projeto temático de controle de formigas cortadeiras; Bolsa: FAPESP

Adviser: Odair Corrêa Bueno UNESP-Rio Claro

1. Lucas Gomes Martins; Título do projeto: Toxicidade de extratos das folhas de *Anacardium humile*, tronco de *Hortia oreádica* e conjunto de derivados Diidrocinâmico para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae); Bolsa: INCT.

2. Marcela Ceccato; Título do projeto: Atividade inseticida do extrato e frações do caule de *Trichilia* sp. (Meliaceae) sobre *Atta sexdens rubropilosa*; Bolsa: CNPq

Adviser: M. Fátima das G.F da Silva UFSCar

1. Sonia Pinto Cardoso; Título do projeto: Discriminação das atividades técnicas realizadas no laboratório de bioensaio na UFSCar; Bolsa: INCT.

Adviser: Valéria Regina de Souza Moraes. Co-orientador: Emmanoel Vilaça Costa

1. Charlene Souza dos Anjos; Título do Projeto: Estudo Fitoquímico do Caule de *Kielmeyera rugosa* Choisy (Clusiaceae); Bolsa: INCT.

Perspectives and Further Efforts

- Hold the 2nd NIST-BCPI Performance Evaluation Workshop, in the second semester of 2010.
- Maintain and expand the cooperation activities between the NISTs and with other institutions.
- Continue the chemical studies of plants and microorganisms; and submit the isolated substances to the assays described here.
- Finish the synthesis and/or modification of functional groups of the active molecules isolated from plants and the substances with carbon skeleton equal and similar to those with toxic activity, but with different substituent, focusing on more power of action on pests and less toxicity to humans and other mammals.
- Continue the survey on the diversity of yeasts associated with social insects (especially Attini and Vespidae ants); understand its role in this interaction and perform assays that can be used in the control of leaf cutting ants. We expect to make the access to the database available to other researchers interested in interacting with the Microbiology Laboratory of CEIS by expanding the website contents <http://estirpes.wii-records.com/>.

- Continue the studies and biological assays that will allow understanding and combating the Citrus Variegated Chlorosis (CVC).
- Continue the studies and biological assays that will allow understanding and combating the Citrus Black Spot: *Guignardia citricarpa*
- Continue the studies and biological assays that will allow understanding and combating the Alternaria Brown Spot: *Alternaria alternata*.
- Continue the studies and biological assays that will allow understanding and combating the Huanglongbing (HLB) or Citrus Greening
- Continue the studies and biological assays that will allow understanding and combating the Canker in *Khaya ivorensis* and other hardwoods.
- Continue the studies and biological assays that will allow understanding and combating the attack of the following pests: *Spodoptera frugiperda*, *Bemisia tabaci*, *Tuta absoluta*, *Sitophilus zeamais*, *Rhopalosiphum maidis*, *Pissodes castaneus*, *Cinara atlântica*, *Glycaspis brimblecombei*, *Diaphorina citri*. Expand the number of insects in this study, for example start studies on sharpshooters of the Cicadellinae and Fulgoridae families, specifically *Acraephia perspicillata*.
- Continue the studies on the complexation of bioactive natural products with inorganic ions. Finish the assays with those substances already synthesized and submit the synthesis methodology, the products obtained, and biological assays of those that presented excellent activity to patent (final stage).
- Continue the studies on bioreactors of acetylcholinesterase and other enzymes. Start assays with extracts and natural substances with these bioreactors.
- Continue the studies on bioreactors with pectinolytic activity. Start assays with extracts and natural substances with these bioreactors.
- Continue the studies on bioreactors of acetylcholinesterase. Start assays with extracts and natural substances with these biosensors.
- Upon the arrival of the NMR 14.09 Tesla - 600 MHz, for the hydrogen frequency in June 2010, finish the studies on the interaction plant-insect-microorganisms, which occur through substances present in a scale lower than that detectable in the recently available equipment.
- Analyze the toxicity of natural products that present excellent activities on the assays mentioned above aiming at evaluating the possibility of using them.
- Finish the Human Resources Capacitation Activities, *i.e.*, scientific initiation program, master dissertations, doctorate, postdoctoral theses, etc.
- Submit the results described above to publication.
- Organize the II Sciences workshop entitled "Biorational Control of Pest-Insect", during the National Week of Science and Technology.
- Continue collaborating with the Institutional Program of Grants for New Teaching Staff, CAPES, and waims at promoting the participation of students of the Undergraduate Chemistry Teaching course, UFSCar, in collaborative activities with the Chemistry and Science teachers of public local schools (São Carlos). The NIST-BCPI researches have been participating in science fairs.

Papers Published (see abstract in annex)

- Cardoso, C.L, de Moraes, M.C. Cass, Q.B. Imobilização de enzimas em suportes cromatográficos: uma ferramenta na busca por substâncias bioativas Quim. Nova, Vol. 32, No. 1, 175-187, 2009.
- Cazal C.D., Domingues V.D., Batalhão J.R., Bueno, O. C., Rodrigues Fº., E., Silva, M. F. G. F., Vieira, P. C., Fernandes, J. B. Isolation of xanthyletin, an inhibitor of ant's symbiotic fungus, by high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatography (Print). , v.1216, p.4307 - 4312, 2009.
- Cazal C.D.; Batalhão J.R.; Domingues V.D.; Bueno, O. C.; Rodrigues Fº. E.; Forim, M. R.; Silva, M. F. G. F.; Vieira, P. C.; Fernandes; J. B. High-speed counter-current chromatographic isolation of ricinine, an insecticide from *Ricinus communis*. Journal of Chromatography (Print). v.1216, p.4290 - 4294, 2009.
- Carlos A.A.; Forti L.C.; Camargo R.S.; Moreira S.M.; Verza S.S.; Diniz E.A.; Attractiveness of Different Citrus Pulps to the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera:

- Formicidae). *Sociobiology*, v. 54, n. 3, p. 799-805. 2009.
- Coelho A.R., Tachi M, Pagnocca F.C., Nobrega G.M., Hoffmann F.L., Harada K, Hirooka E.Y. Purification of *Candida guilliermondii* and *Pichia ohmeri* killer toxin as an active agent against *Penicillium expansum*. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 26(1):73-81, 2009.
- Costa, E. V.; Marques, F. A.; Pinheiro, M. L. B.; Vaz, N. P. ; Duarte, M. C. T.; Delarmina, C. ; Braga, R. M.; Maia, B. H. L. N. S.. 7,7-Dimethylaporphine Alkaloids from the Stem of *Guatteropsis friesiana*. Journal of Natural Products (Print), v. 72, p. 1516-1519, 2009. DOI: 10.1021/np800788n.
- Costa, E. V.; Pinheiro, M. L. B.; Marques, F. A. ; Braga, R. M. ; Maia, B. H. L. N. S. First report of alkaloids in the genus *Guatteropsis* (Annonaceae). Biochemical Systematics and Ecology, v. 37, p. 43-45, 2009. DOI: 10.1016/j.bse.2008.11.010.
- Diniz, Eduardo Arrivabene, Bueno, O. C., Almeida, R. N. A. Substrate preparation for the cultivation of the symbiotic fungus in leaf-cutting ants of the genus *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiology. , v.53, p.651 - 666, 2009.
- Diniz, E. A., Bueno, O. C., Carlos, A.A. Behavioral Repertoire of Basal Fungus-Growing Ant Sexuals (Hymenoptera: Formicidae) in the Parental Nest Sociobiology. v.55, p.1 - 7, 2010.
- Fischer, M. L.; Cokl, A ; Ramires, E. N.; Marques-da-Silva, E.; Delay, C.; Fontana, J. D.; Donatti, L.; Schneider, V. F.; Marques, F. A. Sound is involved in multimodal communication of *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão, 1934 (Araneae; Sicariidae). Behavioural Processes (Print), v. 82, p. 236-243, 2009. DOI: 10.1016/j.beproc.2009.06.013.
- Forim, M. R., Cornélio, V. E., da Silva, M. F. das G. F., Rodrigues-Filho, E., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Matinez, S. S., Napolitano, M. P., Yost, R. A. Chemical characterization of *Azadirachta indica* grafted on *Melia azedarach* and analyses of azadirachtin by HPLC-MS-MS (SRM) and meliatoxins by MALDI-MS Phytochemical Analysis, Published Online: Mar 23 2010 1:06AM; DOI: 0.1002/pca.1208
- Lazzari, S. M. N. ; Starkey, S. ; Reese, J. ; Ray-Chandler, A. ; McCubrey, R. ; Smith, C.M. . Feeding behavior of Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotype 2 in response to wheat genotypes exhibiting antibiosis and tolerance resistance. Journal of Economic Entomology, v. 102, p. 1291-1300, 2009. DOI: 10.1603/029.102.0356.
- Marques, F. A. ;Wendler, E. P.; Macedo, A. ; Wosch, C. L.; Maia, B. H. L. N. S.; Mikami, A. Y. ; Arruda-Gatti, I. C. ; Pissinati, A. ; Mingotte, F. L. C.; Alves, A. ;Ventura, M. U.. Response of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) to 1,4-Dimethoxybenzene and Analogs in Common Bean Crop. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 52, p. 1333-1340, 2009.
- Matos, A. P.; Leite, A. C.; Batista-Pereira, L. G.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B. and da Silva, M. F. G. F. Effects of limonoids from *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) on survival, growth and development of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Z. Natuforschung, 64c: 441, 2009).
- Matos, A. P.; Nebo, L.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; da Silva, M. F. G. F. and Ribiero, R. R. Constituintes Químicos e Atividade Inseticida dos Extratos de Frutos de *Trichilia elegans* e *T. catigua* (Meliaceae) (Química Nova, 32: 1553, 2009).
- Navarro-Silva, M. A.; Marques, F. A.; Luna, J. E. D. Review of Semiochemicals that Mediate the Oviposition of Mosquitoes: a Possible Sustainable Tool for the Control and Monitoring of Culicidae. Revista Brasileira de Entomologia (Impresso), v. 53, p. 1-6, 2009.
- Penãflor, M. F. G. V., Almeida, R. N. A., Simote, S. Y., Yamane, Sayuini E., Bueno, O. C., Hebling, M. J. A., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Silva, M. F. G. F., Pagnocca, F. C.. Toxicity of substances isolated from *Simarouba versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) to the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. BioAssay (Piracicaba). v.4, p.1 - 6, 2009.
- Rodrigues A., Cable R.N., Mueller U.G., Bacci M. Jr., Pagnocca F.C. Antagonistic interactions between garden yeasts and microfungi garden pathogens of leaf-cutting ants. Antonie van Leeuwenhoek. 96(3):331-42, 2009.
- Roma, G. C., Bueno, O. C., Camargo-Mathias, M. I. Ultrastructural analysis of the fat body in workers

- of Attini ants (Hymenoptera: Formicidae). *Animal Biology* (Print). v.59, p.241 - 262, 2009.
- Rosa C.A., Jindamorakot S., Limtong S., Nakase T., Lachance M.A., Fidalgo-Jiménez A., Daniel H.M., Pagnocca F.C., Inácio J., Moraes P.B. Synonymy of the yeast genera *Moniliella* and *Trichosporonoides* and proposal of *Moniliella fonsecae* sp. nov. and five new species combinations. *Int J Syst Evol Microbiol.* 59(2):425-9, 2009.
- Santos, D.A.P. dos; Braga, P.A.C.; Silva, M.F.G.F. da; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Magalhães, A.F.; Magalhães, E.G.; Marsaioli, A.J.; Moraes, V.R.S.; Rattray, L., Croft, S.L. Anti-African trypanocidal and antimalarial activity of natural flavonoids, dibenzoylmethanes and synthetic analogues. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 61, 257-266, 2009. (ISSN 0022-3573; DOI 10.1211/jpp/61.02.0017).
- Santos, E. L.; Costa, E. V.; Marques, F. A.; Vaz, N. P.; Maia, B. H. L. N. S.; Magalhaes, E. G.; Tozzi, A. M. A. Toxicidade E Atividade Antioxidante de Flavonóides das Cascas das Raízes de *Lonchocarpus filipes*. *Química Nova* (Impresso), v. 32, p. 2255-2258, 2009.
- Severino, V.G.P., Cazal, C.M., Forim, M.R., da Silva, M.F.G.F., Rodrigues-Filho, E., Fernandes, J.B., Vieira, P.C. Isolation of secondary metabolites from *Hortia oreadica* (Rutaceae) leaves through high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1216, 4275–4281, 2009. doi:10.1016/j.chroma.2009.02.009
- Vieira, Alexsandro Santana, Bueno, Odair Correa, Camargo-Mathias, Maria Izabel The functional morphology of the metapleural gland of the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Formicidae: Attini). *Micron* (Oxford. 1993). , v.41, p.149 - 157, 2010.

Papers in Press (see abstract in annex)

- Cardoso, C. L.; Moraes, M. C. CASS, Quezia B. Imobilização de enzimas em suportes cromatográficos: uma ferramenta na busca por substâncias bioativas. *Quím. Nova* [online]. vol.32, n.1, 2009.
- Forim, M. R.; Matos, A. P.; da Silva, M. F. G. F.; Cass, Q. B.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B. Uso de CLAE no Controle de Qualidade em Produtos Comerciais de Nim: Reprodutibilidade da Ação Inseticida (aceito para *Química Nova*).
- Matos, A. P.; Myamoto D. T.; Alves, A. R.; Leite, A. C.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; and da Silva, M. F. G. F. Potencial inseticida das espécies *Cedrela fissilis* e *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. S. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (aceito Bioassay).
- Matos, A. P., Nebo, L., Vieira, P. C., Fernandes, J. B., da Silva, M. F. das G. F., Rodrigues, R. R. Constituintes químicos e atividade inseticida dos extratos de frutos de *Trichilia elegans* e *T. catigua* (Meliaceae). *Quim. Nova*, Vol. XY, No. 00, 1-4, 2010.
- Nebo, L.; Matos, A. P.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; da Silva, M. F. G. F. e Rodrigues, R. R. Atividade inseticida dos frutos de *Trichilia clausenii* (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (aceito para *Química Nova*).
- Pagnocca F.C., Legaspe M.F., Rodrigues A, Ruivo C.C., Nagamoto N.S., Bacci M Jr., Forti, L.C. Yeasts isolated from a fungus-growing ant nest, including the description of *Trichosporon chiarellii* sp. nov., an anamorphic basidiomycetous yeast. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009. (in press).
- Rodrigues, A. ; Silva, A. ; Bacci Jr, M. ; Forti, L. C. ; Pagnocca, F.C. Filamentous fungi found on foundress queens of leaf-cutting ants. (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, 2009. (in press).
- Roma, G.C.; Bueno, O.C.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Morpho-physiological analysis of the insect fat body: a review. *Micron* – 2010.
- Rosa C.A., Jindamorakot S., Limtong S., Nakase T., Pagnocca F.C., Lachance MA. *Candida golubevii* sp. nov, an asexual yeast related to *Metschnikowia lunata*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009. (in press).
- Terezan, A.P.; Rossi, R.A.; Almeida, R.N.A.; Freitas, T.G.; Fernandes, J.B.; Silva, M.F.G.F.; Vieira, P.C.; Bueno, O.B.; Pagnocca, F.C.; Pirani, J.R. Activities of extracts and compounds from *Spiranthera odoratissima* St. Hil. (Rutaceae) in leaf-cutting ants and their symbiotic fungus. *J.*

Braz. Chem. Soc., 2010.

Books

Corrêa, A. G., Zuin, V. G., “*Química Verde: Fundamentos e Aplicações*”, 1ª. ed. EdUFSCar, São Carlos, 170 p., 2009. ISBN: 978-85-7600-150-8.

Chapters in Books

Dias, R. L. A.; Corrêa, A.G. “Química Combinatória”, in: Química Medicinal. Métodos e Fundamentos em Planejamento de Fármacos. Carlos A. Montanari (ed.), EDUSP, 2010.

Malaspina, Osmar, Bueno, O. C., Augusto, A. V. L., Palma M. S. Biologia dos Himenópteros Sociais In: Alergia a venenos de insetos. 1 ed. Barueri, SP : Editora Manole Ltda., 2009, p. 5-36.

da Silva, M. F. das G. F., Vieira, P. C., Fernandes, J. B., Oliva, G. A diversidade molecular dos metabólitos especiais da ordem Rutales e sua importância na química medicinal; in: Química Medicinal. Métodos e Fundamentos em Planejamento de Fármacos. Carlos A. Montanari (ed.), EDUSP, 2010

Equipaments acquired

UFS

Lyophilizer: Freeze-Drying



UNESP-Rio Claro

Ultrafreezer



ESALQ

Casa de Vegetação (Green House)



ANEXO (ANNEX)

Apresentação de trabalhos em congressos (Presentations of scientific works at conferences)

Eventos nacionais: (National events)

- Aguiar, A. C.; Kostrzepa, C. M. ; Schneider, V. F.; Fischer, M. L.; Marques, F. A.; Kulic, J. D.; Bednarzuk, M. H.; Lenz, C. A.; Maia, B. H. L. N. S. Reação de jovens e filhotes de *Achatina fulica* (Mollusca; Achatinidae) diante de voláteis de muco ou de indivíduos co-específicos. In: XXI Encontro Brasileiro de Malacologia, 19 a 24 de julho 2009, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Pôster.
- Attili-Angelis, D.; Angelis, D. F.; Pagnocca F. C. Espécies de *Exophiala* e *Cladophialophora* degradadoras de hidrocarbonetos. III Workshop de Biodegradação e Biorremediação, Campinas - SP, 2009.
- Attili-Angelis, D.; Angelis, D. F.; Vicente, V.A.; Pagnocca F. C. Fungos negros na biorremediação de solos contaminados por hidrocarbonetos. 25º Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009.
- Bernardo, A. R.; Kuba, E. E.; Matos, A. P.; Fernandes, J. B. Atividades Inseticidas de Espécies da Ordem Sapindales. 12º Congresso de Iniciação Científica da UNICEP, 29 e 30 de outubro de 2009, São Carlos.
- Bogorni, P.C.; Ribeiro, L.P.; Blume, E.; Dequech, S. B.; Brand, S.C.; Junges, E. Toxicity of botanical insecticides on *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.. In: XI Simpósio de Controle Biológico, 2009, Bento Gonçalves, RS. Anais do XI Siconbiol, 2009.
- Borges, W. S.; Rodrigues, A.; Pagnocca. F. C.; Silva, M. F. G.; Fernandes, J. B.; Pupo, M. T.; Vieira, P. C. Estudo químico em cinco fungos do gênero *Escovopsis* isolados de ninhos de formigas *Atta sexdens*. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 1819-1.
- Bueno, M. A.; Correa, A. G.; Silava, L. R. S. P. Synthesis of a small library of acridone alkaloids. In: 13th BMOS, 2009, São Pedro. Book of Abstracts, 2009.
- Carlos, R.M. “Novos Complexos Metálicos de Inseticidas Naturais: Atividade tóxica, sítios ativos e mecanismos de ação”, 17º Encontro da SBQ – Regional, 18 a 20 de Outubro de 2009, Unesp-Araraquara/SP. p.xxx. Anexo 1.
- Carvalho, S. S.; Pitta, R.M.; Vendramim, J. D. Eficiência de nanoformulações à base de óleo de nim sobre *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) biótipo B. In: XVII Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, 2009, Pirassununga. XVII SIICUSP, 2009.
- Carvalho, T. A.; Matos, A. P.; Fernandes, J. B. Atividade Inseticida, Isolamento e Identificação de substâncias de *Myroxylon peruiferum* e *Dimorphandra mollis*. 12º Congresso de Iniciação Científica da UNICEP, 29 e 30 de outubro de 2009, São Carlos.
- Carvalho, T.F.C. e Pagnocca, F.C. Leveduras associadas à *Mycocephurus goeldi* (Hymenoptera: Formicidae), uma Attini basal. 25º Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009.
- Cazal, C. M., Soares, M. S., Nazareth, N., Nascimento, M. S. J., Pinto, M. M. M., Fernandes, J. B., Silva, M.F.G.F. Avaliação da atividade antitumoral de triterpenos damaranos de *Cabralea canjerana*. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza.
- Cazal, C. M.; Forim M. R.; Batalhão, J. R.; Fernandes, J. B.; Silva, M.F.G.F.; Vieira, P. C.; Frollini, E. Nanopartículas poliméricas de ricinina. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza.
- Cazal, C. M.; Forim. M. R.; Batalhão, J. R.; Fernandes, J. B.; Silva, M. F. G.; Vieira, P. C.; Frollini, E. Nanopartículas poliméricas de ricinina. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 1554-1.
- Cazal, C. M.; Soares, M. S.; Nazareth, N.; Nascimento, M. S. J.; Pinto, M. M. M.; Fernandes, J. B.; Silva, M. F. G. Avaliação da atividade antitumoral de triterpenos damaranos de *Cabralea canjerana*. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 1554-2.

- Ceccato M.; Nontillo A.; Sarria A. L. F.; Bueno O. C.; Fernandes J. B.; Vieira P. C.; Silva M. F. G. F. Toxicidade de extratos de *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae) para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). Ouro Preto – MG, 17 a 21 novembro de 2009.
- Ceccato, M.; Kitamura, R.O.S.; Bueno, O.C.; Fernandes, J.B.; Silva, M.F.G.F.; Vieira, P.C. Toxicidade de extratos brutos de *Picramnia bahiensis* (Picramniaceae) para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). XXII Congresso Brasileiro de Entomologia, 2008.
- Conceschi, M. R.; Lopes, A. T.; Bet, J.; Mazzone, F.; Vendramim, J. D. Efeito repelente de pós de origem vegetal sobre *Sitophilus zeamais* (Mots., 1855) (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. In: XI SICONBIOL - Simpósio de Controle Biológico, 2009, Bento Gonçalves, RS. Anais do XI Siconbiol. , 2009.
- Cruz, A.S.; Angelis, D. F.; Pagnocca, F.C.; Attili-Angelis, D. Fungos transientes no Rio Atibaia, Paulínia, SP. IV Simpósio de Microbiologia Aplicada, Rio Claro, SP, 2009.
- Cruz, A.S.; Angelis, D. F.; Pagnocca, F.C.; Attili-Angelis, D. Identificação, Preservação e Foto-Documentação de Fungos Isolados do Rio Atibaia, Paulínia, SP. 25º.Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009
- Dayo-Owoyemi, I.; Rodrigues, A.; Malaspina, O.; Carbonari, V. e Pagnocca, F.C. Yeasts isolated from local honey samples obtained from the state of Mato Grosso do Sul. 25º.Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009.
- Decio, P., Bueno, O. C., Silva-Zacarin, E., Bueno, Fabiana Correa. Alterações ultraestruturais em órgãos de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) tratadas com hidrametilnona In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.
- Diniz, E. A.; Bueno O. C. Comportamentos de cuidado com a cria em espécies basais de formigas cultivadoras de fungo. In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.
- Duarte, P. D.; Carmona, R. C.; Correa, A. G. Microwave-assisted synthesis of 2-substituted-4-quinolinones. In: 13th BMOS, 2009, São Pedro. Book of abstracts, 2009.
- Eca, M.; Correa, A. G.; Pinto, M. M. M. Microwave-Assisted Synthesis of Novel Fluoroxanthenes. In: 13th BMOS, 2009, São Pedro. Book of abstracts, 2009.
- Endo, B.L.; Souza, D.H.F. 'Expression and characterization of the GumM , a glycosyltransferase from *Xylella fastidiosa*' 38^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, Águas de Lindoia, Maio de 2009.
- Ferreira, N. S.; Castro, K. C. F.; Arruda, M. S. P.; Silva, M. N.; Arruda, A. C.; Guilhon, G. M. S. P.; Santos, L. S.; Silva, M. F. G. F.; Ohashi, O. S. Avaliação da atividade inseticida e/ou deterrente alimentar de limonóides de *Swietenia macrophylla* sobre *Hypsipyla grandella* – Parte II. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 828-2.
- Freitas, T. G., Bueno, O. C., Fernandes, J. B., Silva, M.F.G.F, Vieira, P. C. Toxicidade de *Rauia* sp. (Rutaceae) para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae) In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.
- Freitas, T.G.; Kitamura, R.O.S.; Bueno, O.C.; Fernandes, J.B.; Silva, M.F.G.F.; Vieira, P.C. Toxicidade de extratos brutos de *Thyrsodium schomburgkianum* (Anacardiaceae) para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). XXII Congresso Brasileiro de Entomologia, 2008.
- Guedes, F.L.A.; Panhocca F.C.; Attilis-Angelis, D. Fitopatógenos associados às formigas cortadeiras. 25º.Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009.
- Guedes, F.L.A.; Panhocca F.C.; Attilis-Angelis, D. Fungos melanizados associados às formigas cortadeiras. IV Simpósio de Microbiologia Aplicada, Rio Claro, SP, 2009.
- Jesus, C. M., Bueno, O. C. Fluxo de lipídeos no sistema digestório de operárias de *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.

- Kitamura, R. O. S.; Freitas, T. G.; Bueno, O. C.; Silva, M. F. G. F.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B. Busca de compostos em *Picramnia bahiensis* com atividade inseticida. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 633-1.
- Kuba, E. E.; Fernandes, J. B.; Matos, A. P.; Bondancia, T.; Alves, A. R.; Vieira, P. C.; Silva, M. F. G. F. Busca de compostos inseticidas em *Rauia* sp sobre o desenvolvimento da lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). XVII Congresso de Iniciação Científica durante a Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica da UFSCar, de 05 a 09 de outubro de 2009, São Carlos.
- Lattanzio N. A.; Sarria A. L. F.; Trivella D.; Vieira P. C.; Fernandes J. B.; Silva, M. F. G. F.; Polikarpov I. Busca de inibidores da Transtirretina (TTR) Humana em extratos de *Myroxylon peruiferum* (Fabaceae). 32ª Reunião Anual Sociedade Brasileira de Química. Fortaleza, Ceará, 02 de junho de 2009. (Painel premiado na área de produtos naturais).
- Lattanzio, N. A.; Sarria, A. L. F.; Trivella, D. B. B.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; Silva, M. F. G.; Polikarpo, I. Busca de inibidores da Transtirretina (TTR) humana em extratos e substâncias isoladas de *Myroxylon peruiferum* (FABACEAE). 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 1534-1.
- Lattanzio, N. A.; Matos, A. P.; Vieira, P. C. Estudo biomonitorado de extratos vegetais de *Myroxylon peruiferum* (Fabaceae) sobre a transtirretina humana (TTR). 12º Congresso de Iniciação Científica da UNICEP, 29 e 30 de outubro de 2009, São Carlos.
- Lucarini, R.; Severino, V. G. P.; Cazal, C. M.; Silva, M. F. G. F.; Fernandes, J. B.; Vieira, P. C.; Cunha, W. R.; Martins, C. H. G. Potencial Antibacteriano de Flavonóides Frente à *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC- O157:H7). 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 311-2.
- Marcomini, A. M., Vendramim, J. D., Forim, M. R. Teste de nanoformulações de nim para controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) In: XI SICONBIOL - Simpósio de Controle Biológico, 2009, Bento Gonçalves, RS. Anais do XI Siconbiol. , 2009.
- Marques, E. F.; Severino, R. P.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; Silva, M. F. G. Avaliação do potencial químico de plantas do gênero *Zanthoxylum* L. Por Clae-Dad buscando inibidores específicos de catepsina L. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 1718-1.
- Martins, L. G., Fernandes, J. B., Nebo, L., Bueno, O. C. Toxicidade com extratos de caule subterrâneo de *Hortia oreádica* (Rutaceae) em operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.
- Mendes, T.D.; Pagnocca, F.C. Formigas Attini como fonte de isolamento de leveduras degradadoras de celulose. IV Simpósio de Microbiologia Aplicada, Rio Claro, SP, 2009.
- Mendes, T.M.; Pagnocca, F.C. Atividade anti-*Candida* de extratos de actinobactérias associadas à formigas Attini. 25º.Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009.
- Mendes, T.M.; Pagnocca, F.C. Atividade antimicrobiana de extratos de actinobactérias associadas à formigas Attini. 25º.Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009.
- Nebo L.; Sarria A. L. F.; Freitas T. G.; Fernandes J. B.; Bueno O. C.; Vieira P. C.; Silva, M. F. G. F. Atividade Inseticida de extratos e substâncias puras de plantas da Ordem Sapindales sobre *Spodoptera frugiperda* e Formigas cortadeiras. 32ª Reunião Anual Sociedade Brasileira de Química. Fortaleza Ce, 02 de junho de 2009.
- Nebo, L., Sarria, A. L., Freitas, T., Garcia, T., Martins, L. G., Ceccato, M., Bueno, O. C., Fernandes, J. B., Silva, M. F. G. F., Vieira P. C. Atividade inseticida dos extratos orgânicos de plantas da família Anacardiaceae sobre a formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.
- Nebo, L.; Sarria, A. L. F.; Freitas, T.; Matos, A. P.; Fernandes, J. B.; Bueno, O. C.; Vieira, P. C.; Silva, M. F. G. F. Atividade inseticida de extratos e substâncias puras de plantas da Ordem Sapindales,

- sobre *Spodoptera frugiperda* e Formigas cortadeiras. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 461-1.
- Nondilo, A, Ceccato, M, Bueno, O. C., Fernandes, J. B., Silava, M. F. G. F., Vieira, P. C. Toxicidade de extratos brutos de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) para formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.
- Oliveira, R.M.M., Carlos, R.M. Novos Complexos Metálicos de Inseticidas Naturais: Atividade tóxica, sítios ativos e mecanismos de ação, p.xxx. Anexo 1. 17º Encontro da SBQ – Regional, UNESP-Araraquara, 18 a 20 de Outubro de 2009
- Perdigueiro, L.M.; Pagnocca, F.C. Desenvolvendo um banco de dados de microrganismos. Congresso de Iniciação Científica da Unesp.
- Picelli, A. M., Bueno, O. C., Ceccato, M, Reiss, Itamar C Toxicidade de compostos químicos com boro e sódio para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). In: XIX Simpósio de Mircologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mircologia, 2009. v.1. p.1 – 1.
- Ping, L.Y.; Pagnocca, F.C. Seleção de leveduras que metabolizam pentoses. Congresso de Iniciação Científica da Unesp.
- Rampelotti, F. T.; Pitta, R.M. ; Vendramim, J.D. ; Bezerra, G.C.D. Toxic effect of ethanolic extract of *Toona ciliata* on *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). In: XI Simpósio de Controle Biológico, 2009, Bento Gonçalves, RS. Anais do XI Siconbiol, 2009.
- Rampelotti, F.T.; Vendramim, J.D. ; Forim, M.R. . Test of neem nanoformulations for control of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). In: XI Simpósio de Controle Biológico, 2009, Bento Gonçalves, RS. Anais do XI Siconbiol, 2009.
- Ribeiro, L.P.; Vasconcelos, C. J.; Vendramim, J. D.; Oriani, M. G.; Lissner, R. A. Efeito de inseticidas botânicos sobre a atratividade e preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomateiro. In: VI Congresso Brasileiro de Agroecologia e II Congresso Latino-Americano de Agroecologia, 2009, Curitiba, PR. Anais do VI Congresso Brasileiro de Agroecologia e II Congresso Latino-Americano de Agroecologia, 2009. Rev. Bras. De Agroecologia. Vol. 4 No. 2. 2009.
- Rodrigues, A.; Mueller, U. G.; Bacci JR., M.; Pagnocca, F. C. Ecologia dos microfungos associados aos jardins das formigas Attini(Hymenoptera: Formicidae). In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia.
- Rodrigues, A.; Pagnocca, F.C.; Sette, L.D.; Forti, L.C. e Nagamoto, N.S. Perfil da comunidade de microfungos no solo adjacente aos ninhos das formigas cortadeiras. 25º.Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009.
- Rodrigues, A.; Versa, S.S.; Legaspe, M.F.C.; Bueno, F.C.; Bueno, O.C. e Pagnocca, F.C. Viabilidade dos conídios de *Escovopsis weberi* e implicações no conttrole biológico de formigas cortadeiras. IV Simpósio de Microbiologia Aplicada, Rio Claro, SP, 2009.
- Sampaio, O. M.; Veiga, T. A. M.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; Silva, M. F. G. F. Busca por possíveis inibidores da fotossíntese (herbicidas) em plantas da ordem Sapindales. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 584-1.
- Sarria, A. L. F.; Nebo, L.; Freitas. T. G.; Fernandes, J. B.; Bueno, O. C.; Vieira, P. C.; Silva, M. F. G. F.; Carlos, R. M. Atividade inseticida de flavonóides contra a formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* e obtenção de seus complexos com cobre (II). 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 461-2.
- Sarria, A. L., Freitas, Garcia T.; Ceccato, M, Bueno, O. C.; Fernandes J. B.; Silva, M. F. G. F.; Vieira, P. C. Atividade inseticida de produtos naturais isolados de *Myracrodruon urundeuva* frente à *Atta sexdens rubropilosa* In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.
- Sette, L.D.; Passarini, M.R.Z.; Leal, R.R.; Simioni, K.C.M.; Rodrigues, A.; Brito, B.R.; Rocha, A.J. e Pagnocca, F.C. Diversidade de microfungos associados a biofilmes e corrosão de torres de transmissão de energia. 25º.Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009.

- Severino, V. G. P.; Silva, M. F. G. F.; Fernandes, J. B.; Vieira, P. C.; Lucarini, R.; Cunha, W. R.; Martins, C. H. G. Avaliação Antibacteriana de Extratos e Substâncias de *Hortia oreadica* (Rutaceae) frente à Patógenos Causadores de Infecções Pulmonares. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 203-1.
- Silva, J. A.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; Silva, M. F. G. F. *Zingiber officinale*: Busca de Inibidores da Catepsina K. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 919-1.
- Silva, S. C.; Isidoro, M. M.; Fernandes, J. B.; Vieira, P. C.; Filho, E. R.; Silva, M. F. G. F. Novos Constituintes Químicos Isolados do Fungo Patogênico *Botryosphaeria rhodina*. 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza, CE, 30/05-02/06/2009; PN 931-1.
- Silva, S. O.; Bernardo, A. R.; Matos, A. P.; Fernandes, J. B. Química e Atividade Inseticida de *Magonia* e *Matayba* sobre a lagarta-do-cartucho do milho e a lagarta dos eucaliptos. 12º Congresso de Iniciação Científica da UNICEP, 29 e 30 de outubro de 2009, São Carlos.
- Souza, P.S.; Rodrigues, A.; Malaspina, O. e Pagnocca, F.C. Caracterização da comunidade de leveduras em ninhos de *Polybia ignobilis*. 25º.Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009.
- Vanessa C. Domingues, Cristiane M. Cazal, João B. Fernandes, Maria de Fátima G.F. Silva, Paulo C. Vieira. ESTUDO FITOQUÍMICO DA *Trichilia* sp. ATRAVÉS DE HSCCC. 8ª Jornada Científica e Tecnológica da UFSCar: São Carlos, 2009.
- Varella, L.; Matos, A. P.; Terezan, A. P.; Zandonai, D. P. Identificação de Compostos por CG/EM do Extrato Etanólico de Galhos de *Diatenopterix sorbifolia* com Atividade Antimicrobiana. XVII Congresso de Iniciação Científica durante a Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica da UFSCar, de 05 a 09 de outubro de 2009, São Carlos.
- Varella, L.; Zandonai, D. P.; Matos, A. P.; Terezan, A. P. Atividade Antimicrobiana de Espécies das Famílias Meliaceae, Rutaceae e Sapindaceae. 12º Congresso de Iniciação Científica da UNICEP, 29 e 30 de outubro de 2009, São Carlos.
- Vasconcelos, C. J.; Conceschi, M. R.; Oriani, M. A. G.; VendramiM, J. D. Efeito de extratos aquosos de raízes de *Lonchocarpus floribundus* e de *Crotalaria spectabilis* em diferentes concentrações sobre ovos e ninfas de *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B em tomateiro. In: XVII Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, 2009, Pirassununga. XVII SIICUSP, 2009.
- Vassao, G. A.; Ceccato M.; Fernandes J. B.; Bueno, O. C. Toxicidade de extratos brutos *Astronium graveolens* para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.
- Verza, S. S.; Diniz A. R.; Arrivabene E.; Ceccato M.; Bueno O. C. Viabilidade dos esporos de fungos filamentosos presentes no lixo de ninhos de formigas cortadeiras In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1.
- Verza, S.S.; Rodrigues, A.; Legaspe, M.F.C.; Carlos, A.A.; Reis, I.C; Bueno, O.C. e Pagnocca, F.C. Ocorrência de fungos filamentosos no lixo produzido por formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae). 25º.Congresso Brasileiro de Microbiologia, Porto de Galinhas, Ipojuca, Pernambuco, 2009.
- Vieira A. S.; Bueno O. C.; Camargo-Mathias M. I. Morfologia funcional da glândula metapleurale da formiga cortadeira *Atta laevigata* (Formicidae: Attini) In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais do XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.
- Vieira L. C. C.; Cardoso C. L.; Correa, A. G. Synthesis of 3-amide substituted coumarins designed as acetylcholinesterase inhibitors. In: 13th BMOS, 2009, São Pedro. Book of abstracts, 2009.
- Werchajzer J.; Bueno O. C.; Arrivabene E. Comportamento de cuidado com a prole de operárias adultas de *Trachymyrmex tucumanus* Forel, 1914 (Hymenoptera, Formicidae). In: XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009, Ouro Preto, MG. Anais XIX Simpósio de Mirmecologia, 2009. v.1. p.1 – 1.

Papers Published - Abstract

Cardoso, C.L., de Moraes, M.C. Cass, Q.B. Imobilização de enzimas em suportes cromatográficos: uma ferramenta na busca por substâncias bioativas Quim. Nova, Vol. 32, No. 1, 175-187, 2009.

The development and characterization of bioreactors or IMER (immobilized enzyme reactors) as research tools are important in the scope of medicinal chemistry and constitute an alternative for the rational development of drugs. This approach does not require highly purified enzymes or a great amount of protein, but increase the enzymatic stability against heat, organic solvents and pH, without too much loss of catalyst activity. Immobilized enzyme reactors (IMER) can be used for the accomplishment of high efficiency screening on-line and, thus inhibitors can be quickly identified. Here, we emphasize the development of IMER by use of different methods of immobilization and chromatographic supports. Their applications, in different areas of research, are also fully discussed.

Cazal C.D., Domingues V.D., Batalhão J.R., Bueno, O. C., Rodrigues Fº, E., Silva, M. F. G. F., Vieira, P. C., Fernandes, J. B. Isolation of xanthyletin, an inhibitor of ant's symbiotic fungus, by high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatography (Print). , v.1216, p.4307 - 4312, 2009.

Xanthyletin, an inhibitor of symbiotic fungus (*Leucoagaricus gongylophorus*) of leaf-cutting ant (*Atta sexdens rubropilosa*), as well as suberosin, seselin and xanthoxyletin were isolated from *Citrus sinensis* grafted on *Citrus limonia*. A two-phase solvent system composed of hexane/ethanol/acetonitrile/water (10:8:1:1, v/v) was used for the high-speed counter-current chromatographic isolation of xanthyletin with high yield and over 99% purity as determined by liquid and gas chromatography with mass spectrometry detection. Identifications were performed by UV spectra, IR spectra, ¹H NMR and ¹³C NMR.

Cazal C.D.; Batalhão J.R.; Domingues V.D.; Bueno, O. C.; Rodrigues Fº. E.; Forim, M. R.; Silva, M. F. G. F.; Vieira, P. C.; Fernandes; J. B. High-speed counter-current chromatographic isolation of ricinine, an insecticide from *Ricinus communis*. Journal of Chromatography (Print). v.1216, p.4290 - 4294, 2009.

The alkaloid ricinine, an insecticide for leaf-cutting ant (*Atta sexdens rubropilosa*), was obtained from *Ricinus communis*. A two-phase solvent system composed of CH₂Cl₂/EtOH/H₂O (93:35:72, v/v/v) was used for high-speed counter-current chromatographic (HSCCC) isolation of ricinine in high yield and with over 96% purity, as determined by liquid and gas chromatography–mass spectrometry (LC–MS and GC–MS). Identification of ricinine was performed by comparison of ¹H NMR, ¹³C NMR and LC–MS/MS data.

Carlos A.A.; Forti L.C.; Camargo R.S.; Moreira S.M.; Verza S.S.; Diniz E.A.; Attractiveness of Different Citrus Pulp to the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, v. 54, n. 3, p. 799-805. 2009.

The most common control method uses toxic baits consisted of dehydrated citrus pulp as carrier and attractant. However, the portion of the citrus fruit that is attractive to ants is still unknown, despite its importance in chemical control. This study compared the attractiveness of different fruit parts of citrus pulps to *Atta sexdens rubropilosa* workers. Three treatments: pellets of industrial citrus pulp, albedo (mesocarp), and whole citrus pulp were offered randomly to ants and the removal of these substrates by workers was observed. The three pulps were equally attractive to this species (F = 0.8033; p = 0.4633). Although the whole pulp included the epicarp, it was as attractive as the other treatments, possibly because, the material was heated during processing, eliminating any volatile substance that could repel ants.

Coelho A.R., Tachi M, Pagnocca F.C., Nobrega G.M., Hoffmann F.L., Harada K, Hirooka E.Y. Purification of *Candida guilliermondii* and *Pichia ohmeri* killer toxin as an active agent against *Penicillium expansum*. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 26(1):73-81, 2009.

An antifungal assay with cell-free culture supernatant of *Pichia ohmeri* 158 and *Candida guilliermondii* P3 was tested against *Penicillium expansum* strain #2 at 25°C by measuring hyphal length and percentage conidia germination. *C. guilliermondii* was more effective against *P. expansum* conidia germination (58.15% inhibition), while *P. ohmeri* showed higher inhibition of mycelial growth (66.17%), indicating a probable mechanism associated with killer activity. This killer toxin (molecular mass <3 kDa) was partially purified by normal phase HPLC, using TSKgel Amide-80 analytical and preparative columns. Compared with crude extract, the killer toxin eluted from the post analytical column significantly inhibited *P. expansum*:% inhibition rose from 42.16 to 90.93% (*C. guilliermondii*) and 39.32 to 91.12% (*P. ohmeri*) ($p < 0.05$). The one-step purification process was adequate in isolating killer toxin from culture supernatant and also increased anti-*Penicillium* activity.

Costa, E. V.; Marques, F. A.; Pinheiro, M. L. B.; Vaz, N. P. ; Duarte, M. C. T.; Delarmina, C. ; Braga, R. M.; Maia, B. H. L. N. S.. 7,7-Dimethylaporphine Alkaloids from the Stem of *Guatterioopsis friesiana*. Journal of Natural Products (Print), v. 72, p. 1516-1519, 2009. DOI: 10.1021/np800788n.

Phytochemical investigation of a methanolic extract of the stem of *Guatterioopsis friesiana* afforded two new 7,7-dimethylaporphine alkaloids, 6,6a-dihydrodemethoxyguadiscine (**1**) and guatterioopsiscine (**3**), together with demethoxyguadiscine (**2**), liriodenine (**4**), corypalmine (**5**), and coreximine (**6**). Their structures were elucidated on the basis of spectroscopic methods (UV, IR, EIMS, HRESIMS, 1D/2D NMR). The absolute configurations of **1** and **3** were determined from the circular dichroism curves. The presence of 7,7-dimethylaporphine alkaloids in this species is important for the chemotaxonomy of *Guatterioopsis*. Antimicrobial activity of compounds **1-5** was investigated, and **4** showed activity against *Rhodococcus equi*, with a MIC value of 10 µg · mL⁻¹.

Costa, E. V.; Pinheiro, M. L. B.; Marques, F. A. ; Braga, R. M. ; Maia, B. H. L. N. S. First report of alkaloids in the genus *Guatterioopsis* (Annonaceae). Biochemical Systematics and Ecology, v. 37, p. 43-45, 2009. DOI: 10.1016/j.bse.2008.11.010.

Guatterioopsis (R.E. Fries) is a small genus made up of five species (*Guatterioopsis blepharophylla*, *Guatterioopsis friesiana*, *Guatterioopsis hispida*, *Guatterioopsis kuhlmannii* and *Guatterioopsis ramiflora*) occurring in tropical South America. According to [Erkens et al. \(2007\)](#) the species in the genus *Guatterioopsis* should be transferred to *Guatteria*.

G. blepharophylla (Mart.) R.E. Fries (Annonaceae) is a small tropical tree that occurs in Amazonian region (Brazil, Peru, Guyana, Ecuador and Venezuela) ([Erkens et al., 2007](#)). In Brazil this species is common in the states of Amazonas and Para, where it is known as “envireira” ([Ribeiro et al., 1999](#)). Botanical material (stem) was collected in January 2005 on the campus of the Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Amazonas, and identified by the specialist Prof. Dr. A. C. Webber. A voucher specimen (#7340) has been deposited at the Herbarium of the Universidade Federal do Amazonas.

Diniz, Eduardo Arrivabene, Bueno, O. C., Almeida, R. N. A. Substrate preparation for the cultivation of the symbiotic fungus in leaf-cutting ants of the genus *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiology. , v.53, p.651 - 666, 2009.

Our findings revealed two distinct patterns of substrate preparation: the pattern of leaf-cutting ants foraging on dicotyledons is marked by highly fragmented substrate resulting in a more advanced initial decomposition. The pattern of leaf-cutting ants harvesting grasses is characterized by large pieces of substrate, resulting in little initial decomposition. Ants foraging on both types of plants are apparently intermediary between the two patterns, although more similar to the patterns of those foraging on dicotyledons. Also, the behavior of scraping the substrate was described for the first time, it is very important for the removal of the epicuticular wax layer of the leaves helping the growth of the symbiotic fungus.

Diniz, E. A., Bueno, O. C., Carlos, A.A. Behavioral Repertoire of Basal Fungus-Growing Ant Sexuals (Hymenoptera: Formicidae) in the Parental Nest. Sociobiology. v.55, p.1 - 7, 2010.

The present paper presents a range of observed behaviors with male and female alates of Attini ants in their parental nest. All described behaviors were observed in laboratory colonies of *Apterostigma pilosum* and *Mycetarotes parallelus* using micro video cameras. Each individual behavior was described and its frequency of occurrence was determined. Males of these species do not seem to rely upon workers as much as do males of *Atta cephalotes*. Moreover, female alates, unlike males, perform some of the same tasks as workers, such as caring for brood and preparing substrate for the symbiotic fungus. This set of behaviors, herein described for the first time with these species, were discussed in face of the actual role of alates inside parental colonies and at founding new ones.

Fischer, M. L.; Cokl, A.; Ramires, E. N.; Marques-da-Silva, E.; Delay, C.; Fontana, J. D.; Donatti, L.; Schneider, V. F.; Marques, F. A. Sound is involved in multimodal communication of *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão, 1934 (Araneae; Sicariidae). Behavioural Processes (Print), v. 82, p. 236-243, 2009. DOI: 10.1016/j.beproc.2009.06.013.

Signals of different modalities are involved during courtship of the brown spider *Loxosceles intermedia*. A spine on the pedipalp is rubbed against the grooves on the retrolateral region of the chelicerae producing stridulatory signals, which have a dominant frequency of the airborne component range around 770Hz for females and around 170Hz for males. These values are significantly lower for the substrate-borne component. The sound pressure level of stridulatory signals lies below 50dB and the velocity values below 1mm/s. The copulation frequency does not depend on the presence of pedipalps in females; however, in males the removal of pedipalps decreases the courtship frequency. During courtship, females vibrate their abdomens after being touched by the courting male, producing tremulatory signals with the dominant frequency below 100Hz, sound pressure level below 60dB and velocity below 3mm/s. This vibration may function as a sign of the akinesia state since it precedes the introduction of the embolus. Cuticular compounds probably determine the recognition of the male by the female. Data from the present study corroborate the generalist nature of *L. intermedia* in which signals of different modalities are used during courtship.

Forim, M. R., Cornélio, V. E., da Silva, M. F. das G. F., Rodrigues-Filho, E., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Matinez, S. S., Napolitano, M. P., Yost, R. A. Chemical characterization of *Azadirachta indica* grafted on *Melia azedarach* and analyses of azadirachtin by HPLC-MS-MS (SRM) and meliatoxins by MALDI-MS Phytochemical Analysis, Published Online: Mar 23 2010 1:06AM; DOI: 0.1002/pca.1208

Introduction – *Melia azedarach* adapted to cool climates was selected as rootstocks for vegetative propagation of *Azadirachta indica*. Cleft grafting of *A. indica* on *M. azedarach* rootstock showed excellent survival. Little is known about the chemistry of grafting.

Objective – The roots, stems, leaves and seeds of this graft were examined in order to verify if grafted *A. indica* would produce limonoids different from those found in non-grafted plants. Intact matured fruits were also studied to verify if they were free of meliatoxins.

Methodology – After successive chromatographic separations the extracts afforded several limonoids. HPLC-MS/MS and MALDI-MS were used to develop sensitive methods for detecting azadirachtin on all aerial parts of this graft and meliatoxins in fruits, respectively.

Results – The stem afforded the limonoid salannin, which was previously found in the oil seeds of *A. indica*. Salannin is also found in the root bark of *M. azedarach*. Thus, the finding of salannin in this study suggests that it could have been translocated from the *M. azedarach* rootstock to the *A. indica* graft. HPLC-MS/MS analyses showed that azadirachtin was present in all parts of the fruits, stem, flowers and root, but absent in the leaves. The results of MALDI-MS analyses confirmed the absence of meliatoxins in graft fruits.

Conclusion – This study showed that *A. indica* grafted onto *M. azedarach* rootstock produces azadirachtin, and also that its fruits are free of meliatoxins from rootstocks, confirming that this graft forms an excellent basis for breeding vigorous Neem trees in cooler regions.

Lazzari, S. M. N. ; Starkey, S. ; Reese, J. ; Ray-Chandler, A. ; Mccubrey, R. ; Smith, C.M. . Feeding behavior of Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotype 2 in response to wheat genotypes exhibiting antibiosis and tolerance resistance. *Journal of Economic Entomology*, v. 102, p. 1291-1300, 2009.

DOI: 10.1603/029.102.0356.

In this study, wheat, *Triticum aestivum* L. (em Thell), genotypes containing the *Dnx*, *Dn7*, *Dn6*, and *Dn4* genes for resistance to the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) (Hemiptera: Aphididae), along with *Dn0*, a susceptible control, were assessed to determine the categories of *D. noxia* biotype 2 (RWA2) resistance in each genotype and RWA2 feeding behaviors on *Dnx* and *Dn0* plants by using the electronic penetration graph technique. At 14 d postinfestation, *Dn0* plants exhibited intense chlorosis and leaf rolling, and all test genotypes expressed some degree of chlorosis and leaf rolling, except *Dn7*, which was not damaged. Both *Dn7* and *Dnx* expressed antibiosis effects, significantly reducing the numbers of aphids on plants and the intrinsic rate of aphid increase. *Dn6* plants seemed to contain tolerance, exhibiting tolerance index measurements for leaf and root dry weight and plant height that were significantly lower than those of the susceptible *Dn0* plants. Principal component analyses indicated that antibiosis and leaf rolling data explained 80% of the variance among genotypes. Electronic penetration graph analysis demonstrated contrasting results between RWA1 and RWA2 phloem sieve element phase feeding events, but results indicated that *Dnx* resistance factors are present in the sieve element cells or phloem sap. Plants containing *Dnx* exhibit antibiosis resistance to *D. noxia* RWA2 similar to that in plants containing the *Secale cereale* L. (rye)-based *Dn7* gene without the negative baking quality traits associated with *Dn7*.

Marques, F. A. ; Wendler, E. P.; Macedo, A. ; Wosch, C. L.; Maia, B. H. L. N. S.; Mikami, A. Y. ; Arruda-Gatti, I. C. ; Pissinati, A. ; Mingotte, F. L. C.; Alves, A. ; Ventura, M. U.. Response of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) to 1,4-Dimethoxybenzene and Analogs in Common Bean Crop. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 52, p. 1333-1340, 2009.

Several synthetic and commercial analogs of 1,4-dimethoxybenzene, a kairomone of *Diabrotica speciosa*, along with other compounds already shown to be attractive to other species of *Diabrotica*, were tested as attractant to *D. speciosa*. Yellow cup traps were lured with the compounds and installed in a common bean field. Assessments were conducted 24 h later. 1,4-dimethoxybenzene lured traps caught significantly more beetles than the control traps. Captures of traps lured with 1,4-dimethoxybenzene analogs did not differ from the control traps. Results showed that position and nature of the substituents on the aromatic ring played a crucial role in the activity of the natural compound. The aromatic ring was also very important to the activity of the kairomone.

Matos, A. P.; Leite, A. C.; Batista-Pereira, L. G.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B. and da Silva, M. F. G. F. Effects of limonoids from *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) on survival, growth and development of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Z. Natuforschung, 64c: 441, 2009).

Six mexicanolide limonoids isolated from the dichloromethane extract of the fruits of *Cipadessa fruticosa* Blume (Meliaceae) were evaluated against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Gedunin was used as a positive control. When incorporated into an artificial diet of neonates at 50.0 mg kg⁻¹, febrifugin A showed 73.3% mortality. All the compounds showed moderate insecticidal activity, except for ruageanin A, when compared with the control. Febrifugin also showed growth inhibition and antifeedant activities (at 100.0 mg kg⁻¹). The correlation between the insecticidal activity of the isolated compounds and their chemical structure was discussed.

Matos, A. P.; Nebo, L.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; da Silva, M. F. G. F. and Ribiero, R. R. Constituintes Químicos e Atividade Inseticida dos Extratos de Frutos de *Trichilia elegans* e *T. catigua* (Meliaceae) (Química Nova, 32: 1553-1556, 2009).

Phytochemical investigation of the fruits extracts of *Trichilia elegans* and *Trichilia catigua* (Meliaceae) has led to the identification of the limonoids 11 β -acetoxyobacunone, cedrelone, methylangolensate and epimeric mixture of photogedunin besides known coumarins (scoparone, scopoletin, umbeliferone) and the steroids stigmasterol, β -sitosterol, sitostenone and campesterol. The structures of the compounds,

were proposed by spectroscopic analysis and comparison with literature data. An evaluation of the insecticidal activity of the fruits extracts of *Trichilia* ssp. was carried out and the extracts of *T. elegans* revealed to have strong insecticidal activity and the extracts of *T. catigua* showed moderate larval mortality on *Spodoptera frugiperda*.

Navarro-Silva, M. A.; Marques, F. A.; Luna, J. E. D. Review of Semiochemicals that Mediate the Oviposition of Mosquitoes: a Possible Sustainable Tool for the Control and Monitoring of Culicidae. *Revista Brasileira de Entomologia* (Impresso), v. 53, p. 1-6, 2009.

The choice for suitable places for female mosquitoes to lay eggs is a key-factor for the survival of immature stages (eggs and larvae). This knowledge stands out in importance concerning the control of disease vectors. The selection of a place for oviposition requires a set of chemical, visual, olfactory and tactile cues that interact with the female before laying eggs, helping the localization of adequate sites for oviposition. The present paper presents a bibliographic revision on the main aspects of semiochemicals in regard to mosquitoes' oviposition, aiding the comprehension of their mechanisms and estimation of their potential as a tool for the monitoring and control of the Culicidae.

Penãflor, M. F. G. V., Almeida, R. N. A., Simote, S. Y., Yamane, Sayuini E., Bueno, O. C., Hebling, M. J. A., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., Silva, M. F. G. F., Pagnocca, F. C.. Toxicity of substances isolated from *Simarouba versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) to the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. *BioAssay* (Piracicaba). v.4, p.1 - 6, 2009.

Leaf-cutting ants' control by means of insecticide application can cause harmful effects to the environment, non-target insect populations and human health. Vegetal products toxic to insects may represent an alternative way for controlling economically important insects for the reason that they may be more selective, besides a less residual effect. In order of this, the aim of the current study was to evaluate the toxicity of crude extracts, fractions and isolated substances from *Simarouba versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) to *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) workers and its symbiotic fungus, *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. Leaf-cutting ants' toxicity was determined by ingestion bioassays, while the activity against the symbiotic fungus was evaluated by its development in a culture medium containing vegetal extracts. Dichloromethane fractions derived from *S. versicolor* methanol crude extracts showed biological activity to leaf-cutting ants and its symbiotic fungus. From these fractions, two alkaloids were isolated, 4,5-dimethoxycanthin-6-one and 5-methoxycanthin-6-one, being the first toxic only to the symbiotic fungus and the other to fungus and the ant. Purified triterpenoids from others *S. versicolor* extracts didn't show deleterious effect to both leaf-cuttings ants and the symbiotic fungus.

Rodrigues A., Cable R.N., Mueller U.G., Bacci M. Jr., Pagnocca F.C. Antagonistic interactions between garden yeasts and microfungal garden pathogens of leaf-cutting ants. *Antonie van Leeuwenhoek*. 96(3):331-42, 2009.

We investigate the diversity of yeasts isolated in gardens of the leafcutter ant *Atta texana*. Repeated sampling of gardens from four nests over a 1-year time period showed that gardens contain a diverse assemblage of yeasts. The yeast community in gardens consisted mostly of yeasts associated with plants or soil, but community composition changed between sampling periods. In order to understand the potential disease-suppressing roles of the garden yeasts, we screened isolates for antagonistic effects against known microfungal garden contaminants. In vitro assays revealed that yeasts inhibited the mycelial growth of two strains of *Escovopsis* (a specialized attine garden parasite), *Syncephalastrum racemosum* (a fungus often growing in gardens of leafcutter lab nests), and the insect pathogen *Beauveria bassiana*. These garden yeasts add to the growing list of disease-suppressing microbes in attine nests that may contribute synergistically, together with actinomycetes and Burkholderia bacteria, to protect the gardens and the ants against diseases. Additionally, we suggest that garden immunity against problem fungi may therefore derive not only from the presence of disease-suppressing *Pseudonocardia* actinomycetes, but from an enrichment of multiple disease-suppressing microorganisms in the garden matrix.

Roma, G. C., Bueno, O. C., Camargo-Mathias, M. I. Ultrastructural analysis of the fat body in workers of Attini ants (Hymenoptera: Formicidae). *Animal Biology* (Print). v.59, p.241 - 262, 2009.

In the present study a comparative morphological analysis of the fat body cells of ant workers of the basal Attini species *Cyphomyrmex rimosus* and *Mycetarotes parallelus*, and the derived species *Acromyrmex disciger* and *Atta laevigata* was conducted. The results revealed that the fat body is located mainly in the abdomen around organs (perivisceral) and near the integument (parietal). The main cells observed are spherical or polygonal trophocytes with a slightly rough surface. The oenocytes, another cell type found, are closely associated with trophocytes, and present a spherical or polygonal shape and a smoother surface. The morphometric analysis showed that the area of trophocytes and oenocytes of *C. rimosus* and *M. parallelus* is significantly smaller when compared to those of *A. disciger* and *A. laevigata*. In the cytoplasm of parietal and perivisceral trophocytes and oenocytes, electronlucent droplets (probably lipids) and electrondense granules (probably proteins) indicate the participation of these cells in the storage of these elements, while digestive vacuoles, residual bodies, and multivesicular bodies suggest a role in intracellular digestion. In perivisceral trophocytes and oenocytes of *C. rimosus*, the presence of mitochondria, lamellar rough endoplasmic reticulum, and Golgi complex suggests that these cells synthesize proteins. Based on these data, no significant differences were observed between the fat body cells of basal and derived ants, except regarding the larger size of trophocytes and oenocytes of the derived species *A. disciger* and *A. laevigata*.

Rosa C.A., Jindamorakot S., Limtong S., Nakase T., Lachance M.A., Fidalgo-Jiménez A., Daniel H.M., Pagnocca F.C., Inácio J., Morais P.B. Synonymy of the yeast genera *Moniliella* and *Trichosporonoides* and proposal of *Moniliella fonsecae* sp. nov. and five new species combinations. *Int J Syst Evol Microbiol.* 59(2):425-9, 2009.

Analyses of nucleotide sequences from the D1/D2 domains of the large-subunit rDNA and phenotypic characteristics showed that the genera *Moniliella* and *Trichosporonoides* are members of a single, monophyletic clade that would be best represented by a single anamorphic genus. On the basis of taxonomic priority, we propose the transfer of the five species of the genus *Trichosporonoides* to the genus *Moniliella*. The description of the genus *Moniliella* is emended and the following new combinations are proposed: *Moniliella madida* comb. nov., *Moniliella megachiliensis* comb. nov., *Moniliella nigrescens* comb. nov., *Moniliella oedocephalis* comb. nov. and *Moniliella spathulata* comb. nov. In addition, ten strains representing a novel yeast species belonging to the *Moniliella* clade were isolated from flowers in Thailand, Cuba and Brazil. Analysis of the internal transcribed spacer and D1/D2 large-subunit rDNA sequences indicated that the isolates represent a single species that was distinct from other species of the *Moniliella* clade. The name *Moniliella fonsecae* sp. nov. is proposed to accommodate these strains. The type strain is BCC 7726(T) (=CBS 10551(T)).

Santos, D.A.P. dos; Braga, P.A.C.; Silva, M.F.G.F. da; Fernandes, J.B.; Vieira, P.C.; Magalhães, A.F.; Magalhães, E.G.; Marsaioli, A.J.; Moraes, V.R.S.; Rattray, L., Croft, S.L. Anti-African trypanocidal and antimalarial activity of natural flavonoids, dibenzoylmethanes and synthetic analogues. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 61, 257-266, 2009. (ISSN 0022-3573; DOI 10.1211/jpp/61.02.0017).

Objectives

The known anti-protozoal activity of flavonoids has stimulated the testing of other derivatives from natural and synthetic sources.

Methods

As part of our efforts to find potential lead compounds, a number of flavonoids isolated from *Neoraputia paraensis*, *N. magnifica*, *Murraya paniculata*, (Rutaceae), *Lonchocarpus montanus*, *L. latifolius*, *L. subglaucescens*, *L. atropurpureus*, *L. campestris*, *Deguelia hatschbachii* (Leguminosae), dibenzoylmethanes from *L. subglaucescens* and synthetic analogues were tested for in-vitro activity against chloroquine-sensitive *Plasmodium falciparum* and *Trypanosoma brucei rhodesiense* bloodstream form trypomastigotes. An assay with KB cells has been developed in order to compare in-vitro cytotoxicity of flavonoids with a selective action on the parasites.

Key findings

Thirteen of the compounds tested had IC₅₀ values ranging from 4.6 to 9.9 μ M against *T. brucei rhodesiense*. In contrast, a small number of compounds showed significant activity against *P. falciparum*; seven of those tested had IC₅₀ values ranging from 2.7 to 9.5 μ M. Among the flavones only one had IC₅₀ < 10 μ M (7.6 μ M), whereas against *T. brucei rhodesiense* seven had IC₅₀ < 10 μ M. Synthetic dibenzoylmethanes were the most active in terms of number (five) of compounds and the IC₅₀ values (2.7-9.5 μ M) against *P. falciparum*.

Conclusions

Dibenzoylmethanes represent a novel class of compounds tested for the first time as antimalarial and trypanocidal agents.

Santos, E. L.; Costa, E. V.; Marques, F. A.; Vaz, N. P.; Maia, B. H. L. N. S.; Magalhaes, E. G.; Tozzi, A. M. A. Toxicidade e Atividade Antioxidante de Flavonóides das Cascas das Raízes de *Lonchocarpus filipes*. Química Nova (Impresso), v. 32, p. 2255-2258, 2009.

The phytochemical investigation of dichloromethane extract from root bark of *Lonchocarpus filipes* Benth (Leguminosae) afforded four flavonoids including three dibenzoylmethane derivatives rarely found in nature. The structures were established based on their spectral data (¹H and ¹³C NMR, 2D-NMR) as being: lanceolatin B (**1**), pongamol (**2**), (*E*)-7-O-methylpongamol (**3**) and (*E*)-9-O-methylpongamol (**4**). Compound (**4**) is described herein for the first time as a natural product. The extracts and the isolated compounds (**1**), (**2**) and (**3**) displayed high toxicity in the brine shrimp lethality assay. Only compound (**2**) showed antioxidant activity using a DPPH radical scavenging assay. This is the first report on the phytochemical study of *Lonchocarpus filipes*.

Severino, V.G.P., Casal, C.M., Forim, M.R., da Silva, M.F.G.F., Rodrigues-Filho, E., Fernandes, J.B., Vieira, P.C. Isolation of secondary metabolites from *Hortia oreadica* (Rutaceae) leaves through high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatography A, 1216, 4275–4281, 2009.

doi:10.1016/j.chroma.2009.02.009

High-speed counter-current chromatography (HSCCC) with a two-phase solvent system (hexane–ethanol–acetonitrile–water 10:8:1:1, v/v) was applied to examine the leaves of *Hortia oreadica*, which afforded the known limonoid guyanin (**1**), the alkaloids rutaecarpin (**2**) and dictamnine (**6**), the dihydrocinnamic acid derivatives methyl 5,7-dimethoxy-2,2-dimethyl-2*H*-1-benzopyran-6-propanoate (**3**), 5,8-dimethoxy-2,2-dimethyl-2*H*-1-benzopyran-6-propanoic acid (**4**), together with the new *E*-3,4-dimethoxy- α (3-hydroxy-4-carbomethoxyphenyl)cinnamic acid (**5**). The recovery of compounds **1–6** was determined by comparison with LC-atmospheric pressure chemical ionization MS/MS data: 66.2%, 93.1%, 102.5%, 101.2%, 99.0% and 84.9%, respectively. Compound **3** showed IC₅₀ of 23.6 μ M against *Plasmodium falciparum* and 15.6 μ M against *Trypanosoma brucei rhodesienses* and was not toxic to KB cells (IC₅₀ > 100 μ M).

Vieira, Alexsandro Santana, Bueno, Odair Correa, Camargo-Mathias, Maria Izabel The functional morphology of the metapleural gland of the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Formicidae: Attini). Micron (Oxford. 1993). , v.41, p.149 - 157, 2010.

Given the importance of the metapleural gland in ants, the present study aimed at describing it in minor, media, and major workers of *Atta laevigata*, focusing their physiology using scanning electron microscopy (SEM), histologic, and histochemical techniques. The results revealed that this gland is paired and located in the metathoracic region, consisted of two portions: secretory and the storage ones. Both portions are connected by extracytoplasmic canaliculi that drain the secretion of each secretory cell they form groups that open into the perforated plate located in the wall of the collecting chamber. The oval-shaped and elongated secretory cells form clusters of approximately 20 cells, bundled together by connective tissue. Each secretory cell connects to the reservoir through a canaliculus divided into an intra- and extracytoplasmic portion. The collecting chamber and the reservoir are internally lined by a single squamous epithelium with a cuticular intima, with folds in the collecting chamber and smooth in the remaining of the reservoir. External muscle layers surrounding the

reservoir are observed which aid the release of secretion by the gland opening (one on each side) located in the exoskeleton near coxae of hind legs. Secretory cells were strongly positive for acidic and total lipids, proteins, and acidic polysaccharides, suggesting the glycolipoproteins nature of the final secretion. Morphometrically, the diameter of the reservoir is proportional to body size of minor, media, and major workers. This implies a larger capacity to produce secretion, including antibiotic substances, by the individuals that perform specific tasks within the colony.

No Prelo

Forim, M. R.; Matos, A. P.; da Silva, M. F. G. F.; Cass, Q. B.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B. Uso de CLAE no Controle de Qualidade em Produtos Comerciais de Nim: Reprodutibilidade da Ação Inseticida (aceito para Química Nova).

The Neem tree, *Azadirachta indica*, provides many useful compounds that are used as pesticides. However, the efficiency in field of products like neem oil can be committed because they haven't been observed reproductive content of secondary metabolic like azadirachtin. Based on reversephase high-performance liquid chromatography (HPLC) a new method was developed to permit the rapid quantitative analysis of azadirachtin from seeds, extracts and oil of Neem. The samples were prepared by Solid Phase Extraction and analyzed using acetonitrile/methanol/tetrahydrofurane/water (34:4:1:61), flow 0.8 mL.min⁻¹ as mobile phase on a C18 column and monitored at 217 nm. The detection and quantification limit of azadirachtin in samples were 1.3 and 3.8 µg.mL⁻¹ respectively. The present study was evaluated the azadirachtin quantitative variation among various Neem's extracts and seeds showing the importance of quality control for reproduction of the insecticide efficiency, using *S. frugiperda* as target insect. This study indicated that 3.0 µg.Kg⁻¹ of azadirachtin in the diet are the minimum amount to obtain 100% mortality.

Matos, A. P.; Myamoto D. T.; Alves, A. R.; Leite, A. C.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; and da Silva, M. F. G. F. Potencial inseticida das espécies *Cedrela fissilis* e *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. S. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (aceito Bioassay).

The biological activity of organic extracts of leaves, branches and fruits of *Cedrela fissilis* and *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae), besides stems and roots of *C. fissilis* was evaluated against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), maintained in laboratory conditions. The organic extracts (at 1000 mg kg⁻¹) were incorporated into an artificial diet and offered to *S. frugiperda* during its larval period. It was evaluated the duration and the mortality of larval and pupal periods and pupae weight. The results showed that the dichromethane extract of leaves of *C. fissilis* was the more active one. It was observed the prolongation of the larval phase, followed by the reduced pupal weight, besides larval mortality of 63,3%.

Matos, A. P., Nebo, L., Vieira, P. C., Fernandes, J. B., da Silva, M. F. das G. F., Rodrigues, R. R. Constituintes químicos e atividade inseticida dos extratos de frutos de *Trichilia elegans* e *T. catigua* (Meliaceae). Quim. Nova, Vol. XY, No. 00, 1-4, 2010.

Phytochemical investigation of the fruits extracts of *Trichilia elegans* and *Trichilia catigua* (Meliaceae) has led to the identification of the limonoids 11β-acetoxyobacunone, cedrelone, methylangolensate and epimeric mixture of photogedunin besides known coumarins (scoparone, scopoletin, umbeliferone) and the steroids stigmasterol, β-sitosterol, sitostenone and campesterol. The structures of the compounds were proposed by spectroscopic analysis and comparison with literature data. An evaluation of the insecticidal activity of the fruits extracts of *Trichilia* spp. was carried out and the extracts of *T. elegans* revealed to have strong insecticidal activity and the extracts of *T. catigua* showed moderate larval mortality on *Spodoptera frugiperda*.

Nebo, L.; Matos, A. P.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B.; da Silva, M. F. G. F. e Rodrigues, R. R. Atividade inseticida dos frutos de *Trichilia clausenii* (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (aceito para Química Nova).

An evaluation of the insecticidal activity of the fruits extracts of *Trichilia clausenii* was carried out and the methanol extract revealed to have strong insecticidal activity. The fractionation of methanol extract of *T.*

claussenii seeds bioassay-guided against *Spodoptera frugiperda* has led to the identification of the ω -phenylalkyl and alkenyl fatty acids as active compounds in this extract. The structures of the compounds were proposed by spectroscopic analysis and comparison with literature data.

Pagnocca F.C., Legaspe M.F., Rodrigues A., Ruivo C.C., Nagamoto N.S., Bacci M Jr., Forti, L.C. Yeasts isolated from a fungus-growing ant nest, including the description of *Trichosporon chiarellii* sp. nov., an anamorphic basidiomycetous yeast. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009. (in press).

Thirty-nine yeast strains were recovered from a field nest of a primitive and putative new attine ant species in the genus *Myrmecocrypta* (Hymenoptera: Formicidae: tribe Attini). Yeasts isolated from the fungus garden and waste deposit included *Candida dubliniensis*, *Candida oleophila*, *Cryptococcus haglerorum*, and *Hanseniaspora uvarum*. In addition, one morphological type was massively isolated. Sequencing data of partial LSU rDNA and ITS region coupled with morphological and physiological characterization accommodated this morpho-type in a separate taxonomic position in relation to the known species of the genus *Trichosporon* (Basidiomycota: Trichosporonales). Here, we propose a novel yeast species named *Trichosporon chiarellii* FCP540806T (= CBS 11177T) based on the description of 34 isolates.

Rodrigues, A. ; Silva, A. ; Bacci Jr, M. ; Forti, L. C. ; Pagnocca, F.C. Filamentous fungi found on foundress queens of leaf-cutting ants. (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Applied Entomology*, 2009. (in press).

Queens of the leaf-cutting ant species *Atta laevigata* and *Atta capiguara* were collected soon after their mating flight and maintained in the laboratory until death. Ant corpses showing signs of contamination by insect pathogenic fungi were selected for fungal identification. Filamentous fungi such as *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces lilacinus* actively sporulated in the ant's corpses. This is the first report of the latter fungus on reproductives of leaf-cutting ants. The fact that queens may acquire filamentous fungi including saprophytic and potential insect pathogens after their mating event is especially interesting regarding the impacts of such microbes on the establishment of a new nest.

Roma, G.C.; Bueno, O.C.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Morpho-physiological analysis of the insect fat body: a review. *Micron* – 2010.

The insect fat body is the main organ of the intermediate metabolism of insects. The majority of proteins of the haemolymph is synthesized in this tissue, which also presents the functions of lipids, carbohydrates and proteins storage. This tissue is also responsible for the synthesis of vitellogenins, proteins with an important role in the reproduction of the insects, being incorporated into the oocytes during vitellogenesis. The fat body consists of thin layers or strings, generally one or two cells thick, or small nodules suspended in the hemocoel through connective tissues and trachea. Within a species, the structure of this tissue is more or less constant, but can have considerable differences between insects of different orders. In this way, this article makes a review about the main morpho-physiological features of the fat body cells of the insects, as well as a phylogenetic study of the fat body between basal and derived species of the Attini tribe ants.

Rosa C.A., Jindamorakot S., Limtong S., Nakase T., Pagnocca F.C., Lachance MA. *Candida golubevii* sp. nov., an asexual yeast related to *Metschnikowia lunata*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009. (in press).

Two strains of a new yeast species were isolated from insect frass and a flower in Thailand and Brazil, respectively. The strain from Thailand was isolated from insect frass collected in Than-Tong waterfall, Nong Khai Province, whereas the strain from Brazil was recovered from a flower of *Ipomoea* sp. collected on the banks of the Paraguai River in state of Mato Grosso do Sul. The sequences of the D1/D2 domains of the large subunit of the rDNA of both strains were identical. This new species belongs to the *Metschnikowia* clade and is related to *M. lunata*. No signs of sporulation were observed for the two strains on various culture media. The novel species, *Candida golubevii*, is proposed to accommodate these isolates. The type strain of *C. golubevii* sp. nov. is BCC 8332^T (=CBS 11362^T =NBRC 105679^T).

Terezan, A.P.; Rossi, R.A.; Almeida, R.N.A.; Freitas, T.G.; Fernandes, J.B.; Silva, M.F.G.F.; Vieira, P.C.; Bueno, O.B.; Pagnocca, F.C.; Pirani, J.R. Activities of extracts and compounds from *Spiranthera odoratissima* St. Hil. (Rutaceae) in leaf-cutting ants and their symbiotic fungus. J. Braz. Chem. Soc., 2010.

O estudo dos extratos dos galhos da planta *Spiranthera odoratissima* St. Hil. (Rutaceae) levou ao isolamento de alcalóides furoquinolínicos (dictamina, g-fagarina e esquimianina) e 2-arylquinolin-4-ona (2-fenil-1-metilquinolin-4-ona) e limonóides (ácido limonéxico e limonina). Os compostos 2-fenil-1-metilquinolin-4-ona e ácido limonéxico foram isolados pela primeira vez no gênero *Spiranthera*. Os alcalóides furoquinolínicos, 2-arylquinolin-4-ona e os limonóides mostraram atividade inseticida e/ou fungicida no ninho da formiga *Atta sexdens rubropilosa*.

The study of the *Spiranthera odoratissima* St. Hil (Rutaceae) branches extracts led to the isolation of the furoquinoline (dictamine, g-fagarine and skimmianine) and 2-arylquinoli-4-one (1-methyl-2-phenylquinolin-4-one) alkaloids and limonoids (limonexic acid and limonin). The compounds 1-methyl-2-phenylquinolin-4-one and limonexic acid were isolated for the first time from the *Spiranthera*. These furoquinoline and 2-arylquinoli-4-one alkaloids and limonoids showed insecticidal and/or fungicidal activity in the nest of the *Atta sexdens rubropilosa*.

Keywords: *Spiranthera odoratissima*, furoquinoline alkaloids, limonoids, *Atta sexdens rubropilosa*, *Leucoagaricus gongylophorus*

INSTITUTOS NACIONAIS DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA – INCT
ACOMPANHAMENTO E AVALIAÇÃO

PERÍODO: de 26/12/2008 a 26/12/2009

IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO

TÍTULO: INCT de Controle Biorracional de Insetos Pragas

PROCESSO Nº: 573742/2008-1

VIGÊNCIA: de 26/12/2008 a 25/12/2013

RECURSOS TOTAIS APROVADOS: R\$ 6.003.392,10

CUSTEIO – R\$ 799.499,30

CAPITAL – R\$ 4.303.516,00

BOLSAS – R\$ 900.376,80

COORDENADOR: Maria Fatima das Gracas Fernandes da Silva

INSTITUIÇÃO SEDE: UFSCAR

**INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES DO PROJETO: (vide formulário de
submissão):** UNESP-Rio Claro; FFCLRP-USP; ESALQ-USP; UFPR, CEPLAC-Bhaia e
Belém; UFSE

EQUIPE DO PROJETO: (vide formulário de submissão): COMITÊ GESTOR

UFSCar: Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva; João Batista Fernandes

UNESP- Rio Claro: Fernando Carlos Pagnocca; Odair Corrêa Bueno

ESALQ-USP: José Djair Vendramim

FFCLRP-USP: Carmen Lucia Cardoso

UFPR: Francisco de Assis Marques

CEPLAC: Manfred Willy Muller

UFSE: Paulo César de Lima Nogueira; Valéria Regina de Souza Moraes

Pesquisadores Participantes

UFSCar: Antonio Gilberto Ferreira; Clélia M. de Paula Marques; Edson Rodrigues Filho;
Moacir Rossi Forim; Quézia Bezerra Cass; Ronaldo Censi Faria; Rose Maria Carlos; Tiago
Venâncio; Vânia G. Zuin

UNESP-Rio Claro: André Rodrigues

UFPR: Edson Tadeu Iede; Sonia Maria Noemberg Lazzari

CEPLAC-Belém: Jay Wallace da Silva e Mota

PROJETO DE PESQUISA (Anexar Relatório Parcial)

**HOUVE ALTERAÇÕES NOS OBJETIVOS E/OU METAS PROPOSTOS? () SIM
(X) NÃO**

EM CASO POSITIVO REGISTRAR AS ALTERAÇÕES OCORRIDAS:

HOUVE ALTERAÇÕES NO CRONOGRAMA ORIGINAL? (X) SIM () NÃO

EM CASO POSITIVO REGISTRAR AS ALTERAÇÕES OCORRIDAS: Foram incluídos mais alguns insetos nos bioensaios.

HOUVE PROBLEMAS E/OU DIFICULDADES NA EXECUÇÃO DO PROJETO?: (X) SIM () NÃO

EM CASO POSITIVO DETALHAR: Devido ao atraso na importação do aparelho de RMN os estudos envolvendo a presença de substâncias em quantidade na escala de μM ou menos, estão parados. O aparelho chega entre maio e junho próximo.

EQUIPE

HOUVE ALTERAÇÃO NA COMPOSIÇÃO ORIGINAL DA EQUIPE? (X) SIM (X) NÃO

EM CASO POSITIVO INDIQUE O NÚMERO DE INCLUSÕES E EXCLUSÕES:

Responsável p/ laboratório associado () Inclusão () Exclusão

Justificar:

Pesquisador (X) Inclusão (X) Exclusão

Justificar: Foram incluídos três novos pesquisadores, docentes do DQ-UFSCar, que deverão ampliar a capacidade de pesquisa em desenvolvimento de eletrodos (Ronaldo Censi Faria) e em RMN (Tiago Venâncio), interagir com o ensino secundário (Clélia M. P. Marques) e houve a exclusão do Dr. Alcindo Aparecido dos Santos que se demitiu da UFSCar e transferindo-se para USP São Paulo.

Estudante de Doutorado (X) Inclusão () Exclusão

Justificar: Alguns novos alunos foram incluídos, os quais ingressaram no doutorado posteriormente à submissão do projeto. Ver relação no relatório em anexo.

Estudante de Mestrado (X) Inclusão () Exclusão

Justificar: Alguns novos alunos foram incluídos, os quais ingressaram no mestrado posteriormente à submissão do projeto. Ver relação no relatório em anexo.

Estudante de Graduação (X) Inclusão () Exclusão

Justificar: Foram incluídos alunos de IC, pois as bolsas foram aprovadas posteriormente à solicitação do auxílio. Ver relação no relatório em anexo.

Outros (especificar) (X) Inclusão () Exclusão

Justificar: Foram incluídos bolsistas de apoio técnico de nível superior e médio, pois as bolsas foram aprovadas posteriormente à solicitação do auxílio. Ver relação no relatório em anexo

DESCREVER OS MECANISMOS DE INTERAÇÃO UTILIZADOS ENTRE GRUPOS DE PESQUISA PARTICIPANTES DO INCT: Os alunos envolvidos nas linhas de pesquisas desenvolvidas no estado de São Paulo estão em constante contato, semanalmente substâncias puras e/ou extratos são levados a Rio Claro, Piracicaba (ESALQ) e Ribeirão Preto para ensaios. Devido à distância entre os pesquisadores de Aracaju, Curitiba, Salvador e Belém, os extratos para ensaios são enviados pelo correio e os alunos e pesquisadores se interagem frequentemente pelo Skype. Ocorreu também o intercâmbio de aluno da UFS em São Carlos. Foi feita uma primeira reunião da equipe 09/02/2009, com a presença de todos os membros do estado de São Paulo. A reunião foi realizada junto ao auditório da Fundação de Apoio Institucional ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico-UFSCar, a qual possui uma sala de vídeo conferência. Os participantes fora do estado de São Paulo participaram da reunião via vídeo conferência, o que ocorreu em excelência com debate simultâneo entre os pesquisadores em São Carlos, Curitiba, Aracaju e Brasília. O pesquisador Manfred Willy Muller encontrava-se em Brasília. Isto tornou a primeira reunião menos dispendiosa. A segunda reunião ocorreu de 30/11 a 01/12/2009 em São Carlos, UFSCar, na forma de um I Workshop sobre Avaliação Inicial de Desempenho, com a participação de todos os membros da equipe. Ver detalhe desta reunião no relatório em anexo.

RELATAR EVENTUAIS DIFICULDADES ENCONTRADAS ENTRE OS GRUPOS DE PESQUISA PARTICIPANTES DA REDE E POSSÍVEIS MECANISMOS UTILIZADOS PARA SUPERAR ESTAS DIFICULDADES:

Não houve nenhuma dificuldade na interação entre os grupos envolvidos.

HOUE A INCLUSÃO OU EXCLUSÃO DE INSTITUIÇÕES E EMPRESAS? ()

SIM (X) NÃO

EM CASO POSITIVO INDIQUE O NÚMERO:

Instituição de Ensino e/ou Pesquisa () Inclusão () Exclusão

Justificar:

Empresas () Inclusão () Exclusão

Justificar:

RESULTADOS OBTIDOS / METAS

ENUMERE E COMENTE OS RESULTADOS CIENTÍFICOS E/OU TECNOLÓGICOS OBTIDOS ATÉ O MOMENTO PARA:

A – PESQUISA:

Todos os objetivos propostos vêm sendo cumpridos de maneira satisfatória. Os itens abaixo em estudo já apresentam bons resultados, os quais podem ser vistos no relatório em anexo.

- Formigas Cortadeiras, seu fungo simbiote e outros microorganismos.
- Clorose Variegada dos Citros (CVC).
- Estudo Químico de *X. fastidiosa*.
- A Mancha Preta dos Citros: *Guignardia citricarpa* (resultados preliminares).
- A mancha Marrom dos Citros: *Alternaria alternata* (resultados preliminares).
- Huanglongbing (HLB) ou Greening dos Citros (resultados preliminares).
- Cancros em *Khaya ivorensis*, Inseto e Microorganismo Associado.
- Estudos e ensaios biológicos que permitirão combater os ataques das seguintes pragas: *Spodoptera frugiperda*, *Bemisia tabaci*, *Tuta absoluta*, *Sitophilus zeamais*, *Rhopalosiphum maidis*, *Pissodes castaneus*, *Cinara atlântica*, *Glycaspis brimblecombei*, *Diaphorina citri*.
- Estudos de complexação de produtos naturais bioativos com íons inorgânicos.
- Estudos com biorreatores de acetilcolinesterase (resultados preliminares).
- Estudos com biorreator com atividade pectinolítica (resultados preliminares).
- Estudos com biossensor de acetilcolinesterase (resultados preliminares).

B – FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS:

Foram formados em 2009 10 mestres e 6 doutores (ver títulos das respectivas teses e dissertações no relatório em anexo).

C – TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO E TECNOLOGIA:

Empresas que o INCT apóia com análise de controle de qualidade e transferência de tecnologia: As duas empresas abaixo são assistidas em análises do inseticida Neem, via a patente do grupo de PN-UFScar (ver no site <http://www.cbip.ufscar.br/>)

- **Baraúna Comércio e Indústria Ltda.** (CNPJ 00.208.638/0001-12), representada pelo sócio diretor Roberto Antônio Malimpence, (roberto@barauna.agr.br) - Catanduva-SP.

- **Base Fértil Ribeirão Comercial Agrícola Ltda.** (CNPJ: 04.509.533/0001-54), representada pelo sócio diretor Carlos Elpidio Pereira, (financeiro@basefertilagricola.com.br) - Cravinhos - SP.

D – EDUCAÇÃO E DIVULGAÇÃO DA CIÊNCIA:

- A equipe da UFSCar vem colaborando com o Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência, um programa da CAPES que visa promover a participação dos alunos do Curso de Licenciatura em Química da UFSCar em ações colaborativas junto aos professores de Química e de Ciências de escolas públicas de São Carlos. A participação do INCT-CBIP tem sido em: - Estudo da Realidade por meio de questionário socioeconômico, observações de aula e diálogo com os estudantes; - Atividades Interdisciplinares de Recepção aos Alunos; - Trabalho com o professor; - Apoio extra classe aos estudantes; - Feiras de Ciências; - Divulgação e Inscrição dos alunos para o Cursinho Pré-Vestibular da UFSCar; Divulgação dos cursos da universidade. Esta atividade é coordenada pela Professora Clélia M. P. Marques (UFSCar).

- **Organização da I Oficina de Ciências intitulada “Controle Biorracional de Pragas” junto à semana Nacional de Ciência e Tecnologia.** Esta Oficina realizou-se nos dias 19 e 20 de Outubro de 2009 e teve como objetivo mostrar aos estudantes de primeiro e segundo graus como os aspectos relacionados à Ecologia Química podem ser utilizados para o controle biorracional de pragas, bem como para motivá-los para a importância da continuidade de seus estudos ingressando em um curso de nível superior. O evento contou com palestra e exposição de painéis referentes aos trabalhos em desenvolvimento pelo grupo integrante deste INCT nos Departamentos de Química e de Biologia da UFPR. Aproximadamente 450 estudantes da rede pública e privada

participaram do evento. Esta atividade é coordenada pelo professor Francisco de Assis Marques (UFPR).

- Um programa de televisão foi elaborado com o material gravado durante a I Oficina de Ciências o qual foi veiculado por dois canais de TV a cabo e pela TV Cultura em Curitiba e região metropolitana.

- Apresentação de parte dos resultados durante o 19º Encontro de Iniciação Científica da UFS realizado de 20 a 23 de novembro de 2009, como parte das atividades da Semana Nacional de Ciência e Tecnologia.

- Cursos:

Foi ministrado um minicurso pelo Prof. Francisco de Assis Marques durante a XVI Semana Acadêmica do Curso de Química da UFPR relacionado ao tema deste INCT. O curso foi ministrado de 11 a 15 de março de 2009 no Depto de Química da UFPR e foi intitulado “Ecologia Química: A Química na Comunicação dos Animais”.

Um minicurso foi ministrado pelo Prof. Francisco de Assis Marques durante a XXXIII Semana Acadêmica de Biologia do Departamento de Biologia da Universidade Regional de Blumenau - FURB no período de 05 a 07 de outubro de 2009. O título do minicurso foi “A Ecologia Química e o Controle Biorracional de Pragas”. Um seminário intitulado “Estudos Visando o Controle Populacional de Pragas de Interesse Médico: *Loxosceles intermedia*, *Aedes aegypti* e *Achatina fulica* também foi ministrado durante o evento.

- Palestras:

Uma palestra intitulada “Estudos Visando o Controle Populacional de Pragas de Interesse Médico: *Loxosceles intermedia*, *Aedes aegypti* e *Achatina fulica*” foi proferida pelo Prof. Francisco de Assis Marques na Semana de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Pato Branco, no dia 28 de outubro de 2009.

Uma palestra foi proferida pelo Prof. Francisco de Assis Marques no Centro Estadual de Educação Profissional de Curitiba – CEEP, para alunos dos Cursos de Química Industrial e Meio Ambiente, no dia 05 de novembro de 2009 e teve o título: “Controle Biorracional de Pragas”.

A conferência de abertura do 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 09-12/11/ 2009, São Pedro, intitulada "Highlights in the evolution of the Brazilian Rutales phytochemistry” foi proferida pela Prof. M. Fátima G.F. da Silva, Livro de Resumos, 2009.

Uma palestra intitulada “*Khaya ivrensis* – *Botryosphaeria rhouidina* – *Acraephia perspicillata* interaction” foi proferida pela Profa. M. Fátima das G.F. da Silva no VI Encontro Brasileiro de Ecologia Química, Universidade Federal de Viçosa, 01 – 04 /12/2009

Reportagem:

Título: Nim controla com eficiência lagarta-do-cartucho em milho.

Autores: Paulo César Bogorni e José Djair Vendramim

Revista: Revista Campo & Negócios

Local e data: Uberlândia, MG, p. 66 - 67, jul/2009

Título: Nova Opção: Produtos a base de azadiractina, certificado inclusive para agricultura

orgânica de hortifrutigranjeiros, chega ao Brasil e aumenta alternativas ao controle de insetos-pragas como traça-do-tomateiro e mosca-branca.

Autores: Uemerson Silva da Cunha e Paulo Cesar Bogorni

Revista: Cultivar, Pelotas, RS, p.36. set/2009

Lazzari, F. A.; Lazzari, S. M. N. ; Karkle, A. F. . Resfriamento artificial para o controle de Coleoptera em arroz armazenado em silo metálico. Grãos Brasil, Maringá, PR, p. 15 - 18, 01 jan. 2009.

ENUMERE OS IMPACTO(S) CAUSADO(S) PELAS AÇÕES E RESULTADOS DO PROJETO PARA A AMPLIAÇÃO, MELHORIA E CONSOLIDAÇÃO DA COMPETÊNCIA TÉCNICO-CIENTÍFICA NACIONAL PARA:

A – PESQUISA:

- Para os pesquisadores de todas as instituições a participação neste Instituto tem sido de fundamental importância para a aquisição de equipamentos que possibilitarão que as pesquisas sejam efetuadas com uma infraestrutura mais adequada, eliminando obstáculos que se faziam presentes até então. A participação destes pesquisadores neste Instituto tem propiciado também um amadurecimento científico para os mesmos através das discussões que já foram realizadas, e as que certamente ocorrerão, com toda a equipe envolvendo os resultados já acumulados e os desafios que ainda estão para serem superados.

- Descoberta de novas espécies vegetais com potencial de uso para controle das pragas estudadas.

- Nos estudos de ensaios com a bactéria *Xylella fastidiosa* entre as substâncias que mostraram boa atividade, a flavanona hesperidina (3.3 µM) e azadirachtina (2.2 µM) são encontrados em grande quantidade em suas respectivas plantas, indicando potenciais aplicações *in vivo*. O óleo do Neem e extratos de *Azadirachta indica* foram nanoencapsulados para aumentar a estabilidade do princípio ativo e os ensaios frente a *X. fastidiosa* estão em andamento. Estes estudos levaram a uma publicação e a uma patente. Esta última vem auxiliando as empresas que trabalham com o óleo do Neem, em análises de controle de qualidade dos mesmos. O óleo do Neem Indiano é o preferido devido ao maior teor dos princípios ativos. O nosso grupo verificou que este teor nos frutos de *A. indica* plantado no Brasil eram os mesmos daqueles indianos. Ou seja, o método de extração no Brasil era falho. Uma segunda patente está sendo submetida, a qual permitiu a empresa Baraúna Comércio e Indústria Ltda, Catanduva-SP, melhorar a extração dos princípios ativos dos frutos do Neem. Foi construído um novo tipo de extrator pela empresa, e este está sendo patenteado com a participação do grupo.

- As interações Ru(II)-flavonóide e Mg(II)-flavonóide potencializaram a ação inseticida dos produtos naturais estudados, conforme mostram os ensaios *in vivo* com as formigas cortadeiras *Atta sexdens rubropilosa*. O complexo [Mg(phen)(hesperidina)(MeOH)₂]₂ apresentou ação inseticida frente a formigas cortadeiras semelhante à ação do inseticida comercial sulfluramida. A alta toxicidade deste inseticida comercial levou a sua retirada do mercado em muitos países europeus. O complexo Mg(II)-hesperidina além de apresentar considerável ação inseticida, o metal magnésio por si só é um fertilizante para o solo, evitando possíveis complicações ambientais por parte deste metal. Com isto, será submetida para patente a metodologia de síntese e ensaios biológicos daqueles que apresentaram excelente atividade. O fornecimento da patente a empresas Brasileiras de defensivos agrícolas trará maior concorrência internacional, e principalmente melhor inseticida para o meio ambiente.

- O complexo *cis*-[Ru(phen)₂(hesp)]PF₆ inibe a atividade da enzima acetilcolinesterase via mecanismo de inibição competitiva reversível.

B – FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS:

- A disponibilização de bolsas de Pós-Doutorado, de Iniciação Científica, de Apoio Técnico de nível médio e superior para as equipes das respectivas instituições têm sido essencial para dar suporte ao desenvolvimento das atividades de pesquisas em andamento, principalmente em alguns Estado onde o número de bolsas desta natureza, disponibilizadas pelas Fundações de Apoio à Pesquisa local, é bastante reduzido.

- Foram formados em 2009 10 mestres e 6 doutores. Os dez mestres continuam na pós graduação nas mesmas áreas. Os seis doutores continuam atuando em áreas correlatas, portanto ampliando o número de pesquisadores preocupados com o meio ambiente.

C – TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO E TECNOLOGIA:

Transferência de tecnologia sobre extração mais eficiente do óleo do Neem á empresa Baraúna Comércio e Indústria Ltda, Catanduva-SP (ver detalhes acima).

D – EDUCAÇÃO E DIVULGAÇÃO DA CIÊNCIA:

As atividades acima sobre educação e divulgação da ciência têm despertado os professores do ensino médio para novas possibilidades pedagógicas, assim como novos talentos para a atividade científica junto aos nossos PPG. Também tem proporcionado aos próprios cientistas do INCT um ambiente multidisciplinar, com novas possibilidades de enfoques, e início de novas linhas de pesquisa.

PARA FINS DE DIVULGAÇÃO, RELACIONAR RESULTADOS OBTIDOS QUE MEREÇAM DESTAQUE PARA O DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO, TECNOLÓGICO E/OU SOCIAL:

Todos citados acima

RESULTADOS EM NÚMEROS**A – INDICADORES DE PESQUISA****NÚMEROS DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA E ARTÍSTICA NO PERÍODO**
(anexar referências):

TIPO	QUANTIDADE
LIVROS	01
CAPÍTULOS DE LIVROS	03
ARTIGOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS NACIONAIS	05
ARTIGOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS INTERNACIONAIS	19
TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS NACIONAIS	77
TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS INTERNACIONAIS	21
SOFTWARE	
PATENTE	01 em 2008
PRODUTOS	
PROCESSOS	
PRODUÇÃO ARTÍSTICA (ESPECIFICAR)	
OUTROS (ESPECIFICAR):	
ARTIGOS NO PRELO EM PERIÓDICOS NACIONAIS	03
ARTIGOS NO PRELO EM PERIÓDICOS INTERNACIONAIS	05

B – INDICADORES DA FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS	
NÚMEROS DA FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS NO PERÍODO	
TIPO	QUANTIDADE
ENCERRADOS:	
INICIAÇÃO CIENTÍFICA	(todos que iniciaram em 2008 continuam no INCT)
MESTRE	10
DOUTOR	06
PÓS-DOUTOR	03
OUTROS (ESPECIFICAR):	
EM ANDAMENTO:	
INICIAÇÃO CIENTÍFICA	24
MESTRE	20
DOUTOR	30
PÓS-DOUTOR	09
OUTROS (ESPECIFICAR): Atribuição Técnica de Nível Superior	08
Atribuição Técnica de Nível Médio	09

C – INDICADORES DE TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO E TECNOLOGIA	
NÚMEROS DA PRODUÇÃO NO PERÍODO (especificar e anexar referências):	
TIPO	QUANTIDADE
Transferência de tecnologia sobre extração mais eficiente do óleo do Neem á empresa Baraúna Comércio e Indústria Ltda. (CNPJ 00.208.638/0001-12), representada pelo sócio diretor Roberto Antônio Malimpence, (roberto@barauna.agr.br) - Catanduva-SP.	01

D – INDICADORES DE EDUCAÇÃO E DIVULGAÇÃO DA CIÊNCIA	
NÚMEROS DA PRODUÇÃO NO PERÍODO (especificar e anexar referências):	
TIPO	QUANTIDADE
Feira e/ou oficina de ciência	02
Cursos	02
Palestras	04
Reportagens	03

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

DESCREVER OUTRAS FORMAS DE DISPONIBILIZAÇÃO PÚBLICA DOS RESULTADOS DO PROJETO:

No site do próprio INCT-CBIP

DESCREVER AS MELHORIAS IMPLANTADAS NAS INSTALAÇÕES FÍSICAS DA SEDE E DOS LABORATÓRIOS ASSOCIADOS AO INSTITUTO, COMO ADPTAÇÕES FÍSICAS, EQUIPAMENTOS, ETC.:

UFSCAR:

A verba aprovada pela FAPESP foi toda ela aplicada na compra do equipamento de RMN, 14,09 Tesla - 600 MHz para frequência do hidrogênio. O laboratório será o primeiro a contar com esse arsenal de ferramentas para elucidação estrutural de compostos orgânicos e estudo de interações enzima-inseticida, etc.

ESALQ

Construção de uma estufa plástica com fechamento em tela anti-afídeos com 134 M²

UFSE

Aquisição de um liofilizador, o que possibilitará estudar extratos aquosos das plantas selecionadas.

HOUVE ATIVIDADES DE INTEGRAÇÃO COM OUTROS INCT'S: (X) SIM () NÃO

EM CASO POSITIVO DETALHAR:

- *INCT de genômica para melhoramento de citros (INCT Citros) - Marcos A. Machado*: O grupo de PN da UFSCar e este INCT vêm desenvolvendo novas metodologias de controle das doenças de Citros utilizando compostos de origem natural que sejam mais seletivos e menos prejudiciais ao meio ambiente. As principais doenças em estudo são: a mancha preta dos citros e a mancha de alternaria, causadas pelos fungos *Guignardia citricarpa* e *Alternaria alternata* f.sp. *citri*, respectivamente; Greening (estudos com o vetor *Diaphorina citri*) e Clorose Variegada do Citros (CVC) (estudos com a bactéria *Xylella fastidiosa*). Os alunos envolvidos nesta linha de atividade estão em constante contato, semanalmente substâncias puras e/ou extratos são levados a Cordeirópolis para ensaios, ou os alunos vão para realizarem inoculação de fungos ou bactéria em plantas de citros para estudo químico posterior. Poderá ser visto em anexo que possuímos algumas publicações em colaboração.

- *INCT em Semioquímicos na Agricultura – José Roberto Postali Parra*: O grupo do Prof. José Djair Vendramim da ESALQ/Departamento de Entomologia, tem tido um estreito relacionamento com o Prof. Parra em uso de equipamentos comuns aos dois centros, além de discussões sobre metodologias de criação de certos insetos.

- *Instituto Nacional de C&T de Biotecnologia Estrutural e Química Medicinal em Doenças Infecciosas – Glaucius Oliva*: O grupo de produtos Naturais da UFSCar possui uma forte interação com o grupo do Prof. Glaucius. Em geral quase todas as substâncias isoladas de plantas, fungos ou bactérias pelo grupo de PN-UFSCar são ensaiadas frente às enzimas alvos de várias doenças tropicais. Estes ensaios são coordenados pelo Prof. Paulo C. Vieira

do grupo de PN-UFSCar, o qual está incluído no INCT coordenado pelo Prof. Glaucius. Poderá ser visto em anexo que possuímos algumas publicações em colaboração.

- *INC Instituto Nacional de C&T Hympar Sudeste – Angélica Maria Pentead-Dias*: O grupo de produtos Naturais da UFSCar possui interação com o grupo da Prof. Angélica. Há troca de informações sobre o uso sustentável da biodiversidade, classificação e comportamento de insetos e uso de equipamentos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

COMENTAR OUTROS ASPECTOS RELEVANTES DO DESENVOLVIMENTO GERAL DO PROJETO:

Consideramos apenas os citados acima

QUAL O PAPEL DO INCT PARA A FORMAÇÃO DA REDE DE PESQUISA?

A participação dos pesquisadores neste Instituto tem propiciado um amadurecimento científico para os mesmos através das discussões que já foram realizadas, e as que certamente ocorrerão, com toda a equipe envolvendo os resultados já acumulados e os desafios que ainda estão para serem superados. Também tem proporcionado aos próprios cientistas do INCT um ambiente multidisciplinar, com novas possibilidades de enfoques, e início de novas linhas de pesquisa. Tudo isto só foi possível com a formação de uma rede de pesquisa, estimulada e financiada pelo INCT.

AVALIE A INTERLOCUÇÃO DO INCT COM O CNPq E DEMAIS FINANCIADORES DO PROGRAMA:

A INTERLOCUÇÃO DO INCT-CBIP E O CNPQ E FAPESP TEM SIDO VIA E-MAIL E DE EXCELENCIA, NÃO TENDO OCORRIDO NENHUM PROBLEMA ATÉ O MOMENTO.

Anexar **relatório de resultados parciais**, de no máximo **50 páginas**, contendo:

1. Comitê Gestor – reuniões realizadas e decisões;
2. Atividades de cooperação entre os grupos de participantes do INCT;
3. Atividades de cooperação entre INCT's e com outras instituições (empresas, ongs, instituições governamentais, etc);
4. Principais resultados técnico-científicos;
5. Eventos nacionais e internacionais: apresentação de trabalhos, organização de cursos, seminários; palestras; mesas redondas;
6. Atividades de formação e capacitação de recursos humanos;
7. Perspectivas e futuros desdobramentos.

LOCAL E DATA: São Carlos, 03 de Maio de 2010

ASSINATURA:

