

Concurso para estágios
Estudantes do 1º Ciclo do Ensino Superior
PIIC-LEAF 2016-2017

Enquadramento

1. O LEAF oferece **15** estágios a estudantes do 1º ciclo do ensino superior (incluindo estudantes do 1º ano) com o objectivo de estimular a iniciação na actividade científica e de desenvolvimento de sentido crítico, criatividade e autonomia, através da sua integração em projectos de investigação em curso no LEAF.
2. Os estudantes podem ser oriundos de qualquer instituição de ensino superior.
3. Os estágios serão realizados no Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, e podem abranger as áreas de investigação em curso no LEAF (<https://www.isa.ulisboa.pt/en/leaf/presentation>).

Duração dos estágios

Os estágios terão duração de um ano, com a data de início a combinar com o respectivo orientador.

Candidaturas e Prazos

As candidaturas estão abertas entre **3 e 31 de Outubro de 2016**, podendo os estudantes concorrer a mais do que um estágio, devendo para isso indicar claramente na candidatura, a sua ordem de preferência.

Os candidatos devem enviar, por mail, ao(s) orientador(es) dos estágios escolhidos os seguintes elementos:

Curriculum vitae do candidato

Listagem das Disciplinas já realizadas no Ensino Superior

Cópia do CC ou equivalente

Critérios de selecção

A selecção das candidaturas será baseada no produto da classificação média (ponderada pelos ECTS) das disciplinas já realizadas pela razão entre as disciplinas realizadas e o total realizável até à data da candidatura, de acordo com o respectivo plano de curso. Serão também tidos em conta outros elementos curriculares. As candidaturas de estudantes do 1º ano terão em consideração as classificações de entrada na Universidade e outros elementos curriculares.

Pode haver necessidade de uma entrevista. Nesse caso, será constituído um júri de selecção dos candidatos, onde estará presente o Orientador do tema escolhido.

Sobre o LEAF

O LEAF teve início em Janeiro de 2015 e integra elementos de quatro antigos centros de investigação do ISA (Centro de Botânica Aplicada à Agricultura, Centro de Estudos de

Arquitetura Paisagista Prof. Francisco Caldeira Cabral, Centro de Engenharia dos Biosistemas, Unidade de Investigação em Química Ambiental).

O LEAF desenvolve investigação nas disciplinas básicas e ciências aplicadas relacionadas com a promoção da qualidade e sustentabilidade da cadeia Agro-Alimentar. O centro é constituído por quatro Grupos de Investigação, cada um representando uma área científica e por cinco Linhas Temáticas, onde as áreas científicas e o know-how dos investigadores dos vários Grupos se cruzam de modo a promover sinergias dentro do LEAF e para além deste.

<https://www.isa.ulisboa.pt/en/leaf/presentation>

Temas de Estágios 2016/2017:

1 Caracterização da variabilidade genética de características economicamente importantes em variedades antigas de videira. Luísa Carvalho e Elsa Gonçalves, elsagoncalves@isa.ulisboa.pt, lcarvalho@isa.ulisboa.pt

2 Amostragem e análise da diversidade genética em isolados de *Colletotrichum* spp. associados à gafa da oliveira e avaliação dos seus perfis de virulência em diferentes cultivares de oliveira. Andreia Loureiro, andreialoureiro@isa.ulisboa.pt

3 Estudo do estado da arte no que diz respeito à relação entre o azoto e a qualidade do solo. Cláudia Cordovil, cms@isa.ulisboa.pt

4 Estudo da aplicação de borras de café na germinação e produção de culturas hortícolas. Cláudia Cordovil, cms@isa.ulisboa.pt

5 Caracterização do nível de ploidia de fungos da ordem *Pucciniales* ao longo do seu ciclo de vida por citometria de fluxo. Pedro Talhinhas e Teresa Ribeiro; ptalhinhas@isa.ulisboa.pt, teresa.resinaribeiro@gmail.com (2 estagiários)

6 Avaliação da densidade das populações de *Tuta absoluta* presentes nas culturas Elisabete Figueiredo e Elsa Borges da Silva, elisalacerda@isa.ulisboa.pt, elsasilva@isa.ulisboa.pt

7 Expressão de transportadores de zinco e fósforo em *Cistus monspeliensis* L. desenvolvido em substrato com diferentes concentrações de zinco e arsénio. Luísa Carvalho e Maria Manuela Abreu, lcarvalho@isa.ulisboa.pt, manuelaabreu@isa.ulisboa.pt

8 Pesquisa de marcadores para identificar variedades portuguesas de trigo. Diana Tomás e Manuela Silva, dianarstomas@isa.utl.pt, manuelasilva@isa.ulisboa.pt

9 Desenvolvimento de bolachas salgadas com adição de biomassa de microalgas. Ana Paula Batista e Patrícia Fradinho, paulabatista@isa.ulisboa.pt, pfradinho@isa.ulisboa.pt

10. Estado fisiológico de plantas de *Cistus ladanifer* crescendo num sistema de reabilitação combinado de escombreyras. Luísa Carvalho e Erika Santos, lcarvalho@isa.ulisboa.pt, erikasantos@isa.ulisboa.pt
11. Identificação e caracterização de mutantes de fungos fitopatogénicos gerados por transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Ana Cabral e Pedro Talhinhos, anacabral@isa.ulisboa.pt, ptalhinhos@isa.ulisboa.pt
12. Resposta metabólica a stresse induzido por metais tóxicos em plantas alimentares. Inês Leitão, inesibleitao@gmail.com; Luísa Louro, Miguel Mourato
13. Análise metagenómica da madeira de videiras infetadas com os fungos da esca. Ricardo Boavida Ferreira, Helena Oliveira e Giovanni del Frari, rbferreira@isa.ulisboa.pt, heloliveira@isa.ulisboa.pt, gdelfrari@isa.ulisboa.pt
14. Análise metatranscritómica da madeira de videiras infetadas com os fungos da esca. Ricardo Boavida Ferreira, Helena Oliveira e Giovanni del Frari, rbferreira@isa.ulisboa.pt, heloliveira@isa.ulisboa.pt, gdelfrari@isa.ulisboa.pt
15. Identificação da deflamina, um composto anti-inflamatório e anti-tumoral de sementes de leguminosas. Ricardo Boavida Ferreira e Ana Lima, rbferreira@isa.ulisboa.pt, agusmaolima@gmail.com

Resumos:

1 Caracterização da variabilidade genética de características economicamente importantes em variedades antigas de videira.

(possibilidade de acolher 2 estagiários)

Luísa Carvalho e Elsa Gonçalves, elsagoncalves@isa.ulisboa.pt; lcarvalho@isa.ulisboa.pt

Com este estágio pretende-se colocar os estudantes em contacto com a metodologia de selecção da videira praticada em Portugal e com a teoria da genética quantitativa, integrando-as com métodos de análise molecular. O trabalho basear-se-á na análise de dados referentes à vindima de 2015 provenientes de populações experimentais de clones de várias castas, de modo a quantificar o rendimento, características de qualidade do mosto e nível de tolerância ao stresse abiótico. Serão efectuadas análises laboratoriais de amostras de bagos, introdução dos dados de rendimento e de qualidade do mosto, respectiva análise e interpretação. A metodologia de análise dos dados compreenderá o ajustamento de modelos lineares mistos, obtendo-se: estimativas da componente de variância genotípica e da heritabilidade em sentido lato, os melhores preditores empíricos lineares não enviesados dos efeitos genotípicos, e a previsão do ganho genético resultante da selecção massal genotípica. Serão efectuadas extracções de DNA e RNA de amostras foliares colhidas no verão de 2015, para identificação e caracterização de marcadores de tolerância ao stresse abiótico. Será ainda efectuado o contacto com o processo experimental conducente à instalação e manutenção de ensaios para conservação.

2 Amostragem e análise da diversidade genética em isolados de *Colletotrichum* spp. associados à gafa da oliveira e avaliação dos seus perfis de virulência em diferentes cultivares de oliveira.

Andreia Loureiro, andreialoureiro@isa.ulisboa.pt

A antracnose (gafa) da oliveira é causada por fungos do género *Colletotrichum*, sendo considerada a doença mais importante do olival e frequentemente alcança níveis epidémicos nos olivais tradicionais do centro e sul de Portugal, onde perdas de produção de até 100% não são invulgares. Os fungos responsáveis pela gafa da oliveira classificam-se em diferentes grupos dentro do complexo de espécies *C. acutatum* bem como de *C. gloeosporioides*, com diferentes frequências populacionais. Compreender a diversidade/variabilidade destes agentes patogénicos assim como os seus perfis de virulência em diferentes cultivares de oliveira é de extrema importância para a conceção de estratégias sustentáveis e duráveis de protecção da cultura.

Tarefas

Amostragem de gafa em olivais de Portugal: Durante o outono de 2016 proceder-se-á à monitorização de olivais em Portugal, de acordo com as principais áreas de distribuição da cultura, com o objetivo de avaliar a incidência e severidade da doença, bem como de proceder ao isolamento do agente causal em cada local.

Avaliação da diversidade genética em isolados de *Colletotrichum* spp.: A identidade de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos a partir de azeitonas com sintomas de gafa será determinada mediante caracterização morfológica e molecular (ex: ISSR, amplificação e sequenciação da região ITS do rDNA e de parte do gene da β -tubulina 2), de acordo com grupos descritos na bibliografia.

Avaliação dos perfis de virulência em diferentes cultivares de oliveira: A variação da virulência dos isolados selecionados (representativos da diversidade que ocorre em Portugal) será estudada através da inoculação de azeitonas maduras obtidas de cultivares de oliveira com diferentes graus de suscetibilidade a esta doença (ex. “Galega Vulgar”, “Negrinha de Freixo”, “Cobrançosa”, “Arbequina” ou “Zambujeiro”)

3 Estudo do estado da arte no que diz respeito à relação entre o azoto e a qualidade do solo.

Cláudia Cordovil, cms@isa.ulisboa.pt

Neste trabalho o(a) estagiário(a) será integrado(a) num projecto europeu em curso, e contribuirá para o desenvolvimento da base de dados no tema referido. Para mais detalhes, contactar o docente.

4 Estudo da aplicação de borras de café na germinação e produção de culturas hortícolas.

Cláudia Cordovil, cms@isa.ulisboa.pt

No âmbito de projecto em curso em que testamos o uso de borras de café para fertilização de culturas aromáticas o estágio consistirá maioritariamente na realização de trabalho de análise de solos e plantas. Para mais detalhes, contactar o docente.

5. Caracterização do nível de ploidia de fungos da ordem *Pucciniales* ao longo do seu ciclo de vida por citometria de fluxo.

(possibilidade de acolher 2 estagiários)

Pedro Talhinhos e Teresa Ribeiro; ptalhinhos@isa.ulisboa.pt,
teresa.resinaribeiro@gmail.com

Recentemente foi demonstrado que Pucciniales, um importante grupo de fungos fitopatogénicos causadores de ferrugens, apresentam ciclos de diploidização/haploidização em fases dos seus ciclos de vida que deveriam ser

estritamente haplóides, desafiando princípios solidamente estabelecidos que preconizam ciclos nucleares maioritariamente haplóides com uma muito curta fase diplóide. Estes fungos apresentam ciclos de vida diversos (variando de espécie para espécie) e frequentemente complexos, com até cinco tipos de esporos podendo necessitar de dois hospedeiros vegetais distintos para completar o ciclo.

Está em curso no ISA um projeto de investigação que visa esclarecer a natureza genética deste fenómeno haplóide/diplóide usando um conjunto integrado de abordagens citogenéticas, genómicas, fitopatológicas e micológicas. Para este estágio propõe-se como objetivo o esclarecimento da variação do nível de ploidia ao longo de todas as fases do ciclo de vida de um conjunto de fungos Pucciniales que apresentam ciclos de vida contrastantes [microcíclicos, demicíclicos, hemicíclicos e macrocíclicos (autóicos e heteróicos)], com vista à identificação da(s) fase(s) do ciclo onde ocorre diploidização e haploidização. Desconhece-se se este fenómeno ocorre em fungos aparentados de Pucciniales. Para esclarecer este aspeto, serão ainda analisados fungos não Pucciniales pertencentes ao filo Basidiomycota.

Os estagiários terão oportunidade de participar nas investigações em curso, abordando diversas ferramentas no âmbito da Patologia Vegetal, Citogenómica e Citogenética, com vista à caracterização daquele fenómeno de diploidização e haploidização.

6 Avaliação da densidade das populações de *Tuta absoluta* presentes nas culturas

Elisabete Figueiredo e Elsa Borges da Silva, elisalacerda@isa.ulisboa.pt, elsasilva@isa.ulisboa.pt

A avaliação da densidade das populações de pragas presentes nas culturas e/ou a captura em massa pode ser efectuada, em alguns casos, por recurso a armadilhas adesivas coloridas. Para isso é necessário avaliar a atractividade que as diferentes cores apresentam para o insecto que se pretende monitorizar/estimar o risco de ataque ou capturar em massa. O estudo que se propõe tem por objectivo avaliar a atracção da traça-do-tomateiro para diferentes cores quer em laboratório, em arena, quer em condições reais de campo, em estufas comerciais, com vista a aumentar a eficácia sobretudo da captura em massa como meio de protecção da cultura de tomate. O estudo realizar-se-á no Laboratório de Entomologia e no Insectário do ISA e envolve algumas tarefas de manutenção da criação deste insecto.

7 Expressão de transportadores de zinco e fósforo em *Cistus monspeliensis* L. desenvolvido em substrato com diferentes concentrações de zinco e arsénio.

Luísa Carvalho e Maria Manuela Abreu, lcarvalho@isa.ulisboa.pt, manuelaabreu@isa.ulisboa.pt

Plântulas de *Cistus monspeliensis* L. obtidas a partir da germinação de sementes colhidas em áreas mineiras portuguesas, foram cultivadas em vasos em substrato arenoso, e submetidas a concentrações crescentes de arsénio e zinco durante o seu crescimento. As plantas foram monitorizadas de modo a quantificar as características de crescimento e

respostas fisiológicas. Em raízes e parte aérea serão quantificados os níveis de expressão de genes que codificam transportadores de zinco e de fósforo (o arsénio utiliza os transportadores de fósforo para entrar na planta e para se deslocar até à parte aérea).

8 Pesquisa de marcadores para identificar variedades portuguesas de trigo.

Diana Tomás e Manuela Silva, dianarstomas@isa.utl.pt, manuelasilva@isa.ulisboa.pt

Os cereais são culturas essenciais para a alimentação humana e animal fortemente condicionadas por stresses abióticos. Assim sendo, é fundamental identificar variedades mais adaptadas. Neste contexto, pretende-se encontrar marcadores moleculares que permitam a identificação rigorosa de distintas variedades comerciais e tradicionais de trigo utilizadas em Portugal.

Este estágio incluirá o acompanhamento do desenvolvimento de plantas em estufa, colheita de material e extração de DNA para análise genómica utilizando metodologias baseadas na técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction).

9 Desenvolvimento de bolachas salgadas com adição de biomassa de microalgas.

Ana Paula Batista e Patrícia Fradinho, paulabatista@isa.ulisboa.pt, pfradinho@isa.ulisboa.pt

As microalgas podem ser utilizadas como ingrediente alimentar alternativo, sendo ricas em proteínas, ácidos gordos polinsaturados, carotenóides, minerais e outros compostos com efeito benéfico na saúde. Pretende-se estudar a sua utilização em alimentos salgados, dadas as suas características sensoriais (flavour marinho), podendo também permitir a redução do teor de sal adicionado.

Durante o estágio, serão realizadas as seguintes tarefas:

- i) Pesquisa Bibliográfica
- ii) Optimização da formulação e processamento de bolachas tipo “crackers”, com diferentes tipos de microalgas
- iii) Análise da composição química das bolachas
- iv) Avaliação da estabilidade da cor e textura das bolachas ao longo do tempo
- v) Elaboração do Relatório

Este trabalho realiza-se no âmbito da Acção COST (ES1408) EUALGAE e da colaboração com a Universidade de Florença (Itália).

10. Estado fisiológico de plantas de *Cistus ladanifer* crescendo num sistema de reabilitação combinado de escombrelas

Luísa Carvalho e Erika Santos, lcarvalho@isa.ulisboa.pt, erikasantos@isa.ulisboa.pt

A reabilitação de escombrelas com contaminação multielementar da Faixa Piritosa Ibérica pode ser acelerada através do uso conjunto de tecnologias inovadoras e sustentáveis, nomeadamente: elaboração de Tecnossolos derivados de resíduos e

Fitoestabilização. O sucesso do processo de reabilitação depende do bom desenvolvimento das plantas e estado fisiológico das mesmas.

Objectivo: avaliar algumas respostas fisiológicas associadas ao stresse oxidativo (concentração de pigmentos, proteína total e peróxido de hidrogénio) e a vários componentes enzimáticos e não-enzimáticos envolvidos nos mecanismos de tolerância (concentrações de prolina, tióis totais, ascorbatos e glutatona bem como actividade de algumas enzimas antioxidativas) em plantas de *Cistus ladanifer* L. que cresceram, sob condições controladas, em Tecnosolos de um sistema de reabilitação combinado de escombeiras.

11. Identificação e caracterização de mutantes de fungos fitopatogénicos gerados por transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens*

Ana Cabral e Pedro Talhinhos, anacabral@isa.ulisboa.pt, ptalhinhos@isa.ulisboa.pt

O fungo *Colletotrichum kahawae* é responsável pela antracnose dos frutos verdes do cafeeiro, uma doença que causa avultadas perdas de produção no cafeeiro Arabica em África. O conhecimento dos mecanismos de patogenicidade deste fungo pode contribuir para uma mais eficaz proteção contra esta doença. Ao promover a integração estável de um fragmento de DNA no genoma-alvo em local aleatório, a transformação genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* é uma ferramenta de mutagenese que permite a identificação do gene mutado. Em fungos do género *Colletotrichum*, a eficiência desta transformação permite a obtenção de um elevado número de transformantes. Este estágio integra-se num projeto que visa obter uma coleção de fungos transformados por esta metodologia, procedendo-se em seguida à sua caracterização em termos de alterações fenotípicas (nomeadamente morfologia e patogenicidade), bem como à caracterização (por sequenciação) do gene mutado em casos seleccionados. Esta abordagem tem a potencialidade de permitir a descoberta de novos genes responsáveis nomeadamente pela patogenicidade deste fungo. Permitirá ao aluno o contacto com ferramentas de Microbiologia, Fitopatologia e Biologia Molecular.

12. Resposta metabólica a stresse induzido por metais tóxicos em plantas alimentares

Inês Leitão, inesleिताo@gmail.com; Luisa Louro, Miguel Mourato

Caracterização do stresse abiótico induzido por metais tóxicos a partir de parâmetros de crescimento e parâmetros bioquímicos, numa planta alimentar pelo efeito de um metal tóxico em estudo. O stresse causado pelo efeito tóxico induz uma resposta antioxidante específica numa determinada planta e é necessário caracterizar e avaliar os mecanismos de resposta em cada caso. Para isso é feita uma avaliação de parâmetros de crescimento e parâmetros bioquímicos como indicadores de stresse. Os ensaios serão realizados em solução nutritiva e/ou em solos contaminados. Serão também realizados ensaios de germinação de plantas, com o objetivo de perceber o efeito de elementos tóxicos na taxa de germinação e no desenvolvimento inicial da planta. Os elementos tóxicos a estudar

serão o cádmio e o cobre. As determinações analíticas terão como base métodos de espectrofotometria molecular.

13. Análise metagenómica da madeira de videiras infetadas com os fungos da esca

Ricardo Boavida Ferreira, Helena Oliveira e Giovanni del Frari, rbferreira@isa.ulisboa.pt, heloliveira@isa.ulisboa.pt, gdelfrari@isa.ulisboa.pt

Enquadramento: Não são conhecidas com exatidão as causas da esca, uma grave doença, a nível mundial, do lenho da videira. Uma das hipóteses é a doença estabelecer-se em resultado de um desequilíbrio no microbioma natural da madeira das plantas.

Ramo/Área de Especialidade: Biologia / Fitopatologia / Biologia Molecular

Objectivo geral: Identificar, em plantas sãs e infectadas com os fungos que se sabe produzirem os sintomas desta doença, quais os microorganismos (fungos e bactérias) presentes na madeira dessas videiras.

Colaboração nas seguintes tarefas:

- Colheita de varas, análise do seu estado fitossanitário, enraizamento das estacas e sua plantação em vasos, em condições de estufa.
- Inoculação com os vários fungos que se assume serem responsáveis pela esca.
- Colheita de madeira.
- Extração do DNA.
- Identificação dos microorganismos presentes (feito em colaboração com um grupo Dinamarquês).

Localização da realização do estágio: A parte experimental do trabalho decorrerá nos laboratórios dos grupos Disease & Stress Biology e de Fitopatologia e nas estufas próximas do edifício principal do ISA .

14. Análise metatranscritómica da madeira de videiras infetadas com os fungos da esca

Ricardo Boavida Ferreira, Helena Oliveira e Giovanni del Frari, rbferreira@isa.ulisboa.pt, heloliveira@isa.ulisboa.pt, gdelfrari@isa.ulisboa.pt

Enquadramento: Não são conhecidas com exatidão as causas da esca, uma grave doença, a nível mundial, do lenho da videira. Uma das hipóteses é a doença estabelecer-se em resultado de um desequilíbrio no microbioma natural da madeira das plantas.

Ramo/Área de Especialidade: Biologia / Fitopatologia / Biologia Molecular

Objectivo geral: Identificar, em plantas sãs e infectadas com os fungos que se sabe produzirem os sintomas desta doença, quais os microorganismos metabolicamente ativos (fungos e bactérias) presentes na madeira dessas videiras.

Colaboração nas seguintes tarefas:

- Colheita de varas, análise do seu estado fitossanitário, enraizamento das estacas e sua plantação em vasos, em condições de estufa.
- Inoculação com os vários fungos que se assume serem responsáveis pela esca.
- Colheita de madeira.
- Extração do mRNA.

- Identificação dos microorganismos metabolicamente ativos presentes (feito em colaboração com um grupo Dinamarquês).

Localização da realização do estágio: A parte experimental do trabalho decorrerá nos laboratórios dos grupos Disease & Stress Biology e de Fitopatologia e nas estufas próximas do edifício principal do ISA .

15. Identificação da deflamina, um composto anti-inflamatório e anti-tumoral de sementes de leguminosas

Ricardo Boavida Ferreira e Ana Lima, rbferreira@isa.ulisboa.pt, agusmaolima@gmail.com

Enquadramento: Trabalhos anteriores no nosso laboratório levaram à identificação da deflamina, um extracto com forte atividade anti-tumoral e anti-inflamatória, isolado das sementes de uma leguminosa, que foi submetido a uma patente.

Objectivo geral:

O trabalho terá como objetivo isolar e identificar a deflamina de várias sementes de leguminosas e outras, bem como caracterizar as suas atividades, nomeadamente:

- Atividade anti-tumoral em culturas de células de carcinoma do cólon humano (HT29) através de ensaios de inibição de invasão e de proliferação tumoral com a proteína isolada.
- Atividade enzimática de proteases associadas ao processo tumoral e inflamatório por métodos fluorimétricos e zimográficos.

Localização da realização do estágio: A parte experimental do trabalho decorrerá nos laboratórios do grupo Disease & Stress Biology