

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA)
Curso de Ciências Biológicas- Bacharelado

COMPATIBILIDADE DE *Beauveria bassiana* A FUNGICIDAS
ASSOCIADOS À FERRUGEM ALARANJADA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Acadêmica: Nineve Bertotto

Novembro/2010

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA)
Curso de Ciências Biológicas- Bacharelado

COMPATIBILIDADE DE *Beauveria bassiana* A FUNGICIDAS
ASSOCIADOS À FERRUGEM ALARANJADA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Acadêmica: Nineve Bertotto

Orientadora: Gisele J. de Jesus

Co-orientadora: Elisângela de Souza Loureiro

Monografia apresentada ao Curso de
Ciências Biológicas/Bacharelado, como
requisito para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Novembro/2010

COMPATIBILIDADE DE *Beauveria bassiana* A FUNGICIDAS
ASSOCIADOS À FERRUGEM ALARANJADA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Acadêmica: Nineve Bertotto

Endereço: Rodovia Dourados – Itahum Km 12-Cidade Universitária

Caixa Postal 533 – CEP 79804-070

Dourados, Mato Grosso do Sul – Brasil

Palavras chave: Conídios; Controle Biológico; Entomopatógenos; Produtos Fitossanitários.

¹Nineve Bertotto; ²Gisele J. Jesus; ³Elisângela de Souza Loureiro.

¹UFGD/FCBA; ²UFGD/FCBA; ³UFMS.

Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências

COMPATIBILITY OF A FUNGICIDE *Beauveria bassiana* ASSOCIATED WITH THE RUST ORANGE CANE SUGAR

2. ABSTRACT

This study aimed to evaluate the compatibility of fungicides Comet®, Approach®Prima, Caramba 90®, Priori Xtra® and Opera® with isolates IBCB 87, IBCB 06, UFGD 11 and ESALQ 447 UW of *Beauveria bassiana*. We performed the addition of pesticides in 200 ml of culture medium PDA (potato dextrose agar) at the concentrations recommended. The culture medium was poured into petri dishes and after solidification of the BDA at three equidistant points of the plate, the fungi were inoculated. The plates were incubated at $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ and a photoperiod of 12 hours for a period of 7 days. After this period the following parameters were evaluated: vegetative growth, sporulation and germination of fungi, necessary to calculate the compatibility. The treatments significantly reduced the percentage of germinated conidia of the fungus *B. bassiana*, affecting compatibility between entomopathogenic fungi and fungicides. However new tests should be performed under field conditions.

Keywords: Biologic Control; Conidia; Entomopathogens; Plant Protection Products.

3. INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) encontra-se em um momento de grande expansão da área cultivada nas principais regiões produtoras do Brasil, devido à boa rentabilidade que o comércio do açúcar e álcool combustível tem proporcionado ao setor. Paralelamente, o setor sucroalcooleiro, tem passado por uma profunda transformação no sistema de produção vigente, através da proibição da queima como etapa da operação de colheita, amparada em leis federal e estadual que estabeleceram um período de quatro anos para o fim desta prática agrícola no Estado de Mato Grosso do Sul (Boletim de Entomologia Agroecologica, 2010).

Dentre os fatores que afetam o crescimento, desenvolvimento e produtividade da monocultura, os insetos-praga têm papel de destaque, tanto na região Nordeste, quanto no Centro-Sul do Brasil e, com a expansão da cultura, as pragas, tem se tornado um dos principais problemas fitossanitários da cana-de-açúcar. Para tanto, o que é importante salientar é que embora existam peculiaridades regionais, as principais pragas, são controladas com alternativas biológicas, seja por meio de insetos predadores, parasitóides ou entomopatógenos (Gallo et al., 2002).

A ferrugem laranja ou alaranjada da cana-de-açúcar, causada pelo fungo *Puccinia Kuehnii* Buttler, 1914 é considerada, de acordo com a Instituição Normativa 41, de 1º de julho de 2008, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), com uma Praga Quarentenária Ausente ou A1, isto é, praga não presente no País. Porém, ela possui características de ser um potencial causador de danos econômicos quando introduzida, já que afeta as folhas da cana-de-açúcar reduzindo a capacidade de fotossíntese da planta e, em consequência, a produção de sacarose (Ferrari et al., 2010).

Dentre os principais entomopatógenos utilizados destaca-se o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals) Vull. para o controle do complexo de

coleópteros da cana-de-açúcar. O entomopatógeno vem sendo utilizado desde a década de 1990, com dezenas de empresas produzindo-o e comercializando-o (Pinto et al., 2009).

Os fungos entomopatogênicos são inimigos naturais que podem ser diretamente prejudicados pelo uso de agrotóxicos, que tem sido a estratégia básica de suprimir as populações de pragas (Cavalcanti et al., 2002). A ação dos agrotóxicos sobre os entomopatógenos pode variar em função da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e das dosagens utilizadas (Alves, 1998). Esses produtos podem causar inibição do crescimento vegetativo, da conidiogênese ou esporulação, além da viabilidade, patogenicidade e virulência do conídio (Cavalcanti et al., 2002).

Nestes termos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a compatibilidade dos fungicidas Caramba 90®, Comet®, Opera®, Piori-Xtra® e Aprouch®Prima, registrados para a *P. kuehni*, com os isolados IBCB 87, IBCB 06, UFGD 11 e ESALQ 447 de *B. bassiana*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Biológicas da UFGD, Município de Dourados/MS. Foram utilizados quatro isolados provenientes de *B. bassiana* (Tabela 1), armazenados no Banco de Entomopatógenos da UFGD. Os Isolados utilizados foram mantidos em meio de cultura batata-dextrose-ágar (B.D.A), em B.O.D, a temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$ e $70\pm 10\%$ de UR e fotoperíodo de 12 horas.

Tabela 1. Espécie, isolado, hospedeiro sobre o qual foi coletado e origem do patógeno utilizados nos bioensaios de compatibilidade com fungicidas.

Espécies	Isolado	Hospedeiro (Ordem)	Origem
<i>Beauveria bassiana</i>	IBCB 87	Coleoptera	Instituto Biológico
<i>Beauveria bassiana</i>	IBCB 06	Coleoptera	Instituto Biológico
<i>Beauveria bassiana</i>	UFGD 11	Coleoptera	UFGD
<i>Beauveria bassiana</i>	ESALQ 447	Coleoptera	USP /ESALQ

A adição dos Fungicidas (Tabela 2) em 200 mL de meio de cultura B.D.A. foi feita nas concentrações recomendadas, com o meio ainda líquido, a uma temperatura de 40°C , previamente esterilizado. Em seguida, o meio foi vertido em placas de Petri (9 cm de diâmetro), devidamente esterilizadas, sendo a inoculação dos fungos realizada após a sua solidificação. Posteriormente os fungos foram inoculados nas placas contendo os fungicidas.

Tabela 2. Fungicidas utilizados para o controle da ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar.

Princípio Ativo	Nome Comercial	Concentrações recomendadas (a.i./ha)
Piraclostrobina	Comet®	0,4 – 0,8 L/há
Ciproconazol + Picoxistrobina	Approach®Prima	0,3 – 1,0 L/ha
Metconazole	Caramba 90®	50 ml – 2 L/ha
Ciproconazol + Azoxistrobina	Priori XTRA®	0,3 – 0,5 L/ha
Piraclostrobina + Epoxiconazol	Opera®	0,5 – 1,0 L/há

Foram preparados três placas por tratamento, sendo a inoculação realizada por meio de uma alça de platina, em três pontos equidistantes por placa, totalizando 9 colônias de fungos, das quais 6 colônias foram aleatoriamente apontadas, resultando assim, em 6 repetições por tratamento. O tratamento testemunha foi representado pelo meio de cultura sem a adição dos produtos. Após a inoculação do fungos as placas foram mantidas em B.O.D a 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas, por um período de 10 dias. Após esse período foi realizada a medição do diâmetro médio das colônias, segundo metodologia proposta por (Alves et. al., 1998).

Para tanto, foram recortadas 6 das colônias de fungos com o auxílio de um bisturi esterilizado, transferindo-as para tubos contendo 10 ml de solução esterilizada de Tween 80® (0,1%), agitando-as para facilitar a retirada dos conídios da superfície do meio. A contagem de conídios foi realizada em microscópio óptico com auxílio de câmara de Neubauer no aumento de 400X.

Para verificar a germinação dos conídios de *B. bassiana* seguiu-se a metodologia proposta por Neves et. al. (2001), onde uma suspensão de conídios do fungo padronizada para

1×10^7 conídios/mL foi colocada em contato com os produtos diluídos em água destilada esterilizada contendo 0,02% de Tween 20®, nas concentrações determinadas, por 1 hora. Após esse período alíquotas de 0,5 mL de cada suspensão foram retiradas e inoculadas com auxílio da alça de Drigalsky em quatro placas de Petri, vertidas com uma delgada camada do meio BDA. As placas foram então encubadas a 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e 12 horas de fotofase. Após 20 horas de incubação a porcentagem de conídios germinados foi quantificada com auxílio de microscópio óptico.

Os valores do crescimento vegetativo foram comparados entre si pelo teste de médias Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram também submetidos à classificação desenvolvida por Alves et al. (1998), que se baseia nos valores médios em porcentagem da conidiogênese e do crescimento vegetativo das colônias do fungo em relação aos valores da testemunha, classificando os produtos em classes de seletividade/compatibilidade, aplicando-se a seguinte equação:

$$T = \frac{20[CV] + 80[ESP]}{100}$$

Sendo:

T: valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para a classificação do produto;

CV: porcentagem do crescimento vegetativo com relação à testemunha;

ESP: porcentagem de esporulação com relação à testemunha.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A porcentagem de germinação dos conídios de *B. bassiana* nos diferentes isolados (IBCB 87, IBCB 06, UFGD 11 e ESALQ 447), associados aos fungicidas sofreu variações. No primeiro isolado (IBCB 87) a germinação dos conídios do fungo foi significativamente menor com o tratamento com PrioriXTRA®, causando reduções de 91% na germinação do fungo, contudo não diferindo estaticamente de Conet®. Já no segundo isolado (IBCB 06), todos os tratamentos diferiram da testemunha, porém, não diferiram estaticamente entre si, causando redução da germinação de aproximadamente de 90,57% a 92,13%. Os fungicidas Comet®, Approach®Prima e Opera® diferiram estaticamente da testemunha e dos demais fungicidas apresentando redução da germinação do isolado UFGD 11 de 87,94%, 87,07% e 91,94%, respectivamente. Em relação ao quarto isolado (ESALQ 447), o tratamento Opera® apresentou maior germinação dos conídios (18,06%). Nos outros tratamentos a germinação variou de 7,18% e 10% (Tabela 3).

Durán et al. (2004) estudaram a compatibilidade dos fungicidas Antracol® e Dithane® em três dosagens diferentes para o fungo *B. bassiana* (isolado 447), e observaram que estes produtos não proporcionaram crescimento do isolado. Estes resultados diferem dos obtidos em estudos realizados por Neves et al. (2001), em que os produtos químicos não afetaram a viabilidade dos conídios do isolado 447 de *B. bassiana*.

A inibição da germinação de conídios, observada nos fungicidas inibidores do processo respiratório deve-se, provavelmente, ao mecanismo de ação destes fungicidas. As estrobirulinas, oxazolidinedionas e imidazolinonas atuam por meio da inibição da respiração mitocondrial, bloqueando a transferência de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1 (Complexo III), impedindo à formação de ATP e conseqüentemente a produção de energia (Leroux, 1996; Ypema and Gold, 1999). Os conídios para germinarem demandam alta energia que é obtida pelas vias respiratórias convencionais inibidas por estes fungicidas. O micélio,

por sua vez, além das vias respiratórias convencionais, pode gerar energia por vias alternativas e por glicólise. A energia gerada pelas vias alternativas é limitada, no entanto, pode ser suficiente para que o micélio cresça por algum espaço de tempo, mesmo após o contato com o fungicida (Töfoli et al., 2003).

Tabela 3. Porcentagem de germinação de conídios do fungo *Beauveria bassiana* na concentração 1×10^9 (con/ml) 20 horas após a inoculação, fotoperíodo de 12h, em batata-dextrose-ágar, alterada com fungicida.

Tratamentos	Germinação dos isolados (%)			
	IBCB 87	IBCB 06	UFGD 11	ESALQ 447
Testemunha	80,00±6,79 a	72,56±7,93 a	75,00±4,16 a	63,03±6,44 a
Comet®	13,43±1,76 bc	8,00±3,51 b	12,06±6,63 b	10,00±1,13 c
Aproach®Prima	24,43±4,25 c	9,43±2,06 b	12,93±5,12 b	7,27±1,50 c
Caramba 90®	18,81±3,39 c	7,87±0,32 b	16,75±2,07 c	7,18±1,63 c
Priori-Xtra®	9,00±1,06 d	7,93±2,19 b	24,93±2,79 c	8,93±1,29 c
Opera®	15,81±3,02 bc	9,43±2,78 b	8,06±1,32 b	18,06±0,55 b
DMS	8,63	8,80	9,23	6,38
CV (%)	14,32	20,40	16,48	14,90

As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade de erro.

Quanto à compatibilidade entre o patógeno e os agrotóxicos, verificou-se que todos os tratamentos apresentaram-se como muito tóxicos, não sendo assim compatíveis (Tabela 4). Resultado semelhante de toxicidade foi verificado por Mertz (2006) utilizando os produtos Dalneem®, Ecolife® e Agromos® nas concentrações ¼; ½; 1; 2 e 4CR sobre *B. bassiana*. Da

mesma forma Batista Filho *et al.* (2001), classificaram como incompatíveis os fungicidas Dalneem®, Ecolife® e Agromos® aos fungos *B. bassiana* (isolado IBCB 66), *M. anisopliae* (isolado SPL 358) e *Sporothrix insectorum* (isolado IBCB 79). Entretanto, Moino Jr. e Alves (1998), que verificaram que o inseticida Imidaclopride® não causou efeitos prejudiciais sobre a esporulação e crescimento vegetativo dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*.

Um dos principais fatores envolvidos no nível de toxicidade dos produtos fitossanitários aos fungos entomopatogênicos é o modo de ação do ingrediente ativo. Moléculas dos ingredientes ativos dos fungicidas protetores, por exemplo, caracterizam por apresentarem atividades em múltiplos sítios de ação, afetando grande número de processos vitais de fungos entomopatogênicos (Ghibi e Kimati, 2000).

Tabela 4. Classificação da compatibilidade entre os fungicidas e entomopatógenos.

Tratamentos	Compatibilidade*			
	IBCB 87	IBCB 06	UFGD 11	ESALQ 47
Comet®	MT	MT	MT	MT
Approach®	MT	MT	MT	MT
Caramba 90®	MT	MT	MT	MT
Priori XTRA®	MT	MT	MT	MT
Opera®	MT	MT	MT	MT

* MT-Muito Tóxico; T-Tóxico; MDT-Moderadamente tóxico; C-Compatível

Para manter os efeitos de controle de *B. bassiana* com as pragas, cuidados especiais devem ser tomados no sentido de utilizar fungicidas, visando não inviabilizar o efeito do fungo entomopatogênico no controle da praga. Pois, os testes *in vitro* mantêm o patógeno

exposto ao máximo ao produto fitossanitário, o que não ocorre em condições de campo, já que ocorrem fatores externos que agem sobre o produto, principalmente radiação solar, deriva e ventos, amenizando a ação do princípio ativo sobre o fungo (Cavalcanti et al. 2002). Dessa forma, produtos considerados incompatíveis nesse tipo de teste (*in vitro*), podem ter diferentes resultados quando aplicados em condições de campo.

6. CONCLUSÕES

Os fungicidas utilizados reduziram significativamente a germinação dos conídios do fungo *B. bassiana*, em todos os isolados. A compatibilidade entre patógeno e agrotóxico foi afetada em condições de laboratório, contudo novos testes devem ser realizados em condições de campo e laboratório.

7. RESUMO

O presente trabalho objetivou avaliar a compatibilidade dos fungicidas Comet®, Approach®, Caramba 90®, Priori XTRA® e Opera® com os isolados de *Beauveria bassiana* IBCB 66, IBCB 274, UFGD 02 e UFGD 11. Foi realizada a adição dos fungicidas em 200 mL de meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) nas concentrações recomendadas. O meio de cultura vertido em placas de Petri e após a solidificação do BDA, os fungos foram inoculados em três pontos equidistantes da placa. As placas foram mantidas em B.O.D a $25\pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, por um período de 10 dias. Após esse período foram avaliados os seguintes parâmetros: crescimento vegetativo e germinação dos entomopatógenos, necessários ao cálculo do fator de compatibilidade. Os tratamentos utilizados reduziram significativamente a porcentagem de germinação dos conídios dos isolados do fungo *B. bassiana*, afetando a compatibilidade dos entomopatógenos com os fungicidas. Contudo novos testes deverão ser realizados em condições de campo.

Palavras chave: Conídios; Entomopatógenos; Produtos Fitossanitários; Controle Biológico.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, S.B. Fungos entomopatogênicos. In:_____. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.289-381.
- Alves, S.B.; Moino Jr., A.; Almeida, J.E.M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S.B. (ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ. Cap.8, p.217-238, 1998.
- Batista Filho, A.; Almeida, J.E.M.; Lamas, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, v.30, n.3, p.437-447, 2001.
- Boletim De Entomologia Agroecológica. Controle Biológico de Insetos na Cultura da Cana-de-açúcar. Volume 1. 1ª Edição – Bimestral - Junho/2010. Disponível em <<http://www.ufgd.edu.br/noticias/pos-graduacao-em-entomologia-ministra-palestra-e-lanca-boletim>> acesso dia 01 de Out. de 2010.
- Cavalcanti, R.S.; Moino Junior, A.; Souza, G.C.; Arnosti, A. Efeito de produtos fitossanitários fenpropatrina, imidaclopride, iprodione, e tiametoxam sobre o desenvolvimento do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.3, p.17-22, 2002.
- Durán, J.; Carballo, M.; Hidalgo, E. Efecto de fungicidas sobre la germinación y el crecimiento de *Beauveria bassiana*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, v.71, p.73-78, 2004.
- Ferrari, J. T.; Harakava, R.; Domingues, R. J.; Terçariol, I. M. L. Ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar. **Documento Técnico 005**. São Paulo: Instituto Biológico – APTA. 2010. 1-8 p.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Baptista, G.C.; Berti Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.D.; Marchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. **Entomologia agrícola**.2.ed. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.
- Ghini, R.; Kimati, H. (Ed.). **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.
- Leroux, P. Recent developments in the mode action of fungicides. **Pesticide Science** , v.47, p.191-197, 1996.
- Mertz, N.R. **Efeito in vitro de produtos fitossanitários naturais sobre Beauveria bassiana (Bals.) Vuill.** 2006. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso - Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel. 2006.
- Moino Junior, A.; Alves, S. B. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no Comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.27, p.611-619, 1998.

Neves, P.M.O.J.; Hirose, E.; Tchujo, P.T.; Moino Junior, A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoids insecticides. **Neotrop. Entomol.**, v.30, n.2, p.263-268, 2001.

Pinto, A. S.; Botelho, P.S.M.; Oliveira, H.N. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos da cana-de-açúcar**. Piracicaba: FEALQ, 2009. 64 p.

Töfoli, J. G.; Domingues, R. J.; Kurozawa, C. Ação “*In Vitro*” de fungicidas no crescimento micelial e germinação de conídios de *Alternaria solani*, agente causal da pinta preta do tomateiro. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.3, p.337-345, jul./set., 2003.

Ypema, H.L., Gold, R.E. Kresoxim methyl: modification of a naturally occurring compound to produce a new fungicide. **Phytopatology**, v.83, p. 4-19, 1999.

Instruções aos Autores

16/03/2009

Revisadas em dezembro de 2007

A revista ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS encoraja fortemente as submissões online. Uma vez o artigo preparado de acordo com as instruções abaixo, visite o site de submissão online (<http://aabc.abc.org.br>).

As instruções devem ser lidas cuidadosamente e seguidas integralmente. Desta forma, a avaliação e publicação de seu artigo poderão ser feitas com mais eficiência e rapidez. Os editores reservam-se o direito de devolver artigos que não estejam de acordo com estas instruções. Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso.

Objetivo e Política Editorial

Todos os artigos submetidos devem conter pesquisa original e ainda não publicada ou submetida para publicação. O primeiro critério para aceitação é a qualidade científica. O uso excessivo de abreviaturas ou jargões deve ser evitado, e os artigos devem ser compreensíveis para uma audiência tão vasta quanto possível. Atenção especial deve ser dada ao Abstract, Introdução e Discussão, que devem nitidamente chamar a atenção para a novidade e importância dos dados relatados. A não observância desta recomendação poderá resultar em demora na publicação ou na recusa do artigo.

Os textos podem ser publicados como uma revisão, um artigo ou como uma breve comunicação. A revista é trimestral, sendo publicada nos meses de março, junho, setembro e dezembro.

Tipos de Artigos

Revisões: Revisões são publicadas somente a convite. Entretanto, uma revisão pode ser submetida na forma de breve carta ao Editor a qualquer tempo. A carta deve informar os tópicos e autores da revisão proposta e declarar a razão do interesse particular do assunto para a área.

Artigos: Sempre que possível, os artigos devem ser subdivididos nas seguintes partes: 1. Página de rosto; 2. Abstract (escrito em página separada, 200 palavras ou menos, sem abreviações); 3. Introdução; 4. Materiais e Métodos; 5. Resultados; 6. Discussão; 7. Agradecimentos quando necessário; 8. Resumo e palavras-chave (em português - os autores estrangeiros receberão assistência); 9. Referências. Artigos de algumas áreas, como Ciências Matemáticas, devem observar seu formato usual. Em certos casos pode ser aconselhável omitir a parte (4) e reunir as partes (5) e (6). Onde se aplicar, a parte de Materiais e Métodos deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em humanos ou as normas seguidas para a manutenção e os tratamentos experimentais em animais.

Breves Comunicações: Breves comunicações devem ser enviadas em espaço duplo. Depois da aprovação não serão permitidas alterações no artigo, a fim de que somente correções de erros tipográficos sejam feitas nas provas.

Os autores devem enviar seus artigos somente em versão eletrônica.

Preparo dos Artigos

Os artigos devem ser preparados em espaço duplo. Depois de aceitos nenhuma modificação será realizada, para que nas provas haja somente correção de erros tipográficos.

Tamanho dos artigos: Embora os artigos possam ter o tamanho necessário para a apresentação concisa e discussão dos dados, artigos sucintos e cuidadosamente preparados têm preferência tanto em termos de impacto quando na sua facilidade de leitura.

Tabelas e ilustrações: Somente ilustrações de alta qualidade serão aceitas. Todas as ilustrações serão consideradas como figuras, inclusive desenhos, gráficos, mapas, fotografias e tabelas com mais de 12 colunas ou mais de 24 linhas (máximo de figuras gratuitas: cinco figuras). A localização provável das figuras no artigo deve ser indicada.

Figuras digitalizadas: As figuras devem ser enviadas de acordo com as seguintes especificações: 1. Desenhos e ilustrações devem ser em formato .PS/.EPS ou .CDR (Postscript ou Corel Draw) e nunca inseridas no texto; 2. Imagens ou figuras em meio tom devem ser no formato .TIF e nunca inseridas no texto; 3. Cada figura deve ser enviada em arquivo separado; 4. Em princípio, as figuras devem ser submetidas no tamanho em que devem aparecer na revista, i.e., largura de 8 cm (uma coluna) ou 12,6 cm (duas colunas) e com altura máxima para cada figura menor ou igual a 22 cm. As legendas das figuras devem ser enviadas em espaço duplo e em folha separada. Cada dimensão linear das menores letras e símbolos não deve ser menor que 2 mm depois da redução. Somente figuras em preto e branco serão aceitas. 5. Artigos de Matemática, Física ou Química podem ser digitados em Tex, AMS-Tex ou Latex; 6. Artigos sem fórmulas matemáticas podem ser enviados em .RTF ou em WORD para Windows.

Página de rosto: A página de rosto deve conter os seguintes itens: 1. Título do artigo (o título deve ser curto, específico e informativo); 2. Nome (s) completo (s) do (s) autor (es); 3. Endereço profissional de cada autor; 4. Palavras-chave (4 a 6 palavras, em ordem alfabética); 5. Título abreviado (até 50 letras); 6. Seção da Academia na qual se enquadra o artigo; 7. Indicação do nome, endereço, números de fax, telefone e endereço eletrônico do autor a quem

deve ser endereçada toda correspondência, prova e separatas (30 separatas por artigo publicado são oferecidas gratuitamente).

Agradecimentos: Devem ser inseridos no final do texto. Agradecimentos pessoais devem preceder os agradecimentos a instituições ou agências. Notas de rodapé devem ser evitadas; quando necessário, devem ser numeradas. Agradecimentos a auxílios ou bolsas, assim como agradecimentos à colaboração de colegas, bem como menção à origem de um artigo (e.g. teses) devem ser indicados nesta seção.

Abreviaturas: As abreviaturas devem ser definidas em sua primeira ocorrência no texto, exceto no caso de abreviaturas padrão e oficial. Unidades e seus símbolos devem estar de acordo com os aprovados pela ABNT ou pelo Bureau International des Poids et Mesures (SI).

Referências: Os autores são responsáveis pela exatidão das referências. Artigos publicados e aceitos para publicação (no prelo) podem ser incluídos. Comunicações pessoais devem ser autorizadas por escrito pelas pessoas envolvidas. Referências a teses, abstracts de reuniões, simpósios (não publicados em revistas indexadas) e artigos em preparo ou submetidos mas ainda não aceitos, podem ser citados no texto como (Smith et al. unpublished data) e não devem ser incluídos na lista de referências.

As referências devem ser citadas no texto como, por exemplo, (Smith 2004), (Smith and Wesson 2005) ou, para três ou mais autores, (Smith et al. 2006). Dois ou mais artigos do mesmo autor no mesmo ano devem ser distinguidos por letras, e.g. (Smith 2004a), (Smith 2004b) etc. Artigos com três ou mais autores com o mesmo primeiro autor e ano de publicação também devem ser distinguidos por letras.

As referências devem ser listadas em ordem alfabética do primeiro autor sempre na ordem do sobrenome XY no qual X e Y são as iniciais. Se houver mais de 10 autores, use o primeiro

seguido de et al. As referências devem ter o nome do artigo. Os nomes das revistas devem ser abreviados. Para as abreviações corretas, consultar a listagem de base de dados na qual a revista é indexada ou consulte a World List of Scientific Periodicals. A abreviatura para os Anais da Academia Brasileira de Ciências é An Acad Bras Cienc. Os seguintes exemplos são considerados como guia geral para as referências.

Artigos

Albe-Fessard D, Condes-Lara M, Sanderson P and Levante A . 1984a. Tentative explanation of the special role played by the áreas of paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. *Adv Pain Res Ther* 6: 167-182.

Albe-Fessard D, Sanderson P, Condes-Lara M, Delandsheer E, Giuffrida R and Cesaro P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. *An Acad Bras Cienc* 56: 371-383.

Knowles RG and Moncada S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298: 249-258.

Pinto ID and Sanguinetti YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus *Theriosynoecum* Branson, 1936 and validity of related Genera. *An Acad Bras Cienc* 56: 207-215.

Livros e capítulos de livro

Davies M. 1947. An outline of the development of Science, Athinker's Library, n. 120. London: Watts, 214 p.

Prehn RT . 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: National Cancer Conference , 5., Philadelphia Proceedings, Philadelphia: J.B. Lippincott, p. 97-104.

Uytenbogaardt W and Burke EAJ . 1971. Tables for microscopic identification of minerals, 2 nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

Woody RW . 1974. Studies of theoretical circular dichroism of Polipeptides: contributions of B-turns. In: Blouts ER et al . (Eds), Peptides, polypeptides and proteins, New York: J Wiley & Sons, New York, USA, p. 338-350.

Outras publicações

International Kimberlite Conference , 5, 1991. Araxá, Brazil. Proceedings ... Rio de Janeiro: CPRM, 1994., 495 p.

Siatycki J . 1985. Dynamics of Classical Fields. University of Calgary, Department of Mathematics and Statistics, 19985, 55 p. Preprint n. 600.