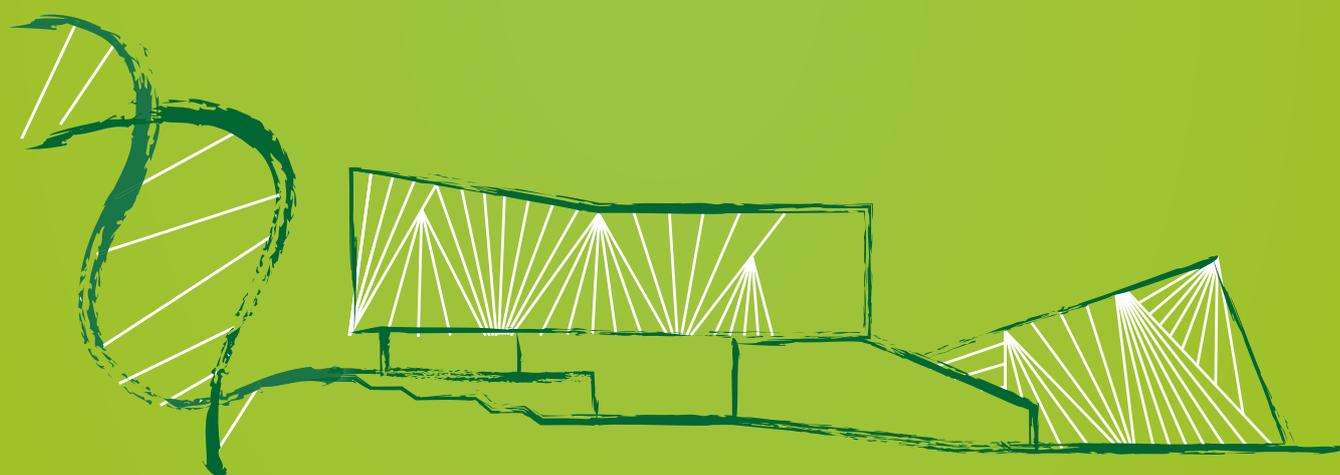


ANAIS DO

1º BIOTEC SUL

CONGRESSO DE BIOTECNOLOGIA DA REGIÃO SUL
CENÁRIO ATUAL E PERSPECTIVAS FUTURAS



13, 14 E 15 DE JULHO DE 2016
LAJEADO - RIO GRANDE DO SUL

EDITORA
UNIVATES

Lucélia Hoehne
Camille Eichelberger Granada
Claucia Fernanda Volken de Souza
Eduardo Miranda Ethur
Elisete Maria de Freitas
Ivan Cunha Bustamante Filho
Juarez Noeli Ferla
Márcia Inês Goettert
Raul Antonio Sperotto
(Orgs.)

ANAIS DO I CONGRESSO DE BIOTECNOLOGIA DA REGIÃO SUL: CENÁRIO ATUAL E PERSPECTIVAS FUTURAS

1ª edição

 EDITORA
UNIVATES

Lajeado, 2016



Centro Universitário UNIVATES

Reitor: Prof. Me. Ney José Lazzari

Vice-Reitor e Presidente da Fuvates: Prof. Me. Carlos Cândido da Silva Cyrne

Pró-Reitora de Pesquisa, Extensão e Pós-Graduação: Profa. Dra. Maria Madalena Dullius

Pró-Reitora de Ensino: Profa. Ma. Luciana Carvalho Fernandes

Pró-Reitora de Desenvolvimento Institucional: Profa. Dra. Júlia Elisabete Barden

Pró-Reitor Administrativo: Prof. Me. Oto Roberto Moerschbaecher



Editora Univates

Coordenação e Revisão Final: Ivete Maria Hammes

Editoração: Glauber Röhrig e Marlon Alceu Cristófoli

Arte: Marketing e Comunicação - Univates

Conselho Editorial da Editora Univates

Titulares

Fernanda Rocha da Trindade

Augusto Alves

João Miguel Back

Fernanda Cristina Wiebusch Sindelar

Suplentes

Adriane Pozzobon

Ieda Maria Giongo

Rogério Schuck

Ari Künzel

Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário – Lajeado – RS, Brasil

Fone: (51) 3714-7024 / Fone/Fax: (51) 3714-7000

editora@univates.br / <http://www.univates.br/editora>

C749 Congresso de Biotecnologia da Região Sul (1. : 2016 : Lajeado, RS)

Anais do I Congresso de Biotecnologia da Região Sul: Cenário Atual e Perspectivas Futuras, 13, 14 e 15 de julho de 2016, Lajeado, RS / Lucélia Hoehne, et al. (Orgs.) - Lajeado : Ed. da Univates, 2016.

191 p.

ISBN 978-85-8167-169-7

1. Biotecnologia 2. Anais I. Título

CDU: 57.08:631

Catálogo na publicação – Biblioteca da Univates

AS OPINIÕES E OS CONCEITOS EMITIDOS, BEM COMO A EXATIDÃO, ADEQUAÇÃO E PROCEDÊNCIA DAS CITAÇÕES E REFERÊNCIAS, SÃO DE EXCLUSIVA RESPONSABILIDADE DOS AUTORES.

1º BIOTEC SUL

CONGRESSO DE BIOTECNOLOGIA DA REGIÃO SUL

LAJEADO - RIO GRANDE DO SUL 13, 14 E 15 DE JULHO DE 2016

CENÁRIO ATUAL E PERSPECTIVAS FUTURAS

Coordenação Geral

Dra. Lucélia Hoehne

Comissão Organizadora

Dra. Lucélia Hoehne

Dra. Camille Eichelberger Granada

Dra. Cláucia Fernanda Volken de Souza

Dr. Eduardo Miranda Ethur

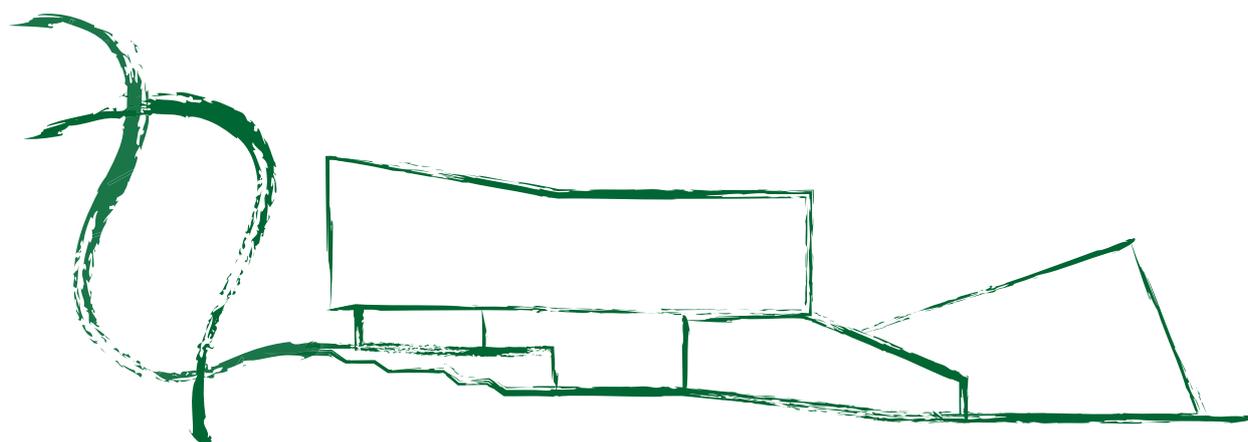
Dra. Elisete Maria de Freitas

Dr. Ivan Cunha Bustamante Filho

Dr. Juarez Noeli Ferla

Dra. Márcia Inês Goettert

Dr. Raul Antonio Sperotto





AGRADECIMENTOS

A Comissão Organizadora do 1º BiotecSul agradece à FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) pelo auxílio financeiro por meio do Edital AOE 01/2016, e aos pesquisadores por sua preciosa contribuição na avaliação dos resumos submetidos:

Dra. Adriana Giongo Borges (Pucrs)

Dra. Adriane Pozzobon (Centro Universitário UNIVATES)

Dra. Ana Lucia Abujamra (Centro Universitário UNIVATES)

Dra. Ana Paula Cassenego (Faculdade Murialdo)

Dra. Camille Eichelberger Granada (Centro Universitário UNIVATES)

Dra. Cláucia Fernanda Volken de Souza (Centro Universitário UNIVATES)

Ma. Cláudia Andréia Gräff (Centro Universitário UNIVATES)

Ma. Danieli Kist (Ufrgs)

Me. Daniel Meyer (Ufrgs)

Me. Douglas Jardim Messeder (Ufrgs)

Dr. Eduardo Miranda Ethur (Centro Universitário UNIVATES)

Dr. Eduardo Périco (Centro Universitário UNIVATES)

Dra. Elisete Maria de Freitas (Centro Universitário UNIVATES)

Dr. Felipe Klein Ricachenevsky (UFSM)

Dra. Fernanda Lazzarotto (Ufrgs)

Ma. Fernanda Moreira (Ufrgs)

Dra. Francielle Bucker (Universitat de Barcelona)

Ma. Giseli Buffon (Centro Universitário UNIVATES)

Dr. Ivan Cunha Bustamante-Filho (Centro Universitário UNIVATES)

Dra. Janine Arruda (Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul)

Dra. Jaqueline Rodrigues (IBGE)

Dra. Joséli Schwambach (UCS)

Dra. Júlia Barden (Centro Universitário UNIVATES)

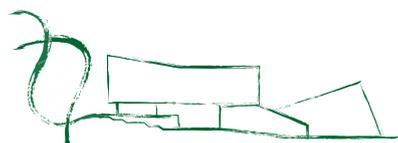
Ma. Leila Spagnolo Fonini (Ufrgs)

Dra. Lucélia Hoehne (Centro Universitário UNIVATES)

Dra. Lucélia Santi (Centro Universitário UNIVATES)

Dr. Luciano Kayser Vargas (Fepagro)

Ma. Manuela Bruxel (Universidade FEEVALE)



Dra. Márcia Goetze (Ufrgs)

Dra. Márcia Inês Goettert (Centro Universitário UNIVATES)

Ma. Martha Horn (Centro Universitário UNIVATES)

Dra. Mônica Jachetti Maciel (Centro Universitário UNIVATES)

Dr. Noeli Juarez Ferla (Centro Universitário UNIVATES)

Dra. Paloma Koprovski Menguer (Ufrgs)

Dra. Paula Rohr (Unesc)

Dr. Pedro Beschoren da Costa (Ufrgs)

Dra. Priscila Pauly Ribas (Fucapi)

Dr. Raul Antonio Sperotto (Centro Universitário UNIVATES)

Ma. Rosangela Uhrig Salvatori (Centro Universitário UNIVATES)

Dra. Shanna Bitencourt (Centro Universitário UNIVATES)

Dr. Vanderlei Biolchi (Centro Universitário UNIVATES)

Dr. Vinicius Ilha (Centro Universitário UNIVATES)

Dr. Walter Orlando Beys da Silva (Centro Universitário UNIVATES)



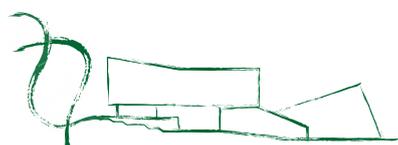
APRESENTAÇÃO

O 1º Congresso de Biotecnologia da Região Sul - 1º BiotecSul - é uma atividade vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro Universitário UNIVATES, Lajeado/RS. Com o tema “Biotecnologia: cenário atual e perspectivas futuras”, os participantes tiveram acesso a atualidades em diferentes áreas da Biotecnologia.

O evento reforçou tendências na área da Biotecnologia relacionadas com a vocação industrial do Vale do Taquari, região sede do evento, que é a produção de alimentos, em especial de carnes e leite. Assim, o objetivo do evento foi proporcionar um local amplo para a troca de informações e discussões do cenário atual e futuro da Biotecnologia, tanto no aspecto regional, como nacional e mundial, congregando pesquisadores de todos os níveis (professores, pós-doutorandos, alunos de pós-graduação e graduação), das diferentes áreas da Biotecnologia. Também, incentivou-se para a participação de professores e alunos do ensino médio e técnico, o que permitiu maior aproximação da escola básica com a Universidade no âmbito da Biotecnologia e de suas áreas relacionadas, contribuindo para a escolha profissional futura desses estudantes. Desta forma, o evento contribuiu para atender à necessidade crescente de profissionais qualificados na área da Biotecnologia em razão do forte desenvolvimento do setor da indústria de transformação de alimentos e produtos na área da saúde.

Durante o evento, que ocorreu ao longo dos dias 13, 14 e 15 de julho de 2016, os mais de 380 participantes assistiram a doze palestras, dez minicursos e duas mesas-redondas, ministrados por pesquisadores convidados da Argentina e Brasil, dos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Além disso, dez trabalhos selecionados foram apresentados de forma oral, e 207 trabalhos foram apresentados na forma de pôsteres.

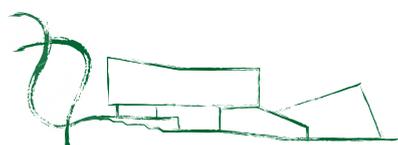
Comissão Organizadora



SUMÁRIO

AGROALIMENTAR

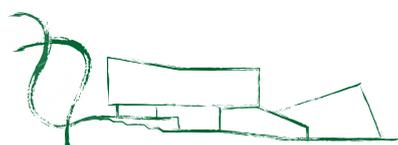
CARACTERIZAÇÃO DA ENZIMA B-GALACTOSIDASE IMOBILIZADA EM NANOTUBOS DE CARBONO	20
AVALIAÇÃO SENSORIAL E MICROBIOLÓGICA DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA PRODUZIDA COM SORO DE RICOTA	21
PRODUÇÃO DE ÁCIDO A-LINOLÊNICO A PARTIR DE DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS	22
CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE IMOBILIZAÇÃO DE B-GALACTOSIDASES NO SUPORTE IMMOBEAD.....	23
AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS LÁCTICAS QUANTO AO PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS	24
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO FRENTE A MICRORGANISMOS PATOGENICOS DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS	25
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS.....	26
RESISTÊNCIA DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS QUANTO À PASSAGEM AO TRATO GASTRINTESTINAL .	27
A UTILIZAÇÃO DA ELETROFORESE NA IDENTIFICAÇÃO DE HIDROLIZADOS ENZIMÁTICOS DE MINHOCA	28
AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICROBIANO DE DUAS CEPAS DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS NA PRESENÇA DE SELÊNIO (IV).....	29
HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO SORO DE QUEIJO DE LEITE DE BÚFALA: OBTENÇÃO DE PEPTÍDEOS BIOATIVOS.....	30
PRODUÇÃO DE UMA CERVEJA DO TIPO PILSENER AROMATIZADA COM MIRTILLO (BLUEBERRY).....	31
ANÁLISE ESTATÍSTICA DE HIDROLISADOS ENZIMÁTICOS OBTIDOS A PARTIR DE SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS	32
DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA SOLÚVEL NA PRODUÇÃO DE HIDROLISADO ENZIMÁTICO UTILIZANDO FARELO DE SOJA	33
ÁCAROS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO EM ALIMENTOS	34
COMPARAÇÃO DE OVIPOSIÇÃO DE <i>PANONYCHUS ULMI</i> (ACARI: TETRANYCHIDAE) COLETADOS EM MACIEIRAS E VIDEIRAS NO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.....	35
POTENCIAL ALIMENTÍCIO DE <i>VASCONCELLEA QUERCIFOLIA</i> A. ST.-HILL. (CARICACEAE)	36
PRODUÇÃO DE PROTEASES POR MICRORGANISMOS DA ESPÉCIE <i>LACTOBACILLUS PARACASEI</i> ISOLADOS DE AMOSTRAS DE LEITE CRU.....	37
UTILIZAÇÃO DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS PARA PRODUÇÃO DE HIDROLISADOS PROTEICOS A PARTIR DE CARÇAÇAS DE FRANGO DESOSSADAS MANUALMENTE	38
PRODUÇÃO DE BACTERIOCINAS E ANÁLISE DE RESISTÊNCIA AO CONGELAMENTO	39



DETERMINAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM DIFERENTES TIPOS DE CERVEJAS CLARAS COMERCIALIZADAS NO RS	40
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE AMILASES A PARTIR DO ÍNDICE ENZIMÁTICO EM ISOLADOS DE ACTINOBACTÉRIA	41
UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES SUBPRODUTOS LÁCTEOS COMO MATERIAIS DE REVESTIMENTO NO ENCAPSULAMENTO DE ÓLEO DE CHIA.....	42
DESENVOLVIMENTO DE KVAFF UM PRODUTO PROBIÓTICO E PREBIÓTICO UTILIZANDO DIFERENTES MICRORGANISMOS E SUBSTRATOS.....	43
ESTUDO DE MEIOS DE CULTIVO DE BAIXO CUSTO PARA A PRODUÇÃO DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁCTICAS	44
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE FRUTOS DE UMA ESPÉCIE NATIVA DA FAMÍLIA ROSACEAE.....	45
PRODUÇÃO DE CORANTES NATURAIS A PARTIR DE FUNGOS POR FERMENTAÇÃO SUBMERSA PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL.....	46
SELETIVIDADE DE PESTICIDAS UTILIZADOS NA CULTURA DA VIDEIRA AO ÁCARO PREDADOR <i>NEOSEIULUS CALIFORNICUS</i> (PHYTOSEIIDAE) AO NÍVEL DE LABORATÓRIO	47
AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO TEMPO DE REAÇÃO E DA CONCENTRAÇÃO DA ENZIMA LACTASE NA HIDRÓLISE DA LACTOSE EM LEITE INTEGRAL	48
<i>TRICHODERMA ATROVIRIDE</i> COMO AGENTE DE CONTROLE DA PINTA-PRETA NO TOMATEIRO CV. MICROTOM.....	49
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE <i>PANONYCHUS ULMI</i> (ACARI: TETRANYCHIDAE) PROVENIENTE DE MACIEIRAS E VIDEIRAS.....	50
AMBIENTAL	
ANÁLISE DE ÁCIDOS ORGÂNICOS DO HÚMUS GERADO APÓS BIOFILTRO DE MINHOCAS.....	52
AVALIAÇÃO DOS RESÍDUOS PECUÁRIOS DA MESORREGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE .	53
USO DA DIGESTÃO ANAERÓBIA EM CONDIÇÕES TERMOFÍLICAS NA DEGRADAÇÃO DE GLICEROL EM DIFERENTES RELAÇÕES CARBONO/NITROGÊNIO	54
RECUPERAÇÃO DE BIOCOSURFACTANTE BACTERIANO POR PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS	55
USO DE RAPD-PCR PARA AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE MICROBIANA NO SOLO.....	56
USO DE BIOCOSURFACTANTES BACTERIANOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR BIODIESEL.....	57
AVALIAÇÃO DA ECOLOGIA E DINÂMICA MICROBIANA NO TRATAMENTO DOS EFLUENTES LÍQUIDOS DO POLO PETROQUÍMICO DO SUL - SITEL/CORSAN	58
MODIFICAÇÃO DA COMUNIDADE ACARINA (ACARI) ASSOCIADA A DIFERENTES ESTÁGIOS DE SUCESSÃO ECOLÓGICA EM MATA ATLÂNTICA.....	59
PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>ASPERGILLUS SP.</i> PELA UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO DE PÓ DE FUMO	



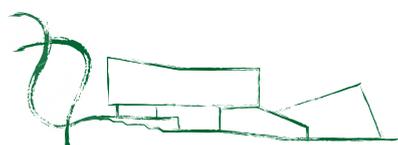
PROVENIENTE DE INDÚSTRIA DE PROCESSAMENTO DE TABACO	60
SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS PRODUTORES DE ENZIMAS LIPOLÍTICAS DE SISTEMAS DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTES DE HOTEL NA SERRA GAÚCHA.....	61
ANÁLISE DE CD EM SOLO E HÚMUS CONTAMINADOS APÓS PROCESSO DE VERMICOMPOSTAGEM.....	62
ANÁLISE DE NUTRIENTES EM CHORUME PROVENIENTES DE VERMICOMPOSTAGEM VERTICAL.....	63
BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL: POTENCIALIDADES DO EMPREGO DE PLANTAS PARA DEGRADAÇÃO E IMOBILIZAÇÃO DE POLUENTES	64
ESTUDO PRELIMINAR DA DEGRADAÇÃO DE POLI (3-HIDROXIBUTIRATO) EM SOLO, POR BACTÉRIAS ACUMULADORAS DE P (3HB) <i>RALSTONIA SOLANACEARUM</i> E <i>BACILLUS MEGATERIUM</i>	65
UTILIZAÇÃO DE <i>DAPHNIA MAGNA</i> (STRAUS, 1820) COMO ORGANISMO-TESTE DO ENSAIO COMETA PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DE SISTEMAS LÓTICOS	66
SCREENING AND ASSESSMENT OF BACTERIA ISOLATES FOR TOLERANCE TO XYLENES	67
CONVERSÃO DE HIDROLISADO DE CASCA DE ARROZ E MEIO SINTÉTICO SIMULADO À XILITOL POR LEVEDURAS FERMENTADORAS	68
TRATAMENTO BIOLÓGICO COM LODO ATIVADO EM BATELADA (RBS) PARA EFLUENTE DE MICROCERVEJARIA	69
PREFERÊNCIAS ALIMENTARES PARA DIFERENTES ESTÁDIOS DE PRESA E TAXA DE PREDACÃO DE <i>NEOSEIULUS IDAEUS</i> EM CONDIÇÕES CONTROLADAS	70
USO DA TÉCNICA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA NO ESTUDO MORFOLÓGICO DA DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA DE RESÍDUOS CELULÓSICOS DA AGROINDÚSTRIA: BAGAÇOS DA CANA DE AÇÚCAR E DA LARANJA	71
ANIMAL	
EXPRESSÃO DOS PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS BETA DEFENSINA EM EPIDÍDIMO SUÍNO	73
UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS PRESENTES NO LÍQUIDO CELOMÁTICO.....	74
PRODUÇÃO DE TESTE DE DIAGNÓSTICO PARA MONITORAMENTO VACINAL DA BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS.....	75
ABORDAGEM <i>IN SILICO</i>: IMPACTO DE SNPS SOBRE A ESTRUTURA E FUNÇÃO BIOLÓGICA DO RECEPTOR DA PROLACTINA EQUINA	76
UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS DE BIOINFORMÁTICA PARA ANÁLISE DE SNPS NO RECEPTOR DA PROGESTERONA EQUINA.....	77
CLONAGEM E SEQUENCIAMENTO DO GENE DA CATALASE EM PEIXE-REI (<i>ODONTESTHES HUMENSIS</i> DE BUEN, 1953)	78
PROSPECÇÃO DE GENES DE REFERÊNCIA PARA QPCR EM PEIXE-REI (<i>ODONTESTHES HUMENSIS</i>): CLONAGEM, SEQUENCIAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO GENE DA B-ACTINA	79
NOVA ESPÉCIE ACARINA ASSOCIADA A GALINHAS POEDEIRAS E PRIMEIRO REGISTRO DO GÊNERO	



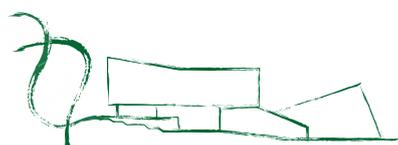
MALAYOGLYPHUS N. SP. (ACARI: PYROGLYPHIDAE) NO BRASIL.....	80
INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DIETAS SOBRE O DESENVOLVIMENTO, SOBREVIVÊNCIA E OVIPOSIÇÃO DE <i>TYROPHAGUS PUTRESCENTIAE</i>	81
DESENVOLVIMENTO DO PREDADOR <i>CHEYLETUS MALACCENSIS</i> (CHEyleTIDAE) ALIMENTANDO-SE DE ÁCAROS DE IMPORTÂNCIA SANITÁRIA NA AVICULTURA COMERCIAL.....	82
CICLO DE VIDA DO PREDADOR <i>BLATTISOCIUS DENTRITICUS</i> (BLATTISOCIDAE) ALIMENTANDO-SE DE <i>TYROPHAGUS PUTRESCENTIAE</i> (ACARIDAE) E <i>MEGNINIA GINGLYMURA</i> (ANALGIDAE)	83
BIOLOGIA DO ÁCARO PREDADOR <i>CHEYLETUS MALACCENSIS</i> (CHEyleTIDAE) ALIMENTANDO-SE DE <i>MEGNINIA GINGLYMURA</i> (ANALGIDAE) E <i>TYROPHAGUS PUTRESCENTIAE</i> (ACARIDAE)	84
EFEITO DO BASIDIOMICETE <i>LENTINULA EDODES</i> NA INTEGRIDADE DA MUCOSA INTESTINAL E RESPOSTA IMUNE CELULAR DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM <i>EIMERIA</i> SP.	85
ANÁLISE DE METAL EM MINHOCAS <i>EISENIA ANDREI</i> EXPOSTA AO CÁDMIO UTILIZANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	86
<i>TOXOCARA CANIS</i> ALTERA RESPOSTA VACINAL CONTRA HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 5	87
MUDPIT ANALYSIS IDENTIFY NEW PROTEINS OF PORCINE CAUDA EPIDIDIMAL FLUID.....	88
POTENCIAL DE ISOLADOS DE <i>BEAUVERIA BASSIANA</i> NO CONTROLE BIOLÓGICO DO <i>THAUMASTOCORIS PEREGRINUS</i> (CARPINTEIRO E DELLAPÉ 2006).....	89
IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ESPERMÁTICAS ASSOCIADAS À QUALIDADE DO SÊMEN SUÍNO	90
PROTEOME OF THE SWINE CAUDA EPIDIDYMIS: EFFECT OF GNRH IMMUNIZATION	91
OUTRAS APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS	
APERFEIÇOAMENTO DE PROTOCOLO PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE LEVEDURAS COM MÉTODO CTAB	93
ESTRATÉGIAS DE GERAÇÃO DE MUTANTES PARA ESTUDOS FUNCIONAIS EM <i>METARHIZIUM ANISOPLIAE</i>: CONSTRUÇÃO DE LINHAGENS ΔKU70.....	94
AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TRANSCRICIONAL A CONDIÇÕES DE ESTRESSE EM CULTIVOS DE <i>MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE</i>.....	95
PURIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS PRODUZIDOS POR UM ISOLADO DE <i>STREPTOMYCES</i> SP.....	96
CONTROLE DAS LAGARTAS DESFOLHADORAS DA SOJA ATRAVÉS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS DO BIOMA PAMPA.....	97
PRODUÇÃO DO BIOPLÁSTICO P(3HB) POR <i>BACILLUS MEGATERIUM</i> CN3: INFLUÊNCIA DO PH E ADIÇÃO DO PERCURSOR ÁCIDO BUTÍRICO.....	98
IDENTIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE LIPÍDEOS NA BIOMASSA MICROALGAL POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO	99
CONCENTRAÇÃO POR ULTRAFILTRAÇÃO (UF) DE COMPOSTO BIOATIVO A PARTIR DE <i>MORCHELLA ESCULENTA</i>.....	100
AUMENTO DA EFICIÊNCIA NA MANIPULAÇÃO GENÉTICA EM CIANOBACTÉRIA ATRAVÉS DO USO	



DE FRAGMENTOS LINEARES DE DNA EM ASSOCIAÇÃO COM INIBIDOR DE EXONUCLEASE	101
DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL SIMPLES 2 ² PARA AJUSTE DE PH E CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCAR NA FASE DE INÓCULO DE <i>RALSTONIA SOLANACEARUM</i> PARA PRODUÇÃO DE P(3HB)	102
PRODUÇÃO DE LACASES POR <i>MARASMIELLUS PALMIVORUS</i> (VE-111) EM BIORREATOR DE AGITAÇÃO MECÂNICA E SUA APLICAÇÃO NA DEGRADAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS	103
PRODUÇÃO DE CELULASES E XILANASES DE <i>PENICILLIUM ECHINULATUM</i> S1M29 POR CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO (CES) COM POLPA DE EUCALIPTO COMO FONTE DE CARBONO	104
ANÁLISE EVOLUTIVA DE ELEMENTOS DA SUPERFAMILIA BEL/PAO PRESENTES EM <i>LEPTOPILINA BOULARDI</i>	105
AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS FÚNGICAS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO	106
LISE CELULAR MECÂNICA POR IRRADIAÇÃO ULTRASSÔNICA EM CULTIVO DE MICROALGAS	107
AVALIAÇÃO DO CAPIM ELEFANTE POR TRATAMENTO ÁCIDO, E ENZIMÁTICO COMO BIOMASSA ALTERNATIVA PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO	108
IMPLEMENTAÇÃO DO ENSAIO DE ABSORÇÃO CUTÂNEA (TG 428 OECD) COMO ALTERNATIVA AO USO DE ANIMAIS NO INMETRO	109
IMOBILIZAÇÃO DE B-GLICOSIDADE DE COTILÉDONES DE SOJA EM SUPORTES NATURAL E SINTÉTICO	110
PROTOCOLOS PARA EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO TOTAL DO SOLO	111
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE <i>LACTOBACILLUS</i> FRENTE A MICRO-ORGANISMOS PATOGÊNICOS PRESENTES EM PRODUTOS LÁCTEOS FERMENTADOS	112
CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA E EVOLUTIVA DE ELEMENTOS TRANSPONÍVEIS: UMA NOVA ABORDAGEM UTILIZANDO DIRETAMENTE <i>READS</i> DE SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO	113
PRODUÇÃO DE NANOCELULOSE MODIFICADA PARA CONJUGAÇÃO MULTIPROPÓSITO	114
AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE E IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS ISOLADOS EM SALA DE DANÇA	115
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE <i>CAMPOMANESIA XANTHOCARPA</i> FRENTE A <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	116
PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA LIPASE OBTIDA DE <i>PSEUDOZYMA HUBEIENSIS</i> E APLICAÇÃO NA BIOCATÁLISE DE BIODIESEL	117
DEFESAS ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICAS DE <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i> EXPOSTOS A NANOPARTÍCULAS DE TiO ₂	118
CRUZAMENTOS E RETROCRUZAMENTOS ENTRE <i>PANONYCHUS ULMI</i> (ACARI: TETRANYCHIDAE) DE MACIEIRAS E VIDEIRAS DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL	119
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ISOLADOS DO GÊNERO <i>STREPTOMYCES</i> CONTRA FITOPATÓGENOS	120
ENGENHARIA EVOLUTIVA APLICADA À ADAPTAÇÃO DA BACTÉRIA <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> AO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE GLICEROL EM MEIOS DE CULTIVO	121



ESTABILIDADE DO COMPOSTO ANTIMICROBIANO DE <i>PLEUROTUS SAJOR-CAJU</i> FRENTE A CONGELAMENTO E DESCONGELAMENTO	122
REDUÇÃO DA CARGA MICROBIANA EM TESTE DE MICROPLACAS ATRAVÉS DA AÇÃO DE BACTEROCINAS.....	123
ENSAIO COMETA AGUDO UTILIZANDO <i>DANIO RERIO</i> (HAMILTON 1822) PARA INVESTIGAR A GENOTOXICIDADE DO BIOPESTICIDA AZAMAX®	124
AVALIAÇÃO DO BIOCONTROLE E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DO ISOLADO <i>STREPTOMYCES</i> R18(6) CONTRA <i>BIPOLARIS SOROKINIANA</i> EM CULTURA DE TRIGO	125
INTERAÇÃO ENTRE ADSORÇÃO DE ÁGUA E VIABILIDADE DE CONÍDIOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS EM FORMULAÇÕES OLEOSAS	126
IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE LECTINAS NO GENOMA DE <i>XANTHOMONAS ORYZAE</i> ATRAVÉS DE ANÁLISES <i>IN SILICO</i>	127
ATIVAÇÃO DA VIA DE TRANSDUÇÃO DE SINAL, RELACIONADA AO ESTRESSE, EM RESPOSTA A PERDA DA CHAPERONA GRP170	128
AVALIAÇÃO INICIAL DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE DERIVADOS DE CURCUMINA EM BIODIESEL ATRAVÉS DE CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	129
CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE PLANTAS ISCAS DE TRIGO E MILHO NA REGIÃO OESTE DO PARANÁ.....	130
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO PEPTÍDEO JABURETOX.....	131
INFLUÊNCIA DO FOTOPERÍODO E DO GLICEROL RESIDUAL NA PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS PELA MICROALGA <i>CHAETOCEROS CALCITRANS</i>	132
DIFERENCIAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS POR ESPECTROSCOPIA DE REFLETÂNCIA ESPECULAR NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER.....	133
BAGAÇO DE UVA DAS VARIEDADES <i>VITIS VINIFERA</i> E <i>VITIS LABRUSCA</i> PARA SUPLEMENTO ALIMENTAR.....	134
SAÚDE	
CITOTOXICIDADE DA RADIAÇÃO UVB EM LINHAGENS ERITROLEUCÊMICAS MDR E NÃO MDR	136
ANÁLISE PROTEÔMICA DAS CÉLULAS DE MAMÍFEROS TRATADAS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA	137
DESENVOLVIMENTO DE BACTERINA DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> RECOMBINANTE CONTENDO A TOXINA ÉPSILON DE <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i>	138
ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF EXTRACELLULAR VESICLES FROM <i>ECHINOCOCCUS</i> SPP. HYDATID FLUID	139
MODULAÇÃO DA AUTOFAGIA E TERAPIA DE GLIOBLASTOMA	140
AVALIAÇÃO DE VACINAS RECOMBINANTES CONTRA LEPTOSPIROSE CONTENDO OS ANTÍGENOS <i>LIGBREP</i> E <i>LIGBNI</i> ASSOCIADOS A UM ADJUVANTE A BASE DE SAPONINA.....	141



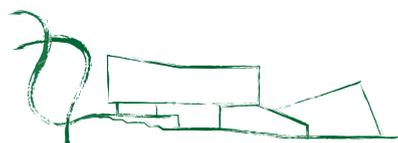
AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOPROTETORA CONTRA LEPTOSPIROSE INDUZIDA POR ANTÍGENO <i>LIGANI</i> ASSOCIADO A DIFERENTES ADJUVANTES	142
EXPRESSÃO PROTEICA DE MAPK P38-A E DE CASPASE-3 EM CÉLULAS DE HEPATOCARCINOMA HUMANO (HEPG2) TRATADAS COM EXTRATOS DE ESPÉCIE VEGETAL NATIVA DO VALE DO TAQUARI-RS	143
AVALIAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA PARA O TRATAMENTO <i>IN VITRO</i> DE LARVAS DE <i>TOXOCARA CANIS</i>	144
AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DE NANOCÁPSULAS DE SINVASTATINA: ESTUDO <i>IN VITRO</i>	145
POSSÍVEL ATIVIDADE ANTITUMORAL DE 1,4-DIIDROPIRIDINAS GRAXAS E NÃO-GRAXAS EM LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA.....	146
AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE EM <i>ESCHERICHIA COLI</i> DE PLASMÍDEOS CONTENDO GENES QUE CODIFICAM PARA SEIS DIFERENTES PROTEÍNAS DE <i>LEPTOSPIRA INTERROGANS</i>	147
AVALIAÇÃO MUTAGÊNICA <i>IN VIVO</i> DE COMPOSTOS EXTRAÍDOS DE <i>P. BORYANUM</i>	148
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TRICOMONICIDA DE SELANILTRIAZOIL CARBONITRILAS	149
GERAÇÃO DE MODELO CELULAR DE DISPLASIA CORTICAL COM O USO DE CÉLULAS-TRONCO PLURIPOTENTES INDUZIDAS A PARTIR DE FIBROBLASTOS DE PACIENTES AFETADOS	150
FOSFORILAÇÃO DA FAMÍLIA DO RECEPTOR TRK DURANTE A NEUROINDUÇÃO E NEURODIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DE CORDÃO UMBILICAL HUMANO... 151	
EFICÁCIA DA FOSFOLIPASE D RECOMBINANTE DE <i>CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS</i> NA COMPOSIÇÃO DE VACINA DE SUBUNIDADE PARA A LINFADENITE CASEOSA.....	152
POTENCIAL DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE <i>LEPTOSPIRA INTERROGANS</i> PELOS ANTICORPOS MONOCLONAIS ANTI-LIPL32 E ANTI-LIGBREP	153
INIBIÇÃO DAS ENZIMAS JAK3, JNK3 E P38A <i>IN VITRO</i> POR EXTRATOS VEGETAIS.....	154
AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE CÉLULAS HACAT ASSOCIADAS A EXTRATOS DE PRÓPOLIS MARROM PARA APLICAÇÃO NA REGENERAÇÃO DA PELE.....	155
PHARMACOLOGICAL PERSPECTIVES FROM BRAZILIAN <i>SALVIA OFFICINALIS</i> (LAMIACEAE): ANTIOXIDANT, AND ANTITUMOR IN MAMMALIAN CELLS	156
DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE DE CÉLULAS DE QUERATINÓCITOS HUMANOS ASSOCIADAS A EXTRATOS DE PRÓPOLIS VERMELHA	157
IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA EXTERNA DE <i>LEPTOSPIRA INTERROGANS</i> POR IMUNOFLUORESCÊNCIA.....	158
POLIMORFISMO <i>RBP4</i> RS3758539 -803 C>T E SUA RELAÇÃO COM ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E ANTROPOMÉTRICAS EM ESCOLARES DE SANTA CRUZ DO SUL - RS, BRASIL	159
CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA NATIVA ERPY-LIKE DE <i>LEPTOSPIRA INTERROGANS</i> ATRAVÉS DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA	160
PERFIL DE CAROTENOIDES E CITOTOXICIDADE DA ALGA ANTÁRTICA <i>DESMARESTIA ANCEPS</i> MONTAGNE.....	161



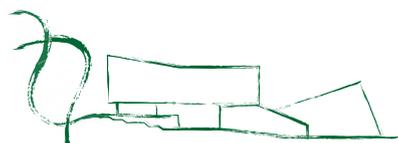
CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA NATIVA ERPY-LIKE DE <i>LEPTOSPIRA INTERROGANS</i> ATRAVÉS DE ELISA INDIRETO	162
BIOTRANSFORMAÇÃO DE LINAGLIPTINA POR <i>CUNNINGHAMELLA ELEGANS</i> ATCC 9245	163
OTIMIZAÇÃO DE EXPRESSÃO DA PROTEÍNA RECOMBINANTE LIGBREP DE <i>LEPTOSPIRA INTERROGANS</i> EM <i>ESCHERICHIA COLI</i>	164
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DA PRÓPOLIS VERMELHA EM CARCINOMA DE BEXIGA UTILIZANDO O ENSAIO LIVE/DEAD.....	165
EFEITO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA (PVB) NA REDUÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA CELULAR EM LINHAGEM DE CÂNCER COLORRETAL (HT-29).....	166
EXTRATO AQUOSO DE <i>CECROPIA PACHYSTACHYA</i> APRESENTA REDUÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR SELETIVA EM LINHAGEM DE GLIOMA (C6).....	167
REDUÇÃO DE GANHO DE PESO CORPORAL EM CAMUNDONGOS COM DIETA SUPLEMENTADA COM MICROALGAS	168
EFEITO CITOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO DO <i>LENTINULA EDODES</i> EM CÉLULAS TUMORAIS DE LARINGE.....	169
EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO DO FRAGMENTO C-TERMINAL DA CADEIA PESADA (HC) DAS TOXINAS BOTULÍNICAS SOROTIPOS C E D RECOMBINANTES EM BIORREATOR DE BANCADA	170
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DE 1,3-DIOXOLANAS CONTENDO TELÚRIO EM <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i>	171
EXPRESSÃO DO MICRORNA 135 E DO GENE <i>HOXA10</i> EM LESÕES DE ENDOMETRIOSE EM PACIENTES SUBMETIDAS A TRATAMENTO CIRÚRGICO.....	172
DESENVOLVIMENTO DE UM TESTE DIAGNÓSTICO PARA LEPTOSPIROSE UTILIZANDO PROTEÍNAS RECOMBINANTES.....	173
COMPORTAMENTO DE CÉLULAS TRONCO ORIUNDAS DA POLPA DE TERCEIROS MOLARES MEDIANTE A SUPLEMENTAÇÃO COM SORO HUMANO	174
EFEITO NEUROPROTETOR DE EXTRATO DE PLANTA NATIVA DO RIO GRANDE DO SUL EM CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA.....	175
A BACTERINA INDUZ PROTEÇÃO DE LONGA DURAÇÃO CONTRA LEPTOSPIROSE?.....	176
ESTUDO DO POLIMORFISMO <i>TAQI C>T</i> , DO GENE RECEPTOR DA VITAMINA D EM UMA AMOSTRA DE PACIENTES DO RIO GRANDE DO SUL COM CÂNCER DE PRÓSTATA.....	177
ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO <i>APAI T>G</i> DO GENE DO RECEPTOR DA VITAMINA D EM PACIENTES COM HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA.....	178
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E FITOQUÍMICA DE EXTRATOS DE PLANTAS DA FAMÍLIA MYRTACEAE	179
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS CONTENDO DIOSGENINA E ÓLEO ESSENCIAL DE <i>PIPER DILATATUM RICH.</i>	180
PRODUÇÃO E MANUTENÇÃO DE CÉLULAS DE QUALIDADE CERTIFICADA	181



EFEITOS DA POLARIZAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE PÓS-INFARTO DO MIOCÁRDIO NA EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS À REGENERAÇÃO CARDIOVASCULAR: UMA ANÁLISE <i>IN SILICO</i>	182
PROTEOMA DIFERENCIAL DA INFECÇÃO DE PULMÃO CAUSADA PELA LEVEDURA PATOGENICA <i>CRYPTOCOCCUS GATTII</i>	183
EXPRESSÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DE BIOMARCADORES EM CARCINOMAS DE CABEÇA E PESCOÇO: ESTUDO PILOTO	184
INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES <i>CD14</i> E <i>TLR4</i> COM A DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA	185
TESTE DE ATIVIDADE E INTERNALIZAÇÃO CELULAR DE RHGCASE PRODUZIDA EM LEITE DE CAPRINOS TRANSGÊNICO	186
CITOTOXICIDADE E EFEITO IMUNOMODULADOR DE EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DAS PLANTAS T1 E T2 EM CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGUE PERIFÉRICO (PBMC) HUMANO	187
AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DO CFDNA EM BIÓPSIA LÍQUIDA UTILIZANDO-SE QPCR COM OS PRIMERS L1PA2	188
ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DO GENE <i>KRAS</i> EM PACIENTES PORTADORES DE NEOPLASIA COLORRETAL ATENDIDOS PELO HOSPITAL ANA NERY	189
EFEITOS DO POLIMORFISMO RS1799990 DO GENE <i>PRNP</i> EM PACIENTES COM TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/ HIPERATIVIDADE	190
VEGETAL	
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA <i>IN VITRO</i> DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>EUCALYPTUS STAIGERIANA</i> E <i>EUCALYPTUS GLOBULUS</i> CONTRA <i>BOTRYTIS CINEREA</i> CAUSADOR DA PODRIDÃO CINZENTA EM UVAS	192
RAÍZES DE ARROZ SÃO IMPORTANTES PARA A TOLERÂNCIA AO FRIO NA FASE INICIAL DO DESENVOLVIMENTO?	193
SHOTGUN PROTEOMICS REVEALS THAT <i>HERBASPIRILLUM SEROPEDICAE</i> INOCULATION LEADS WHEAT (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.) TO A RESTING STATE IN CELLULAR METABOLISM	194
GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> E CULTURA DE TECIDOS DE TUNGUE (<i>VERNICIA FORDII</i>)	195
OTIMIZAÇÃO DA EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DO PEPTÍDEO RECOMBINANTE SOYURETOX DERIVADO DA UREASE DE SOJA (<i>GLYCINE MAX</i>)	196
PLANT PLASMIDS AS A BIOTECHNOLOGICAL TOOL FOR SEED MORPHOGENESIS CHARACTERIZATION IN GRAPEVINE	197
ESTABLECIMENTO DE FATORES ABIÓTICOS PARA O CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE <i>CYATHEA PHALERATA</i> MART. (CYATHEACEAE)	198
EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS ENZIMAS DE MAMONA (<i>RICINUS COMMUNIS</i>) RELACIONADAS À PRODUÇÃO DE ÓLEO	199
A GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE CAPIM ANONNI É REDUZIDA NA AUSÊNCIA DE LUZ	200
SÍNTESE E DISPERSÃO DE NANOPARTÍCULAS EM EXTRATOS VEGETAIS BRASILEIROS: VARIAÇÕES	

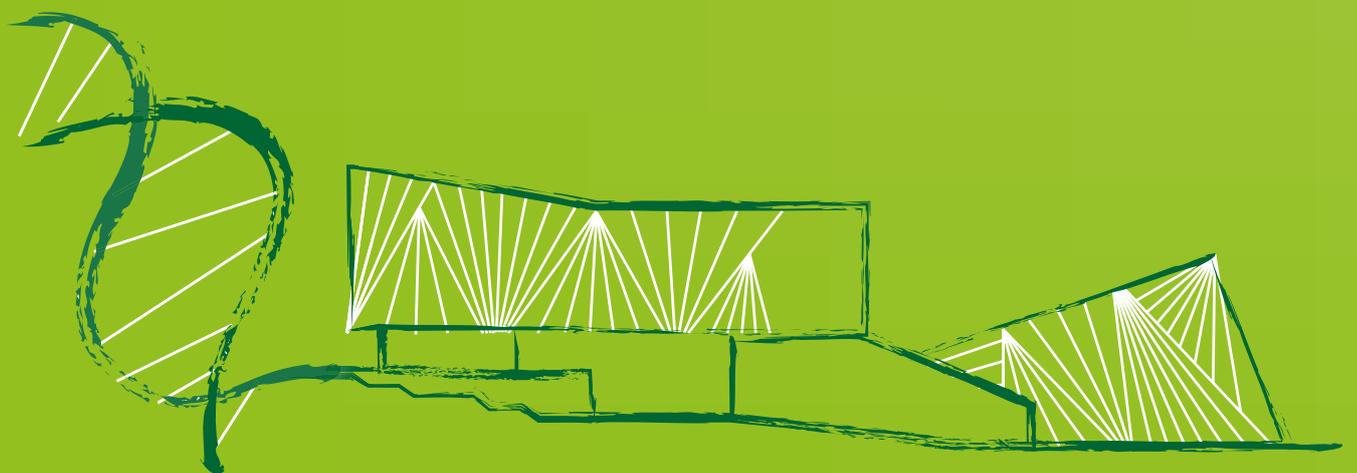


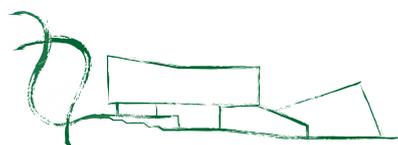
NA ROTA DE SÍNTESE PARA APLICAÇÃO EM TÊXTEIS ANTIMICROBIANOS	201
EFEITOS DA CONCENTRAÇÃO DE BAP E GA ₃ NO DESENVOLVIMENTO <i>IN VITRO</i> DE <i>CODONANTHE DEVOSIANA</i> LEM.....	202
LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR DA PROTEÍNA ASR3 DE SOJA	203
GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE SEMENTES PELETIZADAS DE <i>EUCALYPTUS GRANDIS</i> (MYRTACEAE)	204
ENRAIZAMENTO <i>IN VITRO</i> DE <i>EUCALYPTUS GRANDIS</i> (MYRTACEAE) NA AUSÊNCIA DE SUBSTÂNCIAS REGULADORAS DE CRESCIMENTO	205
GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> E ACLIMATIZAÇÃO DE <i>DYCKIA HEBDINGII</i>	206
DEVELOPMENT OF MARKERS FOR ASSISTED SELECTION OF SEEDLESSNESS AND DOWNY MILDEW RESISTANCE IN GRAPEVINE	207
AVALIAÇÃO DO QTL <i>QPC-CRC-14D</i> E DO PERFIL TRANSCRICIONAL DE GENES CANDIDATOS À RESISTÊNCIA PARCIAL À FERRUGEM DA FOLHA EM <i>AVENA SATIVA</i> L.....	208
BIOCONTROLE DE <i>ASPERGILLUS FLAVUS</i> E <i>FUSARIUM VERTICILLIOIDES</i> EM PLÂNTULAS DE MILHO POR <i>BACILLUS</i> SPP	209
PROTOCOL ADJUSTMENT TO MULTI-HORMONAL ANALYSIS IN APPLE BUDS DURING THE DORMANCY	210
DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO ÓTIMA DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE FARELO DE SOJA.....	211
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE DETEÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE TRANSGENES INSERIDOS EM <i>EUCALYPTUS</i> GENETICAMENTE MODIFICADO	212
GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE SEMENTES DE <i>ANGELONIA INTEGERRIMA</i> SPRENGEL. SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MEIO MS	213
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>PSIDIUM SALUTARE</i> FRENTE À <i>ESCHERICHIA COLI</i>	214
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DE <i>EUGENIA PYRIFORMIS</i> CAMBESS CONTRA <i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i>	215
GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE <i>DYCKIA HEBDINGII</i> COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE... 216	
PROPAGAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE <i>VRIESEA FLAMMEA</i> L.B.SM. (BROMELIACEAE) EM BAIXAS CONCENTRAÇÕES DE MACRONUTRIENTES	217
PATOGENICIDADE DE <i>ISARIA FUMOSOROSEA</i> SOBRE O PRINCIPAL ÁCARO PRAGA DA VIDEIRA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.....	218
RESPOSTAS DE FOLHAS DE ARROZ ALTAMENTE INFESTADAS PELO ÁCARO FITÓFAGO <i>SCHIZOTETRANYCHUS ORYZAE</i> (ACARI: TETRANYCHIDAE).....	219
<i>SOPHRONITIS CERNUA</i> LINDL. (ORCHIDACEAE) PROPAGADA <i>IN VITRO</i> SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE.....	220
PAPEL DO FATOR DE TRANSCRIÇÃO OSNAC5 NO DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES DE ARROZ.....	221
PROJETO BIOGC: MAPEAMENTO DE PROCESSOS DE UM LABORATÓRIO DE BIOTECNOLOGIA	



VEGETAL.....	222
CARACTERIZAÇÃO DE PLANTAS DE ARROZ COM MUTAÇÃO NO TRANSPORTADOR OSNRAMP1.....	223
RECONHECIMENTO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO ÓLEO DE SEMENTE DO TABACO ENERGÉTICO	224
ESTAQUIA DE UMA ESPÉCIE NATIVA DA FAMÍLIA CARICACEAE.....	225
ESTAQUIA DE UMA ESPÉCIE DA FAMÍLIA LAMIACEAE COM POTENCIAL ACARICIDA	226
CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE MUTANTES YELLOW STRIPE-LIKE DE ARROZ	227
GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>PSIDIUM GUAJAVA</i> L. SUBMETIDAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAIS E SACAROSE.....	228
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E TOXICIDADE DE EXTRATOS DE <i>CEDRELA FISSILIS</i> VEL.....	229
ANÁLISE DA REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO, MEDIADA POR FITO-HORMÔNIOS, DAS UREASES DE SOJA	230
QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM EXTRATOS DE FOLHAS DE <i>MYRCIA OBLONGATA</i> DC.....	231

AGROALIMENTAR





CARACTERIZAÇÃO DA ENZIMA β -GALACTOSIDASE IMOBILIZADA EM NANOTUBOS DE CARBONO

A. GENNARI¹, M. D. ROSOLEN¹, G. VOLPATO² e C. F. V. DE SOUZA¹

1 Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171 - Universitário. Lajeado/RS. CEP 95900-000

2 Instituto Federal do Rio Grande do Sul - IFRS, Rua Coronel Vicente, 281 - Centro. Porto Alegre/RS. CEP 90030-041

*adriano.gennari@hotmail.com

Por possuírem elevada especificidade, facilidade de produção e caráter sustentável, as enzimas vêm se tornando uma poderosa ferramenta catalítica em uma vasta variedade de processos químicos. A β -galactosidase é amplamente utilizada em laticínios com intuito de promover dulçor, solubilidade e sabor. Além disso, sua utilização permite o desenvolvimento de produtos lácteos com baixos teores de lactose tendo em vista que cerca de 75% da população mundial apresenta intolerância a este açúcar. A utilização de enzimas na forma imobilizada é uma alternativa para as indústrias que empregam processos enzimáticos, uma vez que os custos podem ser reduzidos pela possibilidade de reutilização da enzima. O suporte a ser utilizado para imobilização deve possuir grupos químicos que possam ser ativados ou modificados melhorando sua interação com a enzima. Os nanomateriais possuem excelentes características para imobilização, tais como grande área superficial e resistência a elevadas cargas de enzima. O objetivo desse trabalho foi imobilizar a enzima β -galactosidase comercial de *Aspergillus oryzae* em nanotubos de carbono com paredes múltiplas (*multi-walled carbon nanotubes* - MWCNTs). A imobilização da β -galactosidase foi realizada em nanotubos modificados e não modificados. A modificação do suporte foi realizada com uma mistura ácida ($H_2SO_4:HNO_3$). A estabilidade térmica foi avaliada a partir da incubação das enzimas livres e imobilizadas, nas temperaturas de 60, 65 e 70 °C. A estabilidade ao armazenamento das β -galactosidas imobilizadas foi realizada através de sua estocagem a 4 °C durante 02 meses. Nos ensaios de temperatura e pH operacional, foram testadas diferentes condições reacionais variando o pH de 4,0 a 7,0 e a temperatura de 4 a 75 °C. O processo de imobilização da β -galactosidase nos MWCNTs foi de 3 h para ambos os suportes, obtendo-se rendimento de 97,61% para o suporte modificado e 50,43% para o não modificado. Nos testes de estabilidade térmica não se observou diferença entre os derivados. A β -galactosidase imobilizada nos MWCNTs modificados apresentou, após 60 dias de armazenamento a 4 °C, em torno de 60% da sua atividade inicial. A enzima imobilizada nos MWCNTs modificados demonstrou maior estabilidade quando comparada à enzima livre, nas diferentes temperaturas e pHs avaliados. Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, verificou-se que os MWCNTs modificados foram mais adequados para a imobilização da β -galactosidase comercial de *A. oryzae*.

Palavras-chave: Imobilização. β -galactosidase. Nanotubos de carbono.



AVALIAÇÃO SENSORIAL E MICROBIOLÓGICA DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA PRODUZIDA COM SORO DE RICOTA

T. ALTMAYER^{1*}, C. SCHLABITZ¹, C. F. V. DE SOUZA¹ e L. HOEHNE¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Rua Avelino Tallini, 171, Universitário, Lajeado, RS
*Apresentador: tacielen.altmayer@univates.br

O soro de ricota pode ser utilizado para a produção de bebidas lácteas, agregando valor ao produto. A adição de probióticos e prebióticos atribui características funcionais e torna este produto mais atrativo ao consumidor. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi elaborar uma bebida láctea fermentada funcional com incorporação de soro de ricota, prebióticos e probióticos possibilitando a redução da quantidade de soro incorporado às águas residuárias dos laticínios da região. Para isso, foram produzidas bebidas lácteas conforme delineamento fatorial completo 2², com 02 variáveis independentes em dois níveis equidistantes (-1 e +1), três repetições no ponto central (nível 0) acrescido de 4 pontos axiais (- α e + α), onde $\alpha = \pm (2n)^{1/4}$, sendo n o número de variáveis independentes. As concentrações de soro de ricota e leite em pó foram as duas variáveis avaliadas em 5 níveis (-1,41, -1, 0, +1, +1,41) resultando em 11 amostras. O processo de produção seguiu metodologia adaptada da literatura, sendo composto das seguintes etapas: (1) homogeneização do açúcar cristal, leite em pó, polidextrose, soro de ricota e água; (2) pasteurização; (3) resfriamento, adição do inóculo e homogeneização; (4) fermentação; (5) resfriamento; (6) adição de polpa de morango; (7) envase e armazenamento refrigerado. As formulações foram submetidas contagem de coliformes a 36 e a 45 °C e contagem de bactérias lácticas (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium spp. lactis* e *Streptococcus thermophilus*) e análise sensorial (CAAE 17275213.4.0000.5310). Como resultados, nenhuma das amostras apresentou coliformes e todas as formulações apresentaram contagem de bactérias lácticas superiores a 10⁶ UFC/g classificando-as como fermentadas conforme a IN nº 16 de 23 de agosto de 2005. Na análise sensorial, os valores médios no atributo aparência variaram entre 6,55 e 7,51 no 1º dia de armazenamento e entre 6,23 e 7,32 no 45º dia. O sabor apresentou valores médios entre 6,23 e 7,45 no 1º dia e entre 6,55 e 7,26 no 45º dia. A aceitação global variou entre 6,70 e 7,51 no 1º dia e entre 6,57 e 7,36 no 45º dia. As formulações apresentaram índices de aceitabilidade superiores a 70%, indicando aceitação e potencial de comercialização. Desta forma, a bebida láctea com até 70% de soro de ricota se mostrou uma forma viável de aproveitamento do efluente gerado em laticínios e, conseqüentemente, reduzindo gastos com seu tratamento e o impacto ambiental gerado pelo seu descarte inadequado.

Palavras-chave: Análises microbiológicas. Análise sensorial. Probióticos. Prebióticos. Bactérias lácticas.



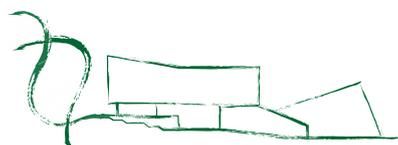
PRODUÇÃO DE ÁCIDO α -LINOLÊNICO A PARTIR DE DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS

R. R. DIAS, M. M. MARONEZE¹, M. B. FAGUNDES¹, R. WAGNER, L. Q. ZEPKA¹ e E. JACOB-LOPES¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria, Depto. de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil – E-mail: jacoblopes@pq.cnpq.br

O ácido α -linolênico é um membro do grupo de ácidos graxos essenciais conhecido como ômega 3, e desempenha papel fundamental na composição das membranas celulares e processos metabólicos. Devido ao fato de o organismo não sintetizar o ácido linolênico- α (ω -3), este deve estar presente na alimentação. O uso de microalgas tem sido fortemente explorado para obtenção deste lipídio, principalmente por seu alto valor comercial e por apresentar vantagens em relação a outras fontes, devido seu baixo custo e redução de impactos ambientais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de ácido α -linolênico pelas microalgas *Chlorella vulgaris* CPCC90, *Scenedesmus obliquus* CPCC05, *Aphanothece microscópica* Nägeli e *Phormidium autumnale*. As microalgas foram propagadas e mantidas em meio padrão sintético BGN. Para a realização do experimento utilizou-se um biorreator do tipo coluna de bolhas, construído em vidro de 0,5 mm de espessura, diâmetro interno de 6,5 cm, altura de 70 cm e 2,5 L de volume de trabalho. O sistema de dispersão de gases do reator constituiu em um difusor de ar de 1,5 cm localizado no centro da base da coluna. A concentração inicial de células foi de 100 mg/L, operando a uma temperatura de 26° C, com luminosidade de 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e aeração contínua de 1 VVM com a injeção de ar enriquecido com 15% de dióxido de carbono. A partir da fração lipídica da biomassa seca, o perfil lipídico foi avaliado. A composição de ácidos graxos foi determinada através de um cromatógrafo gasoso, a identificação foi feita por meio de comparação dos tempos de retenção com o padrão. Os resultados demonstraram que dentre as espécies testadas, a *Chlorella* apresentou maior capacidade de produção de ácido α -linolênico. A qual, apresentou valores de produtividade celular de 18,43 mg/L.h, concentração celular máxima de 3640 mg/L, velocidade máxima específica de crescimento de 0,034 h^{-1} , teor lipídico de 17,76% e conseqüentemente uma produtividade lipídica de 3,25 mg/L.h. Com relação ao conteúdo de ácido α -linolênico apresentou um teor de 17,52 % e uma produtividade de 0,57 mg/L.h. Os resultados demonstraram potencialidade do emprego de microalgas como uma fonte alternativa para a produção de ácidos graxos essenciais.

Palavras-chave: Ômega 3. Microalga. Ácido graxo essencial.



CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE IMOBILIZAÇÃO DE β -GALACTOSIDASES NO SUPORTE IMMOBEAD

F. H. MOBAYED^{1*}, A. GENNARI¹, G. VOLPATO² e C. F. V. DE SOUZA¹

1 Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171. Universitário, Lajeado, RS. CEP 95900-000.

2 Instituto Federal do Rio Grande do Sul – IFRS, Rua Coronel Vicente, 281. Centro, Porto Alegre, RS. CEP 90030-041

*fran.mobayed@hotmail.com

A utilização de enzimas em processos biotecnológicos tem sido crescente devido ao seu potencial catalisador e sua facilidade de obtenção. A β -galactosidase é amplamente utilizada na indústria de laticínios visando à elaboração de produtos com baixos teores ou isentos de lactose. Tendo em vista que, 75% da população mundial possui intolerância a esse açúcar, a obtenção destes produtos, é uma alternativa promissora. A imobilização enzimática propõe o desenvolvimento de tecnologias para a reutilização e maior estabilidade das enzimas. Os suportes usados nesse processo devem possuir grupamentos químicos que possam ser ativados ou modificados, permitindo a ligação com a enzima. O Immobead 150® é um suporte comercial formado de polímeros de metacrilato, contendo grupos epóxi em sua superfície. Com base nisso, o objetivo desse trabalho foi estudar a imobilização de β -galactosidases comerciais de origem microbiana em Immobead 150®. As enzimas utilizadas nesse estudo foram as β -galactosidases de *Aspergillus oryzae* e *Kluuymeromyces lactis*. A imobilização foi realizada no suporte submetido a três diferentes tratamentos: modificado com uma mistura ácida de H_2SO_4 e HNO_3 , modificado com glutaraldeído ou não modificado. Foram realizadas coletas periódicas para avaliação do rendimento e da eficiência dos processos de imobilização. Os derivados obtidos para cada uma das enzimas serão caracterizados quanto as suas condições operacionais, em temperaturas de 4-70 °C, e em pHs de 4,0-7,5. A estabilidade ao armazenamento será determinada através da incubação das enzimas imobilizadas a 4 °C. Além disso, a reusabilidade da enzima imobilizada na hidrólise da lactose presente no soro do queijo e no permeado também será estudada. Resultados preliminares mostraram que os rendimentos de imobilização da β -galactosidase de *A. oryzae* em Immobead não modificado, modificado com mistura ácida e modificado com glutaraldeído, após 72 horas de reação, foram de 69,54; 78,09 e 48,57%, respectivamente. Em relação à eficiência, valores de 100% foram obtidos para os três processos. Na imobilização com a *K. lactis*, baixos rendimentos foram obtidos, sendo necessárias diferentes modificações com vistas a melhorar a interação enzima-suporte. Verificou-se que a β -galactosidase de *A. oryzae* pode ser imobilizada no suporte Immobead nas condições avaliadas, enquanto que para a enzima de *K. lactis* mais ensaios são necessários para melhor avaliação do processo de imobilização.

Palavras-chave: β -galactosidase. Imobilização. Immobead.



AValiação de Bactérias Lácticas Quanto ao Perfil de Resistência a Antibióticos

S.M. DA COSTA^{1*}, A.VINCENZI¹, V. DALPUBEL¹, C. ECKERT¹, V.G. SERPA¹, M. J. MACIEL¹, D. N. LEHN¹, A. DULLIUS², C. H. DULLIUS², C. AGOSTINI¹, A. POZZOBON¹, R. A. SPEROTTO¹, C. E. GRANADA¹ e C. F. V. DE SOUZA¹

1 Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171 – Lajeado/RS - Brasil

2 Launer Química Indústria e Comércio LTDA, Rodovia Transantarita, KM 3,5 – Estrela/RS - Brasil

*Apresentador: simone_m@universo.univates.br

A procura por alimentos funcionais vem crescendo a cada ano pela população, devido aos benefícios que estes promovem à saúde. Um dos principais grupos destes alimentos são os probióticos, os quais são adicionados de microrganismos, principalmente bactérias lácticas, que conferem benefícios ao organismo humano. A avaliação do perfil de resistência a antibióticos é um parâmetro empregado para a avaliação do efeito probiótico de bactérias lácticas. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de resistência a antibióticos de 68 bactérias lácticas isoladas de leite e queijo na Região Sul do Brasil. Os isolados foram testados frente a ampicilina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), clindamicina (2 µg), cloranfenicol (30 µg), cefepime (30 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), oxacilina (1 µg), penicilina G (10 µg), sulfazotrim (25 µg), tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg). O critério de escolha dos antibióticos a serem testados se deve ao fato dos mesmos pertencerem a diversas classes e possuírem diferentes mecanismos de ação, além de serem comumente utilizados na prática clínica. Os isolados foram classificados como sensíveis (S), moderadamente sensíveis (MS), ou resistentes (R) ao antibiótico testado através de consulta a tabelas de referência. Todos os isolados foram sensíveis à ampicilina e ao cloranfenicol. Entre os microrganismos que apresentaram melhores resultados na avaliação de resistência a antibióticos encontram-se o isolado 15, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, resistente apenas à sulfazotrim e vancomicina e o isolado 133, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, resistente apenas a ciprofloxacina e vancomicina. A elevada porcentagem de isolados com resistência à vancomicina se deve ao fato de que espécies de *Lactobacillus* apresentam resistência intrínseca a este antibiótico. A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, observou-se que há entre os microrganismos isolados de leite e queijo na Região Sul do Brasil, bactérias lácticas adequadas para o uso na elaboração de produtos lácteos fermentados funcionais.

Palavras-chave: Bactérias lácticas. Probióticos. Antibióticos.



AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO FRENTE A MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS

V. DALPUBEL^{1*}, A. VINCENZI¹, S.M. DA COSTA¹, C. ECKERT¹, V.G. SERPA¹, M. J. MACIEL¹, D. N. LEHN¹, A. DULLIUS², C. H. DULLIUS², C. AGOSTINI¹, A. POZZOBON¹, R. A. SPEROTTO¹, C. E. GRANADA¹ e C. F. V. de SOUZA¹

1 Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171 – Lajeado/RS - Brasil

2 Launer Química Indústria e Comércio LTDA, Rodovia Transantarita, KM 3,5 – Estrela/RS - Brasil

*Apresentador: vivid.nutri@gmail.com

As bactérias ácido-láticas (BALs) são microrganismos encontrados naturalmente na microbiota intestinal. Também são utilizadas em diversos processos industriais para a produção de derivados lácteos, sendo reconhecidas como seguras para o uso em alimentos. Diversas BALs apresentam características probióticas, conferindo benefícios à saúde humana. O potencial antibacteriano contra microrganismos patogênicos é um parâmetro empregado para avaliação do efeito probiótico de BALs. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi caracterizar a atividade de BALs, isoladas de leite e queijo colonial artesanal da Região Sul do Brasil, em relação a microrganismos patogênicos. O potencial antibacteriano de 68 isolados lácteos foi testado visto às seguintes bactérias: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 e *Listeria monocytogenes* ATCC 19114. A grande maioria dos isolados apresentou atividade antibacteriana contra pelo menos um dos patógenos avaliados. Os resultados indicam que os isolados produzem mais do que uma substância inibitória. Além disso, mostram que o principal mecanismo de inibição é por meio da produção de ácido lático, pois a condição de sobrenadante neutralizado foi a que apresentou menor índice de inibição. O isolado 75c1 e o isolado 109, ambos *Lactobacillus* sp., apresentaram efeito contra a *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028. O isolado 31 e o isolado 71, ambos identificados como *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, mostraram atividade inibitória em relação à bactéria patogênica *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. O isolado 124, *Lactococcus* sp., apresentou efeito contra o *Bacillus cereus* ATCC 11778. Com base nos resultados obtidos foi possível verificar que entre as BALs isoladas de queijo colonial artesanal e leite *in natura* da Região Sul do Brasil existem microrganismos com particularidades funcionais promissoras, que atendem aos critérios para a seleção de novos probióticos, como a atividade antibacteriana contra patógenos.

Palavras-chave: Bactérias ácido-láticas. Probióticos. Potencial antibacteriano.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS

C. ECKERT^{1*}, V. G. SERPA², S. M. DA COSTA¹, V. DALPUBEL¹, B. L. MACHADO¹, M. J. MACIEL¹, D. N. LEHN¹, A. DULLIUS², C. H. DULLIUS², C. AGOSTINI¹, A. POZZOBON¹, R. A. SPEROTTO¹, C. E. GRANADA¹ e C. F. V. DE SOUZA¹

1 Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171 – Lajeado/RS - Brasil

2 Launer Química Indústria e Comércio LTDA, Rodovia Transantarita, KM 3,5 – Estrela/RS - Brasil

*Apresentador: camieckert@hotmail.com

As Bactérias Ácido-Láticas (BALs) são microrganismos que se caracterizam pela capacidade de produzir ácido láctico a partir do processo de fermentação da lactose, sendo amplamente utilizados em tecnologias industriais, sobretudo na produção de derivados lácteos fermentados. Além disso, apresentam funções importantes para a saúde devido às propriedades funcionais que exibem, entre elas, a atividade antioxidante. Os radicais livres e substâncias reativas ao oxigênio podem causar danos à saúde humana e a degradação de alimentos, por peroxidação lipídica. O uso de antioxidantes como fonte de suplementação pode reduzir esse efeito oxidativo, sendo as BALs uma alternativa a essa aplicação. Diante dessa perspectiva, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de 68 BALs isoladas de leites e queijos da região do Vale do Taquari, comparando com microrganismos de coleções de referência e comerciais. A atividade antioxidante das bactérias foi avaliada por três diferentes métodos: *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), *2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)* (ABTS) e *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS). Para todos os ensaios foram avaliados as culturas sobrenadantes e os extratos intracelulares das BALs. Todos os isolados avaliados apresentaram atividade antioxidante em pelo menos um dos ensaios. Pelo método de DPPH, a atividade de 33,81% na cultura sobrenadante do isolado 99 (*Lactobacillus sp.*) foi a mais elevada. Pelo método de ABTS a maior atividade encontrada foi de 64,64% na cultura sobrenadante do isolado 115 (*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*). No método de TBARS, a maior atividade encontrada foi de 7,12 μ M de MDA no extrato intracelular do isolado 30 (*Lactobacillus harbinensis*). Entre os microrganismos de coleções de referência e comerciais, considerando as culturas sobrenadantes e os extratos intracelulares pelos três métodos avaliados, *Lactobacillus acidophilus* (Danisco-Howaru®) apresentou a maior atividade antioxidante (93,19%) no método DPPH. Entre as BALs isoladas nesse trabalho, os resultados obtidos indicam a existência de microrganismos que podem ser incorporados em produtos lácteos melhorando suas características funcionais.

Palavras-chave: Bactérias ácido-láticas. Atividade antioxidante. DPPH. ABTS. TBARS.



RESISTÊNCIA DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS QUANTO À PASSAGEM AO TRATO GASTRINTESTINAL

V. G. SERPA¹, C. ECKERT^{2*}, S. M. DA COSTA¹, V. DALPUBEL¹, B. L. MACHADO¹, M. J. MACIEL¹, D. N. LEHN¹, A. DULLIUS², C. H. DULLIUS² e C. F. V. DE SOUZA¹

1 Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171 – Lajeado/RS - Brasil

2 Launer Química Indústria e Comércio LTDA, Rodovia Transantarita, KM 3,5 – Estrela/RS - Brasil

*Apresentador: vanessaserpa13@yahoo.com.br

Bactérias Ácido-Láticas (BALs) são microrganismos que produzem ácido lático a partir da fermentação da lactose. São encontradas naturalmente em leite e seus derivados, contribuindo na textura e no sabor dos produtos lácteos. Além disso, representam a microbiota dominante do trato gastrointestinal (TGI) humano, conferindo benefícios à saúde. Algumas BALs são classificadas como probióticas, estes são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Sendo assim, é de extrema importância que as BALs resistam às barreiras biológicas do TGI, como a presença de baixos níveis de pH do estômago e enzimas digestivas e sais biliares do intestino. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência quanto à passagem ao TGI simulado de 68 BALs, isoladas de amostras de leites e queijos coloniais artesanais, oriundos da região do Vale do Taquari. As bactérias foram incubadas em caldo MRS por 48 h a 32 °C. Para avaliar a resistência ao trato gástrico, uma alíquota da suspensão celular foi adicionada na presença de 3 mg/L de pepsina a pHs 2; 2,5, e 3. Para o trato intestinal empregou-se 1 mg/L de pancreatina na ausência ou presença de 0,5% de sais biliares (mistura 1:1 colato de sódio e deoxicolato de sódio) a pH 8. A contagem de células viáveis foi determinada no tempo zero, após 180 minutos de incubação para trato gástrico e após 240 minutos para trato intestinal. Em relação ao trato gástrico, após 180 minutos de incubação, nenhum isolado apresentou resistência a pH 2. Para pH 2,5 e 3 os isolados apresentaram resistência, em média, de 10^4 UFC/mL (>50%) e 10^6 UFC/mL (>70%), respectivamente. Para resistência ao trato intestinal, após 240 minutos de incubação, na ausência de sais biliares, os isolados testados apresentaram um valor médio de 10^8 UFC/mL (>90%), já na sua presença os valores reduziram para 10^5 UFC/mL (>80%). Entre as BALs isoladas, os resultados de resistência ao TGI demonstram potencial para aplicação na indústria de alimentos, criando novas possibilidades de produtos funcionais, promovendo a saúde do consumidor por meio de microrganismos benéficos ao organismo humano.

Palavras-chave: Bactérias Ácido-Láticas. Probióticos. Trato Gastrointestinal.



A UTILIZAÇÃO DA ELETROFORESE NA IDENTIFICAÇÃO DE HIDROLIZADOS ENZIMÁTICOS DE MINHOCA

M. RODRIGUES^{1*}, A. S. LENZ¹, L. HOEHNE¹, C. F. V. DE SOUZA¹, I. C. B. FILHO¹ e E. M. ETHUR¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - Univates, Rua Avelino Tallini, 171 Bairro Universitário, Lajeado - R.S

*Apresentador: mariano@univates.br

Hidrolisados proteicos são proteínas que por ação química ou enzimática produzem peptídeos de vários tamanhos, sendo que pelo método enzimático o valor nutricional da proteína é mantido, sem a degradação dos aminoácidos. A eletroforese em gel de poliacrilamida é um dos métodos mais confiáveis para avaliar a presença de proteínas em uma amostra. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi verificar ocorrência de hidrólise enzimática de minhocas com a utilização da técnica de eletroforese em gel de Dodecil Sulfato de Poliacrilamida (SDS - PAGE). Para a realização deste trabalho foram utilizadas amostras de minhocas (25 g) da espécie Vermelha da Califórnia (*Eisenia andrei*), utilizando-se a enzima Alcalase 2,4-L, nas seguintes condições: pH 9,5, 25 °C, 2,15 h, 200 rpm e 1,77% relação enzima/substrato. Transcorrido o tempo de hidrólise pré-definido, alíquotas de 1 mL do hidrolisado (triplicata) foram inativadas pela adição de 9 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) 6,25%, sendo deixadas em repouso por cerca de 15 min. A seguir a amostra foi filtrada, sendo separado o líquido do precipitado para as análises da quantidade de proteína solúvel e análise de proteínas por SDS-PAGE, utilizando albumina sérica como padrão. Os resultados obtidos demonstraram que no que se refere à amostra antes de ocorrer a hidrólise, observou-se várias bandas de proteínas; já na amostra hidrolisada observou-se uma diminuição bastante acentuada das bandas, indicando que as proteínas foram clivadas. Percebeu-se que o perfil das proteínas foi substancialmente alterado em relação ao controle, indo ao encontro a outros estudos realizados. Sendo assim, observou-se que o método foi eficaz para verificar a ocorrência de hidrolisados enzimáticos de minhoca. Testes posteriores utilizando a cromatografia a líquido de alta eficiência serão usados para a identificação dos aminoácidos.

Palavras-chave: *Eisenia andrei*. Hidrólise. Método eletroanalítico. Enzima.



AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICROBIANO DE DUAS CEPAS DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS NA PRESENÇA DE SELÊNIO (IV)

A. P. MÖRSCHBÄCHER^{1*}, C. R. BRANDT¹, D. KUHN¹, D. T. BRIETZKE¹, F. J. M. KUFFEL¹, T. ALTMAYER¹, T. E. GONÇALVES¹, A. DULLIUS², C. H. DULLIUS², C. F. V. de SOUZA¹ e L. HOEHNE¹

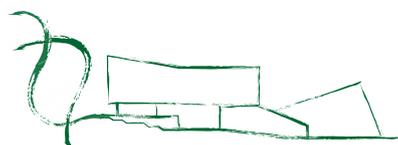
¹ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES – Rua Avelino Tallini, 171 - Bairro Universitário Lajeado/RS - Brasil | CEP 95900-000

² Rodovia Transantarita, km 3,5, Caixa Postal 168, Estrela/RS - Brasil | CEP 95900-000

*amorschbacher1@universo.univates.br

O selênio (Se), dependendo de sua concentração, pode ser considerado um micronutriente essencial para os seres vivos, pois é um dos elementos que auxiliam o funcionamento adequado de um organismo. Atualmente, sua carência pode ser considerada uma questão de saúde pública, pois afeta cerca de um bilhão de pessoas em todo o mundo. Uma das alternativas capazes de suprir essa deficiência é a suplementação de Se em produtos alimentícios à base de proteínas e minerais. Entretanto, sua aplicação é limitada devido à toxicidade que varia de acordo com a forma e concentração utilizadas. Dentre os métodos empregados para fornecer alimentos mais seguros, nutritivos e enriquecidos com compostos de Se, está a bioacumulação deste micronutriente na biomassa de várias bactérias ácido-láticas (BAL), pois essas constituem uma importante parcela da dieta humana na forma de alimentos fermentados. Diante desta perspectiva, foram avaliadas uma cepa de *Enterococcus sp.* e uma de *Lactobacillus sp.*, ambas BAL, isoladas a partir de queijos artesanais provenientes da região do Vale do Taquari quanto a capacidade de crescimento microbiano em meio de cultura adequado contendo concentrações de 0, 30 e 60 mg L⁻¹ de Se (IV), obtidas a partir da solução de selenito de sódio 1000 mg L⁻¹. As cepas foram inoculadas em caldo de *Man, Rogosa and Sharpe* (MRS) e incubadas a temperatura controlada (32 °C) e agitação de 200 rpm. Para a elaboração das curvas de crescimento, alíquotas de 1 ml dessas culturas foram coletadas e a densidade óptica (DO) determinada no instante zero, considerando-se o momento da adição do inóculo, e em períodos de duas horas até que as células tenham alcançado a fase estacionária de multiplicação celular. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS. Os resultados obtidos, até o momento, demonstram que as concentrações de Se (IV) utilizadas não inibiram o crescimento das BAL estudadas, quando comparado à ausência de adição deste micronutriente ao meio de cultura. A partir desses dados será possível avaliar a bioacumulação de Se na biomassa bacteriana dessas BAL visando à utilização para suplementação de Se (IV) na dieta de seres humanos e/ou outros animais.

Palavras-chave: *Enterococcus sp.* *Lactobacillus sp.* Curvas de crescimento. Bioacumulação.



HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO SORO DE QUEIJO DE LEITE DE BÚFALA: OBTENÇÃO DE PEPTÍDEOS BIOATIVOS

G. M. B. VOLKEN^{1*}, J. M. P. ASSUNÇÃO², W. O. B. da SILVA¹ e C. F. V. DE SOUZA¹

1 Centro Universitário Univates, Rua Avelino Tallini, 171, Lajeado/RS, Brasil

2 Universidade de Lisboa, Alameda da Universidade, 1649-004 Lisboa, Portugal

*Apresentador: gmbvolken@univates.br

O soro de queijo é obtido no processo de fabricação desse derivado lácteo. Em função da quantidade gerada e de suas características de composição, é um dos principais subprodutos da indústria de laticínios. O soro pode gerar danos ao meio ambiente se descartado sem tratamento prévio, pois apresenta demanda química de oxigênio e demanda bioquímica de oxigênio elevadas. Por outro lado, seu alto valor nutricional torna-o um potencial ingrediente para uso em alimentos. Em sua composição, destacam-se as soroproteínas, consideradas de elevada qualidade para fins de nutrição humana. As soroproteínas contêm em sua estrutura peptídeos biologicamente ativos, fragmentos de proteínas que produzem efeitos bioquímicos e fisiológicos benéficos ao corpo humano. A hidrólise enzimática é uma das maneiras de obter estes peptídeos. Portanto, o objetivo deste trabalho é hidrolisar por meio de proteases comerciais o soro de queijo de leite de búfala, visando à obtenção de peptídeos bioativos. O soro de queijo *in natura* foi analisado quanto a sua composição físico-química e posteriormente submetido ao processo de liofilização. O soro liofilizado também teve sua composição físico-química avaliada. Este soro foi diluído em solução tampão e submetido à hidrólise com as enzimas comerciais Alcalase 2.4L[®] e Flavourzyme 1000 L[®]. A hidrólise foi realizada nas condições ótimas de cada enzima em incubadora com agitação orbital, com razão enzima/substrato de 2% (v/m). Alíquotas foram coletadas ao longo de 5 horas de reação e quantificadas quanto à concentração proteica. Os hidrolisados obtidos após 5 horas foram filtrados e liofilizados. Realizou-se a caracterização físico-química das amostras liofilizadas dos soros hidrolisados por ambas as enzimas. O efeito da liofilização no soro *in natura* pode ser observado na composição físico-química: sólidos totais aumentaram de 6,91% para 94,19%, enquanto que as concentrações de proteínas, lipídios e lactose aumentaram, respectivamente, de 0,88% para 10,41%, de 0,45% para 3,70%, e de 6,88% para 57,47%. O teor de proteína solúvel no soro após o processo de hidrólise pelas enzimas diminuiu de 1,8% para 0,27% com a Alcalase 2.4L[®] e de 5,5% para 3,29% com a Flavourzyme 1000L[®], ocasionando alteração na composição físico-química das amostras. Os resultados obtidos até o momento mostram que é possível hidrolisar o soro de queijo de leite de búfala com proteases comerciais.

Palavras-chave: Soro de queijo. Hidrólise enzimática. Peptídeos bioativos.



PRODUÇÃO DE UMA CERVEJA DO TIPO PILSENER AROMATIZADA COM MIRTILO (BLUEBERRY)

R. T. CARRARO¹, J. C. VENANCIO¹ e L. M. DE OLIVEIRA¹

¹ Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Centro de Educação Profissional Irmão Mário Cristóvão, R. Imac. Conceição, 1155 - Prado Velho, Curitiba - PR, 80215-900
Renata Teixeira Carraro: renata_carraro@yahoo.com

As cervejas produzidas de forma artesanal tem adquirido um espaço cada vez mais abrangente no mercado e na apreciação dos consumidores, isso devido a sua diferenciada escala de sabores e aromas, a busca por produtos inovadores e foco na alta qualidade da cerveja. Neste contexto, as cervejas artesanais frutadas, ou cervejas aromatizadas com frutas, são produzidas voltadas especialmente para um público que busca cervejas de sabor cítrico, onde o enfoque é a harmonização da acidez da fruta com sabor adocicado do malte. Os objetivos do trabalho realizado foram produzir uma cerveja do tipo pilsener aromatizada com a fruta mirtilo (*Vacciniummyrtillus L.*), onde foram realizados testes para se encontrar a melhor concentração e o melhor meio de adição da fruta durante a produção que evitasse possíveis contaminantes e preservando os sabores desejados, buscando também não interferir no processo fermentativo. As matérias-primas utilizadas foram cereal de malte tipo pilsen, lúpulo SAAZ (*Humulus lupulus*) e fermento líquido tipo American Ale – SY025 (levedura *saccharomyces cerevisiae*). Para a obtenção de 19 L de cerveja, são empregados um total de 3,566 kg de malte para uma proporção de 28,5 L de água. A produção ocorre seguindo primeiramente pelas etapas da Brassagem, onde ocorrem a sacarificação, clarificação, fervura e lupulagem do mosto cervejeiro. Em seguida o mosto é transferido para os biorreatores, onde foram realizados os testes de adição da fruta nas posteriores etapas de fermentação e maturação. Para tanto, foram adicionados 600 g de mirtilo cozidos em cada biorreator: o primeiro com adição apenas anteriormente ao processo de fermentação, o segundo à fermentação e à maturação, e o terceiro apenas no momento da maturação. Como resultados obtidos, o primeiro teste ocasionou a perda da fruta pelo processo fermentativo, onde as leveduras acabaram por consumir a maior parte dos seus açúcares naturais, deixando a bebida final intensamente ácida, sobrepondo o sabor do malte e o amargor do lúpulo, ficando desproporcional. O segundo teste, apesar de ocorrer perda com o processo fermentativo, houve a recuperação pela adição também na maturação, deixando os sabores bem equilibrados, porém com um contraste maior entre acidez e amargor. O terceiro teste atingiu o melhor resultado, havendo o perfeito equilíbrio entre os sabores, enaltecendo o adocicado do malte com um leve cítrico do mirtilo. A cerveja tem uma coloração que fica entre 2 – 3 na escala SRM, e com a adição da fruta sua turbidez aumenta e a cor se torna roxa com tonalidade de vinho. O teor de amargor fica entre 15 – 17 IBU e teor alcoólico teórico entre 5,0% - 5,5%. A partir desses resultados, foi verificado que a fruta utilizada é extremamente sensível ao processo fermentativo. Assim, seu sabor foi mais valorizado com a sua adição no momento da maturação da cerveja, pois não competiu com os caracteres adocicado e amargo dos ingredientes primordiais e evitou possíveis problemas de contaminação do processo.

Palavras-chave: Cerveja artesanal. Cervejas frutadas. Blueberry. Mirtilo. Fermentação.



ANÁLISE ESTATÍSTICA DE HIDROLISADOS ENZIMÁTICOS OBTIDOS A PARTIR DE SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS

K. J. HASELROTH^{1*}, S. A. FABRINI¹ e R. STROHER¹

¹ Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, 85950-000, Palotina-PR

*Apresentador: kaarenjaqueline@gmail.com

Atualmente, as agroindústrias geram uma grande quantidade de subprodutos, tais como: bagaços, farelos, cascas e sementes em geral. Utilizar esses coprodutos como matéria-prima para bioprocessos torna-se atrativo devido ao seu baixo custo econômico, sua grande disponibilidade, além de seu alto valor nutricional. Desta forma, o objetivo deste trabalho consiste em realizar a análise estatística dos resultados obtidos por meio da hidrólise enzimática de três subprodutos da agroindústria. A hidrólise enzimática foi realizada utilizando-se farelo de soja, farelo de milho e farinha de peixe, com teores de proteína em torno de 48,8 e 59%, respectivamente, e a proteinase Alcalase® 2.4 L. Avaliou-se a concentração de proteína solúvel sobre o efeito de três fatores da reação, cada uma em três níveis: tempo de reação (1, 2 e 3 horas), concentração de enzima (0,5; 1,0 e 1,5 % proteína da enzima / proteína do substrato) e temperatura (40, 50 e 60 °C). Foi quantificada a proteína solubilizada pela enzima por meio da determinação da concentração de proteína solúvel, e os resultados obtidos foram analisados por meio do software Statistica® versão 10. Por meio da análise do gráfico de Pareto foi possível visualizar que, dentre as variáveis estudadas, para o hidrolisado de farelo de soja, o tempo em sua forma linear é a única variável que influencia significativamente de forma positiva a concentração de proteína solúvel. Em relação ao hidrolisado de farelo de milho, as variáveis concentração de enzima, temperatura e tempo de reação, bem como a interação entre a concentração de enzima e a temperatura em suas formas lineares influenciam significativamente de forma positiva a concentração de proteína solúvel. Já para o hidrolisado de farinha de peixe, a variável temperatura em suas formas linear e quadrática, e a interação entre a concentração de enzima e a temperatura influenciaram significativamente de forma positiva a concentração de proteína solúvel. Também foi possível determinar a condição ótima de hidrólise enzimática em relação à concentração de proteína solúvel para cada um desses subprodutos avaliados. Pode-se afirmar que estes subprodutos utilizados para a hidrólise enzimática são ingredientes com potencial para uso como aditivos alimentares, e que as variáveis que influenciam essa reação catalítica devem ser investigadas.

Palavras-chave: Subprodutos. Agroindústria. Hidrólise. Proteinase. Otimização.



DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA SOLÚVEL NA PRODUÇÃO DE HIDROLISADO ENZIMÁTICO UTILIZANDO FARELO DE SOJA

S. A. FABRINI^{1*}, K. J. HASELROTH¹ e R. STROHER¹

¹ Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, 85950-000, Palotina-PR

*Apresentador: sabrinafabrini0096@gmail.com

Especial atenção vem sendo dada aos subprodutos agroindustriais, principalmente pelo seu alto valor nutricional e pelo aumento da conscientização ecológica. Um desses subprodutos de interesse é o farelo de soja, o qual possui diversas aplicações, como o enriquecimento de alimentos e a obtenção de concentrados e isolados de proteína. Sendo assim, o objetivo deste trabalho consiste em realizar a hidrólise enzimática do farelo de soja com o intuito de agregar valor ao subproduto utilizado. Para o preparo das dispersões utilizou-se farelo de soja com teor de proteína de 48,41% e a enzima Alcalase® 2.4 L. Avaliou-se a concentração de proteína solúvel sobre o efeito de três fatores da reação, cada uma em três níveis: tempo de reação (1, 2 e 3 horas), concentração de enzima (0,5; 1,0 e 1,5 % proteína da enzima / proteína do substrato) e temperatura (40, 50 e 60 °C). Com o intuito de quantificar a proteína solubilizada apenas pela água, foi realizada uma reação controle (reação nas mesmas condições da reação enzimática, mas sem a enzima). Os ensaios foram realizados em Banho Metabólico tipo Dubbnoff sob agitação de 100 rpm. Após 3 horas de reação, a atividade catalítica foi finalizada em banho termostático à temperatura de 90 °C por 15 minutos. Ao final desse procedimento, o material foi filtrado e retirou-se uma alíquota a fim de determinar a quantidade de proteína solubilizada. A maior concentração de proteína solúvel alcançada para o hidrolisado foi 40,62 mg/mL, que foi obtida em 3 horas de reação utilizando-se 1,5 % de enzima a 60 °C. Considerando que o farelo de soja possui 48,41% de proteína, e subtraindo-se o teor de proteína solubilizada na reação controle, verificou-se que a enzima Alcalase® 2.4 L solubilizou 83,91% da proteína inicialmente presente. Pode-se afirmar que a hidrólise enzimática do farelo de soja é uma alternativa tecnológica que possibilita proporcionar valor agregado a esse subproduto da extração de óleo vegetal.

Palavras-chave: Farelo de soja. Hidrólise. Enzima. Proteínas.



ÁCAROS COM POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO EM ALIMENTOS

P. VOGEL^{1*} e N. J. FERLA¹

¹ Univates, Rua Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil

*Apresentador: pvogel.nutri@gmail.com

Muitas espécies de ácaros são conhecidas por infestar e reduzir a qualidade de produtos armazenados como grãos, farinhas, rações, etc. Outras são conhecidas por causar doenças alérgicas como rinite, dermatite atópica, anafilaxia e enterite no homem. Entretanto, algumas espécies de ácaros são adicionadas intencionalmente a alimentos por conferir sabor diferenciado aos produtos fabricados na presença do ácaro. O objetivo do estudo é descrever as espécies de ácaros que são utilizadas na produção de alimentos ao redor do mundo, o produto produzido a partir deste ácaro e quais as características conferidas a este alimento por determinada espécie acarina. Revisão na literatura nas bases de dados LILACS-BIREME, SCIELO e MEDLINE para publicações em inglês, português e espanhol utilizando os seguintes descritores em inglês e português: *mites, storage mites, foods, Acari, Astigmata, cheesemaking, Milbenkäse, Mimolette, Boule de Lille*. Os artigos foram selecionados pelo resumo e posteriormente pelo texto. Foram excluídos do estudo os artigos que não condiziam com os objetivos do mesmo. As espécies *Tyrollichus casei* Oudemans e *Acarus siro* L. são utilizadas por indústrias da Alemanha e da França para produzir variedades específicas de queijo (Milbenkäse e Mimolette) caracterizada por um sabor característico que não é conhecido em outro tipo de queijo. *Tyrollichus casei* também é utilizada para fabricação de um tipo de manteiga. Um estudo recente concluiu que o sabor característico destas variedades de queijo não é decorrente do processo de fermentação do ácaro, mas é um componente da secreção do ácaro. A literatura científica sobre o assunto é limitada, sendo necessários mais estudos sobre a potencialidade destes ácaros na produção de outros tipos de alimentos. Sendo assim, alguns ácaros possuem potencial biotecnológico na produção de alimentos, uma vez que podem conferir sabor diferenciado aos mesmos.

Palavras-chave: *Tyrollichus casei*. *Acarus siro*. Milbenkäse. Mimolette.



COMPARAÇÃO DE OVIPOSIÇÃO DE PANONYCHUS ULMI (ACARI: TETRANYCHIDAE) COLETADOS EM MACIEIRAS E VIDEIRAS NO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

A. C. BRENTANO^{1*}, M. SENTER¹, J. M. DO NASCIMENTO¹, N. J. FERLA¹ e L. JOHANN¹

1 Univates, Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário – Lajeado/RS – Brasil – CEP: 95900-000

*Apresentador: andrea.brentano@univates.br

Panonychus ulmi (Koch) é conhecido como principal ácaro fitófago causador de danos em macieiras ao redor do mundo e, recentemente, em videiras na Serra Gaúcha. Os prejuízos são decorrentes de sua alimentação, que provoca perda de cloroplastos e conseqüente aparecimento de manchas de aspecto bronzeado nas folhas da planta. Entre os produtores mundiais de maçã (*Malus domestica* Borkh), o Brasil se destaca, com relevância para os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, que também é destaque por sua produção de uvas (*Vitis vinifera* L.). O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de oviposição de populações de *P. ulmi*, provenientes de macieiras da variedade Gala, coletadas em Vacaria (RS) e de videiras da variedade Merlot coletadas em Bento Gonçalves (RS), nas safras de 2014/2015. As criações estoque foram estabelecidas sobre a parte adaxial de folhas de macieira, que tiveram suas bordas recobertas por algodão hidrófilo e permaneceram sobre espuma umedecida diariamente, em bandejas de isopor. As folhas foram divididas em quatro partes, cada uma contendo uma fêmea em fase de deutoninfa e um macho adulto, de suas respectivas culturas estoque. Os cruzamentos realizados seguiram a seguinte ordem: C1: ♂ Macieira X ♀ Macieira, C2: ♂ Videira X ♀ Videira, C3: ♀ Macieira isoladas e C4: ♀ Videira isoladas e monitorados diariamente para a contagem de ovos. Os dados obtidos foram comparados através do teste T, ao nível de significância de 5%. As fêmeas de C1 ovipositaram em média 3,44 ovos por dia, com um total de 34,33 ovos/fêmea (n=15); C2: 2,70, atingindo o total de 27 ovos/fêmea (n=13); C3: 4,19, com total de 41,87 ovos/fêmea (n=15) e as fêmeas de C4: 3,60, obtendo uma média de 30,62 ovos/fêmea (n=13). Os picos de oviposição em C1 e C2 ocorreram no quinto dia, enquanto C3 no oitavo e C4 no sexto. A oviposição observada foi maior quando os ácaros foram retirados de macieiras do que quando de videiras, demonstrando que *P. ulmi* possui maior capacidade reprodutiva em macieira, possivelmente devido à capacidade nutricional superior que as folhas dessa planta oferecem, em comparação com videira. A importância de se reconhecer o desenvolvimento desse ácaro em diferentes culturas consiste no aprimoramento de programas de controle biológico aplicado a cada hospedeiro.

Palavras-chave: Ácaro vermelho europeu. Reprodução. Criação.



POTENCIAL ALIMENTÍCIO DE *VASCONCELLEA QUERCIFOLIA* A. ST.-HILL. (CARICACEAE)

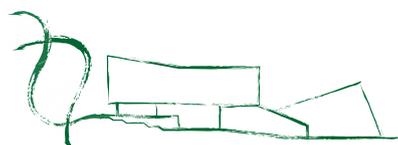
Z. F. FOLHARINI¹, C. R. ORLANDI^{1*}, F. BRUXEL¹, L. HOEHNE¹ e E. M. DE FREITAS¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Av. Avelino Tallini, 171, Lajeado, RS.

* carla-orlandi@hotmail.com

Vasconcellea quercifolia A. St-Hil. (Família Caricaceae) é uma espécie arbórea nativa inserida na lista das Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC). Com a medula caulinar podem ser preparados doces (conservas e rapaduras), prática muito comum no passado, e seus frutos podem ser consumidos *in natura* ou na forma de geleias, sorvetes e sucos. No entanto, atualmente, a espécie é pouco conhecida e seu uso vem sendo esquecido. Além disso, o seu potencial nutricional não é conhecido. Com o intuito de resgatar a exploração da espécie como fonte de alimento, valorizando a biodiversidade brasileira, e de viabilizar a sua utilização na geração de novos produtos, o objetivo do estudo foi conhecer as propriedades físico-químicas das partes comestíveis da mesma. Foram realizadas análises para determinação de umidade, pH, acidez titulável, teor de carboidratos, cinzas, fibras, proteínas e aminoácidos de frutos verdes e maduros e da medula do caule de três indivíduos existentes em diferentes localidades do Vale do Taquari. Os resultados obtidos mostraram umidade que variou de 84,1 % a 90,6 % e valor médio de pH de 5,34, indicando um leve sabor ácido. A acidez titulável foi de 0,78 % e 0,95 % para frutos verdes e maduros, respectivamente. Os frutos maduros apresentaram maior quantidade de carboidratos (12,3 %) em relação aos frutos verdes e à medula caulinar (7,7 e 7,1 %, respectivamente). De modo inverso, o teor de cinzas foi maior na medula caulinar (1,7 %), seguido por frutos maduros (1,46%) e frutos verdes (1,2 %). A presença de fibras e de proteínas foi maior nos frutos verdes (3,7 e 2,04 %), com leve redução em frutos maduros (3,5 % e 1,8 %) e menor quantidade na medula caulinar (2,17 % e 0,6 %). A presença de aminoácidos foi similar à de proteínas. Nos frutos verdes, considerando 100 gramas de amostra, as análises mostraram quantidades elevadas de ácido glutâmico (0,388 g), ácido aspártico (0,292 g), lisina (0,262 g), prolina (0,220 g) e tirosina (0,219 g). Estes aminoácidos também foram os mais representativos nos frutos maduros, porém em quantidade um pouco inferior enquanto que na medula do caule foi muito reduzida. Os parâmetros avaliados foram, em sua maioria, superiores aos registrados para o mamão e outras frutas normalmente consumidas pela população e que são originárias de outros países, indicando propriedades funcionais e comprovando que a espécie, nativa do Brasil, apresenta forte potencial para novas alternativas de consumo como alimento.

Palavras-chave: Análises físico-químicas. Exploração sustentável da biodiversidade. Mamãozinho-do-mato. Novos produtos alimentícios. Planta alimentícia não convencional.



PRODUÇÃO DE PROTEASES POR MICRORGANISMOS DA ESPÉCIE *LACTOBACILLUS PARACASEI* ISOLADOS DE AMOSTRAS DE LEITE CRU

J. P. KIPPER^{1*}, C. AGOSTINI¹, J. W. F. DA SILVA¹, B. JORDON¹, M. J. MACIEL¹, D. N. LEHN¹, A. DULLIUS², C. H. DULLIUS², A. POZZOBON¹, R. A. SPEROTTO¹, C. F. V. DE SOUZA¹ e C. E. GRANADA¹

1 Centro Universitário UNIVATES – Rua Avelino Tallini, 171- Lajeado/RS - Brasil

2 Launer Química Indústria e Comércio Ltda - Rodovia Transantarita, KM 3,5 - Estrela/RS - Brasil

O setor leiteiro e a produção de seus derivados são extremamente importantes no Brasil. O potencial biotecnológico dos microrganismos do leite pode interferir significativamente na qualidade do produto que está sendo gerado. A espécie de microrganismo *Lactobacillus paracasei* faz parte da microbiota natural do leite e seu potencial biotecnológico vem sendo intensamente estudado para que se possa aprimorar as características do bioproduto que está sendo produzido. As proteases microbianas são altamente estáveis a temperaturas altas e essenciais na degradação das proteínas do leite durante fabricação do queijo. Assim, o objetivo deste trabalho foi isolar, identificar e avaliar a atividade proteolítica de microrganismos da espécie *Lactobacillus paracasei* oriundos de amostras de leite cru de vacas para que possam ser utilizados como um bioproduto inoculante pelos produtores de leite e queijo. Para isto, amostras de leite cru foram processadas e os microrganismos isolados em meio de cultura MRS. A identificação destes microrganismos foi feita pelo sequenciamento do gene 16S rRNA e a atividade proteolítica foi determinada pela inoculação em meio cultura ágar Plate Count (Oxoid, Inglaterra) pela técnica da gota e adição de HCl 1% v/v na colônia microbiana formada após 3 dias de incubação a 32° C. A atividade proteolítica foi avaliada pelo tamanho do halo formado ao redor das colônias. Ao total, foram obtidos 14 isolados bacterianos da espécie *Lactobacillus paracasei*. Dentre estes, 1 isolado foi avaliado com atividade proteolítica muito alta, 2 isolados com atividade alta, 5 isolados com atividade intermediária, 4 com atividade baixa e 2 sem atividade proteolítica. Contudo, pode-se concluir que os microrganismos da espécie *Lactobacillus paracasei* produzem proteases que podem ser de essencial importância para os fabricantes de queijo e mais estudos para o uso destes microrganismos como um bioproduto inoculante devem ser feitos.

Palavras-chave: Proteases. Microrganismos. Leite. Queijo.



UTILIZAÇÃO DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS PARA PRODUÇÃO DE HIDROLISADOS PROTEICOS A PARTIR DE CARCAÇAS DE FRANGO DESOSSADAS MANUALMENTE

F. L. FRANZEN^{1*}, M. S. R. DE OLIVEIRA¹, N. N. TERRA¹ e E. H. KUBOTA¹

¹ Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, UFSM, Av. Roraima nº1000, Centro de Ciências Rurais, Prédio 42, Santa Maria, RS

*Apresentador: ffranzen2@gmail.com

O emprego de hidrolisados proteicos, oriundos de fontes animais e vegetais, em formulações específicas, é uma área de crescente interesse. O objetivo deste trabalho foi desenvolver diferentes hidrolisados liofilizados com alto valor proteico, obtidos a partir da hidrólise enzimática de carcaças de frango manualmente desossadas (CMD), um subproduto da indústria avícola, que normalmente é utilizado para a fabricação de carne mecanicamente separada (CMS). A matéria-prima utilizada foram carcaças de frango desossadas manualmente e congeladas (CMD), provenientes de animais abatidos com aproximadamente 42 dias de vida e com peso médio de 2,5 kg, adquiridas em um abatedouro da região sul do Brasil. Antes de serem processadas, foram descongeladas sob temperatura de refrigeração e cortadas em pedaços menores com faca de aço inox para facilitar sua homogeneização durante o tempo de hidrólise. Foram utilizadas três enzimas comerciais, Papaína[®], Flavourzyme[®] e Protamex[®]. A hidrólise ocorreu em banho termostatizado com temperatura, tempo e pH controlados. Foi realizada a composição proximal da matéria-prima e dos hidrolisados liofilizados, atividade de água dos hidrolisados liofilizados e foram feitas as seguintes análises de controle da hidrólise: grau de hidrólise, teores de proteínas, sólidos totais, cinzas, caracterização de aminoácidos dos hidrolisados, rendimento, percentual de hidrólise e cor dos hidrolisados. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias. O grau de hidrólise maior foi com a Protamex, seguido da Papaína e da Flavourzyme. O teor de proteínas após os 120 minutos de hidrólise não variou estatisticamente ($p > 0,05$) entre a Papaína e a Flavourzyme. A composição de aminoácido demonstra que o hidrolisado obtido da Papaína possui uma composição mais próxima da recomendada pelos órgãos de controle. Concluiu-se que os hidrolisados proteicos obtidos da carcaça (CMD) de frango manualmente desossada apresentaram alto conteúdo proteico, caracterizando-se como matéria-prima promissora na formulação de dietas especiais.

Palavras-chave: Carcaça de frango manualmente desossada (CMD). Hidrolisado proteico. Hidrólise enzimática.



PRODUÇÃO DE BACTERIOCINAS E ANÁLISE DE RESISTÊNCIA AO CONGELAMENTO

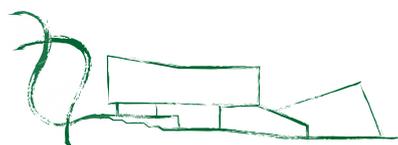
N. B. SOUZA^{1*}, C. R. CONTESSA¹, L. ALMEIDA¹, A. P. MANERA¹ e C. C. MORAES¹

¹ Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, 96413-170 - Bagé, RS – Brasil

*Apresentador: nathieli.souza.1995@gmail.com

Atualmente, as pessoas têm se preocupado mais com o consumo de alimentos saudáveis, nutritivos e seguros. Para se obter um alimento com maior vida de prateleira e estabilidade microbiológica, alguns aditivos sintéticos e por vezes naturais, são utilizados, como o objetivo de eliminar ou inibir a flora contaminante no produto. Com isso, tornam-se interessantes os estudos de bactérias ácido lácticas (BAL) produtoras de bacteriocinas, que são peptídeos ou proteínas que exercem ação antimicrobiana contra uma série de micro-organismos. Justifica-se o estudo pelo fato que para a indústria de alimentos, as bacteriocinas podem ser uma alternativa muito interessante como agente antimicrobiano natural para conservação de alimentos, em substituição à aditivos químicos. Assim objetiva-se com o estudo a extração de bacteriocinas de um isolado de bactéria láctica de salame italiano, assim como a análise do seu potencial antimicrobiano frente a bactérias comumente encontradas na indústria de alimentos. Para tal, a cepa da bactéria ácido láctica criopreservada em 20% de glicerol, foi incubada em tubo de ensaio contendo caldo MRS, em estufa a 32 °C por 24 - 48 horas. Após o tempo de incubação em estufa o caldo foi colocado em erlenmeyer contendo aproximadamente 200 mL de caldo MRS e incubado Shaker com agitação de 150 rpm por 24-48 horas. O caldo fermentado foi submetido à centrifugação nas condições de 4 °C a 5500 rpm por 15 minutos, então o sobrenadante, contendo a bacteriocina foi utilizado para análise antimicrobiana pela metodologia descrita pela NCCLS (2003) frente os micro-organismos *Shaphylococcus aureus* (G+) e *Escherichia coli* (G-). Também foi testada a resistência do composto bioativo ao congelamento a fim de verificar a estabilidade deste extrato. Os resultados encontrados mostraram que para o *Shaphylococcus aureus* obteve-se 92,7%±4,07 de inibição, na presença da bacteriocina e para o *Escherichia coli* obteve-se 91,26%±8,16 mostrando sua eficiência frente aos micro-organismos, assim como outros autores que já obtiveram resultados satisfatórios quanto a produção de bacteriocinas por bactérias ácido lácticas isoladas de salame italiano. O composto bioativo também se mostrou eficiente após o congelamento, mantendo as porcentagens de inibição próximas de 90%. Com isso, conclui-se que a bactéria ácido láctica (BAL) isolada do salame é produtora de bacteriocina, e mostra que esse composto é resistente ao congelamento, aumentando o seu possível ramo de atuações.

Palavras-chave: Bacteriocinas. Produção. Composto bioativo. Congelamento.



DETERMINAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM DIFERENTES TIPOS DE CERVEJAS CLARAS COMERCIALIZADAS NO RS

R. DALLAGNOL^{1*} e B.C.S. HOFFMEISTER¹

1 Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, Lajeado/RS, CEP: 95900-000

*Apresentador: rodrigodall@univates.br

Compostos fenólicos são substâncias com atividade antioxidante, sendo frequentemente encontrados em vegetais e em produtos derivados destes, tais como vinho e cerveja. Na cerveja, são provenientes principalmente do lúpulo e da cevada maltada, desempenhando um papel importante ao conferir características sensoriais e nutricionais bem como estabilidade à bebida. O objetivo deste trabalho foi avaliar cromatograficamente o perfil fitoquímico e determinar o conteúdo de compostos fenólicos totais e o potencial antioxidante em três tipos de cervejas claras (Indian Pale Ale - IPA, Strong Golden Ale e Pilsen) comercializadas no estado do Rio Grande do Sul. Para tanto, avaliou-se a capacidade antioxidante *in vitro* por meio do método do DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo). A análise do perfil fitoquímico foi realizada por meio de cromatografia em camada delgada, empregando-se sistemas cromatográficos adequados para a caracterização dos principais grupos de metabólitos de origem vegetal. A determinação do teor de fenóis totais deu-se por meio do método de Folin-Ciocalteu, com resultados expressos em equivalentes ácido gálico/L (GAE/L). A análise cromatográfica revelou que compostos de natureza fenólica são os principais metabólitos secundários presentes nos três tipos de cerveja analisados, com destaque para a presença de humulona e lupulona. O conteúdo de compostos fenólicos nas cervejas analisadas variou entre $8,3 \pm 3$ e $22,3 \pm 1,1$ mg/L. Cervejas do tipo IPA, apresentaram os maiores valores de polifenóis totais, seguidas das cervejas Strong Golden Ale. Cervejas Pilsen apresentaram os menores teores de polifenóis totais. O método DPPH revelou percentual de descoloração variando entre $11,07 \pm 0,60$ e $16,49 \pm 0,71$, com cervejas IPA apresentando o maior potencial antioxidante, seguidas das Strong Golden Ale e Pilsen. Os resultados obtidos sugerem que o conteúdo de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante diferem entre as amostras comerciais dos diferentes estilos de cerveja avaliados, sendo caracterizada como diferença significativa ao considerar cervejas Pilsen frente as IPA e Strong Golden Ale. Uma forte correlação entre atividade antioxidante e teor de compostos fenólicos foi observada, indicando que esta atividade está diretamente relacionada à presença destes compostos na bebida.

Palavras-chave: Atividade antioxidante. Cerveja. Compostos fenólicos.



AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE AMILASES A PARTIR DO ÍNDICE ENZIMÁTICO EM ISOLADOS DE ACTINOBACTÉRIA

J. S. BERGER^{1*}, G. FURINI¹, S. T. VAN DER SAND¹ e J. C. GERMANI²

1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Departamento de Microbiologia. Rua Sarmento Leite, 500 - 90050-170 - Porto Alegre, RS - Brasil.

2 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produção de Matéria-Prima. Av. Ipiranga, 2752 - 90610-000 - Porto Alegre, RS - Brasil.

*Apresentadora: jussaraberger@gmail.com

As amilases são um conjunto de enzimas, cada uma com a sua especificidade, que hidrolisam as ligações glicosídicas presentes nas cadeias de amilose e amilopectina que formam o amido. Tem aplicação nas indústrias têxtil, química e farmacêutica, na panificação, produção de cervejas e bebidas destiladas e produção de hidrolisados de amido. Pela diversidade ecológica e importância na ciclagem de compostos orgânicos, as actinobactérias são potenciais produtoras de enzimas de valor comercial e ambiental. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de produção de amilases por isolados de actinobactérias provenientes de diferentes ambientes (composteira, tomateiro e *landfarming*), em temperaturas e meios de cultivo distintos. Foi avaliada a presença de amilases em 20 isolados de actinobactérias da bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Ambiental ICBS/UFRGS. Os isolados foram incubados em placa pela técnica de picada em meio mínimo e ágar nutriente, ambos com 1% de amido solúvel como fonte de carbono, nas temperaturas de 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C e 45 °C, em triplicata. Após 10 dias de incubação, mediu-se o diâmetro das colônias e dos halos de hidrólise formados ao redor das mesmas pela adição de lugol nas placas. A atividade amilolítica dos isolados foi estimada mediante o índice enzimático (IE), que expressa a relação do diâmetro médio do halo de hidrólise e o diâmetro médio da colônia. Em meio mínimo, 39% dos isolados que cresceram, considerando todas as temperaturas, tiveram IE > 2,0, enquanto que em ágar nutriente 68% obtiveram índice maior que 2,0. O isolado 2(1) obteve o maior IE de 8,78 em meio mínimo na temperatura de 40 °C, entretanto, os diâmetros foram menores em relação aos demais isolados, além de não haver crescimento nesta temperatura no meio ágar nutriente. O isolado 6(2) apresentou o maior IE (4,942) em ágar nutriente, na temperatura de 25 °C, porém não apresentou crescimento em meio mínimo nesta temperatura. O isolado 25D7 apresentou valores de IE > 3,5 em meio mínimo e IE > 2,5 em meio ágar nutriente, nas temperaturas entre 25 °C e 35 °C. Na temperatura de 40 °C, houve hidrólise nos dois meios de cultivo, porém com IE < 2,0. Assim, o isolado 25D7 se mostrou o melhor isolado para a produção de amilases, por ter os maiores IE dentre os isolados em meio mínimo e apresentar hidrólise em meio ágar nutriente, nas temperaturas testadas. Portanto, este isolado foi selecionado para avaliação da produção de amilases em cultivo submerso.

Palavras-chave: Amilases. Meio de cultivo. Actinobactérias.



UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES SUBPRODUTOS LÁCTEOS COMO MATERIAIS DE REVESTIMENTO NO ENCAPSULAMENTO DE ÓLEO DE CHIA

A. C. F. DOS SANTOS^{1*}, D. N. LEHN¹, L. A. DE A. PINTO² e C. F. V. DE SOUZA¹.

1 Centro Universitário Univates, Rua Avelino Tallini, 171, Lajeado/RS

2 Universidade Federal de Rio Grande, Avenida Itália km 8, Rio Grande/RS

*Apresentador: acfdsantos@univates.br

O óleo chia é uma fonte de ácidos graxos poli-insaturados, como os ácidos linoleico e alfa-linolênico, e estudos relacionam seu consumo à prevenção de doenças cardiovasculares e inflamatórias. Porém, a baixa estabilidade oxidativa dos óleos vegetais limita sua aplicação em produtos alimentícios. Nesse contexto, o encapsulamento por *spray-drying* representa uma alternativa na proteção dos ácidos graxos, preservando suas propriedades nutricionais e sensoriais. Esse método consiste no revestimento de componentes sensíveis, com a geração de microcápsulas a partir da secagem de emulsões em *spray dryer*. O encapsulamento pode utilizar como materiais de revestimento o soro de queijo e o permeado de soro, valorizando esses subprodutos e reduzindo o impacto ambiental dos laticínios. Portanto, o objetivo deste estudo foi desenvolver o processo de encapsulamento de óleo de chia utilizando soro de queijo e permeado de soro como materiais de revestimento, por meio de secagem em *spray dryer*. No preparo das emulsões foram realizados três experimentos, empregando 5% (m/m) de óleo de chia e 21% (m/m) dos diferentes materiais de revestimento. O Experimento 1 empregou soro de queijo, o Experimento 2 o permeado de soro e o Experimento 3 uma mistura de soro de queijo e permeado de soro (1:1). As emulsões foram secas em *spray dryer* com temperatura de entrada de 125 °C e vazão de alimentação de 0,3 L/h, e avaliadas quanto a estabilidade e morfologia. Os testes de caracterização das microcápsulas foram: eficiência de encapsulamento e estabilidade oxidativa durante três semanas de armazenamento a 25 °C. Os resultados de análise das emulsões indicam que o soro apresenta maior contribuição para a estabilidade em relação ao permeado. A eficiência de encapsulamento foi de 86,33% para o Experimento 1; 65,43% para o Experimento 2 e 77,46% para o Experimento 3. Na avaliação da estabilidade das microcápsulas, não foi detectada oxidação no período de armazenamento. Pode-se concluir que os materiais de revestimento empregados proporcionaram ao óleo de chia um recobrimento adequado inibindo a oxidação lipídica.

Palavras-chave: Óleo de chia. *Spray drying*. Encapsulamento. Soro de queijo. Permeado de soro.



DESENVOLVIMENTO DE KVASS UM PRODUTO PROBIÓTICO E PREBIÓTICO UTILIZANDO DIFERENTES MICRORGANISMOS E SUBSTRATOS

G. B. MEIRA^{1*}, W. E. MOREIRA¹, J. W. VIERA¹ e J. A. M. AZEVEDO¹

¹ Centro de Educação Profissional Irmão Mario Cristóvão, R. Imac. Conceição, 1155 - Prado Velho, Curitiba PR

*Apresentador: gabriel.meira@outlook.com

Com a crescente exigência do mercado consumidor por produtos de melhor qualidade, buscamos uma bebida que se enquadre neste seguimento. Visando isso procuramos uma bebida agri-doce com propriedades probióticas e prebióticas e que poderíamos trabalhar com várias frutas sem perder qualidade e dando assim uma maior abrangência a bebida, tendo em vista estas qualidades escolhemos o Kvass, uma bebida eslava com teor médio de 1,2% em volume de álcool etílico, considerada na região uma bebida não alcoólica. A pesquisa teve como objetivo produzir Kvass contendo propriedades funcionais como as probióticas e prebióticas e mantendo as características organolépticas. Para o desenvolvimento do produto foram usadas três diferentes leveduras *Saccharomyces* e algumas bactérias, são elas *Lactobacillus acidóphilus* SD5221, *Lactobacillus rhamonosus* SD5675, *Lactobacillus paracasei* SD5275 e *Bacillus lactis* SD5674 tendo sido feitas análises físico-químicas como pH, acidez titulável, °brix e taxa de floculação. Aplicamos em nosso desenvolvimento o gênero de leveduras *Saccharomyces*. A primeira amostra foi inoculada com fermento biológico seco comercial e resultou em uma quantidade de dióxido de carbono impregnado superior às das demais leveduras. Nas demais amostras usamos fermentos líquidos como a cepa London ESB – SY030 e Belgian Wit – SY067 sendo que a London ESB – SY030 resultou em uma bebida com um final adocicado. A variação Belgian Wit - SY067 apresentou uma aparência turva mais elevada que London ESB e produz mais álcool. Após a produção de oito variações da bebida e realizada a avaliação, foi comprovada a viabilidade, tendo um forte gosto característico e agri-doce, coloração bege turva e considerável carbonatação.

Palavras-chave: Kvass. Probiótico. Prebiótico. Bactérias. Leveduras.



ESTUDO DE MEIOS DE CULTIVO DE BAIXO CUSTO PARA A PRODUÇÃO DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁCTICAS

D. DALLÉ^{1*}; L. C. DECKER¹; A. DULLIUS²; C. H. DULLIUS²; C. F. V DE SOUZA¹ e M. J. MACIEL¹

1 Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, Lajeado, RS

2 Launer Química Indústria e Comércio LTDA, Rodovia Transantarita, KM 3,5 – Estrela/RS - Brasil

*Apresentadora: danieli_dalle@hotmail.com

As bactérias ácido-lácticas (BALs) são empregadas largamente na indústria alimentícia para produção de queijos, iogurtes e bebidas lácteas. Elas produzem, através do processo fermentativo, ácido láctico, gás carbônico e compostos flavorizantes. Meios de cultivo de alto valor comercial são necessários para a produção destas bactérias, pois necessitam de macro e micronutrientes específicos para se reproduzirem. No entanto, meios de cultivo de baixo custo devem ser empregados na bioprodução em escala industrial destes micro-organismos com vistas à aplicação na elaboração de alimentos. O objetivo deste trabalho foi utilizar subprodutos da indústria de laticínios como meios de cultura para o crescimento de bactérias lácticas. Os meios de cultura utilizados foram leite, soro de queijo e leite/soro de queijo (1:1), todos com 5% de lactose. Após a padronização da densidade ótica (DO) os micro-organismos foram inoculados, separadamente, nos três meios de cultura, e, foram mantidos em estufa em temperaturas de 37 e 42 °C. O pH ao longo do processo fermentativo foi determinado após 0, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 h. Foi possível observar que os valores de pH de todos os meios diminuíram em consequência da formação de ácido láctico. Além disso, após 8 h de cultivo, houve coagulação e precipitação mais aparente naqueles em que o pH atingiu menor valor. O meio elaborado com leite, contendo o inóculo da BAL n° 129, a 42 °C, apresentou aspecto mais denso que os demais e pH de 4,55 na oitava hora de cultivo. O meio de cultura contendo soro de queijo que apresentou mais coagulação foi o da BAL n° 118 a 42 °C, sendo que o pH, na sétima hora de fermentação foi de 4,25. Nos meios de cultivo contendo leite/soro de queijo (1:1) a BAL n° 129, mantida a 42 °C, apresentou o melhor desempenho quanto à coagulação e o pH, às oito horas de fermentação, foi de 4,07. Os resultados obtidos até o momento indicam que meios de cultura alternativos com base de subprodutos da indústria de laticínios podem ser usados no processo fermentativo das BALs, pois além de possuírem baixo custo e alto valor nutricional, promovem o crescimento destes micro-organismos empregados na produção de alimentos lácteos.

Palavras-chave: Meios de cultura alternativos. Soro de queijo. Leite. Caseína. Ácido láctico.



CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE FRUTOS DE UMA ESPÉCIE NATIVA DA FAMÍLIA ROSACEAE

M. TEIXEIRA^{1*}, D. R. MULLER¹, T. ALTMAYER¹, D. B. TAIRINI¹, F. BRUXEL¹, L. R. VIEIRA¹, L. HOEHNE¹, C. P. C. N. AFONSO² e E. M. DE FREITAS¹

1 Centro Universitário UNIVATES, Av. Avelino Tallini, 171, Lajeado, RS.

2 Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar; Instituto Politécnico de Leiria

* mareliset01@gmail.com

O Brasil é considerado o país com a maior biodiversidade e com a maior riqueza de espécies da flora, o que favorece a existência de espécies com potencial para a geração de alimentos, cosméticos ou fármacos. A exploração do potencial das espécies vegetais nativas só será possível com maior conhecimento sobre suas características, da definição de estratégias para difusão deste conhecimento e do estímulo para o uso da flora nativa pela indústria e pela sociedade. Entre as diversas famílias botânicas existentes, as espécies da família Rosaceae têm sido amplamente estudadas, pois apresentam acentuado uso popular no tratamento de vários distúrbios, são fonte de importantes princípios ativos e produzem frutos que podem ser consumidos *in natura* ou na forma de sucos, geleias e doces. Devido ao aumento da procura por alimentos que satisfaçam as exigências nutricionais para a manutenção da saúde, o objetivo do estudo foi conhecer o potencial nutricional de frutos de uma espécie nativa de Rosaceae. Foram selecionadas três populações da espécie, localizadas nos municípios de Canudos do Vale (CV), Progresso (PR) e Sério (SE), na região central do Rio Grande do Sul. Os frutos foram coletados de fevereiro a maio de 2015 e submetidos, em triplicata, a análises para determinação de umidade, cinzas, acidez titulável e proteínas, seguindo a metodologia convencional recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz, e teste de digestibilidade *in vitro*. Resultados preliminares indicam baixos níveis de proteínas (0,82% em CV; 0,93 % em SE e 1,19% em PR), comprovados pelo teste da digestibilidade que indicou fácil digestão (SE = 77,81 %; CV = 79,78 % e PR = 83,30 %). Os teores de cinzas, que indicam a quantidade de sais minerais nos alimentos, variaram de 0,63 % (SE) a 1,02 % (PR), enquanto que os valores de umidade foram semelhantes entre as três populações, variando de 82,56 % (PR) a 83,02 % (SE), demonstrando alto conteúdo de água. A acidez titulável foi elevada, variando de 2,99 (SE) a 3,28 (CV), valores superiores aos registrados para frutos de três cultivares de amora-preta. Proteínas e cinzas também estiveram presentes em quantidades superiores aos registrados para os frutos das três cultivares de amora-preta, indicando maior valor nutricional da espécie nativa em estudo em relação aos frutos de cultivares. Mais estudos são necessários para concluir a caracterização dos frutos que possam favorecer o interesse para o seu consumo e para comprovar os benefícios à saúde humana.

Palavras-chave: Análises físico-química. Biodiversidade brasileira. Digestibilidade. Espécie nativa. Uso sustentável da biodiversidade.



PRODUÇÃO DE CORANTES NATURAIS A PARTIR DE FUNGOS POR FERMENTAÇÃO SUBMERSA PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL

P. M. SANTOS^{1*} e L.M. TERRA¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima nº 1000, Cidade Universitária, Bairro Camobi, Santa Maria - RS

*Apresentador: priscila.molinares@gmail.com

Os corantes (naturais ou sintéticos) são amplamente utilizados pela indústria de alimentos, visando a, principalmente, conferir, restaurar ou intensificar a cor dos alimentos. Atualmente, a maioria é produzida artificialmente, entretanto, alguns deles podem ser tóxicos, cancerígenos ou causar graves danos aos órgãos vitais. Devido a isso, existe um grande interesse em pigmentos naturais produzidos a partir de fonte microbiana. Visando a explorar a diversidade e o potencial de fungos do Bioma Pampa, o objetivo desse trabalho foi estudar a produção de pigmentos naturais a partir de fungos por fermentação submersa para aplicação industrial. Dentre os objetivos específicos inclui-se: avaliar o crescimento radial dos fungos, a capacidade de produção de pigmentos e de biomassa, e a determinação dos parâmetros cinéticos. Os fungos utilizados foram isolados dos municípios de São Sepé-RS e Dom Pedrito-RS e cultivados em placas de Petri a 28°C em meio BDA (Batata Dextrose Agar). Para análise do crescimento radial, repicaram-se as culturas a partir de um disco de 15 mm no centro da placa de Petri e com auxílio de uma régua mediram-se diariamente os diâmetros. Após 12 dias em estufa e, observada a formação de pigmentos, realizou-se um teste para seleção do meio líquido mais adequado para a fermentação. Para isso, inoculou-se em 150 mL de meio, um disco de agar de 10 mm em 40 erlenmeyers, sendo 10 para cada um dos meios líquidos sintéticos (denominados de MS1, MS2, MS3 e MS4) com composições diferentes. A cada 24 h, amostras de 150 mL foram retiradas e filtradas em papel filtro. A bioamassa foi seca em micro-ondas por 15 min na potência de 180 W. Após 10 dias de fermentação, observou-se a formação de pigmento amarelo (fungos FB e FC) e vermelho (fungo FA). Dentre os parâmetros cinéticos, a maior velocidade de crescimento radial foi a do fungo FA: 0,0496 cm.h⁻¹. A velocidade máxima específica de crescimento para o fungo FB foi de $\mu_{max} = \mu_{max} = 0,0133 \text{ h}^{-1}$, sendo a maior entre os demais. O fungo FB apresentou o menor tempo de geração, 52h, porém a maior produtividade máxima de células foi de $P_x = 0,2535 \text{ g.h}^{-1}$, correspondente ao fungo FC. Os resultados mostram que a produção de corantes a partir de fungos é uma alternativa viável para substituir os corantes sintéticos. A partir das etapas futuras de identificação das cepas e do metabólito responsável pela coloração, será possível a otimização do processo.

Palavras-chave: Fungos. Corantes. Pigmentos. Fermentação.



SELETIVIDADE DE PESTICIDAS UTILIZADOS NA CULTURA DA VIDEIRA AO ÁCARO PREDADOR *NEOSEIULUS CALIFORNICUS* (PHYTOSEIIDAE) AO NÍVEL DE LABORATÓRIO

D. S. EVANGELHO^{1*}, M. SENTER¹, A. C. BRENTANO¹, L. JOHANN¹ e N. J. FERLA¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário – Lajeado/RS – 95900-000

*ds_evangelho@yahoo.com.br

As doenças fúngicas constituem-se em um dos principais entraves para a produção qualitativa e quantitativa de uva, sendo necessário o uso de pesticidas. A utilização de pesticidas não-seletivos pode ser a causa do aumento de ácaros pragas na cultura, devido à redução populacional de inimigos naturais. Entre os fitoseídeos, *Neoseiulus californicus* (McGregor) é um dos principais agentes de controle biológico de ácaros tetraniquídeos em videiras, destacando-se *Panonychus ulmi* (Koch). Neste trabalho serão apresentados dados sobre a mortalidade de *N. californicus*, quando expostos ao inseticida Karate Zeon (grupo piretróide) e ao fungicida Kocide (Hidróxido de cobre) utilizados em videiras na Serra Gaúcha. As criações de *N. californicus* foram estabelecidas a partir de espécimes coletados de plantas de videira da Serra Gaúcha. Cinco fêmeas de *N. californicus*, provenientes de criação-estoque, foram transferidos para cada arena com fêmeas de *Tetranychus urticae* como alimento. O delineamento experimental foi realizado com cinco repetições/tratamento, sendo cinco ml de pesticidas pulverizados em cada repetição, com um aerógrafo profissional- Modelo SW-775, a uma distância de 15cm. A diluição foi realizada nas concentrações recomendadas para a cultura, Kocide (180g/100L de água), Karate Zeon (50ml/100L água) e como controle foi utilizado água destilada. Avaliou-se a mortalidade corrigida após um período de cinco dias, bem como o efeito dos produtos sobre a viabilidade dos ovos deste predador. A mortalidade corrigida causada por Karate Zeon sobre populações de *N. californicus* foi de 61,9%, enquanto que Kocide provocou apenas 9,52%. Ambos os produtos não causaram efeito deletério sobre a viabilidade da espécie, mostrando-se tolerante aos produtos testados.

Palavras-chave: Controle biológico. Mortalidade. Tolerância.



AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO TEMPO DE REAÇÃO E DA CONCENTRAÇÃO DA ENZIMA LACTASE NA HIDRÓLISE DA LACTOSE EM LEITE INTEGRAL

S. T. GRADE^{1*}, R. STROHER¹ e C. R. SCHNEIDER²

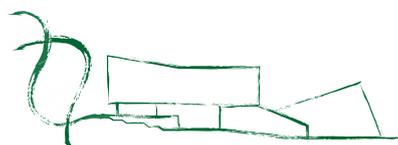
1 Universidade Federal do Paraná, Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, 85950-000, Palotina-PR, Brasil

2 Universidade Estadual do Oeste do Paraná, rua. Pernambuco, 1777 - Centro, Marechal Cândido Rondon - PR, 85960-000

*Apresentador: schayanagrade@gmail.com

A intolerância à lactose é a intolerância a carboidrato mais comum entre pessoas de todas as faixas etárias e afeta cerca de 70% dos adultos do mundo. Devido à prevalência desta condição na população mundial, tem aumentado o interesse comercial nos leites e derivados com teor reduzido de lactose. E isto pode ser obtido por meio da hidrólise da lactose, principalmente pelo método enzimático, com a utilização da enzima lactase. O grau de hidrólise da lactose depende da dosagem da β -galactosidase no leite e das condições de processamento e por isto, é extremamente importante avaliar a influência dessas condições para obtenção do leite com teor reduzido de lactose, como tempo da reação de hidrólise e concentração da lactase, sobre a eficiência do processo de hidrólise e sobre as características físico-químicas do produto final. O objetivo do presente estudo foi observar a influência de diferentes tempos de reação e concentrações da enzima lactase sobre a hidrólise da lactose em leite integral. Foi utilizada uma amostra de leite integral, proveniente de uma propriedade agroecológica situada em Marechal Cândido Rondon - PR. A reação de hidrólise foi efetuada com a enzima lactase, proveniente de *Aspergillus oryzae*, e sob temperatura de $30,0 \pm 1,5$ °C. Foram testadas as seguintes condições de concentração de enzima e tempos de reação: 3,0 g/L e 5 min; 2,5 g/L e 10 min; 2,0 g/L e 15 min; 1,5 g/L e 20 min, e 1,0 g/L e 25 min. O grau de hidrólise foi estimado por meio da crioscopia ao término do tempo de reação. Foram realizadas análises físico-químicas antes e após a hidrólise da lactose. A adição da enzima lactase modificou características e propriedades físico-químicas do leite, elevando, crioscopia, teores de gordura e lactose, densidade, extrato seco total (EST), teores de proteína e minerais. Dentre as condições de reação testadas, os teores de lactose hidrolisada obtidos variaram de 50 a 80%. As maiores porcentagens de hidrólise e, conseqüentemente, os menores teores de lactose foram verificados com o uso de concentrações de enzima de 2,5 e 3,0 g/L em tempos de reação de 10 e 5 minutos, respectivamente. Os resultados indicaram que a sobrecarga de enzima é uma estratégia interessante para que a hidrólise da lactose do leite seja realizada em um curto período de tempo.

Palavras-chave: Leite. Lactose. Hidrólise. Lactase. Crioscopia.



TRICHODERMA ATROVIRIDE COMO AGENTE DE CONTROLE DA PINTA-PRETA NO TOMATEIRO CV. MICROTOM

M. R. SANDRI^{1,2*}, L. PICCOLI¹, C. F. OLIVEIRA¹, R. T. S. RIBEIRO² e J. SCHWAMBACH¹

1 Universidade de Caxias do Sul, Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, Bairro Petrópolis, CEP 95070-560, Caxias do Sul, RS.

2 Universidade de Caxias do Sul, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, Bairro Petrópolis, CEP 95070-560, Caxias do Sul, RS.

*Apresentador: marciarsandri@gmail.com

A pinta-preta causada pelo fungo *Alternaria solani*, é caracterizada por manchas na superfície das folhas, que afetam a capacidade fotossintética da planta, reduzindo sua produção. Fungicidas são pouco eficientes no combate a esta doença e a busca por formas de controle que não utilizem produtos potencialmente tóxicos atende à demanda por uma agricultura menos agressiva ao ambiente. Fungos do gênero *Trichoderma* são usados como agentes de controle biológico contra diversas doenças de solo e também induzem a resistência das plantas a doenças da parte aérea. Neste trabalho, a linhagem T17 de *T. atroviride* foi testada quanto à capacidade de proteger as plantas de tomateiro cv. Microtom da doença causada por *A. solani* em sala de cultivo. As sementes germinaram em substrato comercial e foram mantidas em vasos de 250 mL, a 25° C e fotoperíodo de 16 h. O tratamento com T17 foi realizado no solo, durante o transplante, utilizando $1,25 \times 10^8$ conídios por planta. Os quatro tratamentos continham três repetições de cinco plantas e foram os seguintes: T17 e testemunha, ambos com o inóculo de doença e sem (aspersão de água). *A. solani* foi produzido em meio de cultura V8, e uma solução de 1×10^6 conídios/mL foi borrifada na superfície foliar 20 dias após o transplante e 24 dias após a primeira aspersão. Foram avaliados a severidade da doença e a incidência de manchas por folha em cada planta, além de parâmetros de crescimento como altura das plantas, biomassa aérea e de raiz, o número e o peso médio dos frutos. A diferença de altura das plantas foi significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos testemunha sem inóculo e T17 com inóculo, demonstrando uma tendência de incremento no crescimento quando utilizado T17. A biomassa da raiz teve incremento no tratamento testemunha com inóculo da doença em relação à testemunha absoluta. A avaliação da doença não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Concluímos que a forma de aplicação da linhagem T17 utilizada neste experimento não foi efetiva para o controle da doença nesta variedade de tomateiro. Outros experimentos, com aplicações mais frequentes do micro-organismo indutor, possibilitando que a interação ocorra por mais tempo ao longo do experimento, deverão ser testados. Aplicações foliares de *Trichoderma* também serão testadas, já que o patógeno está na superfície das folhas e é sabido por testes *in vitro*, realizados pelo nosso grupo de pesquisa, que esta linhagem é capaz de combatê-la por diversos mecanismos.

Palavras-chave: *Alternaria solani*. Indução de resistência. Controle biológico. Bioagente. Fitopatologia.



CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE PANONYCHUS ULMI (ACARI: TETRANYCHIDAE) PROVENIENTE DE MACIEIRAS E VIDEIRAS

J. M. NASCIMENTO^{1*}, M. SENTER¹, A. C. BRENTANO¹, L. JOHANN¹ e N. J. FERLA¹

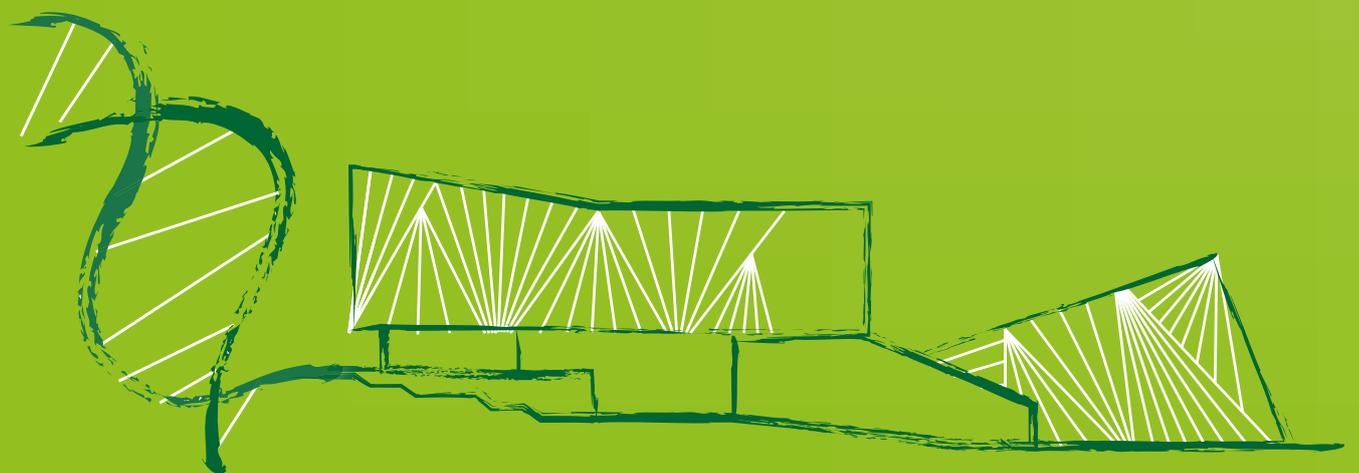
¹ Univates, Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário – Lajeado/RS – Brasil – CEP: 95900-000

*Apresentador: joseanemn@gmail.com

Conhecido como ácaro vermelho europeu, *Panonychus ulmi* (Koch) é um ácaro fitófago causador de danos ao cultivo de macieiras e videiras a nível mundial e, recentemente, encontrado em videiras no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. O cruzamento entre possíveis biótipos provenientes das duas culturas poderia aumentar a variabilidade genética e, conseqüentemente, a resistência a acaricidas, dificultando o controle e o manejo deste ácaro. Este trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de biótipos distintos de *Panonychus ulmi* provenientes de macieiras e videiras, a partir de caracterização morfológica e molecular de indivíduos provenientes de ambas as culturas. A caracterização morfológica ocorreu através de medições de fêmeas de 17 populações, coletadas na safra de 2012-2013 e 2014-2015 no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Ohio, Estados Unidos, além da análise de 15 medidas de comprimentos de setas através de estatística multivariada, pela Análise dos Componentes Principais (ACP). Foram utilizadas dez fêmeas de 17 populações para caracterização molecular, provenientes do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, África do Sul, Chile, Estados Unidos, Japão e Marrocos, coletadas nas safras de 2012-2013 e 2014-2015. O DNA foi utilizado para amplificação por PCR e, em média, cinco amostras por população foram enviadas para sequenciamento, da região intergênica ITS do DNA ribossômico e de dois fragmentos do gene *COI* do DNA mitocondrial. Obteve-se sobreposição das populações de macieiras e videiras na caracterização morfológica, através da análise dos componentes principais, não havendo diferença significativa. Não foram obtidos os resultados para ITS devido a problemas de sequenciamento. A análise filogenética baseada nos fragmentos de *COI* demonstrou que as distâncias dentro dos grupos de *Panonychus ulmi* (0,1 a 1,1%) indicaram tratar-se de uma mesma espécie, embora haja a separação de uma linhagem com agrupamento de amostras de videira e outra com agrupamento de amostras mistas com predominância de macieiras. Os resultados indicaram que as populações de *Panonychus ulmi*, provenientes de macieiras e videiras, consistem em uma mesma espécie e sugeriram a ocorrência de biótipo ou *host race* ligada ao hospedeiro, com melhor adaptação em macieiras. Estes dados demonstraram a importância da caracterização de biótipos, pois estas informações são importantes para o planejamento e aplicação em programas de controle biológico nas culturas avaliadas a nível de campo.

Palavras-chave: Biótipo. *Host race*. Maçã. Uva.

AMBIENTAL





ANÁLISE DE ÁCIDOS ORGÂNICOS DO HÚMUS GERADO APÓS BIOFILTRO DE MINHOCAS

C. R. BRANDT^{1*}, T. E. GONÇALVES¹, M. C. MARTINI¹, L. HOEHNE¹, M. COLLING¹, A. GUTIÉRREZ¹, E. M. ETHUR¹, F. J. M. KUFFEL¹ e D. KUHN¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171, Universitário, Lajeado, RS

* Apresentador: cassiano.brandt@univates.br

Ácidos orgânicos são compostos amplamente distribuídos na crosta terrestre, e podem ser encontradas no solo ou nas águas. A fração das substâncias húmicas solúvel em ácido é denominada de ácidos fúlvicos, enquanto a fração insolúvel é conhecida como ácidos húmicos. Devido seu baixo peso molecular e à medida que os ácidos fúlvicos vão perdendo seus grupos funcionais, através de reações químicas ocorridas naturalmente por ação de degradação da matéria orgânica, estes têm a tendência de, com o tempo, se transformarem em ácidos húmicos. A ação dos ácidos orgânicos, com destaque aos ácidos húmicos, tem chamado a atenção da comunidade agrônoma devido aos benefícios que tais substâncias podem trazer para o crescimento de plantas, legumes, verduras e à agricultura de modo geral. Um produto rico em ácidos húmicos é o húmus, que é um bioproduto gerado a partir de um processo de vermicompostagem. Esse bioproduto vem sendo estudado em um projeto de pesquisa intitulado de: Caracterização de bioprodutos obtidos por vermicultura, desenvolvido na Univates em uma parceria com a empresa Bidatek, que avalia a qualidade do húmus gerado em uma empresa de laticínios, após o uso de um biofiltro de minhocas, no tratamento de seu efluente, como polimento final. Assim, torna-se importante avaliar a composição deste produto quanto aos teores de ácidos húmicos e fúlvicos. Devido a isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar os teores destes ácidos orgânicos do húmus originário do biofilme de minhocas provenientes de uma indústria de laticínios. Para as análises de ácidos húmicos e fúlvicos utilizou-se o método, que se baseia na extração das substâncias húmicas a partir de uma solução de pirofosfato de sódio e hidróxido de sódio, seguida da separação dos ácidos por floculação em meio ácido. A parte precipitada representa os ácidos húmicos, enquanto em solução restam os ácidos fúlvicos. Como resultados, o húmus apresentou teores de $27,55 \pm 0,8\%$ para ácidos húmicos e de $14,80 \pm 0,5\%$ para ácidos fúlvicos. Tais resultados evidenciam que, se comparado com o trabalho de outras pesquisas, os valores obtidos estão concordantes. Testes preliminares indicaram que esse húmus pode ser um produto promissor como fertilizante para a agricultura, pois tais substâncias aumentam a absorção de nutrientes e melhoram a estrutura do solo, trazendo benefícios à produtividade e qualidade de diversos cultivos.

Palavras-chave: Ácidos húmicos. Ácidos fúlvicos. Biofiltro. Vermicompostagem. Agricultura.



AVALIAÇÃO DOS RESÍDUOS PECUÁRIOS DA MESORREGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE

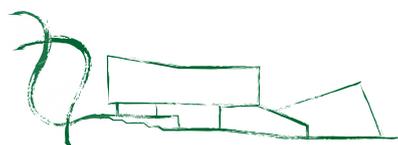
B. D. COUTO^{1*}, C. C. V. VELLOSO¹, M. F. A. BUENO¹ e B. M. MARRA¹

¹ Universidade Federal de São João Del Rei, Campus Alto Paraopeba, Departamento de Química, Biotecnologia e Engenharia de Bioprocessos

* Brunna: brunnadonofrec@gmail.com

No decorrer da evolução humana, a geração de resíduos urbanos, agroindustriais, agropecuários e industriais sempre tendeu a aumentar. A população procura por melhoria da qualidade de vida e, com o contexto de sustentabilidade, tem-se pressionado a diminuição da quantidade desses resíduos gerados e o seu melhor aproveitamento. Desse fato, surgem as necessidades de práticas que ofereçam adequados destinos a tais resíduos, sendo que estes podem ser convertidos em produtos de importância econômica, especialmente biofertilizantes. O seguinte trabalho é caracterizado por uma pesquisa descritiva explicativa, com embasamento estatístico quantitativo, sendo o principal objetivo realizar o levantamento de resíduos pecuários existentes na mesorregião metropolitana de Belo Horizonte. Para isso, coletaram-se dados de 82 cidades, as quais foram subdivididas em três regiões (Carandaí, Juatuba, e Ouro Branco), para a futura elaboração de um plano de negócios de desenvolvimento de uma indústria de biofertilizantes. As análises realizadas apontam que a região de Juatuba apresenta maior viabilidade para fabricação de biofertilizantes, por possuir maior produção de dejetos suínos, bovinos e de aves, se comparada aos polos de Carandaí e Ouro Branco. Logo, possui maior quantidade de nutrientes e, conseqüentemente, maior valor econômico, além de estar próxima de um grande mercado consumidor. Entretanto, outros parâmetros como logística e frete, devem ser considerados e estudados, e, por isso, não se deve descartar a possibilidade de reaproveitamento dos resíduos gerados pelas demais regiões traçadas.

Palavras-chave: Biofertilizante. Valor econômico. Dejetos pecuários.



USO DA DIGESTÃO ANAERÓBIA EM CONDIÇÕES TERMOFÍLICAS NA DEGRADAÇÃO DE GLICEROL EM DIFERENTES RELAÇÕES CARBONO/NITROGÊNIO

E. H. BRÄCHER^{1*}, C. D. N. de LIMA¹, F. GRANZOTTO¹, R. C. KUHN¹ e R. HOFFMANN¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Av. Roraima, 1000 - Camobi, Santa Maria - RS, 97105-900

* Apresentador: eduardabracher@yahoo.com.br

O glicerol é um subproduto da indústria de biodiesel, pode ser utilizado na indústria de alimentos, cosméticos, fármacos, entre outros. O Brasil produz grande volume de glicerol, mensalmente são gerados 30,3 mil ton. A digestão anaeróbia é um processo bioquímico que envolve diversos micro-organismos, que gera ao final biogás e biofertilizante, desta maneira trata o resíduo, além de produzir energia. O objetivo do estudo foi obter a cinética de consumo de matéria orgânica na digestão anaeróbia, com agitação em diferentes relações C/N. Os ensaios foram realizados em Erlenmeyer de 500 mL, com volume útil de 300 mL, mantidos em estufa a 55 °C, com agitação diária de 4 h. O lodo foi tratado a 80 °C durante 30 min para eliminar bactérias metanogênicas e o pH foi ajustado em 5,5. As relações C/N estudadas foram 40, 80 e 120 utilizando meio Del Nery e glicerol como fonte de carbono, a duração dos ensaios foram 12 semanas. Avaliaram-se como parâmetros o pH e demanda química de oxigênio (DQO), semanalmente. A DQO inicial dos ensaios foi 5.893, 12.244 e 19.356, para as relações C/N de 40, 80 e 120, respectivamente. Ao final de 12 semanas a remoção de matéria orgânica para os ensaios foi de 82,29%, 44,75% e 38,90%, para as relações de C/N de 40, 80 e 120, respectivamente. O decréscimo na degradação da matéria orgânica está ligada à sensibilidade de micro-organismos anaeróbios à alta carga orgânica. Analisando a eficiência de remoção da matéria orgânica durante cada semana, foi possível verificar que nos ensaios com relação C/N 40 e 80 na quinta semana foi alcançada a máxima eficiência, 34,8% e 9,27%, respectivamente. O ensaio com relação C/N 120 alcançou a máxima eficiência de remoção de matéria orgânica na sétima semana (24,27%). Em vista da resolução nº 128 do CONSEMA, o limite de DQO para lançamento deste resíduo em corpo hídrico é de 150 mg.L⁻¹, desta forma o processo citado pode ser utilizado como uma etapa preliminar, produzindo energia e removendo parte da matéria orgânica. O pH dos ensaios mantiveram-se com pouca variação, entre 7 e 6,1 do início ao final dos ensaios. Portanto, a partir dos resultados foi possível verificar que a adição de elevada carga orgânica causa um decréscimo na eficiência de remoção de matéria orgânica, a relação C/N ótima para a digestão anaeróbia foi 40. Na quinta semana foi alcançada remoção de 34,8%, a partir deste dado pode-se propor o reabastecimento do reator, trazendo um processo de batelada alimentada.

Palavras-chave: Acetogênese. Digestão anaeróbia. Glicerol. Tratamento biológico.



RECUPERAÇÃO DE BIOSSURFACTANTE BACTERIANO POR PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS

T. S. MACHADO^{1*}, A. DECESARO¹, A. REMPEL¹, A. C. CAPPELARO², L. M. COLLA³ e C. O. REINEHR⁴

¹ Discentes do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental (PPGEng) - Universidade de Passo Fundo, Campus I, BR 285, Bairro São José, CEP 99052-900, Passo Fundo/RS

² Discente do Curso de Engenharia Ambiental - Universidade de Passo Fundo

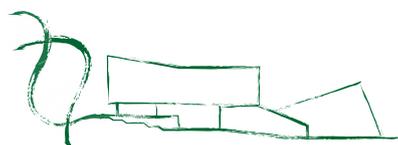
³ Docente do PPGEng - Universidade de Passo Fundo

⁴ Docente do Curso de Engenharia Ambiental - Universidade de Passo Fundo

*Apresentador: thais.strieder@hotmail.com

O soro de leite é um subproduto obtido principalmente através da produção de queijos, que contém alto potencial poluidor, acarretando em elevados custos de tratamento. No entanto, outras opções podem ser viáveis para o soro de leite, tornando-o um subproduto de valor na indústria. O soro de leite pode ser submetido ao processo de ultrafiltração, com a finalidade de produção do concentrado proteico, porém este processo ainda gera resíduos através da corrente do permeado, que consiste em um efluente rico em lactose e sais. Estes nutrientes podem ser utilizados em processos biotecnológicos, como na produção de biossurfactantes por micro-organismos, dada a necessidade de redução de custos da produção. Considerando que ocorrem dificuldades na recuperação dos biossurfactantes, quando utilizado técnicas convencionais, devido a processos ineficientes, de alto custo e prejudiciais ao ambiente, destaca-se o processo de separação por membranas por apresenta vantagens como economia de energia, simplicidade de operação e viabilidade de uso em escala industrial. Objetivou-se recuperar o biossurfactante produzido pela bactéria isolada de uma amostra de solo contaminado por hidrocarbonetos, através de processos de separação por membranas. Para tal, realizou-se a caracterização do permeado da ultrafiltração de soro de leite, o qual foi utilizado como meio de cultivo para a bactéria, suplementado com nutrientes, em fermentação submersa. Após, os extratos foram centrifugados e recuperados através de filtração tangencial com membrana de microfiltração com poro de 0,4 µm, sendo avaliada a tensão superficial e a atividade emulsificante (AE) óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O) das frações do retido e permeado obtidas pela microfiltração, e realizada a identificação do biossurfactante produzido pela bactéria por espectrometria de massa. As tensões superficiais obtidas para a bactéria, na fração do retido da microfiltração foi de 27,05 mN/m, e para a fração do permeado foi de 47,99 mN/m. Para a atividade emulsificante O/A e A/O em fases orgânicas de gasolina e diesel, destacou-se a fase orgânica de diesel, obtendo-se para a bactéria na fração do retido AE O/A 1,87 UE e para A/O 10,29 UE. O biossurfactante produzido pela bactéria foi identificado como moléculas de surfactinas. O processo de separação por membranas, utilizando membrana de microfiltração com poro de 0,4 µm, foi capaz de recuperar o biossurfactante do meio.

Palavras-chave: Permeado da ultrafiltração. Biossurfactantes. Membranas. Surfactina.



USO DE RAPD-PCR PARA AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE MICROBIANA NO SOLO

M. BARBIERI^{1*}, N. de ANDRADE¹, C. B. BEVILACQUA¹ e Z. I. ANTONIOLLI¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima, nº 1000, Cidade Universitária, Centro de Ciências Rurais, Prédio 42, CEP 97105-900, sala 3318a

* Apresentador: mirian.barbieri1993@hotmail.com.

O solo é uma matriz heterogênea que abriga grande diversidade microbiana. Esses microrganismos constituem a parte viva e mais ativa da matéria orgânica, atuando como indicadores capazes de refletir mudanças sutis nas propriedades físicas e químicas do solo. Fato este que impulsiona, cada vez mais, pesquisas envolvendo a identificação destes microrganismos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a diversidade genética por meio da técnica de RAPD-PCR em amostras de solo submetidas a diferentes rotações de cultura e manejo. Amostras de solo foram coletadas com auxílio de trado calador, na estação experimental FEPAGRO no município de Júlio de Castilhos-RS e enviadas ao Laboratório de Biologia do Solo e Microbiologia do Ambiente Professor Marcos Rubens Fries da Universidade Federal de Santa Maria. Alíquotas de 5 gramas de solo foram utilizadas para a extração do DNA genômico total, seguindo protocolo descrito por Gao et al. (2010), modificado. A qualidade do DNA isolado foi avaliada com o auxílio da técnica de eletroforese em gel de agarose 1% e a concentração da amostra foi aferida através do equipamento espectrofotômetro Picodrop®. Os resultados satisfatórios foram baseados no grau de pureza entre 1,8 a 2,2 sob comprimento de onda 260/280 nm e concentração de DNA equivalente a 40 ng/µl. Para as análises de RAPD foram selecionados 11 primers. As reações de amplificação foram realizadas em termociclador Techne TC-312. Cada reação de amplificação (10 µl) continha 10x Taq buffer, 25 mM DNTPs, 25 pmol primers RAPD, 2 mM MgCl₂, 1U/µl Taq DNA polimerase, 10 ng DNA e água ultrapura. O perfil térmico consistiu de uma desnaturação inicial a 94 °C durante 2 minutos, seguido por 45 ciclos de desnaturação a 94 °C durante 1 minuto, anelamento a 36 °C durante 1 minuto e alongamento a 72°C durante 1,5 minutos, com extensão final a 72 °C durante 5 minutos. Os produtos da amplificação serão visualizados em gel de agarose 1,8%. A partir dos resultados provenientes das amplificações, as amostras serão classificadas em presença e ausência de bandas polimórficas através do software PyElph (Pavel e Vasile, 2012), será determinada a formação de clusters por meio do software STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) e a variação genética será calculada pela distância genética e índice de Shannon com auxílio do software POPGENE (Yeh et al., 1997).

Palavras-chave: Biologia molecular. Biotecnologia. Microbiologia do solo. Polimorfismo.



USO DE BIOSSURFACTANTES BACTERIANOS NA BIORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS POR BIODIESEL

A. REMPEL^{1*}, A. DECESARO¹, T. S. MACHADO¹, Â. C. CAPPELLARO² e L. M. COLLA³

¹ Discentes do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental (PPGEng) - Universidade de Passo Fundo, BR 285, São José, Passo Fundo/RS

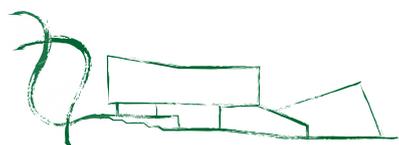
² Discente do Curso de Engenharia Ambiental - Universidade de Passo Fundo

³ Docente do Curso de Engenharia Ambiental - Universidade de Passo Fundo

* Apresentador: alan.rempel@hotmail.com

A industrialização e o desenvolvimento econômico do Brasil exigiram grande estruturação da cadeia energética, ocasionando um aumento do uso de derivados de petróleo e de biodiesel. Este aumento no consumo, tanto por combustíveis fósseis como de biocombustíveis, resulta na necessidade de maior logística de transporte, aumentando o número de acidentes e gerando altos números de áreas contaminadas e passivos ambientais. Desta forma é de suma importância o estudo de técnicas de biorremediação, bem como o aprimoramento de metodologias que, aliadas a estas técnicas, possam influenciar de forma positiva na degradação dos contaminantes. Objetivou-se neste trabalho avaliar o uso de biossurfactantes bacterianos em processos de biorremediação *ex situ* de solos contaminados por biodiesel, através da bioestimulação e atenuação natural. O solo foi contaminado com biodiesel, e bioestimulado com diferentes concentrações de biossurfactantes. Para a produção do biossurfactante, o meio de cultivo foi composto por soro de leite, sulfato de amônio na concentração de 1,0% (0,5 g em 50 mL de soro), com a adição de 0,5% de solução de micronutrientes. No estudo de biorremediação foram utilizados 300 g de solo seco em biorreatores, o qual foi contaminado com 20 % de biodiesel em relação à massa seca de solo. As concentrações de biossurfactantes variaram em 0,1%, 0,5% e 1,0% em relação a massa de contaminante inserido. Os ensaios tiveram duração de 45 dias, sendo que a cada 2 dias foram realizadas análises de evolução de CO₂ e a cada 15 dias análises de óleos e graxas. Além disso, foram realizados ensaios controle com solo estéril, para avaliar, a influência que o biossurfactante teria na dessorção do contaminante das partículas do solo. Os melhores resultados para a evolução de CO₂ ocorreram nos tratamentos com o acréscimo de biossurfactantes, sendo que a maior evolução ocorreu no ensaio realizado com 0,5% de biossurfactante, apresentando valor acumulado de 3.895,95 mg C-CO₂/kg de solo. A biodegradabilidade, o maior índice (49,55%) foi verificado no tratamento realizado com maior concentração de biossurfactante (1%). Já para os tratamentos com solo estéril as concentrações de biossurfactante não surtiram efeito, fato ocasionado devido a inserção de biossurfactantes em concentrações baixas.

Palavras-chave: Biorremediação. Biossurfactantes. Evolução de gás carbônico.



AVALIAÇÃO DA ECOLOGIA E DINÂMICA MICROBIANA NO TRATAMENTO DOS EFLUENTES LÍQUIDOS DO POLO PETROQUÍMICO DO SUL – SITEL/CORSAN

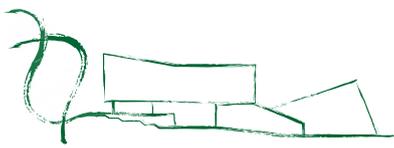
T. C. ANTUNES^{1*}, A. E. BALLARINI¹ e S. T. VAN DER SAND¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Rua Sarmento Leite 500, CEP 90050-170

* ptkbass@gmail.com

Os processos de tratamento biológico são a abordagem mais utilizada para o tratamento de águas residuárias municipais e industriais em estações de tratamento devido à sua alta eficiência para remoção de diversos tipos de matéria orgânica e baixo custo operacional. A maioria das bactérias presentes neste ambiente não pode ser isolada utilizando técnicas dependentes de meios de cultura tradicionais. Abordagens moleculares têm ajudado a revelar a presença de um grande número de organismos ainda não cultiváveis, permitindo um conhecimento maior sobre a diversidade de comunidades complexas presentes nesses ambientes. Este trabalho tem como objetivo avaliar a diversidade e a dinâmica ecológica bacteriana presentes no tratamento dos efluentes líquidos das atividades operacionais das indústrias do Polo Petroquímico do Sul tratados pela SITEL/CORSAN. A avaliação da diversidade está sendo determinada por meio de análises microbiológicas, abióticas e moleculares, ao longo de quatro coletas de acordo com as estações do ano entre 2015 e 2016. As análises microbiológicas objetivaram estimar o número de bactérias heterotróficas, desnitrificantes, redutoras de sulfato e redutoras de nitrato presentes no lodo ativado e nas lagoas de estabilização. Foi observado que as estações de outono e de inverno apresentaram maior contagem de bactérias heterotróficas para as amostras de lodo ativado e das lagoas de estabilização, respectivamente. Na estação do verão, foi observada redução no número de bactérias heterotróficas para todos os pontos de coleta. Não ocorreu mudança significativa na presença de microrganismos redutores de sulfato ao longo dos pontos de coleta. A quantificação de bactérias desnitrificantes e redutoras de nitrato apresentou decréscimo na última lagoa de estabilização em todas as estações do ano. Nas análises físico-químicas foi observado o decréscimo da quantificação de nitrogênio total, da demanda química de oxigênio e de fosfato entre os pontos de amostragem de todas as coletas realizadas, em contrapartida foi observado um aumento na quantificação de oxigênio dissolvido. Para dadas análises, observou-se variação na quantificação de microrganismos entre as estações do ano e eficiência do tratamento na remoção da matéria orgânica. O DNA genômico das amostras foi extraído com o uso do PowerSoil® DNA Isolation Kit e estão sendo amplificados com primers para as regiões V4 e V3 do DNA ribossomal para posterior análise através do Ion Torrent Personal Genoma Machine.

Palavras-chave: Microrganismo. Diversidade. Efluente industrial. Lagoa de estabilização. Lodo ativado.



MODIFICAÇÃO DA COMUNIDADE ACARINA (ACARI) ASSOCIADA A DIFERENTES ESTÁGIOS DE SUCESSÃO ECOLÓGICA EM MATA ATLÂNTICA

T. DA-COSTA^{1*}, M. S. ROCHA² e N. J. FERLA¹

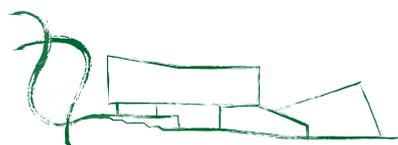
¹ Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário, Lajeado/RS – Brasil

² Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS, Avenida Unisinos, 970 – Bairro Cristo Rei São, Leopoldo/RS – Brasil.

* Apresentador: tairiscosta@gmail.com

A sucessão natural e a prática da atividade humana sobre ecossistemas florestais exercem um grande impacto sobre a vegetação, composição e padrões de diversidade. A sucessão é uma substituição na composição de espécies que ocorre em escala temporal. Sabendo a importância ecológica dos ácaros e que os mesmos são organismos sensíveis às mudanças ambientais, o objetivo deste estudo foi avaliar a mudança da comunidade da acarofauna em diferentes estágios de sucessão ecológica. O estudo foi conduzido em uma área de Mata Atlântica, no município de Forquethina, RS. As amostragens foram realizadas em três subáreas de diferentes níveis de sucessão ecológica, sendo a primeira (E1) caracterizada por ser uma área abandonada recentemente, composta por espécies herbáceas e arbustivas com altura média de 70 cm, a segunda área (E2) utilizadas para o cultivo agrícola e abandonadas há mais tempo, apresentando altura média de 1,5 e 3,0 metros e a terceira área (E3) encontra-se em estágio médio com a presença de espécies arbóreas pioneiras, cujos fustes têm diâmetro médio 20 cm e altura de 6-8 metros. As coletas ocorreram no segundo mês de cada estação climática, totalizando três coletas. Vinte espécies vegetais mais comuns foram coletadas em cada subárea. Análise de variância (ANOVA) foi utilizada para testar a variação da riqueza, diversidade de Shannon (H) e equitabilidade (E) entre as áreas. Para testar as diferenças estatísticas na composição da comunidade nas diferentes áreas foram realizadas análises de similaridade (ANOSIM). Análise de SIMPER foi aplicada para avaliar quais espécies mais contribuíram com a dissimilaridade entre as diferentes áreas. Um total de 2744 espécimes pertencentes a 101 espécies foram coletados. A diversidade e riqueza da fauna acarina foi maior em áreas com regeneração mais avançada (E3). Além disso, a composição da comunidade diferiu entre as áreas com diferentes estados de regeneração. Maior variação ocorreu entre áreas extremas (E1 e E3). *Euseius mesembrinus* (Dean), *Neoseiulus tunus* (De Leon), e *Amblyseius aequalis* (Muma) foram as espécies comumente associadas à área com nível de regeneração mais avançado, enquanto que *Typhlodromalus aripo* De Leon esteve mais associada às áreas E1 e E2, indicando preferência por habitats em estágios iniciais de regeneração. Nesse sentido, estas espécies podem ser potenciais indicadores de sucessão nas áreas de mata atlântica do RS.

Palavras-chave: Regeneração. Vegetação. *Phytoseiidae*.



PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Aspergillus* sp. PELA UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO DE PÓ DE FUMO PROVENIENTE DE INDÚSTRIA DE PROCESSAMENTO DE TABACO

J. C. G. ROTH* e V. A. CORBELLINI

¹ Universidade de Santa Cruz do Sul, Independência n.2293, Santa Cruz do Sul

* Apresentador: joyce_goncalvez@hotmail.com

A produção de tabaco é uma das atividades agroindustriais de maior importância econômica e social na região Sul do Brasil. Durante o processamento do tabaco são empregados grandes volumes de água levando a geração de um efluente de coloração marrom escura pela extração dos constituintes do talo. Assim, otimizar a produção de biomassa de cepas de *Aspergillus* sp. para estudos de adsorção pode indicar um possível emprego de microrganismos na biossorção de constituintes do tabaco presentes nos efluentes. Para isso, esporos de amostras de *Aspergillus* sp. foram suspensos em solução 0,02% de ágar bacteriológico. Dessa solução, 0,5 mL foi aplicada em placa de Petri contendo 5 mL de ágar Sabouraud preparado com extrato pó-de-fumo (65 g/L de caldo). As placas foram incubadas a 30 °C por 48 h até iniciar a cobertura da superfície do ágar. A produção de biomassa se deu por fermentação em superfície líquida e fermentação submersa em 24 erlenmeyers de 50 mL contendo 15 mL de caldo extrato pó de fumo, e inoculados com 1 mL de uma suspensão padronizada de esporos (1×10^5 UFC/mL) incubadas a 30 °C por 8 dias em estufa estática e com agitação. Amostras foram coletadas em triplicata a cada 48 h, sendo o conteúdo de cada frasco filtrado. Maiores produtividades de biomassa foram atribuídas ao crescimento sob agitação. Pela observação dos espectros de infravermelho para o caldo verificou-se uma tendência de diminuição da intensidade da absorção das amostras após 192 horas de contato, indicando um consumo pelos fungos dos componentes residuais da molécula de clorofila. Para confirmação destas modificações químicas no caldo bem como na biomassa, procedeu-se com a análise multivariada dos dados por meio de PCA e HCA, que permitiram verificar similaridades entre os conjuntos de dados associados ao caldo de pó de fumo (durante 192 horas) como meio nutritivo para o desenvolvimento das amostras de *Aspergillus* sp. Conclui-se que as espécies de *Aspergillus* estudadas apresentam comportamentos diferenciais frente ao meio extrato de fumo, sendo as amostras *A. niger* as mais adaptadas às condições nutricionais fornecidas pelo pó de fumo. O ensaio de produção de biomassa demonstrou qualitativamente a redução da cor para o meio líquido formado pelo caldo, estimulando o seu emprego na remoção de pigmentos presentes em efluentes da indústria fumageira. Espera-se ainda estudar a viabilidade de emprego do resíduo pó de fumo como fonte alternativa para a produção de bioprodutos de alto valor agregado.

Palavras-chave: Efluentes. Indústria fumageira. Pó de fumo. *Aspergillus*. Biossorção.



SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS PRODUTORES DE ENZIMAS LIPOLÍTICAS DE SISTEMAS DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE EFLUENTES DE HOTEL NA SERRA GAÚCHA

G. FURINI^{1*}, J. S. BERGER¹, D. B. ANDREIS¹, S. T. VAN DER SAND¹ e J. C. GERMANI²

¹ UFRGS, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Departamento de Microbiologia. Rua Sarmento Leite, 500 - 90050-170 - Porto Alegre, RS - Brasil.

² UFRGS, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produção de Matéria Prima. Av. Ipiranga, 2752 - 90610-000 - Porto Alegre, RS - Brasil.

* Apresentador: gracifni@yahoo.com.br

A presença de óleos e graxas em grandes quantidades nos efluentes provoca diversos danos nas tubulações e na rede coletora, além de dificultar o tratamento da água. Lipases são enzimas que catalisam a hidrólise de triacilgliceróis produzindo ácidos graxos e glicerol. Essas enzimas microbianas podem ser produzidas por bactérias, fungos filamentosos e leveduras. Possuem aplicação em diversas áreas, destacando-se na área ambiental auxiliando o tratamento de efluentes com elevados teores de óleos e gorduras. O objetivo do trabalho foi isolar microrganismos dos sistemas de tratamento de efluentes de um hotel no Município de Bento Gonçalves – RS e selecionar os potenciais produtores de enzimas lipolíticas visando sua utilização no tratamento de águas residuais com alto teor de lipídios. Para a realização dos ensaios de avaliação da produção das enzimas lipolíticas foram utilizados 20 isolados bacterianos oriundos do efluente bruto e tratado de um sistema Wetland, pertencentes à coleção do laboratório, e 45 isolados oriundos de coletas de amostras do efluente bruto e tratado da caixa de gordura. A produção de lipase foi testada em placa com meio mínimo contendo 0,5% de peptona, 0,1% de extrato de levedura, 0,4% NaCl, 1,5% de ágar, acrescidos de 2,5% de óleo de oliva e 0,1% de rodamina B. Após incubação à 25 °C por 24 h – 48 h, as placas observadas sob luz UV 350 nm, sendo que sete isolados da Wetland e 22 isolados da caixa de gordura foram positivos para lipase, pois apresentaram halos fluorescentes alaranjado. Após os isolados foram submetidos à coloração de Gram e testes bioquímicos, conforme literatura apropriada. As bactérias lipolíticas identificadas foram do gênero *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* e *Burkholderia*. Novamente as bactérias foram testadas em meio mínimo usando rodamina B e óleo de oliva, porém sem a presença de extrato de levedura para induzir a utilização do óleo e a produção da enzima numa condição mais estressante em termos de nutrientes e assim selecionar as melhores produtoras de enzimas. Desses, 12 isolados apresentaram atividade lipolítica e as 3 bactérias que apresentaram halo mais evidente e maior foram selecionadas para ensaios posteriores com crescimento em cultura submersa para quantificação da produção de lipase.

Palavras-chave: Enzimas lipolíticas. Bactéria. Tratamento de efluente.



ANÁLISE DE Cd EM SOLO E HÚMUS CONTAMINADOS APÓS PROCESSO DE VERMICOMPOSTAGEM

D. T. BRIETZKE^{1*}, L. HOEHNE¹, T. ALTMAYER¹, M. C. MARTINI¹, J. FINATTO¹ e S. STÜLP¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário – Lajeado/RS

* Apresentador: dbrietzke@universo.univates.br

O crescente processo de industrialização expõe pessoas, animais e vegetais à muitas espécies químicas potencialmente tóxicas. O cádmio, principalmente, tem sido relatado como o metal pesado mais perigoso encontrado em alimentos e no ambiente, pois pode causar danos irreversíveis à saúde humana. A vermicompostagem é um tratamento biotecnológico que pode diminuir a disponibilidade desse metal, uma vez que as minhocas têm a capacidade de bioacumular metais pesados a partir do solo, complexando-os com outros elementos e amenizando a sua toxicidade. O processo bioquímico de degradação dos materiais orgânicos através da ação conjunta das minhocas e da microflora que vive em seu trato digestivo transforma a matéria orgânica em húmus de minhoca. Com isso, o objetivo desse trabalho foi verificar a concentração de Cd em misturas de solo e esterco e de húmus e esterco após o processo de vermicompostagem. Para isso, realizou-se no laboratório de Biotecnologia de Alimentos do Tecnovates, pertencente ao Centro Universitário UNIVATES, a vermicompostagem em caixas plásticas. O experimento foi realizado usando diferentes matérias-primas: um dos testes foi adicionado 500 g de solo e 500 g de esterco, em no outro teste, colocou-se 500 g de húmus e 500 g de esterco. Em ambos os testes, foi adicionado 10 mg/kg de Cd. Após trinta dias, incubou-se dez minhocas de peso semelhante, da espécie *Eisenia andrei*. Para o experimento chamado de controle procedeu-se da mesma maneira, porém não foi adicionado o Cd. Para as análises da concentração de Cd, após 70 dias de processo de vermicompostagem, as amostras foram secas em estufa à 60 °C, moídas em gral e pistilo e posteriormente digeridas pelo método USEPA 3050B. Os resultados encontrados no início dos experimentos foram de 7,7 mg/kg ± 0,5 de Cd, para a mistura de solo e húmus e de 8,5 mg/kg ± 1,2 de Cd para o solo e esterco. Já no 70º dia os resultados obtidos foram de 6,0 mg/kg ± 0,6 de Cd na mistura solo e húmus e de 5,2 mg/kg ± 0,4 de Cd na mistura solo e esterco. Concluiu-se que durante os 70 dias de experimento, as quantidades de cádmio nos dois experimentos reduziram, porém a redução foi mais acentuada no experimento de solo e esterco. Provavelmente, o Cd foi absorvido pelas minhocas, uma vez que este metal poderia estar mais biodisponível, em relação ao Cd que pode ter sido complexado no experimento da mistura de solo e húmus. Testes posteriores ainda serão feitos para analisar o teor deste metal nas minhocas.

Palavras-chave: Vermicultura. Metal pesado. Biodisponibilidade.



ANÁLISE DE NUTRIENTES EM CHORUME PROVENIENTES DE VERMICOMPOSTAGEM VERTICAL

F. J. M. KUFFEL¹, D. T. BRIETZKE¹, D. KUHN¹, C. R. BRANDT¹, H. P. ETGETON¹, E. M. de FREITAS¹ e L. HOEHNE¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, Lajeado/RS

* Apresentador: fernando.kuffel@univates.br

Vermicompostagem é uma técnica biotecnológica para a degradação de matéria orgânica utilizando minhocas e microrganismos anaeróbicos. Atualmente, o uso principal para o método é tratamento de efluentes sólidos orgânicos, como lodo de esgotos. Embora o processo traga diversas vantagens, deve-se levar em conta diversos fatores para uma otimização do processo, o que exige muito estudo sobre a área, fatores como a espécie de minhoca mais adequada, maior produção de biomassa, menor tempo de processo, maior taxa de reprodução, entre outras. A partir desse procedimento, a maioria dos compostos orgânicos são decompostos em vermicompostos estáveis, que são ricos em nitrogênio, fósforo, potássio e substâncias húmicas, possibilitando sua reutilização como fertilizantes agrícolas. Ademais, o líquido lixiviado (chorume) dos minhocários pode ainda possuir compostos que também podem ser utilizados como biofertilizantes. Frente a isso, o trabalho apresentado tem como objetivo avaliar a composição do chorume de minhocários verticais quanto à presença de potássio, nitrogênio e fósforo. Quanto à metodologia, os minhocários existentes no laboratório de Biotecnologia, no Tecnovates, Univates, feitos de caixas plásticas de dimensões 54x37x26 cm, receberam resíduos fixos de cascas de frutas, folhas secas, erva mate e borra de café e foram inseridas minhocas da espécie *Perionyx excavatus* e *Eisenia andrei*. Após 60 dias de processo, o chorume coletado foi armazenado em frascos adequados e foi submetido para análises de K, N e P. Para a análise de potássio, as amostras foram filtradas, diluídas e inseridas em um fotômetro de chama. Para a determinação de nitrogênio utilizou-se do método por *quimioluminescência*. Para a determinação de fósforo utilizou-se a metodologia que envolve a adição Molibdato de Amônio 5%, Metavanadato de Amônio 0,25% e Ácido Sulfúrico 10 N e posterior leitura por espectrômetro de absorção molecular Ultravioleta Visível. Como resultados, o teor de nitrogênio pelo método por *quimioluminescência*, no qual não foi necessária manipulação da amostra, obteve-se 753 mg/L do elemento analisado na amostra. Para os valores de potássio, obteve-se 480,5 mg/L, e por último, foi obtido 19,22 mg/L de fósforo. De acordo com os resultados, pode-se verificar que o chorume possui teores compatíveis com outros fertilizantes adquiridos no comércio, sendo um bioproduto promissor a ser estudado. Testes e hidroponia serão usados em cultivo de alfaces usando diluições do chorume.

Palavras-chave: Líquido lixiviado. Vermicultura. Nitrogênio. Fósforo. Potássio.



BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL: POTENCIALIDADES DO EMPREGO DE PLANTAS PARA DEGRADAÇÃO E IMOBILIZAÇÃO DE POLUENTES

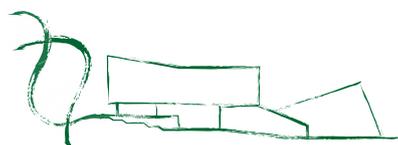
P. I. SCHWANTZ* e J. C. G. ROTH

UERGS, Av. Independência, 2824 - Bairro Renascença, Santa Cruz do Sul/RS

* Apresentador: e-mail patyschwantz1991@hotmail.com

Nos últimos anos torna-se notável a crescente demanda por soluções ambientalmente corretas frente aos danos associados às atividades humanas. A produção de efluentes industriais e domésticos abrangem diversos aspectos relacionados à sua origem. Porém, o reconhecimento e comprometimento com o meio ambiente e reflexões sobre a destinação desses resíduos ainda preocupam e necessitam de alternativas visando a evitar o aumento de impactos ambientais. Desta forma, a biotecnologia ambiental, por meio da fitorremediação, apresenta-se como alternativa viável e econômica por utilizar plantas no controle de resíduos gerados com a própria comunidade microbiana associada para degradar, sequestrar ou imobilizar os poluentes. A técnica de fitorremediação destaca-se pela capacidade de agir na remediação por seus mecanismos biológicos de fitoextração (acumulação de metais ou contaminantes orgânicos nas folhas, caules e raízes), fitoestabilização (imobilização dos contaminantes nas raízes ou no solo), fitodegradação (degradação dos contaminantes orgânicos por ação enzimática), fitovolatilização (volatilização dos contaminantes através das folhas, transformando-os em formas menos tóxicas), fitoestimulação (estimulação dos microrganismos degradadores de contaminantes orgânicos) e fitofiltração (utilização das plantas para remover contaminantes da água). Uma das principais vantagens desta técnica é o grande potencial e viabilidade econômica para tratamento *in situ*. Este trabalho de revisão objetivou analisar e comparar diferentes formas de aplicação da fitorremediação com base em variadas pesquisas já publicadas e disponíveis nos principais bancos de dados, tais como Science Direct, LILACS e Scielo. Foram analisados diversos trabalhos científicos levando em conta a análise de espécies utilizadas na aplicação da técnica e o objetivo de cada prática de remediação. A partir das análises, percebe-se que a fitorremediação é uma técnica ainda pouco usada, mas já existem pesquisas com análises de plantas locais que se adaptaram e com grande potencial na remoção de poluentes. Dentre as principais espécies usadas, a *Helianthus annuus*, *Brassica juncea*, *Populus sp.* e *Myriophyllum spicatum* apresentam grande potencial na remediação por degradação de poluentes orgânicos e outros contaminantes. Sendo assim, entende-se que é necessário e vantajoso o embasamento da técnica e aplicação desta para remoção e solução de impactos ambientais em solos, ar, sedimentos e recursos hídricos.

Palavras-chave: Fitorremediação. Meio ambiente. Remediação. Poluentes.



ESTUDO PRELIMINAR DA DEGRADAÇÃO DE POLI (3-HIDROXIBUTIRATO) EM SOLO, POR BACTÉRIAS ACUMULADORAS DE P (3HB) *RALSTONIA SOLANACEARUM* E *BACILLUS MEGATERIUM*

M. M. TORRES^{1*}, B. M. MATOS¹, M. I. ALVES², K. L. MACAGNAN³, L. FURLAN⁴, C. T. VENDRUSCOLO⁴, L. B. DODE¹, A. S. MOREIRA⁴ e P. D. OLIVEIRA¹

¹Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Biotecnologia, Campus Universitário, S/N, CEP 96900-010 Caixa Postal 354, Pelotas, RS, Brasil.

²Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus Universitário, S/N, CEP 96900-010 Caixa Postal 354, Pelotas, RS, Brasil.

³Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Campus Universitário, S/N, CEP 96900-010 Caixa Postal 354, Pelotas, RS, Brasil.

⁴Universidade Federal de Pelotas, Centro de Ciências químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Campus Universitário, S/N, CEP 96900-010 Caixa Postal 354, Pelotas, RS, Brasil

*Apresentador: e-mail matheus_mmt@hotmail.com

Atualmente, a utilização de plásticos é muito recorrente e sua matéria-prima provém de fontes não renováveis. Tendo baixo nível de degradabilidade, os compostos produzidos demandam muito tempo para que sejam totalmente degradados, acumulando-se em aterros sanitários e poluindo corpos d'água. Como possível substituinte, o Poli (3-hidroxitirato) [P(3HB)] é um biopolímero com características de termoplaticidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Sendo de origem bacteriana, sua degradação ocorre em menor tempo não se acumulando em aterros sanitários e não contaminando o meio ambiente. O objetivo do trabalho foi avaliar a taxa de degradação de P (3HB) comercial em solo natural e inoculado com as bactérias acumuladoras P (3HB) *Ralstonia solanacearum* e *Bacillus megaterium*. O P (3HB) utilizado foi o Biocycle® (PHB Industrial SA) e foram produzidas amostras solubilizando-se 1 g em 40 mL de clorofórmio por 30 min a 58 °C, para posterior secagem e formação do filme. O solo foi obtido no comércio local e acrescido de 200 mL de inóculo de *R. solanacearum* e *B. megaterium* separadamente e preparado um vaso controle. Para obtenção dos inóculos, foram realizados repiques multiplicativos em meio AYN a 32 °C por 24 h; após, as células foram transferidas para frascos com 200 mL de meio YM e incubados a 32 °C e 150 rpm, por 24 h. Os filmes obtidos foram cortados, enterrados e analisados até 150 dias retirando-se amostras a cada 30 dias, em triplicata. Aos 30 dias houve maior perda de massa no vaso inoculado com *R. solanacearum* entretanto, aos 90 dias, a maior perda foi nas amostras retiradas do vaso com solo natural. Este resultado pode ter ocorrido devido à esterilização do solo, processo que extingue a microbiota original. Comparando os solos inoculados, nos demais tempos de retirada de amostra (60 a 150), a perda de massa não diferiu. Ao final do período de análise ocorreu uma perda de massa em torno de 90%. Pode-se concluir que há perda de massa do biopolímero em solo natural e inoculado com as bactérias *R. solanacearum* e *B. megaterium*, sendo um biopolímero biodegradável. As linhagens de *R. solanacearum* e *B. megaterium* apresentaram características degradativas, porém a perda de massa do biopolímero foi maior quando em contato com o solo natural. Amostras colocadas no solo natural não foram encontradas motivando a realização de novo experimento utilizando sementeiras para a individualização das amostras.

Palavras-chave: Biopolímeros. Bioplástico. Biodegradável. Poli (3-hidroxitirato). Solo.



UTILIZAÇÃO DE *DAPHNIA MAGNA* (STRAUS, 1820) COMO ORGANISMO-TESTE DO ENSAIO COMETA PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DE SISTEMAS LÓTICOS

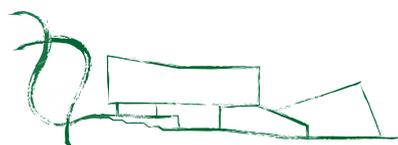
D. C. de MOURA*, B. R. TOILLIER, A. RIEGER e E. A. LOBO

Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, Av. Independência, 2293

*daianemoura@mx2.unisc.br

A utilização de métodos de análises que detectam impactos ambientais em recursos hídricos é fundamental, contudo procedimentos tradicionais não conseguem detectar alguns tipos de danos em nível molecular, tais como lesões de DNA causadas por agroquímicos. Neste sentido, o Ensaio Cometa (EC) com o organismo teste *Daphnia magna* (Straus, 1820) pode representar uma importante ferramenta complementar aos testes comumente empregados para a determinação da qualidade da água. *D. magna* é um microcrustáceo de fácil cultivo, consumidor primário e que gera descendentes por partenogênese e utilizado em testes ecotoxicológicos validados pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), mas ainda pouco explorado na genética toxicológica. Teve como objetivo utilizar a *D. magna* como organismo teste no EC para avaliação genotoxicológica da água das nascentes do Arroio Andreas, RS. Para tanto foram coletadas 20 amostras de água das nascentes no mês de setembro de 2014. Para o EC, neonatos de *D. magna* (Straus, 1820) foram cultivados e submetidos ao teste de exposição aguda conforme Norma Brasileira (NBR) 12713. Após, os neonatos foram transferidos para uma solução de suspensão celular e então macerados e centrifugados. O material foi exposto em lâminas pré-cobertas e acrescido de agarose. As lâminas foram incubadas em solução de lise e submetidas a eletroforese alcalina (pH>12) por 20 minutos e após, neutralizadas, fixadas e coradas com nitrato de prata. A análise foi feita pela frequência de dano e índice de dano, sendo que os nucleoides foram classificados em 5 tipos, de 0 (ausência de dano) a 4 (maior dano). Encontrou-se genotoxicidade significativamente aumentada em 55% (11 de 20) das amostras. Dentre estas 11 amostras, 54,5% (6) foram enquadradas como classe 2 de uso do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, resolução 357/2005), consideradas águas de boa qualidade, 27,3% (3) na classe 3, águas de qualidade regular, e 18,2% (2) na classe 4, águas de pior qualidade. Verifica-se que a genotoxicidade nem sempre está relacionada com as classes de uso do CONAMA consideradas de boa qualidade (1 e 2), revelando a necessidade da complementação destes testes atualmente empregados para avaliar a qualidade da água, e destacando *D. magna* como um excelente bioindicador para o ensaio cometa.

Palavras-chave: *Daphnia magna*. Ensaio cometa. Genotoxicidade. Qualidade da água.



SCREENING AND ASSESSMENT OF BACTERIA ISOLATES FOR TOLERANCE TO XYLENES

M. J. S. MARTIARENA^{1*} and S. VAN DER SAND¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) – Av. Sarmiento Leite 500, CEP 90050-170, Porto Alegre.

*Apresentador: mafeansu@hotmail.com

Xylenes are volatile compounds that are present in the environment because of emissions from industrial activity e. g. petroleum refineries, chemical plants, automotive industry and in other industries that use them as solvents. Sometimes, during the transportation and storage of this compound, spills can be produced; as a result, xylenes reach natural resources like water and soil, producing pollution of environment. Nonetheless, these environments harbor a variety of microorganism that can survive and use this compound as a carbon supply. The aim of the present work was to isolate bacteria with tolerance to xylenes from wastewater system of petrochemical industry. With the objective to achieve this purpose, 20mL of wastewater from the Sistema Integrado de Tratamento de Efluentes Líquidos (SITEL) - Triunfo, Rio Grande do Sul- was incubated in 180 mL of minimal mineral medium (MM) and enriched with a mixture of xylenes (m, p, o-xylene) for 30 days at 25°C and under agitation of 120 rpm. From this sample, six morphotypes of bacteria (N°1 to N°6) were isolated in Brain Heart Infusion and after conserved in Tryptic Soy Broth with glycerol 30% at -20°C. The six isolates were tested for tolerance to xylenes in 50mL of MM broth with xylene as unique carbon source, in concentrations of 4, 8 and 16 mL/L for seven days at 25°C and agitation of 120 rpm. All bacteria are Gram-positive baciles, and all of them are tolerant to concentration of 4mL/L of xylenes; however, two are tolerant to concentrations of 8 and 16mL/L. After seven days of incubation the cell growth in the three concentrations of xylenes (4, 8, 16 mL/L) was assessed; the number of colonies obtained for isolate N° 2 was, 4.5×10^7 , 2.1×10^7 and 8×10^6 UFC/mL respectively and in MM without xylenes was 2.82×10^8 . For isolate N°5 cell concentration was 1.03×10^8 , 7.9×10^7 and 2.1×10^7 UFC/mL respectively and in MM was 4.96×10^8 . The results show that the isolate N° 5 is the most tolerant bacteria at high concentrations of xylenes.

Keywords: Microorganism. Xylene. Bacteria. Tolerance.



CONVERSÃO DE HIDROLISADO DE CASCA DE ARROZ E MEIO SINTÉTICO SIMULADO À XILITOL POR LEVEDURAS FERMENTADORAS

L. R. HICKERT^{1*}, D. M. ROSSI¹ e M. A. Z. AYUB¹

1 UFRGS, Rua Engenheiro Luiz Englert, s/nº - Porto Alegre

*Apresentador: lilian.hickert@gmail.com

Os resíduos lignocelulósicos agroindustriais, como a casca de arroz, são fontes abundantes e de baixo custo na produção biotecnológica de compostos de alto valor agregado como etanol e xilitol, por figurarem como fontes de celulose e hemicelulose. No presente trabalho, será estudada a conversão dos açúcares provenientes deste resíduo e em meio sintético simulando a composição deste, pelas leveduras *Candida guilliermondii* e *Debaromyces hansenii*, em microaerofilia e anaerobiose, em agitador orbital. Os inóculos destas culturas foram preparados em meio sintético em Erlenmeyer de 500 ml com 150 ml de meio. Os cultivos foram realizados em agitador orbital a 180 rpm, 30 °C durante 24 h e inoculadas frações de 10 % (v/v) com densidade óptica=1 a 600 nm. O meio simulando o hidrolisado foi composto por (g L⁻¹): glicose, 15; xilose, 30; arabinose, 5. O hidrolisado de casca de arroz (HCA) foi obtido por hidrólise de casca de arroz com ácido diluído (1%) em autoclave 121°C, 60 min, proporção líquido-sólido de 1:10. A fração líquida foi recuperada por filtração e o pH foi ajustado a 5 com NaOH sólido e, em seguida, foi vácuo-concentrado, a fim de aumentar o seu teor de açúcar em concentrações de: (em gL⁻¹): glicose, 12; xilose, 27; arabinose, 5. Este hidrolisado era também composto por produtos tóxicos às células, além de alta pressão osmótica (1539 mOsmkg⁻¹), como HMF, furfural e ácido acético com concentrações de: (em gL⁻¹) 0,07 e 0,01 e 1,6, respectivamente. Nenhuma destoxificação foi realizada no HCA. Quanto aos resultados, culturas de *C.guilliermondii* apresentaram rendimentos de etanol ($Y_{p/s}$) de 0,47 e 0,42 gg⁻¹ em meio sintético em anaerobiose e microaerofilia. A produção de xilitol com esta levedura ocorreu em condições de microaerofilia ($Y_{x/x} = 0,47$ gg⁻¹). Nestas mesmas condições, *D. hansenii* obteve um $Y_{p/s}$ de 0,46 e 0,39 gg⁻¹, respectivamente. Novamente, apenas em microaerofilia houve produção de xilitol, com $Y_{x/x}$ de 0,44 g g⁻¹. Em cultivos com HCA, em anaerobiose e em microaerofilia, *C.guilliermondii* e *D. hansenii* produziram ($Y_{p/s}$) de 0,46 e 0,41 gg⁻¹; 0,42 e 0,45 gg⁻¹, respectivamente. Quanto ao xilitol, $Y_{x/x}$ de 0,42 e 0,39 gg⁻¹ foram observados. Com isso, pode-se concluir que as leveduras *C.guilliermondii* e *D. hansenii* mostraram-se eficientes fermentadoras de açúcares tanto do meio sintético quanto do hidrolisado de casca de arroz, não comprometendo seus metabolismos quando em contato com compostos tóxicos.

Palavras-chave: Hidrolisado. Meio sintético. Leveduras. Etanol. Xilitol.



TRATAMENTO BIOLÓGICO COM LODO ATIVADO EM BATELADA (RBS) PARA EFLUENTE DE MICROCERVEJARIA

D. C. POSSAMAI¹, D. LUZZI¹ e M. HEMKEMEIER¹

¹Universidade de Passo Fundo, BR 285, São José – 99052900 - Passo Fundo - RS

*(Apresentador): diegopossamai_07@hotmail.com

O desenvolvimento industrial do mercado alimentício tem acarretado num aumento de instalação e fabricação de produtos nesse ramo, gerando maior quantidade de efluente a ser disposto em recursos hídricos; na fabricação da cerveja o efluente gerado é de alta carga orgânica, faz-se necessária assim a busca por alternativas para o tratamento do mesmo, buscando atender aos padrões da legislação vigente e a preservação do meio ambiente. Nesse contexto, o objetivo central da pesquisa é fornecer uma diminuição significativa de material orgânico, através do tratamento com lodo ativado num reator com aeração contínua. O experimento está sendo realizado com um tratamento, realizado em um reator de PVC, com capacidade de 15,30 litros, sendo o efluente trocado semanalmente. A cada início de batelada, antes do enchimento do reator, é feito o ajuste de pH, após ocorre o desligamento da aeração, deixando o reator em repouso para sedimentação do lodo e retirada do sobrenadante. Em seguida, é iniciado o enchimento com efluente para ser tratado e ligado novamente à aeração para que ocorra o processo de tratamento em um novo ciclo. O efluente tem sido retirado de tanques sépticos de uma microcervejaria da região e o lodo utilizado para o tratamento biológico do efluente é coletado em uma empresa de processamento de malte para fabricação de cerveja. As técnicas utilizadas seguem a metodologia do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2005): Coleta do Lodo/ Coleta do efluente – Adaptação do lodo – Início da operação dos reatores / Variação de parâmetros – Coleta da amostra no início e no fim do ciclo – Obtenção de resultados – Análise para verificação da eficiência. O efluente que entra com DQO, em média, de 7000 mg O₂/L, e que varia conforme produção da empresa, sofre a aeração contínua no processo, acima destacado. Após todo ciclo concluído, por meio de análise laboratorial, chegou-se a números como 250 mg O₂/L, o que representa uma degradação acentuada de meios poluidores, estando dentro dos parâmetros e normas da legislação vigente. Em vezes, que o efluente chega ao reator com carga mais concentrada, pode-se usar processos físico-químicos para elevar ainda mais sua eficiência, como tanques de filtração com areia. O objeto tratado do efluente ainda possui altas porções de nutrientes como fósforo, o que, se utilizado em reatores de alta produção, pode gerar coprodutos para agricultura.

Palavras-chave: Efluente. Lodo. Reator. Cervejaria. Ambiental.



PREFERÊNCIAS ALIMENTARES PARA DIFERENTES ESTÁDIOS DE PRESA E TAXA DE PREDACÃO DE *NEOSEIULUS IDAEUS* EM CONDIÇÕES CONTROLADAS

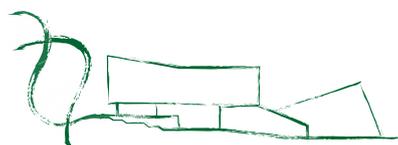
K. RUFFATTO¹, M. B. REICHERT¹ e N. J. FERLA¹

¹Laboratório de Acarologia, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, Brasil.

Kettlin Ruffatto: kruffatto@univates.br

Ácaros fitófagos causam danos à cultura da soja, dentre eles se destacam *Mononychellus planki* (McGregor), *Tetranychus ludeni* (Zacher) e *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae). *Neoseiulus idaeus* (Denmark & Muma) é um dos principais predadores encontrados na soja na região Noroeste do estado do Rio Grande do Sul. Os estudos da capacidade de predação são importantes para tomada de decisão no momento da liberação para controlar pragas no campo, tal conhecimento é essencial para o desenvolvimento de um sistema de produção em massa de baixo custo e a implementação de um programa de controle biológico com base em lançamento inundativo. Considerando que a qualidade nutricional, desempenha um papel importante na expressão de parâmetros biológicos de *N. idaeus* e que muito pouco se sabe sobre o desempenho deste predador, este estudo teve como objetivo determinar a preferência alimentar por idade da presa e a taxa de predação de *N. idaeus* quando alimentado com *T. urticae* em condições controladas. Para os testes de preferência alimentar por idade da presa foram utilizadas arenas com discos de algodão, umedecidos com água destilada, cada uma destas com discos de folha de feijão, com a superfície abaxial voltada para cima e sobre estas foram transferidos ovos, larvas, ninfas e adultos da presa. Durante os estádios imaturos de *N. idaeus*, foram realizadas observações de 3 em 3 horas: 7, 10, 13, 16 e 19 horas. Na fase adulta foram verificadas de 12 em 12 horas, para monitorar a sobrevivência do predador, para repor ovos e presas garantindo a disponibilidade de alimento ao longo de todo o período. Foram realizadas duas séries, cada uma com 15 repetições. Os estádios de *N. idaeus* observados foram de larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. Para o predador na fase de larva obtivemos 0,36±0,09 para ovos, não se alimentando das demais fases da presa. Na fase de protoninfa obtivemos 4,00±0,33 para ovos, 0,72±0,14 para larvas, 1,06±0,25 para ninfas, não se alimentando de adultos. Na fase de deutoninfa obtivemos 4,91±0,28 para ovos, 1,38±0,17 para larvas, 1,34±0,14 para ninfas, não se alimentando de adultos. Na fase adulta obtivemos 16,09±1,64 para ovos, 3,95±0,46 para larvas, 7,47±0,75 para ninfas e 1,77±0,7 para adultos. Os resultados demonstraram que as populações de *N. idaeus* preferem se alimentar de ovos de *T. urticae* em todas as fases e com uma alta taxa de predação, principalmente na fase adulta, mostrando sua eficiência quando usado no controle biológico.

Palavras-chave: Predador. Fitófagos. Soja.



USO DA TÉCNICA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA NO ESTUDO MORFOLÓGICO DA DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA DE RESÍDUOS CELULÓSICOS DA AGROINDÚSTRIA: BAGAÇOS DA CANA DE AÇÚCAR E DA LARANJA

L. L. da SILVA^{1,2,*}, L. TASIC² e C. A. de REZENDE²

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (COEBB), Estrada para Boa Esperança, Km 04, Comunidade São Cristóvão, 85660-000, Dois Vizinhos, PR.

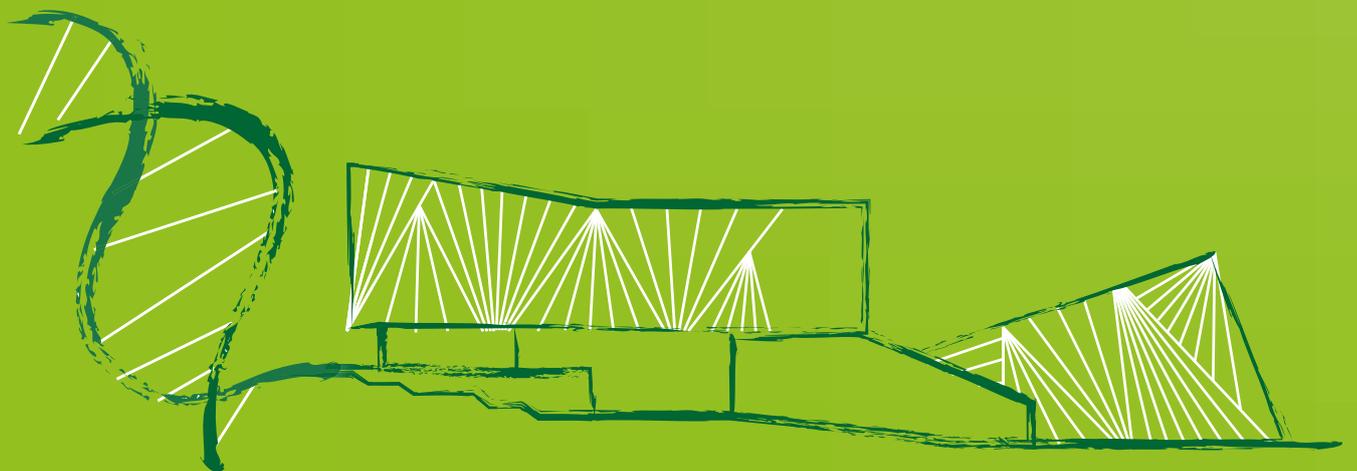
² Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Rua Monteiro Lobato, s/n, Cidade Universitária Zeferino Vaz, bairro Barão Geraldo, Caixa Postal 6154, CEP 13083-970, Campinas, SP.

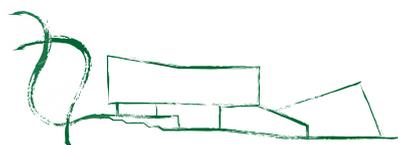
*Apresentador: e-mail (lucimarasilva@utfpr.edu.br)

O maior entrave para viabilizar comercialmente o processo de produção do etanol de segunda geração (2G) é o elevado custo das enzimas utilizadas na etapa de hidrólise enzimática, que chega a 50% do processo global de conversão da biomassa. Apesar do atual entendimento das estruturas moleculares, função catalítica e sinergismo destes catalisadores, não há compreensão total dos papéis distintos das enzimas individuais na hidrólise da celulose e tampouco sobre o efeito global e individual destas enzimas na morfologia do substrato durante e após a hidrólise. Tal compreensão só é possível a partir de um estudo integrado, que avalie variações na composição, juntamente com estudos morfológicos capazes de elucidar visualmente os pormenores da atuação de cada enzima durante a clivagem da cadeia celulósica. No entanto, há poucos estudos existentes sobre as mudanças morfológicas destes resíduos em diferentes estágios de degradação enzimática, ou sobre a ação individual de diferentes enzimas hidrolíticas. Assim, realizou-se neste trabalho a hidrólise enzimática desses resíduos agrícolas com diferentes enzimas e combinações, a fim de compreender a atuação e a sinergia desses biocatalisadores quando atuam na parede celular vegetal. A estratégia adotada foi a de avaliar a eficiência enzimática nos diferentes substratos, juntamente com as mudanças morfológicas associadas ao processo. Os açúcares liberados no meio reacional foram quantificados por cromatografia líquida de alto desempenho e as variações morfológicas foram observadas por microscopia eletrônica de varredura. Também foram feitas análises de difratometria de raios-X e espectroscopia de infravermelho a fim de compreender as mudanças físico-químicas decorrentes do processo hidrolítico. Os resultados com o bagaço de cana revelaram que a conversão da celulose melhora consideravelmente com os pré-tratamentos químicos, principalmente o alcalino (48% de conversão) em relação às amostras *in natura* (12%) ou submetidas ao tratamento ácido (23%). Observou-se que a desestruturação efetiva do bagaço de laranja é bastante intensificada quando o mesmo é hidrolisado com a conjunta ação das enzimas num coquetel, ao invés de uso de enzimas separadas. Para ambos os substratos, observou-se a perda das estruturas que dão sustentação ao vegetal quando os mesmos são hidrolisados. Também foi observado maior rendimento hidrolítico para as amostras com maior cristalinidade e teor de celulose.

Palavras-chave: Hidrólise enzimática. Resíduos agroindustriais. Bagaço de laranja. Bagaço de cana. Microscopia eletrônica de varredura.

ANIMAL





EXPRESSÃO DOS PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS BETA DEFENSINA EM EPIDÍDIMO SUÍNO

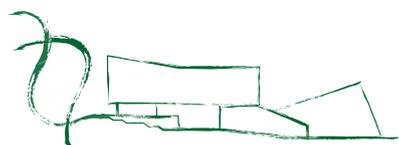
A. WEBER^{1*}, J. ALVES¹ e I. C. BUSTAMANTE-FILHO¹

¹Laboratório de Biotecnologia, UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171, Lajeado, RS.

* augustoweber_rs@hotmail.com

A fertilidade masculina depende da perfeita função do epidídimo, onde ocorrerá a maturação espermática devido às secreções do epitélio epididimário, resultando em alterações morfológicas e funcionais no espermatozoide. Durante o trajeto pelo epidídimo, diversas proteínas são secretadas e reabsorvidas, dentre elas as beta defensinas, que são diretamente relacionadas com os mecanismos de proteção contra patógenos e na resposta imunológica. Estas ações ocorrem devido a um efeito protetor espermático, mediação de processos de maturação epididimária espermática e interação com o trato reprodutivo feminino. Apesar do atual conhecimento das beta defensinas, sua regulação endócrina ainda não é completamente esclarecida, e este fato pode ser importante na infertilidade associada a hipogonadismo primário ou secundário. O objetivo deste trabalho é verificar se a expressão da beta defensina 3 (pBD3) e da proteína epididimária 2C (pEP2C) são reguladas endocrinamente no epidídimo em um modelo suíno para hipogonadismo baseado em animais imunizados contra GnRH. Foram coletados e dissecados testículos e epidídimos de 6 suínos inteiros e imunizados contra o GnRH, conforme protocolo 0001/2015 CEUA. As amostras de tecido foram processadas para extração de RNA total. Após, realizou-se RT-PCR para obtenção bibliotecas de cDNA. Foram realizadas qPCR para os genes da pBD3 e da pEP2C, utilizando como normalizador o gene da beta actina, em triplicata técnica. A expressão gênica da pBD3 e da pEP2C foi comprovada no presente trabalho, embora os resultados obtidos indicam não haver variação dos níveis de expressão, após a depleção de testosterona sérica. A pBD3 possui homologia com as beta defensinas 103 de humanos e bovinos, cuja atividade está relacionada com o sistema imune. A expressão da defensina 103 em humanos é modificada em detrimento de estímulos pró-inflamatórios, podendo-se inferir que a variação na expressão da pBD3 possa ocorrer mediante alteração inflamatória. A pEP2C possui expressão em uma ampla gama de tecidos, sendo que pode ser considerada como marcador de função epididimária. Os dados obtidos da expressão gênica da pBD3 e pEP2C indicam não haver alteração após a supressão androgênica em suínos. Estudos nos âmbitos proteômico e metabolômico são necessários para confirmar os dados ora obtidos. A extrapolação dos dados para a medicina humana pode ser realizada em casos de hipogonadismo.

Palavras-chave: Beta defensivas. Epidídimo. Suínos. Supressão androgênica.



UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS PRESENTES NO LÍQUIDO CELOMÁTICO

T. E. GONÇALVES¹, M. P. MÜLLER¹, A. UEBEL¹, J. FINATTO¹, V. A. CORBELLINI² e L. HOEHNE¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, Lajeado/RS

² Universidade de Santa Cruz do Sul, Av. Independência, 2293, Bairro Universitário, Santa Cruz do Sul/RS

tegoncalves@univates.br

A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) é uma das técnicas mais comuns de espectroscopia de infravermelho. No equipamento de FT-IR, a radiação infravermelha é incidida sobre a amostra, onde parte da radiação é absorvida e a outra parte passa pela amostra (transmitida). O espectro resultante representa a absorção e o transporte molecular, criando uma impressão digital molecular da amostra. Isso faz com que a FT-IR seja útil para vários tipos de análises. Pois com o ajuste correto ela pode identificar compostos desconhecidos, determinar a qualidade, a consistência e também a quantidade de componentes presentes na amostra. Com esta técnica é possível então, fazer a determinação de compostos orgânicos também em fluídos biológicos, sendo um deles o líquido celomático. As minhocas são envolvidas pelo celoma, que é uma cavidade preenchida pelo líquido celomático que auxilia no transporte de oxigênio e nutrientes para as células e serve também como mecanismo de defesa. Este trabalho tem por objetivo realizar a adequação da FT-IR para análise do líquido celomático e o desenvolvimento de novas metodologias de extração do mesmo. Inicialmente as minhocas do tipo *Eisenia andrei* foram submersas em água para a limpeza do seu tubo digestivo por um período de 24 h. Para se ter uma extração efetiva do líquido celomático, as minhocas foram submetidas a diferentes temperaturas, sendo elas de 10, 20, 30 e 40 °C nos tempos de 15, 30 e 45 min em um volume de 10 mL de água. A melhor condição encontrada foi de 30 °C no tempo de 30 min. Posteriormente 10 µL dessa amostra foram pipetados em um suporte de aço inoxidável próprio para amostra líquida revestido de papel-alumínio, previamente preparado com padrão interno de ferrocianeto de potássio, o qual foi secado por uma corrente de ar quente forçada. Após, realizou-se a leitura pela varredura das faixas de λ entre 4000-450 cm^{-1} . Como resultados preliminares, foi verificado, que a exposição das minhocas a diferentes temperaturas é um método eficaz para a extração do líquido celomático. As análises no FT-IR indicaram a presença de diferentes tipos de amidos, açúcares, gorduras, aminoácidos, bem como possíveis dipeptídeos. Testes posteriores serão feitos para calibração e quantificação dos compostos encontrados no líquido celomático. Sendo assim, pode-se verificar que o líquido celomático possui vários compostos importantes que podem ser futuramente usados na indústria.

Palavras-chave: Espectrometria. Fluido biológico. Minhocas. Compostos orgânicos.



PRODUÇÃO DE TESTE DE DIAGNÓSTICO PARA MONITORAMENTO VACINAL DA BRONQUITE INFECCIOSA DAS GALINHAS

M. L. AZEVEDO¹, P. F. FINGER¹, C. G. MAGALHÃES¹, O. RODRIGUES², P. A. ESTEVES³ E F. R. CONCEIÇÃO¹

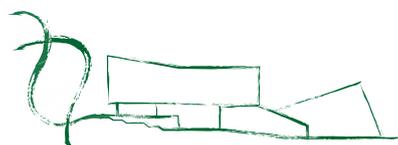
1 Laboratório de Imunologia Aplicada, Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

2 Laboratório Mercolab Garibaldi, RST 470, Km 226,5, Garibaldi – RS

3 Embrapa Suínos e Aves, BR153 Km 110, Tamanduá, Concórdia - SC
morganaludtke@gmail.com

A avicultura é uma atividade econômica em constante crescimento no agronegócio brasileiro, tornando-se de grande importância os cuidados com a sanidade das populações aviárias. Existem inúmeras doenças que podem acometer as aves e causar prejuízos econômicos, dentre elas, destaca-se a bronquite infecciosa das galinhas (BIG). A BIG é causada pelo vírus da bronquite infecciosa das galinhas (VBIG), pertencente à família *Coronaviridae* e que, dentre as proteínas estruturais, possui como destaque a nucleoproteína (N), que se caracteriza por ser imunogênica e abundantemente expressa durante o processo de infecção viral. A vacinação é a estratégia adotada para prevenção e controle da doença, mas não tem sido eficiente para combater a BIG. Atualmente, o monitoramento dos anticorpos das aves é realizado através de *kits* comerciais de ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) importados, o que aumenta o custo deste método. Assim, o objetivo deste estudo foi expressar a proteína N do VBIG em *Escherichia coli* (rN), a fim de obter um antígeno que possa ser utilizado em um teste nacional do tipo ELISA. Para isso, a CDS que codifica para a proteína N foi amplificada por RT-PCR e ligada ao vetor pAE de expressão em *E. coli*. O plasmídeo recombinante (pAE/rN) foi utilizado para transformar a linhagem BL21 Star de *E. coli*, sendo confirmada a expressão da rN por SDS-PAGE e Western Blot. Para o desenvolvimento do ELISA indireto, empregou-se como antígeno a rN na concentração de 100 ng por poço, utilizando-se 389 soros de galinhas previamente testados por um laboratório credenciado, através do *kit* comercial da IDEXX (IBV Ab Test). Soros confirmados como positivos para a doença de Newcastle também foram utilizados a fim de analisar a especificidade do teste. A análise foi realizada a partir da Característica de Operação do Receptor (ROC), comparando os resultados obtidos no teste comercial (IDEXX) com o ELISA rN, obtendo-se 90,16% de sensibilidade e 90,34% de especificidade. Ainda, todos os soros positivos para Newcastle foram negativos no ELISA produzido nesse estudo, sugerindo uma adequada especificidade. Portanto, os resultados obtidos demonstram que um teste do tipo ELISA utilizando apenas uma porção do VBIG pode ser capaz de detectar anticorpos em soros de aves, sendo uma alternativa viável ao monitoramento da bronquite infecciosa das galinhas.

Palavras-chave: Nucleoproteína. VBIG. *Escherichia coli*. Imunodiagnóstico.



ABORDAGEM *IN SILICO*: IMPACTO DE SNPs SOBRE A ESTRUTURA E FUNÇÃO BIOLÓGICA DO RECEPTOR DA PROLACTINA EQUINA

L. O. DANELUZ^{1*}, A. NEIS¹, F. S. KREMER¹ e P. M. M. LEON¹

¹ Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec), Núcleo de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão - Pelotas, RS - Brasil. CEP 96010-900 - Caixa-Postal: 354 | Telefone: (53) 3275 7350

*alessandra_neis@hotmail.com

A prolactina é um hormônio polipeptídico secretado pelos lactotrofos da glândula pituitária e envolvida no estímulo à lactação. Em mulheres, é associada a distúrbios gestacionais, imunológicos, reprodutivos e oncológicos, sendo responsável pela galactorreia e infertilidade quando em níveis elevados. Em equinos, a estrutura e a interação proteína-receptor não é totalmente elucidada, mas é proposta uma relação entre modificações genéticas e patologias envolvidas na alteração da via de sinalização. Dentre as causas genéticas, os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) se mostram importantes fontes de mutações que interferem no papel biológico da proteína e na transdução de sinais intracelulares. Neste sentido, o objetivo do estudo foi a realização de análises de bioinformática para determinar o impacto de mutações *missense* na estrutura proteica do receptor da prolactina (PRLR). Para isso, foram utilizados os servidores BLAST e SWISS-MODEL, e os bancos de dados dbSNP (NCBI) e PDB. As estruturas do receptor da prolactina humana foram analisadas a fim de prever sua estrutura equina. Obtiveram-se três SNPs: SNP1 ([rs394089265](#) - resíduo 588), SNP2 ([rs395329519](#) - resíduo 593) e SNP3 ([rs396467081](#) - resíduo 540), relacionados a alteração na região final do receptor da prolactina equina. Estes polimorfismos atingem a região codificadora do gene PRLR (21:29917887..30073887). De fato, a comparação das estruturas previstas para PLR e PRLR equina com as estruturas cocristalizadas humanas (PDB: 3NPZ) demonstram uma alta similaridade. Entretanto, a indisponibilidade de estruturas resolvidas para a região transdutora de sinal (transmembrana) resultou na ausência desta nos modelos já previstos. Após a construção do modelo equino, foi possível avaliar o efeito destes SNPs na região de transdução do sinal, uma vez que a interação com o hormônio se localiza apenas nos primeiros 300 aminoácidos, não afetando a interação, mas a cascata de sinalização intracelular. A partir deste estudo, é sugerida a influência destes três SNPs na transdução de sinal, visto que as vias de sinalização ativam as moléculas indutoras da expressão gênica deste hormônio. A fim de dar continuidade aos estudos relacionados a modificações estruturais da prolactina equina e seu receptor, outras análises *in silico* e *in vitro* serão realizadas para comprovar esta hipótese, e verificar a possível associação entre tais polimorfismos e patologias como a infertilidade em equinos.

Palavras-chave: Polimorfismo genético. Éguas. Bioinformática. Infertilidade. Predição de estrutura.



UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS DE BIOINFORMÁTICA PARA ANÁLISE DE SNPs NO RECEPTOR DA PROGESTERONA EQUINA

L. O. DANELUZ^{1*}, A. NEIS¹, F. S. KREMER¹ e P. M. M. de LEON¹

¹ Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec), Núcleo de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão - Pelotas, RS - Brasil. CEP 96010-900 - Caixa-Postal: 354 | Telefone: (53) 3275 7350

* larissa.daneluz@gmail.com

A progesterona é um hormônio sexual essencial para o equilíbrio do ciclo ovariano e para a manutenção da gestação, pois promove o encerramento dos sinais de estro, prepara o útero para a recepção do embrião. O receptor da progesterona (PGR) faz parte da superfamília dos receptores esteroides, possui 933 aminoácidos e o gene que o codifica está localizado no cromossomo 7 em equinos. *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) no PGR em humanos tem sido relacionado com infertilidade, endometriose e cistos ovarianos. O presente trabalho teve por objetivo a análise *in silico* dos polimorfismos no gene PGR equino (*Equus caballus*) já caracterizados e análise de seus possíveis impactos e efeitos biológicos. Os SNPs foram obtidos a partir do banco de dados dbSNP do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>), sendo apenas um localizado dentro de uma região de exon, outro localizado na extremidade final não-traduzida do mRNA (3' UTR), e 58 localizados em regiões intrônicas. O SNP identificado na região codificante (dbSNP:rs393867730) é responsável por uma mutação sinônima, que acarreta na substituição do terceiro nucleotídeo do codon "CAG" por "CAA", ambos codificantes para o aminoácido glutamina (GLUT). Entretanto, provavelmente, a substituição sinônima terá efeito sobre a expressão da proteína, considerando o grau de afinidade com o pareamento do tRNA que codificará para este aminoácido, assim como com a disponibilização de tRNAs expressos pelo organismo. De fato, os dados de *codon usage* de *E. caballus* (www.kazusa.or.jp/codon/) demonstram que o codon "CAG" é o preferencial para GLUT, com ocorrência de ~74%, sendo a variante "CAA" potencialmente menos favorável para uma expressão eficiente da proteína. Entretanto, a baixa disponibilidade de dados de genotipagem, referentes a esta variante, torna necessária a condução de novos estudos para aferir seu efeito sobre a expressão do gene e verificar a possibilidade da relação desses polimorfismos com algumas disfunções metabólicas em equinos, como a infertilidade.

Palavras-chave: PGR. Polimorfismo. Éguas. Infertilidade. Estudo *in silico*.



CLONAGEM E SEQUENCIAMENTO DO GENE DA CATALASE EM PEIXE-REI (*ODONTESTHES HUMENSIS* DE BUEN, 1953)

B. F. BARRETO^{1*}, T. SILVEIRA¹, W. B. DOMINGUES¹, L. S. SILVA¹, I. M. LESSA¹, G. B. MARTINS², R. B. ROBALDO² e V. F. CAMPOS¹

1 Laboratório de Genômica Estrutural, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas

2 Laboratório de Piscicultura, Agência de Desenvolvimento da Lagoa Mirim, Universidade Federal de Pelotas

*Bruna Fagundes Barreto: brunaf.barreto@live.com

A Catalase é uma enzima antioxidante presente em todos os vertebrados, sua função é decompor o peróxido de hidrogênio, um forte agente oxidante, produzido em condições de estresse. O peixe-rei ocorre com frequência na América do Sul, onde tem importância econômica pela pesca e comercialização da carne. Porém, o estresse natural e a alta exigência por qualidade da água têm dificultado seu cultivo. Atualmente os estudos genômicos em peixes submetidos a variações de cultivo são escassos. Por isso, o presente estudo teve por objetivo o sequenciamento e a caracterização do gene da Catalase (*CAT*) em *O. humensis*. Após a eutanásia e coleta das brânquias, foi realizada a extração de RNA baseado em método de colunas, seguida da estimativa de concentração e pureza das mesmas por espectrofotometria e confecção de cDNA por kit comercial. Após, *primers* foram desenhados com a ferramenta *online PriFi*, tendo como base o alinhamento de sequências gênicas de *CAT* de outros organismos já depositadas no *GenBank*. Para a amplificação do gene, foram realizadas PCR com diferentes temperaturas de anelamento, utilizando como *template* o cDNA confeccionado. A confirmação da amplificação foi realizada através de eletroforese em gel de agarose 1,2%, seguida da purificação do produto de PCR, utilizando colunas de sílica. O produto de PCR purificado foi sequenciado por meio do método de Sanger automatizado. Todos os procedimentos descritos foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPel, processo nº 7018/2015-85. As amostras de RNA extraídas apresentaram uma concentração média de 600ng/µl e um grau de pureza de ≥ 2.0 . Foi obtido um par de *primers* senso e antisenso com 19 e 20 nucleotídeos, respectivamente. Reações de PCR em gradiente de temperatura permitiram eleger uma temperatura ótima de anelamento de 55,2°C, tornando possível a visualização de uma única banda com tamanho esperado de 658pb. Após o sequenciamento, *contigs* foram montadas a partir das sequências resultantes, obtendo-se assim uma sequência consenso, a qual foi submetida ao BLAST, onde observou-se que o gene sequenciado teve 99% de identidade com *CAT* de outros organismos. Por fim, realizou-se o depósito da sequência no GenBank, sob o número de acesso KX184718. Como perspectiva, tem-se a realização de estudos envolvendo a análise da expressão de *CAT* em *O. humensis*, de forma a contribuir na elucidação do seu papel em organismos exigentes às condições de cultivo.

Palavras-chave: Catalase. Clonagem. Gene. Sequenciamento. Aquicultura.



PROSPECÇÃO DE GENES DE REFERÊNCIA PARA qPCR EM PEIXE-REI (*ODONTESTHES HUMENSIS*): CLONAGEM, SEQUENCIAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO GENE DA β -ACTINA

L. S. SILVA^{1*}, B. F. BARRETO¹, I. M. LESSA¹, W. B. DOMINGUES¹, T. SILVEIRA¹, G. B. MARTINS², R. B. ROBALDO² e V. F. CAMPOS¹

1 Universidade Federal de Pelotas, Laboratório de Genômica Estrutural, prédio 20, Campus Universitário, S/N - CEP 96160-000, Capão do Leão, RS - Brasil

2 Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, prédio 17, Campus Universitário, S/N - CEP 96160-000, Capão do Leão, RS - Brasil

*Lucas dos Santos da Silva: lucassantos_17@hotmail.com

Actinas são proteínas altamente conservadas encontradas em todas as células eucarióticas, havendo pelo menos seis isoformas diferentes, as quais desempenham papel fundamental na estrutura do citoesqueleto, divisão celular e movimentos intracelulares. A evolução desta família gênica tem sido amplamente estudada e o gene da isoforma β clonado em outras espécies devido ao seu caráter de manutenção (*housekeeping*) e sua utilização em pesquisas na área de transgênese. Apesar da importância evolutiva e sua extrema diversidade, existem poucos dados sobre as actinas em teleostes. Buscando avaliar genes de referência para qPCR no peixe-rei, o presente estudo teve por objetivo a clonagem molecular, o sequenciamento e a caracterização do gene da β -Actina em peixe-rei. Para a realização do experimento, a extração de RNA foi feita a partir do fígado de peixe-rei, utilizando o reagente TRIzol. Após a medição da concentração e pureza das amostras por espectrofotometria, foi realizada a confecção de DNA complementar (cDNA). Os *primers* foram desenhados com o auxílio da ferramenta *online Prifi*, a qual baseia-se no alinhamento de sequências do gene da β -Actina de outros organismos já depositadas no *GenBank*. Posteriormente, foram realizadas Reações em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando os *primers* desenhados e o cDNA como *template*. Para confirmação da amplificação do gene, eletroforeses em gel de agarose 1,2% foram realizadas, sendo o produto da PCR purificado com o auxílio de colunas de sílica e submetido ao sequenciamento por método de Sanger automatizado. Todos os procedimentos descritos foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPel, processo nº 7018/2015-85. As amostras de RNA extraídas com TRIzol a partir de fígado apresentaram uma concentração média de 200ng/ μ l, e um grau de pureza de 2.0. Além disso, foi identificada a temperatura ótima de anelamento dos *primers* desenhados, sendo 64.7°C a mais apropriada, uma vez que nessa condição obteve-se na eletroforese o produto da PCR do gene da β -Actina com o tamanho esperado de 448 pares de bases, o qual foi sequenciado e encontra-se depositado no *GenBank* sob o número de acesso KX060039. Este estudo tem como perspectiva a avaliação da eficiência da β -Actina como um gene *housekeeping* em peixe-rei, a fim de utilizá-lo em futuros estudos como gene normalizador em quantificações relativas da expressão gênica por meio da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR).

Palavras-chave: β -Actina. Peixe-rei. Amplificação. Clonagem. Sequenciamento.



NOVA ESPÉCIE ACARINA ASSOCIADA A GALINHAS POEDEIRAS E PRIMEIRO REGISTRO DO GÊNERO *MALAYOGLYPHUS* N. SP. (ACARI: PYROGLYPHIDAE) NO BRASIL

J. J. FERLA^{1*}, T. B. HORN¹, J. B. BICA¹, C. REMPEL¹ e N. J. FERLA¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171 - Bairro Universitário Lajeado/RS - Brasil

*Apresentador: julia.ferla@hotmail.com

Ácaros da família Pyroglyphidae Cunliffe 1958 são considerados de grande importância médica e sanitária por estarem associados a doenças do sistema respiratórias, bem como alergias e dermatites em humanos. Na indústria de alimentos, são associados a produtos armazenados como sementes e grãos, geralmente deteriorando a qualidade destes produtos. O gênero *Malayoglyphus* tem duas espécies já descritas no mundo, sendo ambas consideradas ácaros-da-poeira. Recentemente, uma nova espécie do gênero foi encontrada no Brasil, sendo o primeiro registro deste gênero no país. O objetivo deste trabalho foi descrever as principais características morfológicas de fêmeas e machos adultos da nova espécie de *Malayoglyphus* n. sp.. A nova espécie está associada a diferentes formas de criação de galinhas poedeiras comerciais e ninhos de aves silvestres encontrados nas redondezas de aviários. Os espécimes foram coletados em criação automatizada, semiautomatizada e criação caipira de galinhas de postura de ovos comerciais em Lajeado, Rio Grande do Sul. Os ácaros foram coletados por meio de armadilhas de cano de PVC (cloreto de polivinila; 50 mm de diâmetro) de 27 cm, perfurado, contendo três folhas de papel toalha levemente amassadas e colocadas no interior para servir de abrigo. Além disso, espécimes foram coletados em penas de galinhas (*Gallus gallus* L.) das raças Bovans e Isa Brown, bem como em ninhos de aves silvestres nas redondezas de aviários. Todos os espécimes foram montadas em meio de Hoyer e desenhados a partir da exposição em câmara clara de microscópio óptico com contraste de fases. A definição do gênero seguiu a chave dicotômica de Fain (1988) e a morfologia geral, quetotaxia do idiossoma das pernas seguiram Gaud & Atyeo (1996) e Griffiths *et al.* (1990), com correções da quetotaxia do idiossoma propostas por Norton (1998). O holótipo e 11 parátipos fêmeas e machos foram medidos (µm). A principal característica distintiva desta nova espécie é a seta dorsal *si* (♀- 47 (38-55), ♂ - 42 (33-50) maior que a seta *se* (♀- 25 (18-33), ♂- 31 (23-40)). O dorso e pernas são fortemente punctados e o ventre levemente estriado. Os machos apresentam perna I robusta em relação às demais e fêmur expandido.

Palavras-chave: *Gallus gallus*. Avicultura. Descrição. Morfologia.



INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DIETAS SOBRE O DESENVOLVIMENTO, SOBREVIVÊNCIA E OVIPOSIÇÃO DE *TYROPHAGUS PUTRESCENTIAE*

I. Z. ESSWEIN¹, G. L. DA SILVA^{1,2}, T. F. S. RADAELLI¹, M. S. ROCHA^{1,3}, O. S. DA SILVA² e N. J. FERLA¹

1 Laboratório de Acarologia, Tecnovates, Univates. 95900-000. Lajeado, RS, Brasil.

2 Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 90050-170. Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Laboratório de Diversidade e Sistemática de Arachnida, Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS). 93022-000. São Leopoldo, RS, Brasil.

*Apresentador: isadora.esswein@universo.univates.br

Tyrophagus putrescentiae (Schrank) (Acaridae) é uma espécie cosmopolita que pode causar asma alérgica e outras doenças alérgicas devido ao seu potencial alergênico em seres humanos. Esta espécie pode se desenvolver em uma ampla faixa de temperatura (10 - 34 °C) e umidade relativa (60 - 100 %) utilizando um complexo de recursos alimentares. A sua capacidade de desenvolvimento e oviposição é relacionada com o tipo de alimento, sendo encontrado em altas densidades em alimentos armazenados com alto teor de gordura e proteína. O objetivo deste trabalho foi determinar o ciclo biológico de *T. putrescentiae* quando alimentado com farinha de arroz e de milho, verificando o efeito das diferentes temperaturas sobre a capacidade de oviposição em quatro tipos de alimento oferecidos simultaneamente através de teste de múltipla escolha. Para os estudos de ciclo biológico o experimento foi conduzido a 25±1 °C, 80± 5% UR, sendo testados com farinha arroz e milho. Para os testes de oviposição foram utilizadas três temperaturas (18±1 °C, 25±1 °C, 30±1 °C), 80± 5% RH, sendo oferecida farinha de arroz, farinha de milho, levedura seca e ração de rato avaliados, diariamente, por um período de dez dias. Estes parâmetros indicaram que *T. putrescentiae* alimentado com farinha de milho aumentou cerca de 69,75 vezes ($R_o = 69,75$) a cada 18,31 dias ($T = 18,31$), correspondente a um crescimento da população diário de cerca de 26% ($\lambda = 1,26$), isto é, uma produção de 0,23 fêmea/ dia ($rm = 0,23$). Quando alimentado com farinha de arroz apresentou valores inferiores ($R_o = 10,6$; $T = 17,28$; $\lambda = 1,15$; $rm = 0,14$). *T. putrescentiae* ovipositou mais a 30 °C (7290 ovos), seguindo de 25 °C (4537) e a 18 °C (1210). No entanto, a 30 °C houve preferência por farinha de milho como local de oviposição, enquanto que em 25 °C e 18 °C esse ácaro preferiu ração de rato. Verificou-se que na farinha de milho *T. putrescentiae* apresentou melhor desenvolvimento.

Palavras-chave: Acari. Ciclo biológico. Ração de rato. Produtos armazenados. Temperatura.



DESENVOLVIMENTO DO PREDADOR *CHEYLETUS MALACCENSIS* (CHEYLETIDAE) ALIMENTANDO-SE DE ÁCAROS DE IMPORTÂNCIA SANITÁRIA NA AVICULTURA COMERCIAL

J. H. KÖRBES¹, M. TOLDI¹, J. GRANICH¹, T. B. HORN¹, L. JOHANN¹ e N. J. FERLA¹

¹ Laboratório de Acarologia, Centro Universitário UNIVATES, Av. Avelino Talini, 171, Universitário, Lajeado/RS, 95900-000

*Apresentador: julia.horn@hotmail.com

A disponibilização de novas tecnologias levou a automatização da produção avícola, elevando a escala e aumentando a produtividade. Porém, o confinamento além de prejudicar o bem-estar das aves, aumenta o risco de epidemias e a proliferação de ectoparasitas. Ácaros de importância sanitária levam à baixa produtividade e à diminuição da qualidade dos ovos. *Megninia ginglymura* (Megnin) (Analgidae), causa lesões na pele levando a contaminação secundária por fungos e bactérias. Além deste, *Dermanyssus gallinae* (De Geer) (Dermanyssidae) em grandes infestações pode provocar prurido, danos na plumagem, erupções cutâneas, estresse e alterações comportamentais que podem ser fatais. O uso de controle alternativo por meio de inimigos naturais é uma tecnologia mais limpa, causando menos impacto ambiental e reduzindo o uso de produtos tóxicos. O objetivo deste trabalho foi comparar a biologia do predador *Cheyletus malaccensis* (Oudemans) (Cheyletidae) com as presas *M. ginglymura* e *D. gallinae*. Para cada presa testada, foram individualizados 30 ovos de *C. malaccensis* em arenas a 25±1 °C e 80±5% de umidade relativa. Estágios imaturos foram avaliados três vezes por dia e na fase adulta, uma vez por dia para verificar o número de ovos postos e a sobrevivência. As fêmeas não foram fecundadas. A fase de larva foi maior na geração alimentada com *D. gallinae* enquanto que protocrisálida, deutoninfa e o período ovo-adulto foram maiores quando o alimento foi *M. ginglymura* ($p < 0.005$). A sobrevivência foi maior para *M. ginglymura* do que *D. gallinae* (96,6% e 70%, respectivamente). A fecundidade e os períodos pré-oviposição e oviposição não apresentaram diferença significativa. O período pós-oviposição foi maior quando alimentado por *D. gallinae* (13±4,1 e 3,1±1,0 dias). A taxa líquida de reprodução (R_0) não apresentou diferença significativa entre as gerações testadas. A taxa intrínseca de crescimento (r_m) (0,14; 0,12 fêmeas/fêmea/dias) e razão finita de crescimento (λ) (1,15; 1,13 fêmeas) foram maiores para a geração alimentada por *D. gallinae*. Enquanto que, o intervalo médio entre as gerações (T) (41,6; 35,0 dias) e o tempo de duplicação (DT) (5,8; 4,8 dias) foram maiores para a presa *M. ginglymura*. *Cheyletus malaccensis* se mostrou um inimigo natural de ambas as espécies, *D. gallinae* e *M. ginglymura*, sendo capaz de se desenvolver e se reproduzir quando alimentado exclusivamente com esses ectoparasitas, demonstrando potencial para controlar as populações destes ácaros.

Palavras-chave: Controle biológico. Galinhas poedeiras. Ectoparasitas. Ciclo biológico.



CICLO DE VIDA DO PREDADOR *BLATTISOCIUS DENTRITICUS* (*BLATTISOCIDAE*) ALIMENTANDO-SE DE *TYROPHAGUS* *PUTRESCENTIAE* (*ACARIDAE*) E *MEGNINIA GINGLYMURA* (*ANALGIDAE*)

T. F. DE S. RADAELLI¹, G. L. DA SILVA^{1,2}, I.Z. ESSWEIN¹, O. S. DA SILVA² e N. J. FERLA¹

1 Laboratório de Acarologia, Tecnovates, Univates, Av. Avelino Tallini, 171. 95900-000 Lajeado, RS, Brasil.

2 Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 90050-170 Porto Alegre, RS, Brasil.

*Apresentador: thayradaelli@hotmail.com

O ácaro predador *Blattisocius dentriticus* (Berlese) é conhecido por alimentar-se de ovos de diversos artrópodes, sendo desconhecido seu desenvolvimento e hábitos alimentares quando oferecidos a ácaros que se tornaram praga na avicultura comercial e para a saúde pública. Este estudo teve como objetivo avaliar *B. dentriticus* como predador em potencial de duas espécies de ácaros de importância para a saúde pública (*Tyrophagus putrescentiae* (Schrank)) e animal (*Megninia ginglymura* (Mégnin)). Foi observada a relação de tempo de desenvolvimento, reprodução, sobrevivência e razão sexual de *B. dentriticus* quando alimentado com as duas espécies praga, *T. putrescentiae* e *M. ginglymura* em condições de laboratório a uma temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e $80 \pm 5\%$ UR. O estudo começou com 30 unidades experimentais contendo *M. ginglymura* como fonte de alimento e 35 contendo *T. putrescentiae*, cada um com um ovo de *B. dentriticus* obtido a partir de fêmeas fecundadas. A duração do período de pré-oviposição foi significativamente mais longo quando *M. ginglymura* foi utilizado como alimento, em comparação com *T. putrescentiae* ($p < 0,05$). Os parâmetros da tabela de vida para *B. dentriticus* divergiram sobre as duas dietas. Estes parâmetros indicaram que a população de *B. dentriticus* alimentados com *T. putrescentiae* aumentou cerca de 7,53 vezes ($R_0 = 7,53$) a cada 14,3 dias ($T = 14,3$), correspondente a um crescimento da população diário de cerca de 15% ($\lambda = 1,15$), isto é, uma produção de 0,14 fêmeas/fêmea/dia ($rm = 0,14$). *Blattisocius dentriticus* quando alimentado com *M. ginglymura* apresentou valores inferiores ($R_0 = 2,79$; $T = 23,76$; $\lambda = 1,04$; $rm = 0,04$). A taxa bruta de reprodução (GRR) e a proporção de descendentes do sexo feminino foram maiores em *T. putrescentiae* (GRR = 10,73; proporção de fêmeas para machos = 0,72). Nosso estudo demonstrou que *B. dentriticus* é um predador em potencial, desenvolvendo-se e reproduzindo com sucesso quando alimentado com *T. putrescentiae* e *M. ginglymura*.

Palavras-chave: Controle biológico. Ectoparasita. Predação. Produtos armazenados.



BIOLOGIA DO ÁCARO PREDADOR *CHEYLETUS MALACCENSIS* (CHEYLETIDAE) ALIMENTANDO-SE DE *MEGNINIA GINGLYMURA* (ANALGIDAE) E *TYROPHAGUS PUTRESCENTIAE* (ACARIDAE)

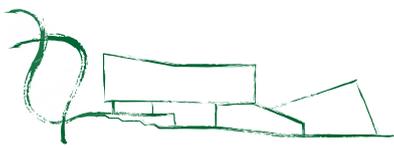
J. GRANICH^{1*}, J. H. KÖRBES¹, T. B. HORN¹ e N. J. FERLA¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, rua Avelino Tallini, 171 - Bairro Universitário Lajeado/RS

*julianagranich@hotmail.com

A produção intensiva de galinhas poedeiras em confinamento além de prejudicar o bem-estar das aves, aumenta o risco de epidemias. A proliferação de ectoparasitas pode levar a baixa produtividade e diminuição da qualidade dos ovos. O ácaro das penas, *Megninia ginglymura* (Megnin) pode ocasionar reação alérgica com prurido propiciando contaminações bacterianas secundárias. *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) é um ácaro cosmopolita associado a produtos armazenados e em humanos pode causar alergias. Este estudo visa comparar a biologia de *Cheyletus malaccensis* (Oudemans) com as presas *M. ginglymura* e *Tyrophagus putrescentiae*, a fim de subsidiar o potencial uso deste predador em estratégias de controle biológico em indústrias de aves domésticas. O estudo iniciou com 30 ovos de *C. malaccensis* isolados em unidades experimentais, que se desenvolveu em suas diferentes fases ao se alimentarem de *M. ginglymura* e *T. putrescentiae* em 25±1°C e 80±5% de umidade relativa, mantidos em estufas com fotofase de 12 horas. Os estágios imaturos foram observados três vezes ao dia e quando em estágio adulto, uma vez por dia. As fêmeas adultas não foram acasaladas. *Cheyletus malaccensis* alimentando-se de *M. ginglymura* apresentou maior taxa de fecundidade, com 310,77±45,84 ovos/fêmea do que a presa *T. putrescentiae*, com 32,77±4,59 ovos/fêmea. Além disso, o período de oviposição foi maior para *M. ginglymura*, 53±6,34 dias, do que *T. putrescentiae*, 12,69±1,97 dias. A taxa líquida de reprodução (R_0), a capacidade inata de aumento (r_m), o tempo médio de geração (T) e a taxa finita de aumento (λ) foram maiores para a geração alimentada com *M. ginglymura*. *Cheyletus malaccensis* é um inimigo natural de *M. ginglymura*, sendo capaz de se desenvolver e se reproduzir quando alimentado exclusivamente com este ectoparasita.

Palavras-chave: controle biológico; Cheyletidae; galinhas poedeiras; ácaros das penas.



EFEITO DO BASIDIOMICETE *LENTINULA EDODES* NA INTEGRIDADE DA MUCOSA INTESTINAL E RESPOSTA IMUNE CELULAR DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM *EIMERIA SP.*

S. SILVA^{1*}, A. E. G. TIBÉRIO¹, J. N. SCHEMMER¹, F. C. B. N. PEREIRA¹, F. R. ROSADO¹, A. L. SANTOS² e N. L. M. FERNANDES¹

¹ LABIOTEC, Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina.

² Departamento de zootecnia, Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina.

*Apresentadora: shayanedasilva.s@gmail.com

O Brasil é o maior exportador e o segundo maior produtor de carne de frango do mundo. Todavia, doenças infecciosas que afetam o trato digestório das aves, como a coccidiose, causada por *Eimeria* spp., têm levado à diminuição da produtividade e consequente perda econômica. Por outro lado, o basidiomicete *Lentinula edodes* (LE) vem sendo estudado devido à diversidade de moléculas bioativas e propriedades medicinais que possui, como a atividade imunomoduladora. Diante disto, o presente trabalho visou avaliar o potencial imunomodulador do LE em frangos de corte desafiados *Eimeria* sp. Foi realizado um experimento utilizando 56 frangos de corte machos da linhagem Cobb com 1 dia de idade, os quais foram distribuídos em gaiolas com capacidade para 8 aves e receberam os seguintes níveis do extrato bruto de LE incrementados na ração: (A) 4%; (B) 1,6%; (C) 2,5%; (D) 0,7%; (E) frangos que não receberam o imunógeno e nem o LE; (F) 1,67% de LE, mas não o patógeno; (G) apenas o patógeno. O desafio patogênico das aves foi obtido pela administração oral de solução com concentração aproximada de 15 oocistos/uL, de 5 espécies de coccídia aviária, para as aves dos tratamentos A, B, C, D e F ao 7º dia de vida. Água e ração foram fornecidas *ad libitum* durante o período experimental. No 14º e 21º dia de vida, 04 aves de cada tratamento foram sacrificadas por deslocamento cervical, das quais foram coletados segmentos intestinais para realização do corte histológico (jejuno) e sangue para contagem diferencial de leucócitos. As aves que receberam a ração suplementada com LE apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) em relação ao número de heterófilos, evidenciando uma melhor resposta imune celular para as concentrações de 1,5% a 2,3% de LE. Quanto à integridade da mucosa intestinal, os grupos que não receberam suplementação com o LE (grupos controle), apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) em relação a profundidade de cripta, com maior valor para o grupo desafiado com *Eimeria* sp. Já as aves que receberam 1,67% de LE (desafiadas e não desafiadas), não apresentaram esta diferença significativa para a profundidade das criptas. A profundidade da cripta intestinal é um parâmetro que está relacionado à necessidade de renovação do epitélio intestinal em resposta a alguma injúria da mucosa, neste caso, causada pela *Eimeria* sp. Conclui-se que a suplementação com LE melhora significativamente a resposta imune celular e a área de absorção de nutrientes em relação às não suplementadas.

Palavras-chave: Imunomodulação. *Lentinula edodes*. *Eimeria* sp. Avicultura.

Número do protocolo da Comissão de Ética para o Uso de Animais (CEUA): 20/2015.



ANÁLISE DE METAL EM MINHOCA *EISENIA ANDREI* EXPOSTA AO CÁDMIO UTILIZANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

D. KUHN^{1*}, D. T. BRIETZKE¹, F. J. M. KUFFEL, C. R. BRANDT, D. N. LEHN, C. V. SOUZA e L. HOEHNE¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, R. Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, Lajeado, RS, Brasil.

*Apresentador: danielkuhn@univates.br

A vermicompostagem é uma alternativa para a remediação de solos contaminados com metais pesados, uma vez que o húmus gerado possui compostos que diminuem a biodisponibilidade desse metal ao ambiente. Após a aplicação da vermicompostagem ao solo contaminado, parte do metal pode ser complexado por ácidos húmicos e fúlvicos e parte fica retido no organismo da minhoca. O objetivo desse trabalho foi avaliar a acumulação de cádmio (Cd) no organismo da minhoca através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e por análise de Absorção Atômica por Forno de Grafite (GFAAS), com o propósito de verificar a sensibilidade e possibilidade de aplicação do MEV para análise desse metal em minhoca, sem a necessidade de digestão das amostras. Quanto à metodologia, o solo foi preparado em recipientes nas dimensões 18 x 12 x 10 cm, utilizando 500 g de solo/500 g de esterco, e 500 g de húmus/500 g de esterco. Uma solução contendo Cd foi adicionada para obter a concentração de 100 mg de Cd por kg de solo preparado. Após repouso de 30 dias, foram adicionadas 10 minhocas da espécie *Eisenia andrei*. Após esse período, as minhocas foram removidas e realizou-se a limpeza de seus tubos digestivos, imergindo-as em água deionizada por 24 h. Para a leitura em MEV, elas foram congeladas e, 24 h antes da leitura no equipamento, as minhocas foram removidas do congelador e desidratadas ao ponto crítico (CPD) por desidratação com álcool, nas proporções de 30%, 50%, 70%, 80%, 95% e 100% respeitando-se intervalos de 15 minutos. Para análise em GFAAS, primeiramente, obteve-se as cinzas das minhocas através da mufla, posteriormente sendo realizada a digestão das cinzas, com aquecimento em meio de ácido nítrico. Como resultados, observou-se que por meio da técnica de MEV não foi possível fazer a determinação de Cd nas amostras de minhoca. Devido a diferenças consideráveis nos resultados obtidos nas triplicatas em GFAAS, utilizou-se um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) para a determinação de Cd nas amostras. Os resultados obtidos demonstram a presença de Cd na minhoca, nas concentrações de $330 \pm 3,6$ mg/kg de Cd nas amostras de minhoca que ficaram em contato com o húmus contaminado, enquanto nas amostras de minhoca, as que ficaram em contato com o solo contaminado, o resultado encontrado foi de $502 \pm 23,1$ mg/kg. Dessa forma, verificou-se que o Cd ficou mais retido na minhoca exposta no solo em comparação à minhoca exposta ao húmus.

Palavras-chave: Contaminação. Metal pesado. Vermicompostagem. Microscópio eletrônico de varredura.



TOXOCARA CANIS ALTERA RESPOSTA VACINAL CONTRA HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 5

Y. A. MENEGON^{1*}, L. F. C. ÁVILA², R. S. de OLIVEIRA³, A. P. S. S. de LARA⁴, F. D. S. SANTOS¹ e F. P. L. LEITE¹

1 Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Biotecnologia, Laboratório de Microbiologia, Pelotas.

2 Universidade Federal do Rio Grande, Faculdade de Medicina, Laboratório de Parasitologia, Rio Grande.

3 Faculdade do Estado de São Paulo, Programa de imunologia básica e aplicada, Ribeirão Preto.

4 Universidade Federal de Pelotas, Programa de pós-graduação em Parasitologia, Pelotas.

*Apresentador: yasminealves27@gmail.com

Os helmintos são conhecidos pela capacidade de modular o sistema imune do seu hospedeiro, o que pode resultar em interações nos mecanismos inflamatórios, respostas vacinais e doenças alérgicas. *Toxocara canis* é um helminto intestinal de cães que pode causar infecção crônica em hospedeiros paratênicos como bovinos, ovinos e hospedeiros acidentais como os humanos. O herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) acomete bovinos com alta morbidade e pode causar grave meningoencefalite com taxa de letalidade próxima a 100% em animais jovens. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da infecção crônica por *T. canis* na resposta imune humoral e celular contra BoHV-5 em camundongos. Foram utilizados 20 camundongos BALB/c, procedentes do Biotério Central da UFPEL (CEEA nº 4068). Os camundongos foram divididos em dois grupos, contendo 10 animais cada, denominados: grupo *Toxocara* que foi infectado com 100 ovos de *T. canis* 60 dias antes da primeira dose da vacina de BoHV-5 (infecção crônica), e grupo controle que não teve nenhum contato com *T. canis*. No dia zero do experimento, todos os animais foram vacinados contra BoHV-5, com uma dose de reforço no dia 21. Foram realizadas coletas de sangue e os soros armazenados para posterior avaliação da imunidade humoral pelo ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) e pesquisa de anticorpos neutralizantes contra BoHV-5 (Técnica de soroneutralização, SN). No dia 28, todos os animais foram submetidos à eutanásia, os baços foram removidos e os esplenócitos cultivados. Foi realizada a extração do RNA e a síntese de cDNA e em seguida, a técnica de PCR em tempo real para a avaliação da expressão de citocinas. Os resultados obtidos a partir do ELISA mostraram níveis de anticorpos crescentes até o final do experimento, em ambos os grupos, sem diferença estatística. Entretanto, na SN foi observado que o grupo *Toxocara* não apresentou anticorpos neutralizantes, enquanto o grupo controle apresentou títulos de anticorpos neutralizantes contra o BoHV-5. Foi observada diminuição da transcrição gênica de IFN- γ (2,5 vezes) no grupo infectado por *T. canis*, em relação ao controle. Sendo assim, a infecção crônica por *T. canis* modula a resposta imune humoral e celular de camundongos vacinados contra o BoHV-5, o que corrobora com resultados descritos na literatura, onde afirmam que os parasitos modulam a resposta imune do hospedeiro. Assim, influenciam na resposta imune vacinal.

Palavras-chave: Toxocaríase. Herpesvírus bovino tipo 5. Vacina. Imunomodulação.



MUDPIT ANALYSIS IDENTIFY NEW PROTEINS OF PORCINE CAUDA EPIDIDIMAL FLUID

L.E. ARGENTI^{1*}, A. WEBER¹, L. SANTI¹, W. O. B. DA SILVA¹, J. R. YATES III² e I. C. BUSTAMANTE-FILHO¹

¹ UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário. Lajeado/RS – Brazil, CEP 95900-000.

² Scripps Research Institute, 10550 North Torrey Pines, La Jolla, CA 92037, USA.

*Apresentador: lauraargenti@brturbo.com.br

Caudal epididymal fluid (EF) in contact with sperm cells prior ejaculation prevents premature capacitation, protect against oxidative stress and maintain metabolic quiescence. Some important proteins were identified in the cauda EF, however a deep investigation of its proteome was never performed. Here we report the use of shotgun proteomics using Multidimensional Protein Identification Technology (MudPIT) to identify proteins in the fluid of boar cauda epididymis. The samples were acquired from ten sexually mature healthy boars that were surgically castrated and the epididymal sections of region 9, corresponding to boar cauda epididymis, were dissected and the EF was flushed out and collected. All procedures were approved by the The Ethics Committee of Animal Use from UNIVATES (001/2015). EF samples were pooled (300 µg each) and processed for shotgun proteomics analysis using an Agilent 1100 quaternary HPLC followed by a LTQ-XL mass spectrometer. Protein identification and quantification analysis were done with Integrated Proteomics Pipeline. Tandem mass spectra were extracted into ms2 files from raw files using RawExtract 1.9.9 and were searched using ProLuCID algorithm against the *Sus scrofa* database. A total of 663 proteins were identified, and the most abundant in a semi-quantitative analysis were the following (spectral counts): epididymal-specific lipocalin-5 (1465), beta-hexosaminidase subunit beta precursor (1346), phosphatidylethanolamine-binding protein 4 precursor (367), lactotransferrin precursor (226), brain acid soluble protein 1 isoform 2 (134), di-N-acetylchitobiase, partial (115), epididymis-specific alpha-mannosidase (114), epididymal secretory glutathione peroxidase precursor (112), reticulocalbin-1 isoform 2 (103) and alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme (101). Knowing the protein composition of the EF open doors for a better understanding of fertility problems and may lead to the development of sperm preservation techniques.

Keywords: Swine. Protein. Infertility. Sperm preservation. Mass spectrometry.



POTENCIAL DE ISOLADOS DE *BEAUVERIA BASSIANA* NO CONTROLE BIOLÓGICO DO *THAUMASTOCORIS PEREGRINUS* (CARPINTEIRO E DELLAPÉ 2006)

M. C. MENDONÇA^{1,3*}, T. S. SANTOS¹, A. C. DE FREITAS², M. G. B. A. ARAUJO¹, J. C. M. PODEROSO⁴, G. T. RIBEIRO⁴ e L. P. DA COSTA¹

1Universidade Tiradentes – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial: Avenida Murilo Dantas, nº 300, Farolândia, Aracaju - Sergipe

2Fapitec: Travessa Baltazar Gois, nº 86, Edifício Estado de Sergipe, 10º Andar, Centro, Aracaju - Sergipe

3Emdagro: Avenida Carlos Rodrigues da Cruz, s/n, Capucho, Aracaju - Sergipe

4Universidade Federal de Sergipe – Laboratório de Entomologia Florestal (LEFLO): Avenida Marechal Rondon, s/n, Jardim Rosa Elze, São Cristóvão - Sergipe

*Apresentador: e-mail (marcelo_costa@unit.br)

Thaumastocoris peregrinus é um inseto sugador (Hemiptera: Thaumastocoridae) que tem ocasionado a redução da produtividade de eucalipto nos principais plantios comerciais do Brasil desde 2008. Dentre os métodos de controle biológicos estudados para a redução de populações de *T. peregrinus* em campo, a utilização dos fungos entomopatogênicos se destaca como alternativa promissora para aplicação em programas de controle em larga escala, porém ainda é pouco explorada. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a virulência de isolados de *Beauveria bassiana* sobre adultos de *T. peregrinus* em condições de laboratório. Foram utilizados 07 isolados de *B. bassiana* (Bb1 até Bb7), originários da micoteca da Emdagro (Sergipe/Brasil). Os conídios dos fungos foram produzidos em meio semissólido de arroz. As suspensões fúngicas, para todos os isolados, foram padronizadas na concentração 1×10^8 conídios/mL⁻¹, o controle foi uma solução de Tween 80 (0,05%). Utilizando-se um pulverizador manual do tipo airbrush (30atm) foi aplicado 1 mL das suspensões (tratamento + controle) sobre os insetos adultos de *T. peregrinus* acondicionados em folhas de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). Após a pulverização, os insetos nas folhas de eucalipto foram mantidos em sala climatizada $26 \pm 1^\circ\text{C}$, fotofase 12 h, e avaliados, diariamente, durante 10 dias. Os insetos mortos foram quantificados, desinfetados com solução de hipoclorito de sódio (1%) e água e mantidos em câmara úmida até a identificação da colonização do fungo no exterior do seu corpo, confirmando-se a mortalidade pelo patógeno. A mortalidade confirmada foi corrigida pela fórmula de Abbott e submetida à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A TL_{50} foi analisada a partir da construção da curva de sobrevivência dos isolados pelo modelo Kaplan-Meier, pelo software SPSS v.15. O percentual de mortalidade confirmada de *T. peregrinus*, causado pelo fungo *B. Bassiana*, diferiu significativamente entre os isolados ($F = 2,767$ e $P = 0,038$). Os isolados Bb7 (85%), Bb2 (80%), Bb1 (74,2%), Bb3 (73,1%), Bb4 (73,1%) e Bb6 (67,9%) não diferiram significativamente entre si, segundo teste de Tukey ($p < 0,05$). O isolado Bb5 (51,6%) apresentou a menor taxa de mortalidade para esta avaliação. Os isolados Bb7, Bb4 e Bb3 apresentaram maior virulência sobre *T. peregrinus*, TL_{50} de 02 dias. Os resultados indicam a eficiência de isolados de *B. bassiana* para o controle de *T. peregrinus*.

Palavras-chave: Fungos entomopatogênicos. Controle microbiano. Percevejo bronzeado do eucalipto.



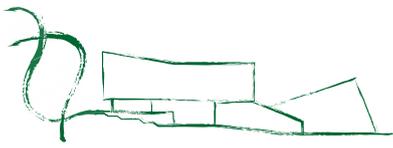
IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ESPERMÁTICAS ASSOCIADAS À QUALIDADE DO SÊMEN SUÍNO

A. SCHNEIDER¹, E. R. SONTAG¹ e I. C. BUSTAMANTE-FILHO¹

¹ Laboratório de Biotecnologia, Univates, Lajeado, RS, Brasil

A inseminação artificial é uma das biotecnologias mais utilizadas na reprodução animal, tendo influência direta nos índices produtivos. Os principais ganhos são otimização do uso de material genético, redução na transmissão de doenças sexualmente transmissíveis e menor custo. Estes resultados dependem da qualidade do sêmen, garantindo assim o sucesso da técnica. Diversas avaliações da qualidade seminal são realizadas, destacando-se análise de motilidade e morfologia espermática, que possibilitam fazer uma classificação prévia das doses que serão inseminadas. Porém, busca-se marcadores proteicos que auxiliem em uma identificação mais acurada de ejaculados de alta e baixa qualidade. O objetivo deste trabalho é identificar proteínas do espermatozoide suíno associadas à qualidade espermática. Os ejaculados foram obtidos em uma central de inseminação artificial, aonde logo após a coleta foram realizados testes de motilidade, concentração e vigor espermático, assim classificados conforme as normas do Colégio Brasileiro de reprodução Animal. Ejaculados com a motilidade total $\geq 70\%$ foram classificados como aptos a comercialização (Grupo Aprovado). Amostras com níveis inferiores foram descartadas e alocadas no (Grupo Reprovado). Para avaliação da motilidade utilizou-se o Spermvision (Minitube). Posteriormente as amostras passaram por processos de centrifugação, para separação do plasma seminal e espermatozoides. Para obtenção de proteínas espermáticas utilizou-se 3×10^9 espermatozoides que sofreram lise química e mecânica em tampão RIPA. Após a quantificação de proteínas totais, as amostras serão analisadas por 2D-SDSPAGE, que consiste na separação das proteínas por ponto isoelétrico e após a separação das mesmas pela massa molecular, através de corrida em gel de poliacrilamida 15%. Os géis serão digitalizados e analisados pelo software PD-Quest 8.0 (Bio-Rad). A análise estatística se fará por testes de contingência (Qui-quadrado e teste exato de Fisher) e para análise entre os grupos através do teste t de Student. Os resultados até o presente momento indicam que o grupo aprovado apresentou motilidade total média de $88 \pm 5,5\%$, estatisticamente superior ao grupo reprovado, com $55 \pm 13,6\%$ ($p < 0,01$). Não foi encontrada diferença significativa entre a concentração de proteína total nos extratos dos dois grupos avaliados. A análise dos géis está sendo realizada no presente momento e determinará se existem proteínas diferencialmente expressas nos grupos avaliados.

Palavras-chave: Análise motilidade. Inseminação artificial. Qualidade espermática. Suínos.



PROTEOME OF THE SWINE CAUDA EPIDIDYMIS: EFFECT OF GNRH IMMUNIZATION

I. C. BUSTAMANTE -FILHO^{1*}, W. O. BEYS DA SILVA¹, L. SANTI¹ e J. Yates III²

¹ Laboratório de Biotecnologia, UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171, Lajeado, RS, Brazil.

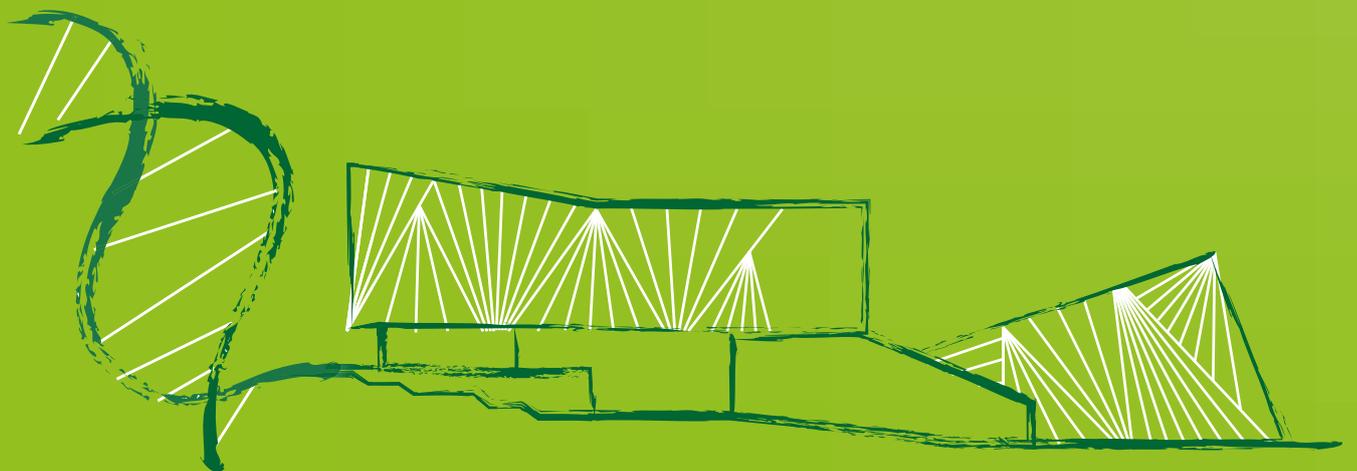
² The Scripps Research Institute, 10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037, USA.

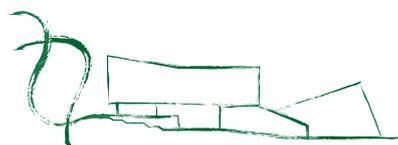
*Apresentador: ivanbustamante@univates.br

Several studies on the epididymal proteome have shown the diversity of this fluid, with several hundreds proteins described in several species in a wide range of abundance. Epididymal regional differentiation is established progressively with aging and is dependent of several mechanisms such as the level of testosterone, and the action of factors originating either from the testis or from the epididymis. Previous results based on 2D SDS-PAGE studies showed that approximately 48% of all the proteins secreted in the boar epididymis are dependent on the presence of androgens. The aim of our study was to verify if GnRH-immunization has an influence on the proteome of cauda epididymal fluid and spermatozoa in boars by means of multidimensional protein identification technology (MudPIT). Twenty adult boars (Large White and Duroc breeds) between 10 and 18 months old were used for this study. Experimental groups were assigned as follows: GnRH-Immunized Group: ten boars were immunized with Vivax® (Pfizer) 2 months before slaughter, according to the manufacturer's guidelines and epididymides were collected after slaughter; Control Group: epididymides from 10 healthy boars with no reproductive disease were obtained after orchiectomy. Collection of cauda epididymal fluid (CEF) was performed by dissection of the cauda region and perfusion of the epididymal tubule. Epididymal fluid and spermatozoa were separated by centrifugation. Protein extracts were prepared and submitted to MudPIT analysis. Also, differential expression of proteins between groups was observed in both epididymal fluid and spermatozoa. The GnRH immunization induced an up-regulation in the expression of 50 sperm proteins and 40 epididymal fluid proteins. Gene ontology analysis showed a significant change in proteins associated to cellular stress, which is induced by the depletion of serum and testicular testosterone and increase of seminiferous tubuli apoptosis. This study provides a major insight into endocrine regulation on epididymal physiology and possible impacts on sperm quality and male fertility.

Keywords: Boar. Proteomics. Epididymis. Spermatozoa. GnRH.

OUTRAS APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS





APERFEIÇOAMENTO DE PROTOCOLO PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE LEVEDURAS COM MÉTODO CTAB

J. C. JARDIM^{1*} e L. M. GERARD²

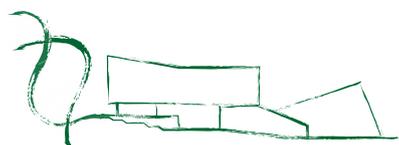
¹ Instituto Federal de Santa Catarina, Rua Maria Aparecida Barbosa, número 153, Garopaba, Santa Catarina, Brasil

² Universidad Nacional de Entre Ríos, Rua Monseñor Tavella, número 1450, Concordia, Entre Ríos, Argentina

*Apresentador: jcostajardim@gmail.com

As leveduras são consideradas o modelo ideal para o estudo de células eucarióticas e possuem inúmeras aplicações na biotecnologia em áreas de pesquisa emergentes. A identificação molecular de leveduras é uma técnica que apresenta o potencial de substituir os testes bioquímicos tradicionais porque gera maior acuracidade na identificação de espécies. Entretanto, a maior parte dos protocolos para extração de DNA de leveduras tem como base esferas de vidro, equipamento inviável para a análise de amostras em maior escala. Outros protocolos que não utilizam esse equipamento não seguem o método CTAB ou não possuem reprodutibilidade devido à falta de informações. Tendo em vista esses fatores, o objetivo desse estudo foi adaptar um protocolo de extração de DNA sem fenol para leveduras. Empregou-se a levedura *Saccharomyces spp.* isolada de mel e inoculou-se em Ágar Batata Dextrosado. A amostra foi incubada a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. Variou-se a extração de DNA em relação ao protocolo base nos meios de cultura utilizados, na adição de esfriamento da amostra em gelo, nos tempos de centrifugação (14000 rpm por 10 minutos), agitação em vórtex (25 hertz por 15 segundos) e nas quantidades de reagentes. O protocolo aperfeiçoado é constituído pela remoção de proteínas com Proteinase K e dodecil sulfato de sódio a 20%. Demais contaminantes são removidos por precipitação seletiva com a adição de CTAB e NaCl e subsequente centrifugação com clorofórmio e álcool isoamílico (24:1 respectivamente). Posteriormente precipita-se DNA com isopropanol, conservando amostra em buffer Tris-EDTA 1X. Analisou-se a qualidade do DNA extraído em eletroforese horizontal (1% agarose) e quantificou-se as amostras, obtendo quantidade de DNA da amostra do protocolo aperfeiçoado de 1,819 $\mu\text{g/mL}$, com razão (260/280) de 1,899. Recomenda-se o protocolo para subseqüentes técnicas de PCR devido à integridade apresentada em eletroforese e razão em espectrofotômetro considerada ideal, sendo o protocolo mais prático que os já existentes devido a utilização do versátil reagente CTAB e a ausência de esferas de vidro. Esse estudo foi desenvolvido através de uma bolsa de intercâmbio pelo programa PROPICIE do Instituto Federal de Santa Catarina com a Universidad Nacional de Entre Ríos, sob a orientação da Prof. Dra. Liliana M. Gerard.

Palavras-chave: Identificação molecular. Extração de DNA. Levedura.



ESTRATÉGIAS DE GERAÇÃO DE MUTANTES PARA ESTUDOS FUNCIONAIS EM *Metarhizium anisopliae*: CONSTRUÇÃO DE LINHAGENS Δ KU70

A. M. CZECZOT^{1*} e A. SCHRANK¹.

¹Centro de Biotecnologia da UFRGS (CBiot/UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500-Bloco IV, Prédio 43-421, Bairro Agronomia, CEP 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

* Apresentador: alexiaczczot@gmail.com

O fungo *Metarhizium anisopliae* é capaz de infectar diversas espécies de hospedeiros artrópodes, sendo utilizado em escala comercial para o controle de pragas da agricultura. É um modelo de estudo das interações entomopatógenos/hospedeiros. A caracterização da função gênica pela construção de mutantes nulos é uma das abordagens mais utilizadas em estudos realizados em *M. anisopliae* para caracterizar a infecção, sendo realizada a partir da interrupção do *locus* de interesse via recombinação homóloga. No entanto, a geração de mutantes nulos por recombinação homóloga exibe baixa eficiência em fungos filamentosos uma vez que a recombinação não homóloga é a via de reparo dominante. Entre as proteínas envolvidas neste processo estão o heterodímero Ku, proteína quinase dependente de DNA e o complexo ligase IV-Xrcc4. Sabe-se que mutantes na via de recombinação não homóloga aumentam a frequência de recombinação homóloga. Portanto, o objetivo deste trabalho é obter mutantes para o gene *ku70* a fim de aumentar a taxa de recombinação homóloga para que, posteriormente, possam ser construídos mutantes funcionais para genes alvo em *M. anisopliae* com maior eficiência. Inicialmente, foi construído um *cassette* de deleção para o gene *ku70*, por meio da amplificação de regiões de 1.200 pares de bases a montante e a jusante da região codificadora do gene *ku70*. Estes produtos amplificados foram fusionados a marca de resistência para o antibiótico nourseotricina (gene *nat*), sendo o *cassette* de deleção clonado no vetor de entrada pCR-2.1-TOPO, e subclonado no vetor binário pPZP201BK. Após esta etapa, células quimiocompetentes de *A. tumefaciens* foram transformadas com o vetor pPZP:: Δ Ku70::*nat* e, posteriormente, utilizadas na agrotransformação de *M. anisopliae*. A busca pelo mutante de *M. anisopliae*, contendo o *locus* do gene *ku70* interrompido foi realizada pela extração de DNA e a análise por PCR identificou 06 potenciais mutantes. A confirmação dos mutantes foi realizada por análise da integração utilizando *Southern blot*. Os mutantes de KU70 obtidos não apresentaram diferenças morfológicas e de crescimento em relação a linhagem selvagem quando expostos a estressores abióticos. Posteriormente, será realizado bioensaio para verificar se a eficiência de infecção da linhagem Δ ku70 de *M. anisopliae* é afetada. O aumento na taxa de recombinação homóloga será avaliado pela construção do mutante Δ ade2 de *M. anisopliae*.

Palavras-chave: *Metarhizium anisopliae*. Recombinação. *Ku70*.



AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TRANSCRICIONAL A CONDIÇÕES DE ESTRESSE EM CULTIVOS DE *Mycoplasma hyopneumoniae*

G. M. BREYER^{1*}, F. M. SIQUEIRA¹ e I. S. SCHRANK¹

¹ Laboratório de Microrganismos Diazotróficos, Centro de Biotecnologia, Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, UFRGS

*Apresentador: gabibreyer@hotmail.com

Mycoplasma hyopneumoniae é uma espécie bacteriana cujas principais características são a ausência de parede celular e o tamanho diminuto de seu genoma. Nosso grupo de pesquisa tem como principal objetivo o entendimento dos mecanismos que regulam a expressão gênica em *M. hyopneumoniae*. Estudos anteriores demonstraram que esta bactéria é capaz de responder a nível transcricional a condições de estresse, como o estresse térmico e oxidativo. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho é identificar genes alvo para o controle *in vitro* destas duas condições de estresse, confirmando a expressão diferencial de genes preditos como envolvidos nestas condições. Para isso, foram selecionados nove genes alvos, apontados como diferencialmente expressos em análises de transcritomas anteriores, sendo eles: cinco genes regulados positivamente na condição de estresse térmico (*glpK*, *glpF*, *dnaK*, *dnaJ* e *oppC*), e quatro genes regulados positiva (*atpB*, *glyS* e *mglA*) ou negativamente (*ftsY*) na condição de estresse oxidativo. Foram realizados cultivos de *M. hyopneumoniae* em três condições: padrão (cultivo a 37 °C por 24 h), estresse térmico (cultivo padrão, seguido de incubação a 30 °C por 2 h, e a 42 °C por 30 min), e estresse oxidativo (cultivo padrão, seguido da adição de 1 % de H₂O₂ e incubação a 37 °C por 15 min). O RNA foi extraído em replicatas com o kit Illustra™ RNA spin Mini RNA isolation kit (GE Healthcare Life Sciences). Para cada RNA extraído, o DNA complementar (cDNA) foi sintetizado por meio de reações de transcrição reversa (RT), empregando *primer* randômico. Os cDNAs foram utilizados como molde para a reação de PCR quantitativo (qPCR), sendo o cálculo da expressão relativa realizado pelo método 2^{-ΔCT}. Todos os genes alvo foram testados nas três condições de cultivos analisadas. Por essa metodologia quatro genes tiveram sua expressão relativa elevada na condição de estresse térmico, quando comparados ao cultivo padrão (P<0,05). Apenas o gene *oppC* não apresentou expressão diferencial em relação ao gene normalizador. Na condição de estresse oxidativo, dois genes alvo foram diferencialmente expressos (P<0,05), porém *atpB* e *glyS* não apresentaram mudanças significativas nos seus níveis de expressão. Os resultados obtidos nesse trabalho permitem sugerir a existência da indução da expressão gênica diferencial de *M. hyopneumoniae* frente às condições de estresse testadas.

Palavras-chave: Estresse térmico. Estresse oxidativo. Cultivo celular. Expressão diferencial. QRT-PCR.



PURIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS PRODUZIDOS POR UM ISOLADO DE *STREPTOMYCES* SP.

M. P. BORBA^{1*}, A. E. BALLARINI¹, A. P. F. CORREA¹ e S. T. VAN DER SAND¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Departamento de Microbiologia. Rua Sarmento Leite, 500. CEP 90050-170

* Apresentador: ceh.proenca@gmail.com

O filo Actinobacteria é um importante grupo de bactérias Gram positivas amplamente distribuídas nos ambientes aquáticos e terrestres. São grandes produtores de compostos biologicamente ativos e, portanto, de grande interesse biotecnológico. O gênero *Streptomyces* destaca-se como maior produtor destes compostos e cerca de 7000 metabólitos já foram isolados deste gênero. Em um único isolado podemos identificar mais de um composto e estes podem ter atividade biológica distintas. Vários antibióticos distintos, com diferença química, estrutural e sítio alvo foram isolados de espécies pertencentes ao gênero *Streptomyces*, o que o torna responsável por aproximadamente 70% dos antibióticos hoje disponíveis para uso. Este trabalho tem por objetivo realizar purificação e caracterização parcial de um composto antimicrobiano, produzido pelo isolado *Streptomyces* 8S, com atividade contra bactérias Gram positivas multirresistentes. Visando estudar a estabilidade do composto antimicrobiano foram realizados ensaios com adição de EDTA e enzimas proteolíticas ao extrato bruto contendo a atividade antimicrobiana e a incubação deste extrato em altas temperaturas. Para a purificação do composto antimicrobiano foi realizada uma etapa de extração líquido-líquido com o solvente orgânico acetato de etila, e posteriormente foram realizadas cromatografias de gel-filtração (Sephadex G-75) e de troca iônica (SP-Sepharose e DEAE-celulose). A atividade antimicrobiana presente no extrato foi analisada após cada etapa através da técnica de difusão em poço utilizando-se como bactéria-teste um *Staphylococcus aureus* metilina resistente. O composto manteve-se ativo após os ensaios de estabilidade, sugerindo origem não proteica. O antimicrobiano em questão não se aderiu à coluna SP-Sepharose e foi altamente retido na DEAE-celulose, mostrando possuir carga negativa. Este trabalho sugere novos estudos a partir dos resultados preliminares obtidos, com a perspectiva de investigar o composto antimicrobiano por meio de cromatografias de alta resolução e ressonância magnética nuclear.

Palavras-chave: Actinobacteria. Antibiótico. Extração. MRSA.



CONTROLE DAS LAGARTAS DESFOLHADORAS DA SOJA ATRAVÉS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS DO BIOMA PAMPA

N. ANDRADE^{1*}, V. B. SOARES¹, D. B. BALDONI¹, L. E. CURIOLETTI², A. A. MELO² e R. J. S. JACQUES¹

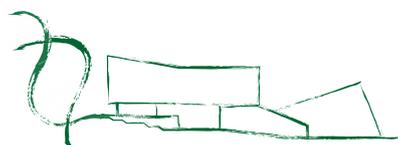
¹Departamento de Solos, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima nº 1000, Bairro Camobi, Santa Maria-RS

²Departamento de Defesa Fitossanitária, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima nº 1000, Bairro Camobi, Santa Maria-RS

*Apresentador: bittencourtagro@gmail.com

Atualmente, o controle das lagartas desfolhadoras na soja é realizado com uso de inseticidas sintéticos, os quais causam grandes impactos ambientais e resistência das pragas. O objetivo deste trabalho é avaliar a eficiência de fungos entomopatogênicos isolados do bioma Pampa no controle das duas lagartas de grande importância como pragas agrícolas, a falsa-medideira *Chrysodeixis includens* e a *Helicoverpa armigera*. Os procedimentos utilizados nos testes seguiram os protocolos internacionais de testes de inseticidas, com a utilização de vinte lagartas de segundo instar. Uma suspensão de 10^8 ou 10^9 esporos/ml⁻¹ dos fungos foi produzida a partir do banco de fungos quitinolíticos do Laboratório de Biologia do Solo do Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria. Esta suspensão foi aplicada nas lagartas por imersão de 30 segundos. Após a aplicação, as lagartas foram secas em papel toalha e colocadas individualmente em copos plásticos de 50 mL com tampa de acrílico transparente, contendo dieta artificial. As lagartas foram armazenadas em estufa tipo BOD até a realização das avaliações aos 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 Dias Após o Tratamento (DAT). A eficiência de controle foi calculada aplicando-se a fórmula de Abbott (1925): $E\% = (T - Tr) / T * 100$, onde: E% é a eficiência de controle do tratamento; T é o número de lagartas vivas na testemunha; Tr é o número de lagartas vivas nos tratamentos. Os fungos apresentaram eficiência no controle das duas principais lagartas causadoras de danos nas culturas agrícolas. A eficiência foi maior no controle da lagarta *Chrysodeixis includens* que, atualmente, causa os maiores danos na soja, se comparado ao controle da *Helicoverpa armigera*. Os fungos Q14, Q25, Q41 e Q45 foram os mais eficientes, atingindo porcentagens de controle acima de 80% para *Chrysodeixis includens*. Já para *Helicoverpa armigera*, o fungo mais promissor é o Q14, que apresentou eficiência de 68%. Os fungos selecionados serão utilizados na formulação de bioinseticidas.

Palavras-chave: Biodiversidade. Prospecção. Bioinseticidas. Pragas agrícolas.



PRODUÇÃO DO BIOPLÁSTICO P(3HB) POR *Bacillus megaterium* CN3: INFLUÊNCIA DO pH E ADIÇÃO DO PERCURSOR ÁCIDO BUTÍRICO

M. I. ALVES^{1*}, K. L. MACAGNAN², A. A. RODRIGUES², P. D. de OLIVEIRA² e A. da S. MOREIRA³

¹ PPGCTA- Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, S/N, Caixa Postal, 354, CEP: 96010-900

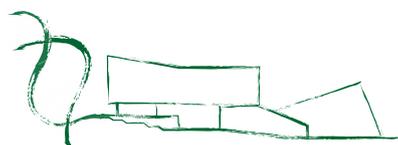
² PPGB- Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, S/N, Caixa Postal, 354, CEP: 96010-900

³ CCQFA- Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, S/N, Caixa Postal, 354, CEP: 96010-900

*Apresentador: marianeigansialves@hotmail.com

Como alternativas de substituição dos polímeros de origem petroquímica, os bioplásticos vêm ganhando cada vez mais espaço nos projetos de pesquisa e na indústria, contribuindo para uma melhoria significativa ao meio ambiente. Dentre os bioplásticos, destaca-se o Poli (3-hidroxibutirato) [P(3HB)], totalmente biodegradável e utilizado por inúmeros microrganismos como reserva de carbono e energia. Ele pode ser proveniente de fontes de carbono naturais renováveis, como milho, celulose, batata e cana de açúcar, ou ser sintetizado a partir de pequenas moléculas, como os ácidos butírico e valérico. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi estudar a influência do pH (5 a 8) e do ácido butírico (0 a 3,615 mM) no crescimento microbiano e acúmulo polimérico na fase de produção em cultivos da cepa de *Bacillus megaterium* CN3 no meio mineral F4. Para obtenção do inóculo, incubou-se o microrganismo em meio sólido AYN a 36 °C durante 24h; após, as células foram diluídas em meio líquido YM até atingirem densidade óptica (DO) inicial de 0,5 abs. Após, porções de 200 mL da suspensão bacteriana foram colocados em frascos *Erlenmeyers* de 500 mL, e as condições de incubação foram 36 °C e 150 rpm durante 24 h. Para a fase de produção, foram utilizados 11 tratamentos com diferentes concentrações de ácido butírico e valores de pH, que foram ajustados com NaOH 0,1N e HCl 0,1N. Transferiu-se o inóculo, na proporção de 20%, para frascos *Erlenmeyer* de 500mL contendo o meio líquido mineral de produção F4, que foram incubados em agitador orbital a 36 °C e 200 rpm até 72 h. O crescimento microbiano foi verificado através da determinação da DO, em 600 nm, e da biomassa celular seca (BCS), por gravimetria; transferiu-se os cultivos para tubos Falcon e centrifugou-se os a 10000 g e 4 °C por 15 min. Separou-se os sobrenadantes e secou-se os *pellets* em estufa a 56 °C por 48 h. Realizou-se a extração do P(3HB) da BCS com clorofórmio [40:1(v/m)] a 58 °C em tubo fechado. Verificou-se a maior DO (5,233± 0,153) em 72h com o T2 (3 mM de ácido e pH 5). Para a biomassa celular e rendimento, a combinação T6 (3,615 mM de ácido e pH 6,5) e T10 (1,5 mM de ácido e pH 6,5) obtiveram 1,010g/L (51,43%) e 1,205g/L (45%). A partir desses resultados é possível concluir que é possível elevar a produção de P(3HB) mediante ajuste de pH e adição controlada do precursor ácido butírico, sendo a melhor condição encontrada na combinação 1,5 mM de ácido e pH 6,5.

Palavras-chave: Plástico Biodegradável. Biopolímero. Biomassa. Poli (3 hidroxibutirato).



IDENTIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE LIPÍDEOS NA BIOMASSA MICROALGAL POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO

C. D. G. COUGO^{1*}, L. F. TRIERWEILER¹ e M. FARENZENA¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Rua Engenheiro Luiz Englert, s/nº -Prédio 12204 - CEP:90040-040 - Porto Alegre/RS

*Apresentador: ceciliacougo@gmail.com

Desde 2008, quando a adição do biodiesel ao diesel petroquímico se tornou obrigatória, a produção deste biocombustível aumentou no país. Uma das matérias-primas mais produtivas em teor de óleo (lipídeo) por hectare é proveniente das microalgas, já que estas podem ser cultivadas em terras não aráveis e não competem com a alimentação humana. Os métodos tradicionais utilizados para quantificação dos lipídeos são demorados, envolvem altos custos com reagentes, destroem a biomassa em análise e geram resíduos a serem tratados antes do descarte. Com isso, a busca por métodos rápidos, práticos, que possam ser utilizados em tempo real e que não consumam a amostra vem ganhando espaço nas pesquisas. Uma das alternativas é a utilização do infravermelho médio (MIR), o qual é utilizado para a identificação de moléculas orgânicas a partir do movimento de rotação e vibração dos átomos. Este método quantifica o comprimento de onda e a intensidade de absorção da luz pela amostra. O objetivo deste trabalho é a utilização do MIR para analisar a presença de lipídeos na biomassa microalgal. O cultivo foi realizado em reatores com volume útil de 4,5 L, utilizou-se a espécie *Chlamydomonas* em meio de cultura BG-11, o qual foi mantido por 10 dias, sob foto-período de 12 h claro 12 h escuro. Ao término, o cultivo foi centrifugado a 3500 rpm por 15 min e posteriormente a biomassa foi mantida em estufa a 50 °C por 48 h para secagem. A biomassa seca foi analisada em MIR, utilizando pastilhas de KBr para amplificar o sinal. O espectro gerado foi analisado comparativamente com alguns padrões encontrados na literatura e verificou-se a presença de triglicerídeos e fosfolipídios principalmente por três bandas de absorção, sendo estas em 2948, 1666 e 1086 cm⁻¹ para a microalga *Chlamydomonas* analisada. Em 2948 cm⁻¹ podem-se identificar as moléculas CH₃ e CH₂. A banda de absorção em 1666 cm⁻¹ representa a ligação C=O, característico de lipídeos. O PO₂⁻ característicos dos fosfolipídios podem ser distinguidos no pico de absorção em 1086 cm⁻¹. Portanto foi possível verificar a presença de lipídeos na biomassa de *Chlamydomonas* por meio da análise por MIR. Posteriormente, serão realizados outros testes com diferentes cepas de microalgas, a fim de gerar um método confiável para a análise de lipídeos através do infravermelho médio.

Palavras-chave: *Chlamydomonas*. Método. MIR.



CONCENTRAÇÃO POR ULTRAFILTRAÇÃO (UF) DE COMPOSTO BIOATIVO A PARTIR DE *Morchella esculenta*

C. R. CONTESSA^{1*}, N. B. de SOUZA¹, L. ALMIEDA¹, A. P. MANERA¹ e C. C. MORAES¹

¹ Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, 96413-170 - Bagé, RS – Brasil

*Apresentador: camilaramao@hotmail.com

A classe dos Basidiomycotas é caracterizada pela presença de basídios, estrutura onde ocorre a formação de esporos, que tem por seu representante fungos macroscópicos, os cogumelos. Estes necessitam da absorção de compostos orgânicos para a obtenção de energia para a sua manutenção. Alguns metabólitos produzidos pelos cogumelos podem ser extraídos e usados como antimicrobianos. A purificação destes compostos pode permitir a obtenção de compostos isolados da atividade destes, visando maior eficácia antimicrobiana. Dentre este contexto, o objetivo deste trabalho foi obter e concentrar o composto antimicrobiano a partir do cogumelo *Morchella esculenta* e testar sua atividade frente aos patógenos, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A obtenção do bioativo foi obtida a partir do micélio de *Morchella esculenta*, por ultrafiltração (UF), com membranas porosas com massa molar de corte de 3kDa, 30kDa, 50kDa, 10kDa e 100kDa, técnica que retém compostos com massa molar na faixa de 1kDa a 100kDa. A ação antimicrobiana foi testada pelo método de microplacas descrito na norma NCCLS (2003). Obteve-se com os resultados a maior porcentagem de inibição contra *Staphylococcus aureus* no retido da membrana de 50kDa totalizando 58,99% de inibição. Assim, teve um aumento de mesma magnitude do extrato bruto. Porém, não obteve-se resultados satisfatórios contra *Escherichia coli*, comprovando relatos da literatura, os quais evidenciam que o agente inibidor eficaz contra micro-organismos gram-positivos difere em sua composição do agente inibidor contra gram-negativos. Como conclusão, pode-se afirmar que o tamanho da molécula do composto antimicrobiano, obtido do micélio do cogumelo comestível *Morchella esculenta* é maior que 50kDa, e que o mesmo tem ação antimicrobiana sob *Staphylococcus aureus*.

Palavras-chave: Cogumelo Pantorra. Purificação. Antimicrobiano.



AUMENTO DA EFICIÊNCIA NA MANIPULAÇÃO GENÉTICA EM CIANOBACTÉRIA ATRAVÉS DO USO DE FRAGMENTOS LINEARES DE DNA EM ASSOCIAÇÃO COM INIBIDOR DE EXONUCLEASE

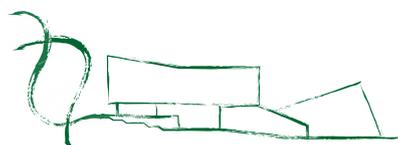
J. G. RIET*, S. B. B MARTENS, C. F. C. LANES, D. V. ALMEIDA e L.F. MARINS

Laboratório de Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande - FURG. Av. Itália, Km 8, 96201-900, Rio Grande, RS, Brasil

*Apresentador: jaderiet@hotmail.com

Cianobactérias têm sido alvos de manipulação genética com objetivo de alterar características fenotípicas de interesse. Em geral, a manipulação genética desses microrganismos está baseada na utilização de vetores plasmidiais, os quais precisam ser construídos através de várias etapas metodológicas como restrição, ligação, transformação bacteriana e purificação. A recombinação homóloga utilizando fragmentos lineares de DNA, produzidos através de reação em cadeia da polimerase (PCR), tem se mostrado uma técnica onde essas etapas são simplificadas. Porém, a inserção de fragmentos lineares de DNA em cianobactérias apresenta alguns obstáculos, como a instabilidade dessas sequências promovida pela produção de exonucleases (DNases) por esses microrganismos. O uso de inibidores de DNases seria uma alternativa para aumentar a eficiência na integração genômica. Desta forma, esse trabalho teve por objetivo testar a eficiência da inserção de DNAs lineares produzidos através de PCR, por recombinação homóloga no sítio neutro I de *Synechococcus elongatus* PCC 7942, utilizando o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) como inibidor de DNase. Para isso, foram produzidos quatro fragmentos lineares correspondentes ao gene de resistência a antibiótico espectinomicina, com diferentes tamanhos de regiões de homologia. O efeito protetivo do EDTA foi avaliado por eletroforese em gel agarose 1% a partir de experimentos onde os fragmentos lineares foram expostos em quatro tempos diferentes de incubação (0 h, 1 h, 2 h, 3 h e 4 h). Uma redução significativa da degradação foi observada através da incubação com EDTA a 40 mM. A integração dos fragmentos lineares contendo o gene da espectinomicina no sítio neutro I de *S. elongatus* foram confirmados por PCR. Adicionalmente, as manipulações com EDTA mostraram maior eficiência no número de transformantes obtidos em relação ao método tradicional com plasmídeo circular. Portanto, a utilização de um inibidor de DNase, como o EDTA, aumenta significativamente a eficiência da transformação de fragmentos lineares por recombinação homóloga em *S. elongatus*, tornando os protocolos de transformação mais simplificados e eficientes.

Palavras-chave: EDTA. Exonucleases. Recombinação homóloga.



DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL SIMPLES 2² PARA AJUSTE DE pH E CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCAR NA FASE DE INÓCULO DE *Ralstonia solanacearum* PARA PRODUÇÃO DE P(3HB)

K. L. MACAGNAN^{1*}, M. I. ALVES², A. A. RODRIGUES¹, M. M. TORRES¹; L. FURLAN³, R. S. RODRIGUES³, P. D. de OLIVEIRA¹, A. S. MOREIRA^{1,2,3} e C. T. VENDRUSCOLO¹

¹ UFPel, CDTEC, Unidade de Biotecnologia, Campus Universitário Capão do Leão, RS, Brasil

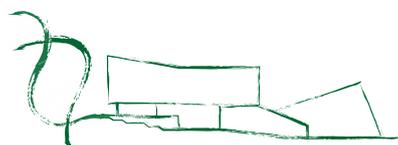
² UFPel, DCTA, Campus Universitário Capão do Leão, RS, Brasil

³ UFPel, CCQFA, Campus Universitário Capão do Leão, RS, Brasil

*Apresentador: karinemacagnan@hotmail.com

Poli (3-hidroxibutirato) [P(3HB)] é um biopolímero plástico biodegradável acumulado no citoplasma bacteriano de alguns microrganismos como inclusões lipofílicas. O processo biotecnológico de síntese do polímero ocorre em duas etapas, sendo a primeira de crescimento celular, em meio de cultura complexo, seguida de uma fase de acúmulo de polímero, que ocorre, normalmente, sob a condição de excesso de fonte de carbono. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da concentração da fonte de carbono (sacarose e glicose) e do pH no meio de cultivo da fase de inóculo da bactéria fitopatogênica produtora de P(3HB) *R. solanacearum*, visando elevar o rendimento em biomassa para se obter, conseqüentemente, maior rendimento de P(3HB). Formulou-se o meio YF para o inóculo segundo Planejamento Experimental tipo delineamento fatorial completo 2², composto de 2 variáveis independentes (x= pH, y= concentração de açúcar) e 3 repetições no ponto central, totalizando 7 tratamentos, em volume de 100 mL de suspensão bacteriana inicial (DO_{600nm} 0,5) contidos em *Erlenmeyers* aletados de 250 mL; as condições foram 32 °C e 250 rpm por 24 h, em agitador incubador orbital. As variáveis independentes foram pH (5 a 8) e concentração de sacarose ou glicose (0 a 70), e a dependente foi a DO_{600nm}, avaliada em triplicata. Analisou-se estatisticamente os dados pelo teste de variância (ANOVA) p < 0,05 utilizando-se o software *Statistica* versão 7.0. Utilizando-se glicose, verificou-se que o pH e a combinação das variáveis tiveram efeito positivo no aumento de biomassa, já a concentração de açúcar não teve efeito significativo. O maior crescimento celular para glicose, DO_{600nm} 8,7, foi obtido com a combinação +1/+1 de pH (8) e açúcar (70g/L). Já para a sacarose, os maiores valores foram obtidos utilizando a combinação dos pontos centrais de pH (6,5) e concentração de açúcar (35g/L), resultando em valor médio de DO_{600nm} de 20,7. Não se verificou efeito das variáveis independentes, para as faixas estudadas, utilizando-se sacarose; apesar disso, foram obtidas as maiores concentrações de biomassa utilizando esse tipo de açúcar. Esse achado é muito relevante, visto o menor preço da sacarose em relação à glicose no Brasil. A partir dos resultados obtidos nesse delineamento experimental simples será desenvolvido um delineamento completo central rotacional (DCCR), para obtenção de superfícies de resposta que indiquem as melhores combinações de pH e concentração do açúcar sacarose.

Palavras-chave: Biopolímero. Bioplástico. Poli(3-hidroxibutirato). Sacarose. Glicose.



PRODUÇÃO DE LACASES POR *Marasmiellus palmivorus* (VE-111) EM BIORREATOR DE AGITAÇÃO MECÂNICA E SUA APLICAÇÃO NA DEGRADAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS

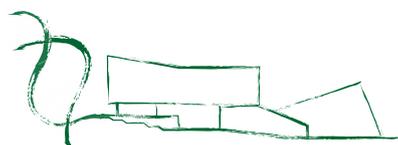
C. CANTELE^{1*}, R. C. FONTANA¹ e A. J. P. DILLON¹

¹ Laboratório de Enzimas e Biomassa, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caixa postal 1352, 95070-560 - Caxias do Sul/RS, Brasil.

*Apresentador: camilacantele@gmail.com

O desenvolvimento de tecnologias de tratamento e de biorremediação eficientes para o controle e redução da poluição da água apresentam um desafio significativo. Uma alternativa de tratamento para as águas residuais de determinadas indústrias, como as têxteis, papelarias e petroquímicas, é a utilização de enzimas lignolíticas. O uso da biodegradação enzimática tem demonstrado ser potencialmente eficaz no tratamento dessa fonte de poluição por causa da baixa energia necessária e o mínimo impacto sobre os ecossistemas. Particularmente, lacases têm demonstrado um grande potencial nessa área por apresentarem uma baixa especificidade de substrato. Essas enzimas são capazes de oxidar uma variedade de substratos aromáticos e não aromáticos por meio da redução simultânea de oxigênio à água. Nesse contexto, foi avaliada a produção de lacases por *Marasmiellus palmivorus* em biorreator de agitação mecânica em diferentes condições de pH: pH não controlado; fixo pH 5,0; 6,0 e 7,0 e controlado após atingir pH 5,0; 6,0 e 7,0. Para os cultivos em biorreator foi utilizado meio de cultivo contendo extrato obtido de 180 g/L de batata, 50 mL/L de solução mineral (MS-20 vezes) e 20 g/L de glicose; sendo conduzidos por 168 h, com amostras retiradas a cada 24 h. Adicionalmente, foi avaliada a capacidade do extrato enzimático em descolorir doze corantes têxteis (*Reactive Blue 220*, *Reactive Red 198*, *Reactive Yellow 15*, *Acid Green 28*, *Acid Blue 80*, *Acid Red 315*, *Disperse Orange 30*, Amarelo Dianix Seg, Azul Marinho S2GRL, Vermelho Reactron 4BL, Preto Remazol B e Rubi Faron RDGFL). Os testes de descoloração foram conduzidos por 24h, em 28°C, utilizando o extrato obtido da condição fixo - pH 7 em 144 h (30 U.mL⁻¹ de lacases). Os controles consistiram na substituição do extrato enzimático por água destilada. Nos cultivos em biorreator, foram obtidos valores superiores de lacases nas condições de pH não controlado (1950,6±42,7 U.mL⁻¹) em 96 h, livre - pH 6 (1901,2±85,5 U.mL⁻¹) em 96 h e fixo - pH 7 (1851,8±0,0 U.mL⁻¹) em 144 h de cultivo. Foram obtidos percentuais de descoloração superiores para os corantes *Reactive blue 220* (93,87±0,09%) e *Acid Blue 80* (89,01±0,29%). Para os demais corantes não foi detectada redução de cor ou essa apresentou percentuais ínfimos. Diante dos resultados, é possível afirmar que esta linhagem de *Marasmiellus palmivorus* apresenta elevada produção de lacases, destacando o seu potencial para aplicação em processos biotecnológicos.

Palavras-chave: Lacases. *Marasmiellus palmivorus*. Biorreator de agitação mecânica. Biorremediação. Corantes têxteis.



PRODUÇÃO DE CELULASES E XILANASES DE *Penicillium echinulatum* S1M29 POR CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO (CES) COM POLPA DE EUCALIPTO COMO FONTE DE CARBONO

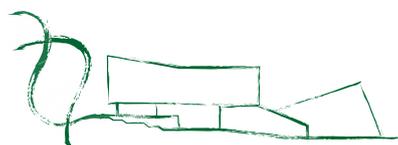
J. VILASBOA^{1*}, E. E. dos REIS¹, R. C. FONTANA¹, A. J. P. DILLON¹ e M. CAMASSOLA¹

¹Laboratório de Enzimas e Biomassa – Instituto de Biotecnologia – Universidade de Caxias do Sul, R. Francisco Getúlio Vargas, 1130, Petrópolis, Caxias do Sul – RS, Brasil.

*Apresentador: jvilasboa@ucs.br

Dentre as fontes renováveis de energia sendo estudadas, destacam-se os materiais lignocelulósicos por sua abundância e potencial biotecnológico. Para que a conversão de biomassa em açúcares fermentescíveis a etanol seja economicamente viável, é essencial que o custo dos preparados enzimáticos seja reduzido. Tendo isso em vista, o cultivo em estado sólido (CES) é uma alternativa de redução de custo de produção, pois possibilita a obtenção de títulos enzimáticos elevados e depende de processos operacionais mais simples, além de diminuir fatores como contaminação e repressão catabólica. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo a avaliação da produção de celulases e xilanases de *Penicillium echinulatum* S1M29 em CES empregando polpa de eucalipto (PE) complementada com farelo de arroz (FA), farelo de trigo (FT) ou farelo de soja (FS), além do efeito da concentração da solução mineral (SM) nas atividades enzimáticas. Os cultivos foram realizados em frascos de vidro contendo 2 g de biomassa (75% PE+25% FA, FS ou FT), 1 mL de suspensão com 1.10^6 esporos/g substrato e 1 mL SM/g substrato, por 120 h a 28 ± 1 °C. Posteriormente, foi realizada extração com tampão citrato de sódio, seguida de filtração e centrifugação. O sobrenadante foi analisado quanto à atividade sobre papel-filtro (FPA), de endo- e exoglicanases, β -glicosidases e xilanases, e à quantidade de proteínas solúveis totais. Ao comparar os resultados de FPA, que representam a atividade sinérgica do complexo celulolítico, obtidos com os diferentes farelos, observou-se que FA ($12,96 \pm 1,2$ U/g) apresentou títulos significativamente superiores a FS ($6,215 \pm 0,183$ U/g) e FT ($5,963 \pm 0,216$ U/g), que não apresentaram diferença entre si. Sendo assim, a condição 75% PE+25% FA foi testada quanto à concentração da SM, empregando diluições de 2 ou 4 vezes. Não houve diferença significativa para nenhuma das enzimas testadas entre as concentrações de SM avaliadas, o que é interessante visando diminuir custos de produção de enzimas, alcançando, com apenas 1/4 da concentração, FPA de $11,81 \pm 0,592$ U/g, endoglicanases de $80,64 \pm 4,5$ U/g, exoglicanases de $100,7 \pm 8,83$ U/g, β -glicosidases de $589,3 \pm 19,56$ U/g e xilanases de $2304 \pm 6,507$ U/g. Os resultados obtidos indicam a possibilidade do desenvolvimento de uma tecnologia de produção de celulases e xilanases de *P. echinulatum* por CES, fazendo uso de misturas de resíduos agroindustriais e viabilizando a produção de etanol de segunda geração e demais produtos de alto valor agregado.

Palavras-chave: *Penicillium echinulatum*. Celulases e xilanases. Cultivo em estado sólido. Materiais lignocelulósicos. Solução mineral.



ANÁLISE EVOLUTIVA DE ELEMENTOS DA SUPERFAMÍLIA BEL/ PAO PRESENTES EM *Leptopilina boulardi*

F. Z. DEZORDI^{1*}, A. F. da SILVA¹, E. L. S. LORETO² e G. L. WALLAU³

¹Laboratório de Proteômica Aplicada - Universidade Federal do Pampa, Rua Aluizio Barros Macedo, Br 290, km 423 Bairro Pirai, São Gabriel - RS

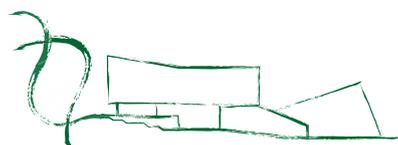
²Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima nº 1000, Cidade Universitária Bairro Camobi, Santa Maria - RS

³Departamento de Entomologia, Fundação Oswaldo Cruz-CQqAM, Av. Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, Recife - PE

*Autor apresentador: zimmer.filipe@gmail.com

Elementos transponíveis (TEs, do inglês *Transposable Elements*), foram descobertos em milho (*Zea mays*) por McClintock na década de 1940 e, posteriormente, caracterizados em dois grandes grupos baseado no seu sistema de transposição. Desde então, esses elementos têm sido descritos em uma grande variedade de eucariotos, tendo importância crucial para a evolução destes organismos, atuando, por exemplo, no desenvolvimento de sistema imunológico e na constituição de cromossomos. Estas modificações geralmente estão associadas à mobilização desses elementos dentro dos genomas e eventual domesticação destes elementos. Vespas parasitoides são fortes candidatos como organismos modelo no estudo de processos de Transferência Horizontal de Transposons, (HTT, do inglês *Horizontal Transposon Transfer*), uma vez que durante a inoculação do veneno são inoculadas juntamente a partículas virais que atuam na queda do sistema imunológico do hospedeiro, e essas partículas virais podem atuar como vetores para TEs. Análises preliminares determinaram a existência de elementos pertencentes a 15 superfamílias distintas no genoma de *Leptopilina boulardi*, sendo uma delas a Bel/Pao, uma superfamília de elementos com história evolutiva contraditória e pouco compreendida. Desta forma, esse trabalho tem como objetivo a análise da história evolutiva de elementos da superfamília Bel/Pao. Foi realizada uma análise de proteínas presentes na estrutura de elementos da superfamília Bel/Pao descritos na literatura, e a partir das sequências presentes no genoma da vespa e das provenientes da literatura foram utilizados *softwares* para alinhamento (MAFFT Alignment), melhor modelo de substituição de aminoácidos (ProtTest) e montagem da árvore filogenética (PhyML 3.0). Ocorreu a formação de três clados envolvendo elementos Bel/Pao de *Leptopilina boulardi* com elementos BEL-7 e BEL-3 da formiga de fogo (*Solenopsis invicta*) e com elemento Roo de mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*), com alto suporte de ramo aLRT (de 0.94 ~ 1). Apesar desses organismos pertencerem a superfamílias diferentes, não se pode afirmar que ocorreram processos de HTT, pois existe a possibilidade de eventos de co-evolução dos elementos transponíveis e seus hospedeiros, dessa forma análises de filogenia cruzada, distribuição desigual de TEs ou similaridade de sequência destes TEs são necessárias para corroborar ou refutar a ocorrência de processos de HTT entre os elementos de diferentes organismos agrupados na filogenia.

Palavras-chave: Bioinformática. Elementos transponíveis. Vespa. Filogenia.



AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS FÚNGICAS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO

L. R. LASTE^{1*}, M. RODRIGUES¹, C. A. GRÄFF¹, C. F. V. de SOUZA¹ e N.J. FERLA¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, Lajeado/RS, Brasil

*Apresentador: lari_laste@hotmail.com

A espécie *Isaria fumosorosea* compreende um fungo entomopatogênico empregado no controle biológico de insetos e ácaros. Seu mecanismo de infecção, assim como de outros fungos entomopatogênicos, se dá pela produção de enzimas extracelulares que atuam na degradação do exoesqueleto do hospedeiro. O objetivo do presente estudo foi avaliar a produção de biomassa, proteínas e enzimas do fungo *I. fumosorosea* em diferentes meios líquidos, bem como verificar a influência do pH e da temperatura sobre a produção enzimática de proteases, lipases, N-acetilglucosaminidases e quitinases sintetizadas pelo mesmo. O fungo *I. fumosorosea* CCT 5825 foi repicado em placas de petri e utilizado para preparar a suspensão de esporos da qual foram retirados 1×10^8 esporos para inocular em meios líquidos contendo cutículas do ácaro *Panonychus ulmi* (CPu) ou N-acetilglucosamina 0,5% (NAG) ou quitina coloidal 0,5% (QUI). O cultivo foi conduzido durante 72 horas a 25°C em incubadora com agitação orbital a 180 rpm. A solução enzimática bruta obtida foi filtrada, para a determinação da biomassa pelo método gravimétrico, com secagem em estufa a 105°C, e centrifugada a 10.000 rpm, durante 7 minutos a 10°C. O sobrenadante foi submetido a determinação do teor de proteínas totais. O maior e o menor valor de biomassa obtido foram, respectivamente, para o cultivo NAG, 1,74 g/L, e para o cultivo CPu, 0,67 g/L. Na determinação das proteínas totais, o meio NAG também apresentou a maior produção de 0,20 mg/mL, enquanto que no meio CPu essa concentração foi de 0,07 mg/mL. Os valores obtidos permitem correlacionar esses dois fatores, onde maiores produções de biomassa resultaram em maiores teores de proteínas. As análises de N-acetilglucosaminidases, proteases, quitinases e lipases estão em andamento, mas conforme os resultados prévios de proteínas totais, espera-se obter uma elevada concentração para pelo menos um dos quatro tipos de enzimas citados. A partir dos resultados obtidos nesse estudo pretende-se propor um possível mecanismo para infecção e controle do ácaro *P. ulmi* utilizando o fungo *I. fumosorosea*.

Palavras-chave: Biotecnologia. Controle biológico. *Isaria fumosorosea*. *Panonychus ulmi*.



LISE CELULAR MECÂNICA POR IRRADIAÇÃO ULTRASSÔNICA EM CULTIVO DE MICROALGAS

M. BREDA^{1*}, J. L. NONNENMACHER¹, W. MICHELON², A. MATTHIENSEN³, R. L. CANSIAN¹ e S. S. ROMAN¹

¹ URI Erechim, Av. Sete de Setembro 1621, CEP 99709-910, Erechim-RS, Brasil

² Universidade do Contestado – Campus Concórdia, Rua Victor Sopesla 3000, Bairro Salete, CEP 89700-000, Concórdia-SC, Brasil

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Suínos e Aves, Rod. BR153 s/nº, CEP 89700-991, Concórdia-SC, Brasil

Microalgas são organismos unicelulares que realizam fotossíntese, responsáveis por cerca de metade da produção do oxigênio atmosférico, e recebe atenção por sua habilidade em acumular macronutrientes, como proteínas, lipídios e carboidratos. Sua composição bioquímica celular pode variar sob condições de cultivo (pH, luz e temperatura) e variações nas concentrações de nutrientes (N e P). Um dos usos potenciais de um cultivo de microalgas é sua utilização como suplemento alimentar na criação de animais. Porém, dependendo da microalga cultivada, nem sempre os macronutrientes algais são eficientemente utilizados quando ingeridos com as células intactas em animais monogástricos, sendo necessário métodos para o rompimento celular. Com isso, o objetivo do estudo foi o cultivo e a padronização da lise celular mecânica, através de experimentos com o tempo de sonicação de um extrato liofilizado contendo *Chlorella* spp. e *Scenedesmus* spp. O consórcio de microalgas foi obtido de uma lagoa facultativa empregada como processo de tratamento terciário, localizada na EMBRAPA Suínos e Aves (Concórdia, SC). O experimento foi realizado em escala piloto numa casa de vegetação sob luz natural ($90\text{-}733 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e temperatura ambiente ($15,4\text{-}48^\circ\text{C}$). O reator foi inoculado com 30% v/v ($\approx 70 \text{ mg L}^{-1}$) de microalgas. O meio de cultivo foi preparado com 6% (v/v) do efluente proveniente da saída do reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), diluído em água. Após 7 dias a biomassa foi separada por centrifugação. As células foram ressuspensas em água livre de nutrientes. Após 25 dias de privação de nutrientes a biomassa foi novamente centrifugada, coletada e liofilizada (JJ Científica, LJI-030, Brasil). O extrato foi padronizado utilizando como solvente o metanol e solução salina 0,9%. Foram colocados 0,005g do material liofilizado em 15ml do solvente em banho de gelo para a lise celular mecânica em equipamento ultrassônico (QSonica Ultrasonic Processor Q700). A configuração foi mantida em amplitude 50%, sendo avaliados diferentes tempos de lise mecânica (20, 30, 40, 50, e 420 segundos). Após, as amostras foram centrifugadas a 2500rpm por 5min, e a absorbância foi verificada no comprimento de onda 570nm. A amostra com o tratamento de 50s em solução salina apresentou a melhor desagregação de células e desintegração de parede celular, propiciando uma suspensão homogênea, observado pela maior absorbância (0,174) em consequência da maior liberação do conteúdo intracelular no meio.

Palavras-chave: Lise Celular Mecânica; Células; Irradiação ultrassônica; Microalgas;



AVALIAÇÃO DO CAPIM ELEFANTE POR TRATAMENTO ÁCIDO, E ENZIMÁTICO COMO BIOMASSA ALTERNATIVA PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

C. SANTOS^{1*}, C. SANT'ANNA¹ e M. BRIENZO²

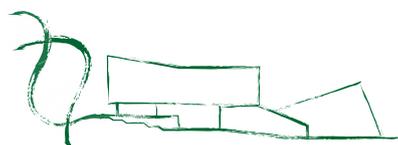
¹ Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), Av. Nossa Senhora das Graças, nº 50, Xerém, Duque de Caxias, RJ.

² Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN) – Universidade Estadual Paulista (Unesp), Rua 10, nº 2527, Bairro Santana, Rio Claro, SP.

*C. Santos: chaysantos@gmail.com

Considerando as mudanças climáticas ocasionadas pelas emissões geradas a partir do uso dos combustíveis fósseis, redução das reservas de petróleo, entre outras razões, torna-se imprescindível a busca por novas fontes de energia. O etanol produzido a partir de biomassas lignocelulósicas, é bastante competitivo e considerado uma das principais promessas para substituir os combustíveis originários do petróleo. Porém, tornam-se necessárias etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática. O pré-tratamento com ácido diluído é conduzido sob alta temperatura e pressão, se apresenta como uma boa opção por ser relativamente uma solução mais barata, menos corrosiva em relação a outros ácidos e por sua rápida taxa de reação. Dentre os materiais lignocelulósicos, o capim-elefante se destaca pelo seu elevado potencial por ser uma espécie de alto crescimento e alta produção de biomassa vegetal, que necessita de pequenas áreas de terra para o seu plantio, auxilia na diminuição de gases de efeito estufa, já que absorve altas taxas de liberados na atmosfera, além de apresentar em sua estrutura morfológica, teor de fibras favorável ao estudo da produção de bioetanol. Nesse contexto, o presente trabalho estudou os efeitos do pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído (5, 10 e 20% m/m) sobre as frações de folha, colmo e mistura de ambas do capim-elefante, além do rendimento da hidrólise enzimática nas mesmas para então serem comparadas com os materiais *in natura*. O pré-tratamento foi eficaz, tendo em vista que a solubilização da hemicelulose atingiu valores consideravelmente expressivos. Após a etapa de pré-tratamento foi realizada a hidrólise enzimática da celulose com a utilização de enzimas celulolíticas para a obtenção de açúcares fermentáveis. Nesse processo, a hidrólise foi realizada em diferentes tempos (2, 4, 6, 8, 16, 24 e 48 h). Foi possível observar um aumento na quantidade de massa de glicose/massa de material em todas as amostras estudadas quando comparadas com as amostras *in natura*. Também foram realizadas análises por difração de raios-X com o propósito de avaliar os efeitos do pré-tratamento sob as frações. Observamos que o índice de cristalinidade aumentou em todos os casos, fato que pode estar relacionado com a solubilização das frações amorfas, que é aumentada na etapa de pré-tratamento. Para analisar as mudanças morfológicas sofridas pelas frações do capim-elefante, foi empregada a técnica de microscopia eletrônica de varredura.

Palavras-chave: Etanol. Capim elefante. Frações. Pré-tratamento. Hidrólise enzimática.



IMPLEMENTAÇÃO DO ENSAIO DE ABSORÇÃO CUTÂNEA (TG 428 OECD) COMO ALTERNATIVA AO USO DE ANIMAIS NO INMETRO

L. R. de O. GEAQUINTO^{1*}, V. SOUZA¹ e L. B. BALOTTIN¹

¹ Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, Av. Nossa Senhora das Graças, 50, Xerém – Duque de Caxias – RJ, CEP: 25250020

*Apresentador: luthsraquel@gmail.com

A utilização de animais em experimentação é cada vez mais limitada no cenário atual, tanto por questões éticas quanto científicas. Tendo início com a proposição em 1959 do princípio dos 3R's (*Refinement, Reduction and Replacement*), atualmente o uso de animais tem sido proibido em diversos países, quando métodos alternativos ao seu uso estão disponíveis para o desenvolvimento e avaliação de segurança dos produtos cosméticos. No Brasil, em 2012, foi estabelecida a Rede Nacional de Métodos Alternativos ao Uso de Animais (RENAMA), e o INMETRO é um dos laboratórios centrais desta rede com atribuições relativas à implementação de métodos alternativos, disseminação e melhoria técnica dos protocolos de ensaio. Este trabalho tem por objetivo implementar o método *in vitro* OECD TG 428, onde podem ser utilizadas membranas sintéticas, peles de porco, de rato ou até mesmo pele humana proveniente de restos de cirurgias plásticas. No presente trabalho, são utilizadas membranas sintéticas de polissulfona, substituindo o uso de animais (*Replacement*), para a permeação de cafeína com método analítico desenvolvido no INMETRO por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD). A permeação da substância foi medida pela análise cromatográfica do fluido receptor (PBS 0,01 M, pH 7,4) em diferentes tempos de amostragem (0:30 - 4:00 horas) realizado em células de Franz. Os experimentos analíticos foram realizados em sistema UHPLC-DAD (THERMO Dionex), a separação cromatográfica foi obtida em coluna Pursuit 5 (C18 150x2.0 mm - VARIAN) variando-se a composição da fase móvel, em um gradiente binário de MEOH e H₂O com vazão - 0,3 mL.min⁻¹, volume de injeção - 2 µL, temperatura da coluna - 30 °C, comprimento de onda - 273 nm e tempo de retenção - 8,0 min. Os resultados foram obtidos através da média da triplicata da área do cromatograma. A curva analítica varia nas concentrações de 100 a 1000 mg.L⁻¹ e apresenta linearidade dentro de sua faixa de aplicação obtendo-se R² > 0,997. Com isso o ensaio OECD TG 428 é implementado no INMETRO, pois se mostra adequado para avaliar a permeação cutânea de substâncias em produtos dérmicos, o que evidencia a importância dos métodos alternativos, possibilitando a substituição de métodos *in vivo* por *in vitro* quanto ao uso dispensável de animais.

Palavras-chave: Permeação. Pele. Difusão. Animais. CLAE.



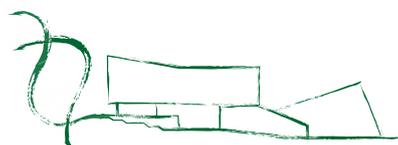
IMOBILIZAÇÃO DE B-GLICOSIDADE DE COTILÉDONES DE SOJA EM SUPORTES NATURAL E SINTÉTICO

A. C. V. FERREIRA¹, A. A. MOREIRA¹ e M. L. L. RIBEIRO¹

¹Universidade Estadual de Londrina – Departamento de Bioquímica e Biotecnologia- Caixa Postal 6001 – 95070-560 Londrina – PR-
E-mail: maraluciaribeiro@uel.br

Sistemas de enzimas imobilizadas têm sido desenvolvidos para viabilizar o processamento industrial, selecionando um suporte adequado que possibilite a manutenção da atividade da enzima. β -glicosidases podem ser aplicadas em diferentes setores industriais, especialmente em alimentos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi imobilizar β -glicosidade de soja em suportes naturais (bagaço de cana, alginato de sódio) e suporte sintético (nylon). A β -glicosidase foi extraída de farinha de cotilédones de soja com tampão fosfato de sódio 100 mM, pH 6,6 para obtenção do extrato bruto (EB). O EB foi fracionado com sulfato de amônio (40–85% de saturação a 4 °C) resultando no extrato de enzima (EE) com atividade específica de β -glicosidase de $8,17 \cdot 10^{-3} \text{ UA mg}^{-1}$. Em 1 g de bagaço de cana (tratado com NaOH 500 mM, autoclavado a 121 °C por 15 min) foi adicionado $0,7 \text{ mg mL}^{-1}$ de proteínas do EE, em tampão fosfato de sódio 200 mM, pH 7, incubados por 6 h a 4 °C e 70 rpm. Para produção de esferas, 1 mg mL^{-1} de proteínas do EE, em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 5, foram misturadas em alginato de sódio 3%, gotejadas em CaCl_2 50 mM, agitadas por 30 min e 70 rpm e mantidas em repouso por 16 h a 4 °C. A imobilização em nylon (previamente hidrolisado com HCl 600 mM; ativado com glutaraldeído 2,5%, pH; polietilenoimina 1 % a 37 °C, pH 8; solução de aminoácidos $2,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e reativado com glutaraldeído 2,5%) ocorreu com a incubação de $0,7 \text{ mg mL}^{-1}$ de proteínas do EE, em tampão fosfato de sódio 100 mM, pH 8 por 18 h a 4 °C em 70 rpm e posterior incubação com tetrahidreto borato de sódio 100 mM por 30 min, 180 rpm a 20 °C e lavagem com NaCl 1000 mM com 0,5% (v/v) de Tween 80. A eficiência de imobilização (%) dos sistemas catalíticos foi expressa como (atividade específica da enzima imobilizada/atividade específica da enzima livre) $\times 100$. A atividade foi determinada com substrato ρ -nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo (ρ -NPG) e o teor de proteínas determinado com padrão de albumina de soro bovino. A análise de variância (ANOVA) e teste de tukey ($p \leq 0,05$) dos resultados foram avaliados no programa Estatística 7.0. A eficiência de imobilização da β -glicosidase foi superior para o suporte bagaço de cana (79%) em relação às esferas de alginato (50%) e nylon (0,66%). Portanto, o bagaço de cana, que é um resíduo da agroindústria, pode ser proposto como suporte para produção de um sistema catalítico econômico e com condições de processamento simples comparado ao alginato e nylon.

Palavras-chave: β -glicosidase. Imobilização de enzimas. Nylon. Bagaço de cana. Alginato.



PROCOLOS PARA EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO TOTAL DO SOLO

N. de ANDRADE^{1*}, M. BARBIERI¹, C. B. BEVILACQUA¹ e Z. I. ANTONIOLLI¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima, nº 1000, Cidade Universitária, Centro de Ciências Rurais, Prédio 42, sala 3318a

*Apresentador: narianedeandrade@hotmail.com. Bolsista do Programa de Educação Tutorial – PET Agronomia.

O solo, como um ecossistema complexo possui uma grande diversidade de microrganismos. O objetivo do presente trabalho foi estabelecer uma metodologia para a extração de DNA genômico total do solo. Para estabelecer a metodologia foram utilizadas amostras de solo coletadas na estação experimental FEPAGRO em Júlio de Castilhos/RS. Ao volume de 5 gramas de solo foi adicionado 13,5 mL de tampão de extração de DNA (Tris 100 mM-HCl (pH 8,0), NaCl 1,5 M, 1% de CTAB) e 100 µL de proteinase K (10 mg mL⁻¹), e centrifugados durante 30 minutos a 37°C, sob agitação de 225 rpm. Após o tratamento de agitação, foi adicionado 1,5 mL de SDS a 20% e em seguida as amostras foram incubadas em banho-maria a 65°C durante 2 horas com inversões suaves a cada 15 minutos. O sobrenadante foi centrifugado (5100xg durante 10 minutos, o procedimento foi repetido três vezes intercalado por transferência do sobrenadante para tubos novos. Após foi adicionada 1 volume de clorofórmio álcool-isoamílico (CIA) (24:1), o qual foi homogeneizado até formar uma emulsão seguido de centrifugação (5100xg por 10 minutos). A fase aquosa formada foi transferida para um novo tubo e foi adicionado 1 volume de isopropanol gelado, responsável por precipitar o DNA. Foram realizadas leves inversões nos tubos durante 1 minuto e após centrifugado novamente a 5100xg durante 15 minutos. O precipitado foi lavado com 800 µL de etanol 70% e novamente a amostra foi centrifugada a 5100xg. Então, o sobrenadante foi descartado e mantido a temperatura ambiente para secagem por 15 minutos. O DNA presente no pellet foi ressuscitado em 200 µL de água milli-q. As variações nos 03 protocolos testados foram: diferentes tempos de centrifugação, diferentes reagentes e diferentes volumes destes. A qualidade do DNA foi avaliada com o auxílio da técnica de eletroforese utilizando gel de agarose a 1%. Para aferição da qualidade e quantidade de amostra foi utilizado um equipamento espectrofotômetro Picodrop®. Foram considerados como resultados satisfatórios aqueles que obtiveram quantidade de DNA acima de 40ng/µL, com grau de pureza entre 1,8 a 2,2 sob comprimento de onda 260/280 nm. A partir das comparações das metodologias, o protocolo que apresentou melhores resultados foi o que utiliza 800 µL de etanol 70% para lavar o pellet, bem como, isopropanol gelado para precipitar o DNA.

Palavras-chave: Biologia molecular. Biotecnologia. Comunidade edáfica. Isolamento de DNA.



ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE LACTOBACILLUS FRENTE A MICRO-ORGANISMOS PATOGÊNICOS PRESENTES EM PRODUTOS LÁCTEOS FERMENTADOS

K. SCHNEIDER^{1*}; J. M. L. N. GELINSKI² e C. M. BARATTO³

¹Núcleo de Biotecnologia, PPG Mestrado Acadêmico em Ciência e Biotecnologia, Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Videira – SC, Brasil; - Mestranda/Bolsista PROSUP - CAPES.

²Núcleo de Biotecnologia, PPG Mestrado Acadêmico em Ciência e Biotecnologia, Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Videira – SC, Brasil.

³Núcleo de Biotecnologia, PPG Mestrado Acadêmico em Ciência e Biotecnologia, Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Videira – SC, Brasil.

*Apresentador: schneiderketlin@gmail.com

O gênero *Lactobacillus* é empregado na fabricação de produtos lácteos com a função de melhorar a segurança do produto controlando agentes patogênicos pela competição entre eles. Assim, nos últimos anos as pesquisas para a seleção de culturas com a capacidade de produzir bacteriocinas antagônicas às bactérias patogênicas têm se intensificado com o principal intuito de manutenção da segurança alimentar. O presente trabalho teve por objetivo selecionar *Lactobacillus* sp. com atividade antimicrobiana sobre os principais patógenos veiculados por produtos lácteos fermentados. Os isolados foram testados quanto as suas características morfológicas e características bioquímicas: produção de gás, teste de catalase, produção de diacetil e fermentação de carboidratos. Foram testados para a produção de substâncias antimicrobianas 88 linhagens de bactérias lácticas isoladas de salame colonial tipo italiano produzidos na região meio oeste de Santa Catarina, como indicadores de sensibilidade foram utilizados *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* Scott A, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Typhimurium a atividade foi determinada utilizando o meio de difusão em poços. Quanto as características morfológicas e bioquímicas, 86 isolados apresentaram-se na forma de bacilos e 2 isolados apresentaram-se com a morfologia de cocos, Gram positivos, catalase negativa, homofermentativos, não produtores de diacetil e capazes de fermentar glicose, lactose, sacarose e sorbitol. Dos 88 isolados testados, 40 isolados apresentaram atividade frente a pelo menos um dos indicadores utilizados, 50% inibiram *E. coli*, 55% inibiram o crescimento de *L. monocytogenes*, 57,5% inibiram *S. aureus*, 47,5% inibiram o crescimento de *Salmonella* Typhimurium, e 20% dos 40 isolados apresentaram atividade frente a todos os indicadores utilizados no estudo. Conclusão: Oito das linhagens testadas apresentam atividade frente a quatro micro-organismos patogênicos veiculados por produtos lácteos fermentados, evidenciando potencial como cultura bioprotetora na fabricação de produtos lácteos fermentados.

Palavras-chave: Bacteriocinas. *Lactobacillus*. Patógenos de alimentos. Cultura bioprotetora.



CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA E EVOLUTIVA DE ELEMENTOS TRANSPONÍVEIS: UMA NOVA ABORDAGEM UTILIZANDO DIRETAMENTE READS DE SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO

A. F. SILVA^{1*}, F. Z. DEZORDI¹, E. L. S. LORETO² e G. L. WALLAU³

¹Laboratório de Proteômica Aplicada - Universidade Federal do Pampa, Rua Aluísio Barros Macedo, Br 290, km 423 Bairro Piraiá, São Gabriel - RS

²Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima nº 1000, Cidade Universitária Bairro Camobi, Santa Maria - RS

³Departamento de Entomologia, Fundação Oswaldo Cruz-CpqAM, Av. Professor Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, Recife - PE

*Autor apresentador: alexfreitasbiotec@gmail.com

Elementos transponíveis (TEs do inglês *Transposable Elements*) são genes móveis, com capacidade de replicarem-se e moverem-se de um local cromossômico para outro dentro de um genoma. Eles estão presentes na maioria dos genomas estudados, desde bactérias até animais e constituem grandes proporções dentro deles. Segundo Kapitonov e Jurka, 2008 os TEs são classificados em Tipo 1, compreendendo os TEs que se mobilizam através de intermediários de DNA e de Tipo 2 que utilizam RNA, também chamados de retrotransposons. Os retrotransposons são subdivididos em elementos com LTRs ou sem LTRs. Devido a mobilização realizada pelos TEs, eles podem gerar alterações no genoma, podendo atuarem em processos mutagênicos, expansão genômica e conseqüentemente a evolução do mesmo. A caracterização dos TEs iniciaram-se, através de estudos de bancada, envolvendo técnicas básicas de biologia molecular, com baixo potencial para uma caracterização global. Atualmente, com aprimoramento das técnicas de sequenciamento proporcionaram uma maior investigação do conteúdo de TEs presentes e sua caracterização em larga escala. A partir da bioinformática é possível realizar a caracterização de TEs através de duas abordagens, por homologia utilizando genomas montados e buscas em banco de dados; e a abordagem *Ab initio*, podendo utilizar genomas não montados. Atualmente existe o *RepeatExplorer*, uma nova ferramenta, que utiliza ambas as abordagens, a partir do uso das leituras do sequenciamento diretamente com alto desempenho. Diante disso, o trabalho teve como objetivo realizar a caracterização genômica e evolutiva dos TEs presentes nos genomas de *Leptopilina boulardi* e uma vespa pertencente à família *Braconidae*. Para a caracterização genômica a partir dos *reads* utilizou-se a ferramenta *RepeatExplorer*; para a caracterização evolutiva, utilizou-se as ferramentas *ORF Finder* para análise das sequências dos genomas e sequências homólogas recuperadas do *NCBI* e *Rebase*, a ferramenta *MAFFT* para alinhamento das sequências, *Protest 3.4* e *PhyML* para reconstrução das filogenias. Foi possível caracterizar 15 superfamílias de TEs em *L. boulardi* e 18 superfamílias em *Braconidae* e foi possível reconstruir a história evolutiva das superfamílias *Copia* e *Penelope*. Diante disso, pode-se observar que a abordagem mostrou-se eficiente, devido à capacidade de caracterizar muitos elementos transponíveis no genoma de ambas as vespas estudadas, além de verificar filogeneticamente o padrão evolutivo desses elementos.

Palavras-chave: Bioinformática. Elementos transponíveis. Vespas. Filogenia.



PRODUÇÃO DE NANOCELULOSE MODIFICADA PARA CONJUGAÇÃO MULTIPROPÓSITO

S. A. OLIVEIRA^{1*}, R. M. RIBEIRO-VIANA¹, P. C. S. FARIA-TISCHER e C. A. TISCHER¹

¹ Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid - PR 445 Km 380, s/n - Campus Universitário, Londrina - PR, 86057-970).

*Apresentador: sa_oliveira@hotmail.com

A celulose possui em sua estrutura hidroxilas livres passíveis de modificação química. Nanocristais de celulose são produzidos através de hidrólise ácida, com intuito de formar um material com melhor adesão na interface nanomaterial e matriz. A celulose bacteriana, produzida pela bactéria *Gluconoacetobacter xylinus*, gera nanofibras específicas quanto ao número de unidades, diâmetro e propriedades. Nanocelulose (NCW) foi produzida e caracterizada a partir de membranas de celulose bacteriana, estas foram modificadas para receber um grupo ácido de ácido succínico que pode por sua vez foi conjugada com colágeno hidrolisado. Membranas de celulose produzidas em meio de glicose foram hidrolisadas com ácido sulfúrico 64%, neutralizada com hidróxido de sódio 25%, o produto foi dialisado com água destilada e liofilizado, e denominado NCW. Este material foi succinilado com anidrido succínico (NCW-Suc); para acoplar o colágeno-hidrolisado, este foi submetido a agentes de acoplamento NHS/EDC em meio aquoso para formar um espaçador capaz de conjugar os nanocristais de celulose com a proteína teste (NCW-Col). Ao final de cada etapa das reações envolvidas, os materiais foram caracterizados utilizando técnicas de espectroscopia no infravermelho, ressonância magnética ¹³C no estado sólido e microscopia de força atômica. Os dados espectroscópicos confirmam a identidade do nanocristal NCW-Su, com a presença de uma banda em aproximadamente 1730 cm⁻¹ de C=O no infravermelho e desdobramento de sinais de carbonila e metileno no RMN ¹³C, indicando que o material foi succinilado. Após a reação com colágeno foi verificado banda de amida no infravermelho, indicando a incorporação da proteína NCW-Col. A modificação da superfície desses nanocristais amplia o campo de aplicações, pois formam compósitos poliméricos de propriedades distintas. As modificações podem ser realizadas pela conjugação de diferentes biomoléculas, como proteínas e enzimas, fármacos ou outros compostos com grupos aminos disponíveis.

Palavras-chave: Nanomaterial. Celulose bacteriana. Nanocelulose. Microscopia eletrônica. Ressonância magnética nuclear.



AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE E IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS ISOLADOS EM SALA DE DANÇA

M. G. BAHLIS* e S. T. VAN DER SAND

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Sarmento Leite, 500

*Apresentador: mari.bahlis@gmail.com

Infecções em atletas que praticam esportes em ambientes fechados são bastante conhecidas, mas poucos são os estudos sobre dançarinos e riscos a que podem estar expostos. A umidade e o calor gerados no ambiente pelo grande esforço dos dançarinos proporcionam um ambiente ótimo para a propagação de microrganismos, dessa forma, estão expostos a microrganismos que podem ser patogênicos. Os fungos são constituintes do ambiente, mas podem ser encontrados na microbiota humana e apesar de serem, em sua maioria, considerados inofensivos, podem ser patógenos oportunistas. As infecções podem ser adquiridas por vários meios de transmissão, entre estes o ar, vestimentas e equipamentos contaminados. Este trabalho procura avaliar a diversidade de microrganismos carregados pelo ar na sala de aula prática do curso de graduação em Dança da UFRGS. Para isso foram realizadas duas coletas, na sala de aula de dança, onde placas com os meios de cultura Agar padrão para contagem de heterotróficos (PCA) e Agar batata dextrose (BDA) foram deixadas abertas por 30 e 60 min. em quatro pontos ao redor da sala. As placas com meio PCA foram incubadas a 28 °C por 48 h, e as de BDA a temperatura ambiente por sete dias. Após o período de incubação foi realizada a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL) e diversidade de fungos. As bactérias foram isoladas e armazenadas -20 °C em criotubos contendo glicerol 20% para futuros testes. Os fungos foram isolados e identificados por morfologia de colônia e microcultivo em nível de gênero. Não foi observada diferença significativa entre os tempos de coleta de 30 e 60 min. Foram isolados 47 fungos, dos quais 15 foram identificados por morfologia e classificados em seis gêneros: *Cladosporium* (1), *Curvularia* (3), *Paecilomyces* (1), *Pestalotiopsis* (1), *Penicillium* (5), *Trichoderma* (4)). Foram encontrados fungos ambientais que podem ser patógenos oportunistas como *Cladosporium* e *Trichoderma* que podem ser causadores de lesões no trato respiratório e alergias, e *Paecilomyces* e *Penicillium*, que podem causar lesões na pele e trato respiratório. A presença desses microrganismos gera um alerta aos cuidados com higiene da sala e saúde dos bailarinos. Mais estudos estão sendo realizados para identificação dos fungos em nível de espécie utilizando técnicas moleculares.

Palavras-chave: Fungos. Morfologia. Sala de dança.



ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Campomanesia xanthocarpa* FRENTE A *Pseudomonas aeruginosa*

L. A. PACHECO^{1*} e E. M. ETHUR¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, Lajeado/RS, 95900-000

*e-mail leandrapacheco@universo.univates.br

A utilização de plantas medicinais para cura ou prevenção de doenças é uma técnica antiga utilizada pela população e ocorre ainda nos dias atuais. Devido à ação destas plantas, busca-se saber acerca de seus constituintes ativos. Para este estudo utilizou-se a *Campomanesia xanthocarpa*, uma planta conhecida popularmente como guabiroba e que é empregada na medicina popular com efeito em distúrbios gastrointestinais, doenças infecciosas e estados hemorrágicos. Ainda buscou-se avaliar quanto a sua ação frente a *Pseudomonas aeruginosa*, um bacilo Gram-negativo difícil de ser tratado. Para o presente estudo foram preparados os extratos aquoso e metanólico das folhas de *Campomanesia xanthocarpa*. O perfil fitoquímico dos extratos foi determinado por método colorimétrico ou de precipitação específicas, sendo avaliados a “presença” ou “ausência” dos seguintes grupos de metabólitos secundários: taninos, flavonoides, esteroides, saponinas, alcaloides e antraquinonas. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de microdiluição em caldo. O perfil fitoquímico dos extratos indicaram a presença de taninos, flavonoides, esteroides e saponinas. Diante dos microrganismos estudados os extratos apresentaram atividade bactericida e bacteriostática, porém em concentrações elevadas sendo de 20 mg/mL para atividade bactericida e de 10 mg/mL para atividade bacteriostática. Frente aos resultados obtidos, os extratos foram eficientes contra *Pseudomonas aeruginosa* tanto para a cepa ATCC quanto os isolados clínicos 1 e 2. O isolado clínico dois apresentou resistência ao padrão antibiótico em todas as concentrações, possivelmente devido a sua maior virulência. Isso indica uma maior eficiência dos extratos, em comparação com a gentamicina, nas concentrações utilizadas. A ação antimicrobiana dos extratos metanólico e aquoso pode estar relacionada com a presença de taninos, flavonoides, esteroides ou saponinas, metabólitos secundários encontrados nos extratos e tipicamente relacionados à atividade antimicrobiana. É importante ressaltar que foram utilizados extratos brutos, que são misturas complexas de metabólitos secundários e, se fracionados, poderão apresentar valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) muito menores.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana. *C. xanthocarpa*. *P. aeruginosa*. CIM.



PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA LIPASE OBTIDA DE PSEUDOZYMA HUBEIENSIS E APLICAÇÃO NA BIOCATALISE DE BIODIESEL

S. ANDRADES DA ROSA^{1*}, A. PASINATO NAPP¹, J. E. PEREIRA¹ e M. HENNING VAINSTEIN¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia, Laboratório de Fungos de Importância Médica e Biotecnológica
- Av. Bento Gonçalves, 9500 Prédio 43421 - Setor IV - Campus do Vale - Centro de Biotecnologia - Sala 220 - CxP. 15005 - CEP
91501-970

*Apresentador: solondarosa_andrades@hotmail.com

Os biocombustíveis são alternativas renováveis e sustentáveis tão eficientes quanto os análogos de origem fóssil, apresentando propriedades físico-químicas semelhantes e características superiores como a biodegradabilidade. Um biocombustível que merece destaque é o biodiesel. Obtido por reações de esterificação/transesterificação de óleos e gorduras com álcoois de cadeia curta, por via química ou enzimática. A catálise enzimática apresenta vantagens em relação a química, necessitando de condições menos extremas, as enzimas podem ser recuperadas e não necessita de matérias-primas purificadas. Por sua vez, a lipase obtida da levedura *Pseudozyma hubeiensis*, se comparada a biocatalisadores comerciais, apresenta a vantagem de ser produzida em grandes quantidades pelo microrganismo, sendo secretada pelas células, não necessitando de extração, e também demonstrando-se capaz de realizar a catálise sem purificação, reduzindo os custos do processo. Dadas tais qualidades, o objetivo do projeto é caracterizar tal enzima e aplicar a mesma à síntese de biodiesel. A produção de lipase foi realizada por incubação da levedura em meio indutor, em plataforma rotatória e em biorreator. O cultivo foi centrifugado e o sobrenadante submetido a diferentes tempos de liofilização. A atividade enzimática para cada tempo possui resultados variando de 6 a 87 U/mg de proteína. Análises por SDS-PAGE e quantificação de proteínas pelo método de Bradford revelaram a presença de diversos componentes proteicos e concentrações de proteínas variando de 1 a 4 mg/mL. A identificação das proteínas está em andamento por espectrometria de massas e *in silico* via software Mascot. Os parâmetros avaliados durante a catálise serão: relação enzima:substrato, temperatura da reação, possibilidade de solvência, razão molar álcool:óleo, tempo reacional e agitação. A purificação dos produtos ocorrerá por decantação, evaporação e adsorção em via seca, seguido de filtração. A análise qualitativa será por cromatografia em camada delgada e a quantitativa por cromatografia gasosa. Até o momento a avaliação da relação enzima/substrato revelou a existência de ésteres etílicos de biodiesel, com conversão máxima de 10% da matéria-prima. A enzima se mostra capaz de realizar as reações necessárias ao processo e produziu uma catálise com um rendimento superior a enzima comercial (lipase from porcine pâncreas - Sigma – Aldrich).

Palavras-chave: Biocombustíveis. Bioprocessos. Biodiesel. *Pseudozyma hubeiensis*. Lipases.



DEFESAS ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICAS DE *LIMNOPERNA FORTUNEI* EXPOSTOS A NANOPARTÍCULAS DE TiO₂

S. S. PAVIN¹, F. GIRARDELLO¹, M. ROESCH-ELY¹, A. N. FERNANDES², M. SALVADOR³ e J. A. P. HENRIQUES¹

¹ Laboratório de Genômica, Proteômica e Reparo no DNA, Instituto de Biotecnologia de Caxias do Sul, UCS, RS, Brasil.

² Departamento de Química Inorgânica, Instituto química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, RS, Brasil.

³ Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia de Caxias do Sul, UCS, RS, Brasil.

Apresentador: sspavin@ucs.br

Nanopartículas de dióxido de titânio (TiO₂-NP) são utilizadas na produção de tintas, produtos farmacêuticos e cosméticos, principalmente na fabricação de filtros solares. Os nanomateriais (1 a 100 nm) possuem elevada área superficial relacionada ao seu volume reduzido, o que resulta no aumento da bioatividade e reatividade. A vasta utilização de TiO₂-NP na indústria conduz a liberação destes nanomateriais no ambiente, necessitando de uma avaliação das implicações de TiO₂-NP para a saúde humana e ambiental, inerentes à esta exposição. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de TiO₂-NP na atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) no mexilhão dourado *Limnoperna fortunei*. As TiO₂-NP foram caracterizadas físico-quimicamente e os mexilhões dourados foram expostos às concentrações de 1, 5, 10 e 50 µg mL⁻¹ de TiO₂-NP, por 2 e 4 h. Após essa exposição, as amostras foram preparadas com o corpo macio dos mexilhões, e a atividade das enzimas SOD e CAT foram avaliadas. TiO₂-NP apresentaram tamanho médio de cerca de 20nm e a análise das fases cristalinas das TiO₂-NP demonstrou a anatase como estrutura predominante em relação à fase rutilo. Após 2 h de exposição dos mexilhões às TiO₂-NP a atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT diminuíram significativamente para todas as concentrações testadas. TiO₂-NP pode estar gerando altos níveis do ânion radical superóxido (O₂⁻) em resposta às TiO₂-NP, aumentando assim o desequilíbrio redox nas células do mexilhão dourado. Após 4 h de exposição a atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT foi restaurada. A exposição do *L. fortunei* às TiO₂-NP confirmou a sensibilidade do mexilhão dourado para detectar o desequilíbrio redox induzido por estas nanopartículas, pela avaliação da atividade das enzimas SOD e CAT. Os resultados confirmam o mexilhão dourado como um potencial organismo biomonitor de TiO₂-NP.

Palavras-chave: Nanopartículas de dióxido de titânio. *Limnoperna fortunei*. Superóxido dismutase. Catalase.



CRUZAMENTOS E RETROCRUZAMENTOS ENTRE *PANONYCHUS ULMI* (ACARI: TETRANYCHIDAE) DE MACIEIRAS E VIDEIRAS DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

M. SENTER^{1*}, J. M. do NASCIMENTO¹, A. C. BRENTANO¹, L. JOHANN¹, D. E. SILVA¹, F. SONAGLIO¹ e N. J. FERLA¹

¹ Univates, Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário – Lajeado/RS – Brasil – CEP: 95900-000

*Apresentador: malena_senter@hotmail.com

O cultivo de macieiras e videiras possui importância econômica no Rio Grande do Sul. Elevados danos são causados pelo ácaro vermelho europeu *Panonychus ulmi* (Koch) em macieiras, com ampla distribuição mundial, e recentemente em videiras. O objetivo deste trabalho foi realizar cruzamentos e retrocruzamentos entre populações de *P. ulmi* provenientes de macieiras variedade Gala, de Vacaria (RS) e videiras variedade Merlot, de Bento Gonçalves (RS). As coletas foram realizadas entre 2014/2015 e as criações estabelecidas em arenas com folhas de macieira, dispostas com a face abaxial sobre papel germinativo e esponja umedecida, e bordas cobertas com algodão hidrófilo. Os testes de cruzamentos ocorreram em arenas e local com as mesmas condições das criações, com as folhas de macieira divididas em quatro partes, nas quais uma fêmea em fase de deutoninfa e um macho adulto provenientes das respectivas criações foram liberados nas seguintes combinações: C1: ♂Macieira X ♀Macieira; C2: ♂Videira X ♀Videira; C3: ♂Macieira X ♀Videira; C4: ♂Videira X ♀Macieira; C5: ♀Macieira Isoladas; C6: ♀Videira Isoladas; C7: ♂Videira X ♀F1 C3; C8: ♂Macieira X ♀F1 C3; C9: ♂Videira X ♀F1 C4; C10: ♂Macieira X ♀F1 C4; C11: ♂F1 C3 X ♀F1 C3 e C12: ♂F1 C4 X ♀F1 C4. Os dados foram analisados por teste T, nível de significância de 5%, software BioEstat 5.0. Os resultados obtidos demonstraram um comportamento reprodutivo significativamente diferente entre fêmeas de macieiras e videiras. O cruzamento C1 foi superior a C2 no número total de ovos e dias de oviposição e a C3 em ovos/fêmea/dia. Entre C5 e C6, o desempenho em macieiras também foi diferente significativamente, sendo C5 superior no número total de ovos, dias de oviposição, ovos/fêmea/dia e taxa de sobrevivência. Comparando-se C3 e C4, este foi maior no número de ovos e taxa de sobrevivência. Nos retrocruzamentos, entre C11 e C12 também houve diferença significativa, sendo C12 superior no número de ovos, dias de oviposição, e ovos/fêmea/dia, indicando redução no potencial reprodutivo da F1 e mais uma vez desempenho superior das fêmeas F1 provenientes de cruzamentos com fêmeas de macieira. Estes resultados permitem afirmar que há compatibilidade reprodutiva entre *P. ulmi* proveniente dos hospedeiros estudados, embora haja diferença significativa entre as populações, evidenciando a importância de se conhecer o desempenho reprodutivo e permitindo a adequação dos programas de controle biológico aplicado nestas culturas.

Palavras-chave: Compatibilidade reprodutiva. Homogâmicos. Heterogâmicos.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ISOLADOS DO GÊNERO *STREPTOMYCES* CONTRA FITOPATÓGENOS

L. P. MILAGRE^{1*}, P. M. PEREIRA¹, J. P. WITUSK¹, A. P. FOLMER¹ e S. VAN DER SAND¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) – Av. Sarmiento Leite 500, CEP 90050-170, Porto Alegre.

*Apresentador: lumilagre@hotmail.com

As actinobactérias são bactérias Gram-positivas e representam uma importante fonte produtora de metabólitos secundários com atividade antimicrobiana. Atualmente, se estima que 60% dos antimicrobianos utilizados na agricultura sejam produzidos por diferentes espécies de *Streptomyces*. A utilização indiscriminada de agrotóxicos tem trazido diversos problemas para o meio ambiente, assim como um aumento da resistência dos fitopatógenos a estes compostos. O presente trabalho tem como objetivo testar a atividade de biocontrole dos isolados 6(4) e R18(6) do gênero *Streptomyces* contra 21 isolados de fitopatógenos. Inicialmente, foi realizado o ensaio da dupla camada em placas, onde os isolados 6(4) e R18(6) foram testados contra uma suspensão fúngica contendo 1×10^4 esporos/mL dos fitopatógenos. Os halos foram medidos e o índice de antibiose calculado. Observou-se que o isolado R18(6) inibiu 80% dos isolados de fitopatógenos testados, apresentando índice de antibiose entre 1,4 e 7,4. Dos que foram suscetíveis, 82% apresentaram índice de antibiose superior a 3. O isolado 6(4) foi capaz de inibir o crescimento de 33% dos fungos, com índices de antibiose variando de 2,0 a 6,2 e 57% destes apresentaram índice de antibiose superior a 3. Posteriormente, a atividade das actinobactérias foi testada utilizando o método de difusão em poços em ágar. Os isolados 6(4) e R18(6) foram crescidos a partir de pré-culturas em Erlenmeyers contendo 50 mL de meio líquido amido caseína (AC) por 3 dias para produção de metabólitos. As culturas foram centrifugadas e o sobrenadante foi utilizado no ensaio. Placas de petri contendo BDA foram inoculadas com 100 μ L da suspensão de esporos dos fitopatógenos (1×10^5 esporos/mL) e foram feitos poços no ágar, onde se adicionou 100 μ L dos extratos centrifugados preparados anteriormente. As placas foram incubadas por 24 h na geladeira para difusão dos metabólitos e após incubadas a 28 °C por 4 dias. Os halos foram medidos e o índice de antibiose calculado. Neste ensaio, diferentemente da dupla camada, o isolado 6(4) produziu halo em 90% dos fitopatógenos testados, enquanto o R18(6) em apenas um isolado. Daqueles fungos que foram inibidos pelo 6(4), 47% apresentou halo igual ou maior do que 2 cm. Os resultados até o momento mostram que os isolados testados apresentaram capacidade de inibir o crescimento da maioria dos fitopatógenos, sendo o R18(6) com maior eficiência na dupla camada e o 6(4) quando submetido ao crescimento em meio líquido.

Palavras-chave: Actinomycetos. *Streptomyces*. Biocontrole. Fitopatógenos.



ENGENHARIA EVOLUTIVA APLICADA À ADAPTAÇÃO DA BACTÉRIA *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* AO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE GLICEROL EM MEIOS DE CULTIVO

D.M. ROSSI^{1*}, M.M. CRUZ¹, L.R. HICKERT¹ e M.A.Z. AYUB¹

¹ UFRGS, Rua Engenheiro Luiz Englert, s/nº - Porto Alegre

*Apresentador: drossi@enq.ufrgs.br

Devido as atuais crises políticas e ambientais causadas pelos combustíveis fósseis, buscam-se cada vez mais fontes alternativas de energia. Os biocombustíveis, como o biodiesel, representam uma opção viável, sua produção está em expansão e como consequência há um aumento na formação de bioprodutos secundários, entre eles o glicerol. Objetivando reduzir problemas ambientais pelo acúmulo de glicerol e, conseqüentemente, tornar a produção de biodiesel mais rentável, estão sendo cada vez mais pesquisadas alternativas biotecnológicas que utilizam glicerol como fonte de carbono para obtenção de produtos de valor agregado, como 1,3-propanodiol (1,3-PD) e etanol, através da fermentação com microrganismos. O meio contendo glicerol residual é bastante inóspito a um microrganismo, neste contexto, o objetivo deste trabalho foi promover a adaptação gradativa de *Klebsiella pneumoniae* Blh-1 ao meio contendo glicerol residual com o intuito de avaliar o efeito do processo adaptativo na produção de 1,3-propanodiol, etanol, ácido acético e ácido láctico. Após a verificação da cinética de consumo de glicerol residual, a bactéria *K. pneumoniae* foi cultivada em biorreatores operando em fluxo contínuo, como estratégia de engenharia evolutiva. Os biorreatores continham 1,5 L de meio de cultivo em condições anaeróbicas com pH 7, temperatura de 37 °C e agitação de 300 rpm. As entradas e saídas de meio também foram controladas através do uso de bombas com vazão constante, em que o meio contendo glicerol residual estéril foi constantemente adicionado em concentrações gradativas crescentes que mudavam a cada 30 h (g L^{-1}): 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 e 100. Para testar o efeito da engenharia evolutiva sobre a bactéria, as linhagens armazenadas de antes e depois do cultivo contínuo foram inoculadas em frascos Erlenmeyers de 250 mL, com 50 mL de meio contendo 100 g L^{-1} glicerol residual e testadas quanto à eficiência de consumo e produção em agitadores orbitais a 150 rpm. O cultivo contínuo, apesar de ter permitido a produção de 1,3-PD e etanol, provavelmente não foi suficientemente longa para permitir uma adaptação ao nível de seleção de mutantes. A linhagem de antes do cultivo contínuo apresentou melhores resultados quanto rendimento (0,47 g g^{-1}) e produtividade (1,51 $\text{g L}^{-1}\text{h}^{-1}$) de 1,3-PD do que a linhagem após o cultivo contínuo (produtividade: 0,40 g g^{-1} e rendimento 1,35 $\text{g L}^{-1}\text{h}^{-1}$) em agitador orbital 150 rpm, 37°C em um meio contendo 100 g L^{-1} de glicerol residual.

Palavras-chave: Glicerol. *Klebsiella pneumoniae*. Adaptação. 1,3-Propanodiol.



ESTABILIDADE DO COMPOSTO ANTIMICROBIANO DE *PLEUROTUS SAJOR-CAJU* FRENTE A CONGELAMENTO E DESCONGELAMENTO

C. R. CONTESSA^{1*}, N. B. de SOUZA¹, L. ALMIEDA¹, A. P. MANERA¹ e C. C. MORAES¹

¹ Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, 96413-170 - Bagé, RS – Brasil

*Apresentador: camilaramao@hotmail.com

Fungos são eucariontes, e podem ser encontrados na forma unicelular, assim como as leveduras, e apresentam-se também como fungos filamentosos formados pelo conjunto de hifas, as quais podem ser septadas ou não. Os basidiomycotas tem por seu representante fungos macroscópicos, os cogumelos, que além das suas características nutricionais e terapêuticas, destacam-se pela produção de agentes antimicrobianos, como é o exemplo do *Pleurotus sajor-caju*, cogumelo comestível de origem asiática que possui alto valor nutricional e propriedade antimicrobiana. Sendo assim, objetivou-se extrair e analisar o extrato de *Pleurotus sajor-caju* quanto à estabilidade do composto antimicrobiano quando submetido a congelamento, frente a micro-organismo gram-negativo (*Escherichia coli*) e gram-positivo (*Staphylococcus aureus*). A extração do composto foi obtida a partir do micélio de *Pleurotus sajor-caju* cultivado por fermentação em estado sólido, submetido a congelamentos e descongelamentos periódicos, até que se perdesse a ação inibitória do composto, que foi analisada pelo método de microplacas descrito na norma NCCLS(2003). A partir dos resultados obtidos pode-se observar que ambos os compostos aumentaram sua efetividade após os congelamentos, pois a técnica permite a perda da atividade biológica de alguns compostos da amostra, permitindo assim a concentração do composto de interesse, resultando em um aumento de 96% de inibição contra o *Staphylococcus aureus* no terceiro congelamento e 62% sob *Escherichia coli* no segundo congelamento. Conclui-se que o composto que inibe gram-positivo é diferente do que inibe gram-negativo, e que este tem maior estabilidade, pois manteve sua ação até o terceiro congelamento.

Palavras-chave: Cogumelo ostra. Compostos bioativos. Purificação.



REDUÇÃO DA CARGA MICROBIANA EM TESTE DE MICROPLACAS ATRAVÉS DA AÇÃO DE BACTEROCINAS

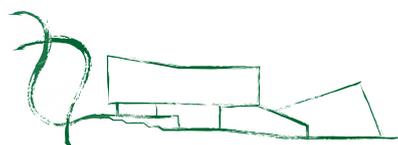
N. B. SOUZA^{1*}, C. R. CONTESSA¹, L. ALMEIDA¹, A. P. MANERA¹ e C. C. MORAES¹

¹Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, 96413-170 - Bagé, RS – Brasil

*Apresentador: nathieli.souza.1995@gmail.com

Bacterocinas são peptídeos ou proteínas produzidos por algumas cepas de bactérias ácido lácticas durante a fase *lag* de seu crescimento e exercem atividade antimicrobiana contra uma série de micro-organismo, contudo não apresentam alterações na microbiota intestinal, pois são digeridas por enzimas como a tripsina e a pepsina, encontradas naturalmente no trato digestivo. Estas são interessantes a serem usadas como agentes naturais de preservação de alimentos, pois além de não influenciarem na microbiota gastrointestinal elas tem ampla ação antimicrobiana, são bastante tolerantes a pH e temperaturas e não interagem com antibióticos. Atualmente grande parte dos conservantes utilizados na indústria de alimentos são químicos, necessitando de mais estudos na área de conservantes naturais. Com base nestes dados objetivo-se a redução da carga microbiana em teste de microplacas através de bacterocinas produzidas por bactérias ácido lácticas de diferentes fontes. Para obtenção das bacterocinas a serem estudadas foi feito o isolamento de uma bactéria láctica de salame italiano (S) e outras três bactérias lácticas foram gentilmente fornecidas pela Fundação Osvaldo Cruz (FIOCRUZ), estas são a *Lactobacillus fermentun*(A), *Lactobacillus helveticus*(B), *Lactobacillus acidophilus*(C). Todas passaram pelo processo de inoculação em caldo MRS e foram incubadas em estufa bacteriológicas a 32°C por 24-48 horas. Após o tempo de incubação em estufa os meios turvos foram colocados em erlenmeyers identificados contendo aproximadamente 200 mL de caldo MRS cada, estes em Shaker com agitação de 150 rpm foram fermentados por 24-48 horas, o caldo com células foi submetida a centrifugação nas condições de 4 °C a 5500 rpm por 15 minutos, então o sobrenadante foi utilizado para análise antimicrobiana pela metodologia descrita pela NCCLS (2003) frente os micro-organismos *Shaphylococcus aureus* (G+) e *Escherichia coli* (G-). Os resultados de inibição obtidos foram para o micro-organismo G+ S= 99,77%±0,35, A= 98,85%±0,75, B= 99,54%±1,19, C= 79,83%±6,49, para o micro-organismo G- S= 92,69%±1,93, A= 97,70%±3,97, B= 92,03%±0,95, C= 61,87%±19,07. A partir destes resultados observa-se que a bactéria láctica isolada do salame tem um grande potencial de produção de bacterocinas, composto antimicrobiano, assim como as bactérias já identificadas fornecidas pela FIOCRUZ. Conclui-se então que as bacterocinas produzidas durante o processo de fermentação são eficientes para os dois micro-organismos testados.

Palavras-chave: Bactérias lácticas. Extração. Biocompostos. Bacterocinas.



ENSAIO COMETA AGUDO UTILIZANDO DANIO RERIO (HAMILTON 1822) PARA INVESTIGAR A GENOTOXICIDADE DO BIOPESTICIDA AZAMAX®

A. N. RAEL^{1*} e A. RIEGER²

¹ Acadêmica do curso de Ciências Biológicas e bolsista FAPERGS, Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

² Professor do Curso de Ciências Biológicas, Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

Danio rerio (Zebrafish ou paulistinha) é um pequeno peixe exótico, de água doce utilizado amplamente como modelo para avaliação de substâncias químicas por ensaios toxicológicos, genotoxicológicos e de embriogênese. Na agricultura denominada orgânica, são utilizados biopesticidas como o óleo de Ninn, comercialmente conhecido como Azamax®. Ensaios de toxicidade têm sido realizados com este produto para atender a legislação vigente, porém ensaios de genotoxicidade são raros. O Ensaio Cometa (EC) é uma ferramenta que pode ser utilizada para avaliação da genotoxicidade. O objetivo foi utilizar o *D. rerio* como modelo de vertebrado para avaliar a genotoxicidade do biopesticida Azamax® através do EC. O teste de genotoxicidade foi de acordo com a norma da ABNT-NBR 15088 e Protocolo do Comitê de Ética 138538. Os peixes foram adquiridos aleatoriamente comercialmente, tendo a mesma linhagem. Estes foram aclimatados durante três semanas, após foram expostos a 03 concentrações de Azamax® (6µg/mL; 3µg/mL; 1,5µg/mL), durante 24 h. No período de exposição os peixes foram mantidos nas mesmas condições de aclimação. Os peixes foram retirados um de cada vez do aquário e postos em um becker com água destilada e gelo, para anestesia. Após o peixe foi pego e feito um corte único separando a cabeça do corpo para a obtenção do sangue. O EC foi adaptado Singh et al. (1988). Após foram elaboradas as lâminas, posteriormente colocadas em solução de lise, desenovelamento seguido de eletroforese. As lâminas foram neutralizadas, fixadas e, posteriormente, coradas com Nitrato de Prata. As análises foram realizadas em 100 nucleoides por lâmina, totalizando 500 nucleoides por amostra, os quais foram classificados em cinco classes (0 a 4), obtendo-se a FD e o ID. Os resultados foram analisados através do teste não-paramétrico Mann-Whitney com nível de significância de 5%, comparando-se os grupos testes em relação ao CN. Foi observado que após 24 h de exposição, todas as concentrações apresentaram FD e ID significativamente aumentados em relação ao CN, sugerindo que o EC com *D. rerio* foi eficiente para identificar a genotoxicidade do Azamax® em concentrações até oito vezes menor que a concentração recomendada de uso comercial. Assim a ideia de que o Azamax® por ser um produto “natural” não tem efeitos tóxicos e genotóxicos deve ser repensada pelos produtores orgânicos. O EC com *D. rerio* mostrou-se eficiente para detectar a genotoxicidade do Azamax® já em 24 h de exposição.

Palavras-chave: *Danio rerio*. Óleo Ninn. Azamax. Ensaio Cometa. Genotoxicidade.



AVALIAÇÃO DO BIOCONTROLE E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DO ISOLADO *STREPTOMYCES R18(6)* CONTRA *BIPOLARIS SOROKINIANA* EM CULTURA DE TRIGO

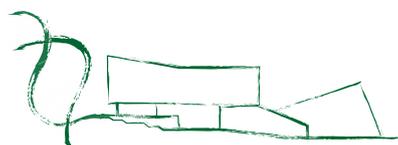
P. M. PEREIRA^{1*}, L. P. MILAGRE¹, J. P. WITUSK¹ e S. T. VAN DER SAND¹

¹ Laboratório de Microbiologia Ambiental, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Sarmento Leite, 500, Centro, Porto Alegre 90050-170, RS.

*Apresentador: primonteiro21@yahoo.com.br

Um dos principais fatores que compromete a produção de trigo no Brasil são as doenças fúngicas. *Bipolaris sorokiniana* é um fungo fitopatogênico responsável por diversas doenças do trigo. O emprego de fungicidas para controle das doenças vem aumentando os problemas ambientais e a resistência dos fitopatógenos a estes compostos. Tendo em vista a necessidade de uma produção sustentável, o biocontrole surge como estratégia alternativa e com grande potencial. Actinobactérias são microrganismos que podem influenciar no crescimento de plantas, proteger as raízes de invasão de microrganismos patogênicos, podendo desta maneira, serem utilizados no controle biológico de doenças de plantas. Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica e promotora de crescimento do isolado *Streptomyces R18(6)* contra *B. sorokiniana* em plantas de trigo. O isolado R18(6) foi selecionado com base em resultados anteriores, obtidos pelo nosso grupo de pesquisa, utilizando o teste de dupla camada com isolados de *B. sorokiniana*. A inoculação foi realizada com a desinfestação das sementes e estas foram colocadas em frascos contendo uma suspensão do isolado R18(6) na concentração 10⁵ UFC/mL a 25°C por 4h sob agitação. O teste *in vivo* consistiu em quatro tratamentos: 1) sementes sem tratamento (controle); 2) sementes sem inoculação e solo infestado com *B. sorokiniana* no momento do plantio; 3) sementes inoculadas com R18(6) e *B. sorokiniana* foi inoculado no solo 14 dias após a semeadura; 4) sementes sem tratamento e solo com uma suspensão de R18(6) no momento do plantio. Experimento realizado em temperatura controlada de 22± 2°C e fotoperíodo de 12h. A manifestação da doença e promoção de crescimento foi avaliada aos 7, 14, 21 e 28 dias após a inoculação. Dos quatro tratamentos aplicados, o tratamento 3 foi o que mostrou maiores valores em todos os parâmetros (peso fresco, peso seco e altura da parte aérea). Quinze dias após a inoculação do fungo no tratamento 3 não houve manifestação da doença. Assim sugere-se, a partir destes dados preliminares, que o isolado R18(6) tem potencial para promover o crescimento da planta quando inoculado à semente e pode também conferir proteção contra o fungo inoculado no solo.

Palavras-chave: trigo; fitopatógeno; actinobactéria.



INTERAÇÃO ENTRE ADSORÇÃO DE ÁGUA E VIABILIDADE DE CONÍDIOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS EM FORMULAÇÕES OLEOSAS

M. G. B. A. ARAÚJO^{1*}, R. A. SIMÕES², T. S. SANTOS¹; B. M. de ALCÂNTARA¹; A. da S. MESSIAS¹; I. de J. SOUZA¹; E. A. SILVA¹ e M. da C. MENDONÇA^{1,2}

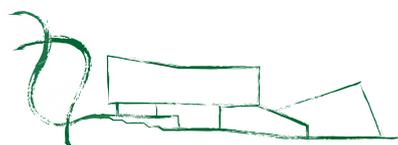
¹Universidade Tiradentes/Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Industrial, Av. Murilo Dantas, 300, Farolândia Aracaju/SE

²EMDAGRO, Av. Carlos Rodrigues da Cruz, s/n - Bairro Capucho - Aracaju/SE

*Apresentador: e-mail (gabriela.quimica@hotmail.com)

As condições de temperatura e a umidade do ambiente influenciam na viabilidade de conídios do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*, quando armazenados em prateleira. Uma estratégia de preservação do fungo, além da baixa temperatura, é a veiculação dos conídios em formulações capazes de manter as características do microrganismo sem afetar sua viabilidade. Entretanto, a adsorção de água pelos conídios, proveniente da interação entre a embalagem do produto e o local de armazenamento, é um dos desafios para as formulações com fungos entomopatogênicos. O objetivo deste trabalho foi analisar a correlação entre adsorção de água pelo fungo em formulação oleosa armazenada a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e a viabilidade dos conídios. Foram preparadas cinco suspensões de conídios: A (conídios + agente suspensor do tipo 1 + combinação de tensoativos hidrofílico-lipofílico; + agente flocculante + óleo vegetal); B (conídios + agente suspensor do tipo 2 + combinação de tensoativos hidrofílico-lipofílico + agente flocculante + óleo vegetal); C (conídios + tensoativo hidrofílico + óleo vegetal); D (conídios + óleo vegetal) e F (conídios secos não formulados). A presença de água livre adsorvida foi medida através da atividade de água (a_w), utilizando-se um medidor da marca AQUAlab (Modelo 3 TE) com temperatura ajustada para 26°C . A viabilidade dos conídios foi avaliada por meio de câmara de Neubauer, quantificando-se o percentual entre os conídios viáveis e não viáveis (Taxa de Germinação TG%). As leituras foram realizadas a cada 30 dias, durante 210 dias. As formulações A (53,9%) e D (61,0%) apresentaram maior taxa de germinação dos conídios, após o período total de armazenamento, e a atividade de água de 0,528 e 0,606, respectivamente. As demais formulações B, C e E apresentaram uma média 43,7% dos conídios viáveis e atividade de água média de 0,689. Na formulação F a taxa de germinação foi 14,5% e a atividade de água (a_w 0,577). Observa-se que há uma interação inversa entre a atividade de água em formulações oleosas e a viabilidade dos conídios, provavelmente, devido às reações hidrolíticas e oxidativas sofridas pelo óleo vegetal e demais componentes presentes na formulação, mediante adsorção de água livre.

Palavras-chave: MicoInseticidas; *Metarhizium anisopliae*; Produção de fungos.



IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE LECTINAS NO GENOMA DE *XANTHOMONAS ORYZAE* ATRAVÉS DE ANÁLISES *IN SILICO*

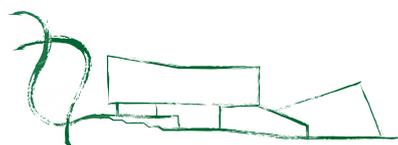
G. O. S. V. NAVARRO^{1*}, A. M. GUIMARÃES¹, F. S. KREMER¹ e L. S. PINTO¹

¹ Biotecnologia, CD Tec, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS, Brasil

*Apresentador: gabi.oliveira19@hotmail.com

Xanthomonas são bactérias fitopatogênicas gram-negativas que atacam plantas de interesse econômico, sendo assim é fundamental conhecer os mecanismos utilizados para o desencadeamento da doença. As lectinas são proteínas de origem não imunológica que interagem, através de sítios de ligação, de forma seletiva e reversível a carboidratos. Estas proteínas estão presentes em microrganismos e é pertinente entender suas interações, visto que possuem importância fundamental em muitos processos biológicos como adesão celular, colonização, virulência, infecções e o transporte de toxinas. O objetivo do trabalho foi identificar genes de lectinas na sequência genômica de *Xanthomonas oryzae*, bem como a caracterização de seus domínios, visando entender seu papel na patogenicidade destas bactérias. Para isso, inicialmente foi obtido o genoma completo da bactéria no GenBank, sendo utilizado o programa Artemis para a identificação de regiões codificantes. Seguindo a análise dessas regiões no programa CD-Search Tool para a identificação de domínios conservados. Depois de obtidos os resultados seguimos para a plataforma Bioinformatics Toolkit onde realizamos a modelagem das estruturas dessas proteínas e por fim analisamos o grau de conservação das estruturas obtidas, utilizando as ferramentas The SoluX Server, RAMPAGE e dDFIRE. Através das análises realizadas foi possível identificar domínios lectínicos em proteínas relacionadas à adesão celular dessas bactérias. Dentre estas proteínas, destacam-se, Hia e YadA, sendo identificados 14 sequências referentes a Hia e domínios YadA; Escolheu-se estes domínios por estarem envolvidos com o processo de adesão, colonização e desencadeamento da patologia. Observou-se um alto grau de conservação entre as sequências pertencentes aos domínios de interesse, porém não foi possível realizar a modelagem das estruturas devido ao seu tamanho. Como relatado em outros estudos, os domínios (adhesin_like) estão relacionados à adesão celular estão associados à entrada da bactéria à célula, à sua interação e à virulência. Conclui-se que a partir das análises preliminares que o gênero *Xanthomonas* possui lectinas em suas sequências e domínios responsáveis pela adesão celular e desencadeamento da doença. O trabalho prossegue para uma melhor caracterização das lectinas, dos domínios e da estrutura.

Palavras-chave: Proteínas; Lectinas; *Xanthomonas*; Domínios.



ATIVAÇÃO DA VIA DE TRANSDUÇÃO DE SINAL, RELACIONADA AO ESTRESSE, EM RESPOSTA A PERDA DA CHAPERONA GRP170

C. B. BENDER^{1*} e G. J. WADSWORTH²

¹ Universidade Federal de Pelotas, Laboratório de Genômica Funcional, prédio 19. Campus Universitário, S/N – CEP 96160-000, Capão do Leão, RS-Brasil.

² State University of New York, Buffalo State. 1300 Elmwood Avenue, Buffalo, NY 14222, United States.

*camilabbender@gmail.com

A chaperona GRP170 (proteína regulada pela glicose 170) está presente na cadeia de proteínas do retículo endoplasmático (RE), participando na montagem, dobramento e transporte de proteínas secretórias ou transmembranas. Estudos anteriores demonstraram que cepas de *Caenorhabditis elegans* geneticamente nocauteadas para a isoforma GRP170 a induzirem altos níveis de expressão de HSP-4 (Heat Shock Protein) e consequentemente a ativação do processo conhecido como resposta a proteínas mal dobradas [Unfolded Protein Response (UPR)]. Adicionalmente, foi visto que durante a indução de UPR, ocorre a remoção de um intron do fator de transcrição xbp-1, permitindo assim a sua expressão e por conseguinte a indução de HSP-4. Como objetivo do nosso estudo, buscamos avaliar em cepas de *Caenorhabditis elegans* nomais e nocauteadas para GPR170a, se os níveis de expressão de xbp-1, após ser submetido ao processo de splicing, está relacionado com a perda da função de GPR170a. Nesse contexto, a técnica de transcriptase reversa quantitativa em tempo real (RT- qPCR) foi realizada, utilizando primers específicos para xbp-1. Nossos resultados mostraram que xbp-1 teve sua expressão aumentada em vermes nocauteados quando comparados ao controle, sugerindo que a perda de GRP170a leva ao aumento da expressão de HSP-4 e a ativação da via de transdução de sinal da UPR.

Palavras-chave: GRP170; resposta a proteínas mal dobradas; xbp-1; HSP-4; chaperonas.



AVALIAÇÃO INICIAL DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE DERIVADOS DE CURCUMINA EM BIODIESEL ATRAVÉS DE CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

C. B. GOMES^{1*}, S. C. FREITAS², G. T. GUERRA², L. M. BERNEIRA², B. PACHECO¹ e C. M. P. de PEREIRA²

¹ Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTEC), Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica (LLipBio), 96010-900, Campus Capão do Leão, RS, Brasil.

² Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Centro de Ciência Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica (LLipBio), 96010-900, Campus Capão do Leão, RS, Brasil.

*Apresentador: carolgomes.estrela@hotmail.com

A escassez dos combustíveis fósseis derivados de petróleo e as questões ambientais associadas à queima desses combustíveis têm contribuído para a busca de novas fontes energéticas, a fim de suprir a demanda energética. Diante das necessidades tem-se apresentado como uma alternativa viável o estudo e produção de biocombustível que são fontes de energia limpas e renováveis. Atualmente destaca-se o biodiesel, que é definido como uma mistura de ésteres monoalquílicos de ácidos graxos, obtido pelo processo de transesterificação de óleos vegetais e gorduras animais. A desvantagem de aplicação do biodiesel puro é a sua oxidação pelo: oxigênio atmosférico, temperaturas elevadas, umidade e luz devido à presença de insaturações causando danos ao motor. Com isso torna-se necessário a adição de antioxidantes que inibem a oxidação. Antioxidantes fenólicos sintéticos como as Curcuminas (com e sem substituintes) foram aplicadas para este fim. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de Curcuminas sintéticas como antioxidantes para aplicação em biodiesel de soja através da técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Foram sintetizadas Curcuminas por condensação aldólica de benzandéidos com e sem substituinte na presença de catalisador. Logo, a identificação foi realizada por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS). O biodiesel foi produzido pelo processo de transesterificação do óleo de soja com metanol. Após, as amostras: biodiesel puro, Curcumina R-H (sem substituinte), Curcumina R-Cl (com substituinte), biodiesel com adição de Curcumina R-H e biodiesel com adição de Curcumina R- Cl foram submetidas à análise de detecção por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) que mede as variações de entalpia da amostra pelo fluxo de calor (mW/mg) em função da temperatura através de eventos endotérmicos e exotérmicos caracterizados por mudanças de estado físico ou reações químicas. Os resultados deste estudo demonstraram que a utilização de compostos fenólicos mostrou-se uma boa alternativa para a estabilização de matrizes lipídicas. As Curcuminas sintéticas sem substituinte (R-H) e com substituinte cloro (R-Cl) apresentam perfis calorimétricos com comportamentos distintos quando misturadas ao biodiesel de soja, porém ambas atuaram como aditivo antioxidante no biodiesel de soja. A presença de Curcumina no biodiesel de soja indica uma durabilidade maior no biodiesel com relação à oxidação.

Palavras-chave: biodiesel; curcumina; antioxidante; DSC.



CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DE PLANTAS ISCAS DE TRIGO E MILHO NA REGIÃO OESTE DO PARANÁ

V.S. SCHNEIDER^{1*}; E.I. DALL'OGGIO-CHAVES²; J.A.C. ABREU¹; F.F. OLIVEIRA¹; M.P. CAMARGO¹; J.C. LUNKES¹; A.K.P. SOUZA³; K.K. ANDRIOLI³; V.F. GUIMARÃES²; M.F. SANTOS¹ e E.C.G. VENDRUSCOLO¹.

¹ Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina. R. Pioneiro, 2153, Palotina - PR, 85950-000

² Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias. R. Pernambuco, 1777 - Centro, Mal. Cândido Rondon - PR, 85960-000

³ Pontifícia Universidade Católica do Paraná Campus Toledo, Escola de Saúde e Biociências, Curso de Ciências Biológicas. Avenida da União, 500 - Jardim Coopagro, Toledo - PR, 85902-532

*Apresentador: vanessa.suzane31@gmail.com

As bactérias diazotróficas quando associadas às plantas podem ser usadas como promotoras de crescimento vegetal pela fixação biológica de nitrogênio (N_2), pela produção de fitohormônios, pela solubilização de fosfato ou por outros mecanismos que contribuam para a sanidade e desenvolvimento das plantas. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar bioquimicamente, através das análises do índice de solubilização de fosfato (ISF) e da produção de ácido indol-3-acético (AIA), os isolados endofíticos de plantas iscas de trigo e milho na Região Oeste do Paraná. A partir do isolamento das bactérias de plantas de trigo e milho, em três áreas de mata: 1-argissolo vermelho; 2-latossolo roxo e 3-nitossolo vermelho, pelos meios semi-seletivos: DYGS, NFB, JNFB, LG, LGD, LGI e LGI-P, no LABIOGEN da UFPR Campus Palotina, foram obtidos 136 isolados que foram caracterizados bioquimicamente. A análise qualitativa do índice de solubilização de fosfato foi realizada em meio sólido NBRIP, onde uma alíquota da bactéria foi colocada em quatro pontos na placa de Petri, e após 6 dias incubadas em estufa a 28°C, mensurou-se o diâmetro dos halos e das colônias onde a razão entre eles indicou baixa ($IS < 2$), média ($IS < 4$) e alta ($IS \geq 4$) solubilização. Para a análise da produção de AIA as bactérias foram crescidas em 5 mL de meio Dygs líquido com e sem a adição de triptofano (Trp). A determinação de AIA e de proteína no meio foi realizada pelo método de Salkowski e Lowry. Do total de isolados, 17 apresentaram baixo índice de solubilização, 14 com solubilização média e 17 com alto índice de solubilização, sendo que os demais não apresentaram solubilização de fosfato. UFPRPALM3-66 foi a bactéria de maior valor, apresentando solubilização de 7,66, sendo isolada de planta de milho na área 3. Os níveis de AIA/proteína sem triptofano variaram entre 19,94 e 1170,98 $\mu\text{g mg}^{-1}$, sendo UFPRPALT2-32 o maior produtor. Com triptofano, os níveis variaram de 168,29 a 5599,57 $\mu\text{g mg}^{-1}$, onde UFPRPALM3-80 foi o maior produtor de AIA in vitro. Os resultados indicaram que alguns isolados merecem ser testados in vitro e em campo para verificar a promoção de crescimento em plantas não-leguminosas.

Palavras-chave: bactérias diazotróficas; ácido indol-3-acético; solubilização de fosfato.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO PEPTÍDEO JABURETOX

C. S. PORTUGAL^{1*}; I. A. TERRA^{1,2}; C. R. CARLINI^{3,4}; F. C. LOPES^{3,5} e A. B. BECKER-RITT¹

¹ Universidade Luterana do Brasil, Canoas, Rio Grande do Sul, Brasil

² Universidade do Estado do Pará, Belém, Pará, Brasil

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

⁴ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

⁵ Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

*Apresentador: camilasportugal@gmail.com

Uma alternativa economicamente viável, na busca por novos medicamentos, são as proteínas e peptídeos de origem vegetal. Muitas dessas moléculas têm sido isoladas, caracterizadas e descritas, demonstrando ser esse um crescente e importante campo de pesquisa para futuras formulações no controle de doenças bacterianas. As ureases vegetais, enzimas níquel dependentes, que catalisam a hidrólise da ureia, tem se mostrado promissoras na pesquisa de novos agentes antimicrobianos. As isoformas de ureases produzidas pela leguminosa feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), bem como ureases provenientes de outras plantas e de micro-organismos apresentam atividades biológicas relevantes **não relacionadas à sua atividade enzimática**, sendo caracterizadas como proteínas *moonlighting*. A toxicidade contra insetos e fungos está incluída dentre outras atividades biológicas descritas para ureases. O Jaburetox (JBTX), um peptídeo recombinante clonado a partir da sequência de JBURE-II, uma das isoformas de urease de *C. ensiformis*, também possui atividade entomotóxica e uma importante atividade antifúngica contra fungos filamentosos e leveduras. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade tóxica do peptídeo JBTX contra bactérias de interesse médico entre elas: *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, através de ensaios *in vitro*. Utilizamos duas metodologias para avaliar a inibição do desenvolvimento bacteriano: contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) e avaliação por densidade óptica, por absorvância a 620 nm. Nossos resultados mostraram que o JBTX inibiu o desenvolvimento das bactérias testadas com uma concentração inibitória mínima (MIC) de 6,75 µM e que *E. coli* apresentou uma sensibilidade maior, onde o MIC foi de 0,75 µM. Os resultados confirmam a atividade antimicrobiana do JBTX, a mesma já havia sido descrita para fungos e leveduras de importância biomédica em doses de 9 µM e 18 µM. Embora o JBTX não esteja classificado em nenhuma família de peptídeos antimicrobianos, tais como as defensinas, ciclotídeos, α/β tioninas entre outras, surge como uma alternativa no campo terapêutico. Outros testes estão sendo conduzidos para avaliar se esse efeito é bacteriostático ou bactericida, bem como se ocorre permeabilização da membrana bacteriana. Os resultados preliminares, aqui descritos, demonstram a importância desse peptídeo como novo agente antimicrobiano e contribuirão para a elucidação do mecanismo de ação deste peptídeo.

Palavras-chave: ureases; jaburetox; atividade antimicrobiana.



INFLUÊNCIA DO FOTOPERÍODO E DO GLICEROL RESIDUAL NA PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS PELA MICROALGA *CHAETOCEROS CALCITRANS*

J. M. da SILVEIRA^{1*}, D. A. NOGUEIRA¹, C. A. V. BURKERT¹ e E. M. VIDAL¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande, Av. Itália, km 8, Bairro Carreiros, Rio Grande - RS

*Apresentador: julianesilveira97@yahoo.com.br

A produção de determinados compostos de interesse, como lipídios, pelas microalgas, é afetada por parâmetros de cultivo, como intensidade de luz, ciclo de fotoperíodo, temperatura e composição de nutrientes no meio de cultura. *Chaetoceros calcitrans* é uma microalga que vem sendo estudada para tal fim, porém há poucos estudos utilizando o glicerol residual (GR) como fonte de carbono orgânico em seus cultivos, sendo este um resíduo da produção de biodiesel. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes ciclos de fotoperíodo e concentrações de GR no cultivo da microalga *C. calcitrans* para a produção de lipídios. Os cultivos foram realizados em triplicata, utilizando frascos Erlenmeyer contendo 900 mL de meio Conway, adicionado de água marinha e salinidade de 28 ups, e GR. Os mesmos foram dispostos em uma estufa com fotoperíodo (Eletrolab EL-202, Brasil), a iluminação foi proporcionada por lâmpadas fluorescentes, com irradiância de $40,5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, temperatura de 30°C, concentração inicial de biomassa de $0,55 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ e concentrações de GR de 0, $3,37 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ e $5,61 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Os ciclos de fotoperíodo foram 12C:12E e 24C:0E (Claro:Escuro). Ao término do cultivo foi quantificado o conteúdo lipídico (CL) utilizando o método de Bligh e Dyer. Para o ciclo de fotoperíodo de 12C:12E, verificou-se que adição de GR aumentou o CL em até 6 vezes, passando de $6,0 \pm 1,2\%$ ($0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de GR) para $38,1 \pm 2,3\%$ ($5,61 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ GR), não mostrando diferenças significativas entre as concentrações de $3,37 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ e $5,61 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de GR. Para o ciclo 24C:0E houve o aumento do CL com o aumento da concentração de GR, no entanto maior CL obtido na concentração de $3,37 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de GR, de $45,1 \pm 1,9\%$, diferindo estatisticamente das demais concentrações. A mudança do ciclo de 12C:12E para 24C:0E proporcionou aumento significativo do conteúdo lipídico para $0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de GR ($6,0 \pm 1,2\%$ para $13,5 \pm 2,4\%$), na concentração de $3,37 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de GR (de $36,6 \pm 2,6\%$ para $45,1 \pm 1,9\%$), entretanto para a concentração de $5,61 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de GR houve a redução deste conteúdo com a mudança do ciclo para 24C:0E (de $38,1 \pm 2,3\%$ para $33,2 \pm 1,1\%$). Tais resultados podem estar relacionados às reações metabólicas que ocorrem na fase clara da fotossíntese, uma vez que o maior CL foi alcançado na concentração de $3,37 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de GR e no ciclo de fotoperíodo de 24C:0E, mostrando que o maior tempo de exposição à luz em menor concentração de carbono proporcionou maior aporte lipídico.

Palavras-chave: Glicerol residual; biomassa; *Chaetoceros calcitrans*; lipídios.



DIFERENCIAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS POR ESPECTROSCOPIA DE REFLETÂNCIA ESPECULAR NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

J. JULICH^{1*}, L. B. BENITEZ² e V. A. CORBELLINI³

¹ UNISC, Curso de Química Industrial; Curso de Engenharia Química

² UNISC, Departamento de Biologia e Farmácia

³ UNISC, Departamento de Química e Física

*Apresentador: jennifer.julich@yahoo.com.br

Os métodos mais comuns para identificação de micro-organismos se baseiam na morfologia e em testes bioquímicos, os quais são procedimentos demorados e podem gerar resultados presuntivos ou inconclusivos. Por outro lado, testes mais precisos são aqueles baseados em biologia molecular onde normalmente o DNA é analisado. Estes métodos são mais elaborados e de alto custo (dependendo do método) não sendo utilizados rotineiramente. A espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), combinada com análises quimiométricas, vêm se destacando nos últimos anos como uma técnica de grande potencial para diferenciar classes de micro-organismos, tendo como vantagem a preservação da amostra e a geração mínima de resíduo. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método baseado em FT-IR para diferenciação de micro-organismos, utilizando a técnica de Reflexão Especular. Para a realização do trabalho foram utilizadas 7 cepas padrão de bactérias e 3 de leveduras de interesse clínico. As bactérias foram inoculadas em caldo infusão de cérebro e coração (BHI) e as leveduras em caldo Sabouraud, sendo incubadas por 48 horas em estufa a 37°C. Em seguida, as bactérias foram cultivadas (30 a 48 horas, à 37°C) em placas contendo ágar Nutriente e as leveduras em ágar Sabouraud. Os espectros foram adquiridos por refletância especular na faixa de 4000 a 450 cm^{-1} , a partir de filmes obtidos por secagem (60-65°C, 4 min) de 10 μL de suspensões celulares (2 μL de biomassa em 100 μL de água) depositadas em *probes* de inox (8,4 mm de diâmetro). Os dados foram pré-processados por amostra via correção por espalhamento de luz (MSC), correção de linear de linha de base e normalização via amplitude. Em seguida foram pré-processados por variável via centragem na média e, finalmente, analisados pelo Algoritmo de Modelagem Independente Flexível por Analogia de Classes (SIMCA). O modelo de discriminação de bactérias e leveduras foi obtido com distância interclasses de 6,2652, com 97,1% de acurácia para bactérias e 100% (n=50 espectros) para leveduras. Já o modelo para a diferenciação de bactérias quanto a propriedades tintoriais alcançou 100% (n=35 espectros) de acurácia para todas as duas classes com distância interclasses de 3,3514. Pode-se concluir que a técnica desenvolvida pode ser aplicada como rotina para identificação microbiana em substituição ao método convencional de coloração de Gram.

Palavras-chave: Espectroscopia no infravermelho; Quimiometria; Microbiologia.



BAGAÇO DE UVA DAS VARIEDADES VITIS VINIFERA E VITIS LABRUSCA PARA SUPLEMENTO ALIMENTAR

D. SIMONAGGIO^{1*}, J.F. KRÜGER^{1*} e W. J. BÖCKEL¹

¹ Univates, Rua Avelino Tallini, 171 – Bairro Universitário

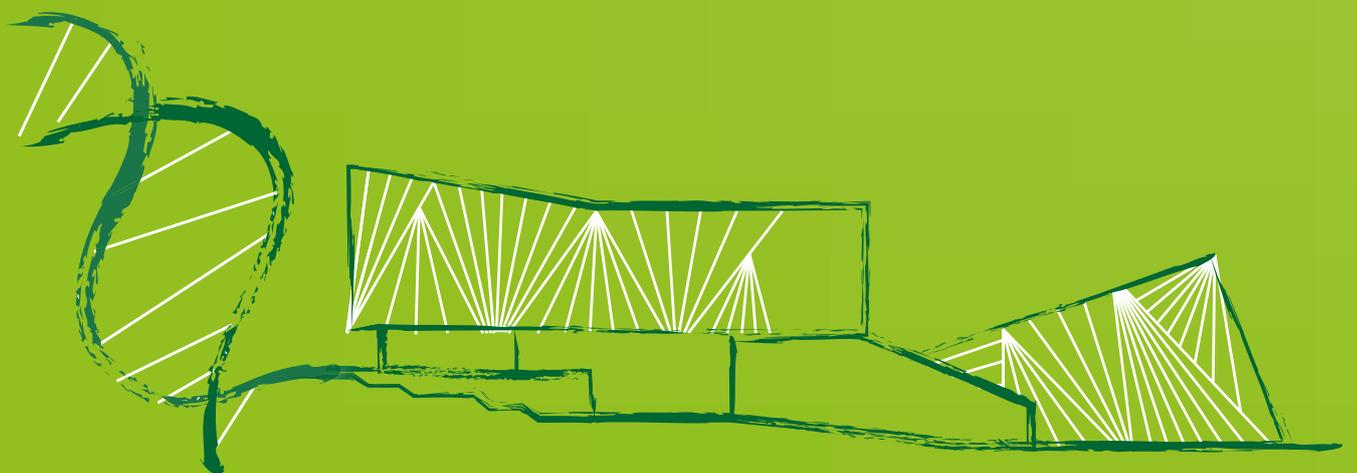
*Apresentador: daiane-simonaggio@hotmail.com

josoe_fk@univates.br

Cada vez mais dá-se importância a minimização de desperdício de fonte de matéria-prima alimentar, bem como a técnicas e processos de reutilização ou reagregação de subprodutos alimentares resultantes de produção alimentar. Isso acarreta também em benefícios na economia minimizando custos ao produto final. Na Serra Gaúcha encontra-se uma produção vinífera em potencial e, portanto, uma geração de rejeitos com potencial de reaproveitamento. Ao final do processo de vinificação, o líquido é separado do resíduo (cascas, sementes e borras), por meio de uma prensa. Este resíduo é intitulado bagaço. Na produção de vinho cerca de 15 % da uva processada é descartada. Tendo isso em vista, é importante poder reaproveitar este resíduo como um novo produto nutricional. Em contrapartida, dar-se-á um destino adequado ao mesmo, evitando contaminações pelo descarte incorreto e minimizando o custo, pois a indústria paga a outras empresas para retirar o bagaço da vinícola. O bagaço possui baixo pH e elevados teores de compostos que resistem à degradação biológica, assim seu uso como fertilizante se torna difícil. Por outro lado, é rico em proteínas, fibras, minerais e compostos fenólicos, com potencial de gerar produtos inovadores e funcionais. Torna-se importante um estudo a respeito da composição do bagaço de diferentes variedades de uva, a fim de criar novas rotas para este resíduo. O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização do bagaço de uva proveniente de variedades *vitis vinifera* e *vitis labrusca* com vistas à sua agregação num produto alimentício. O bagaço analisado foi doado por cinco empresas viníferas da Serra Gaúcha. O resíduo foi coletado, mantido sobre refrigeração por um dia e seco em estufa laminar a 50 °C por cinco dias. Posteriormente foi triturado em liquidificador industrial e por fim obteve-se uma farinha utilizando o moinho de facas. Os seguintes parâmetros foram analisados: proteína, fibra, umidade e matéria mineral. Os valores encontrados foram menores para a farinha obtida das variedades *vitis labrusca*, mas estavam dentro dos parâmetros estipulados pela Resolução CNNPA n° 12, 1978 e IN N° 08, de 02 de junho de 2005. Para *vitis labrusca*, os resultados em proteína, umidade, cinza e fibra, foram, respectivamente, 11,4 %, 1,0 %, 38,2 % e 11,9 %, inferiores à *vitis vinifera*. Desta forma, é evidenciado que as variedades *vitis vinifera* são mais indicadas para a elaboração de um complemento alimentar. Porém, ainda serão realizadas mais análises, como por exemplo, a determinação dos teores de metais pesados e polifenóis para complementar a viabilidade da sua utilização.

Palavras-chave: uva; resíduo; reaproveitamento, bagaço.

SAÚDE





CITOTOXICIDADE DA RADIAÇÃO UVB EM LINHAGENS ERITROLEUCÊMICAS MDR E NÃO MDR

E. F. WAGNER^{1,3,4*}, F. SOARES^{1,2,3}, A. LETTNIN^{1,2,3}, D. FILGUEIRA^{1,3} e A. P. VOTTO^{1,2,3}

1Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Avenida Itália Km 8 – Rio Grande –RS – Brasil.

2Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas - FAC, ICB, FURG, RS, Brasil.

3Laboratório de Cultura Celular, ICB, –FURG, RS, Brasil.

4Escola de Química e Alimentos, FURG, RS, Brasil.

*Apresentador: eduardo.felipe.wagner@gmail.com

A Leucemia Mieloide Crônica é uma desordem mieloproliferativa de células tronco hematopoiéticas em diferenciação na medula óssea. Encontra-se associada à translocações entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22 (cromossomo Philadelphia), com a formação do oncogene BCR-ABL, que ativa constitutivamente a MAPK, desregulando as vias de sobrevivência, proliferação, diferenciação e apoptose. Após tratamento com quimioterápicos, esta leucemia pode ainda se tornar resistente a múltiplas drogas (fenótipo MDR) e este fenótipo pode ser selecionado por fármacos que atuem em alvos celulares distintos. Entre os mecanismos mais estudados do fenótipo MDR está a superexpressão da glicoproteína P (Pgp). A linhagem celular eritroleucêmica resistente FEPS, foi desenvolvida a partir da linhagem parental K562, por concentrações crescentes do quimioterápico daunorrubicina, que atinge o DNA. Porém pouco se sabe sobre a relação entre o alvo celular o qual a resistência foi induzida e sua posterior sensibilidade a tratamentos com mesmo alvo. Portanto, neste trabalho foi avaliada a sensibilidade das linhagens K562 e FEPS à radiação UVB, que também atinge diretamente o DNA. A viabilidade celular foi avaliada por exclusão por azul de trypan para as doses de 0,01; 0,03; 0,06 e 0,12 J/cm² de UVB e a indução de apoptose e/ou necrose por microscopia de fluorescência (brometo de etídio: acridina laranja-1:1) para a dose de 0,03 J/cm². Houve queda na viabilidade em ambas as linhagens, para todas as doses, a partir de 24 h. A dose de 0,03 J/cm² foi escolhida para os testes de morte celular, onde a K562 sofreu apoptose em 24 e 48 h e a FEPS, apoptose e necrose para estes mesmos tempos. Assim, é possível sugerir que os mecanismos de indução de morte celular entre as duas linhagens são diferentes. Além disso, foi demonstrado que o UVB é capaz de provocar citotoxicidade em ambas as linhagens celulares, desconsiderando o fenótipo MDR.

Palavras-chave: Apoptose. DNA. Leucemia. Radiação ultravioleta. Resistência celular.



ANÁLISE PROTEÔMICA DAS CÉLULAS DE MAMÍFEROS TRATADAS COM EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA

C. O. S. FROZZA^{1*}, A. ALVING², S. MOURA³, J. A. P. HENRIQUES¹ e M. ROESCH-ELY¹

1 Laboratório de Genômica, Proteômica e Reparo de DNA, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1.130 Caxias do Sul – RS, CEP 95070-560

2 Bruker Daltonics, 40 Manning Rd, Billerica, MA, 01821 EUA

3 Laboratório de Produtos Naturais e Sintéticos, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1.130 Caxias do Sul – RS, CEP 95070-560

*Apresentador: carolinefrozza@yahoo.com.br

A própolis é um produto resinoso elaborado pelas abelhas da espécie *Apis mellifera*, as quais a utilizam para se protegerem contra a invasão de insetos e para assepsia da colmeia. A própolis vermelha, encontrada no nordeste brasileiro, vem sendo estudada por apresentar características físico-químicas e biológicas diferenciais. O presente trabalho teve como objetivo comprovar a atividade antitumoral da própolis vermelha de Sergipe e comparar o perfil proteico de células tumorais (Hep-2, câncer de laringe) e não tumorais (Hek-293, células de rim) tratadas com o seu extrato. Desta forma, foi realizado um extrato hidroalcoólico da própolis vermelha, através da maceração com etanol 70% (v/v) por 24 horas, com posterior filtragem e secagem. A caracterização química foi realizada utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência seguida por análise no Espectrômetro de Massas, e possibilitou avaliar a presença de diversos compostos já citados por outros autores, como a Formononetina, Biochanina A e Medicarpina. A atividade citotóxica do extrato em células de mamíferos foi avaliada através do ensaio de viabilidade celular (MTT). O tratamento foi realizado com diferentes concentrações do extrato pelo período de 1 hora seguido por 24 horas de incubação com meio suplementado com soro fetal bovino. Os resultados mostraram que o extrato apresentou efeito citotóxico nas células Hep-2 (IC_{50} 120 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) em uma concentração menor quando comparado com a linhagem Hek-293 (IC_{50} 220 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Estes valores foram utilizados para o tratamento das linhagens para posterior análise proteômica livre de gel. Através da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas foram identificados um total de 1.336 proteínas na linhagem Hep-2 e 773 nas células Hek-293. Entre as proteínas identificadas 16 foram reguladas na linhagem Hep-2 e 04 na linhagem Hek-293 quando comparadas aos grupos que não receberam a própolis. Assim, foi realizada a classificação destas proteínas através da base de dados PANTHER (*Protein Analysis THrough Evolutionary Relationships*). Esta análise revelou que a função molecular predominante é a atividade catalítica e entre os processos biológicos o mais proeminente foi associado ao metabolismo. O perfil proteômico aqui apresentado pode contribuir para o esclarecimento dos mecanismos moleculares envolvidos na inibição da proliferação de células cancerosas causada pelo extrato hidroalcoólico da própolis vermelha, os quais permanecem obscuros até o momento.

Palavras-chave: Própolis vermelha. Proteômica. Câncer.



DESENVOLVIMENTO DE BACTERINA DE *ESCHERICHIA COLI* RECOMBINANTE CONTENDO A TOXINA ÉPSILON DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

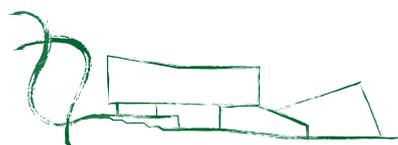
R. A. DONASSOLO¹, M. R. A. FERREIRA¹, C. MOREIRA JR¹, M. S. MEDEIROS¹ e F. R. CONCEIÇÃO¹

¹ Universidade Federal de Pelotas - Centro de Desenvolvimento Tecnológico/Biotecnologia, Laboratório de Imunologia Aplicada
Apresentador: rafaeldonassolo@hotmail.com

Clostridium perfringens é uma bactéria comum no ambiente e no trato gastrointestinal de humanos, animais domésticos e selvagens. São capazes de sobreviver em locais com baixas concentrações de oxigênio e produz esporos sob condições desfavoráveis. A toxina épsilon, terceira toxina mais potente do gênero *Clostridium* provoca um elevado número de doenças, dentre elas a enterite crônica, enterotoxemia e desenteria, que afetam principalmente ovinos, bovinos e caprinos. A utilização de antígenos recombinantes contra a toxina épsilon tem sido relatada no controle e profilaxia dessas enfermidades em substituição aos toxoides disponíveis comercialmente, que apresentam processo de produção laborioso e perigoso. No entanto, a produção de antígenos recombinantes requerem etapas de expressão, solubilização e purificação que elevam o tempo e o custo final de produção dessas vacinas. Nesse contexto, objetivou-se avaliar os títulos de anticorpos neutralizantes em coelhos imunizados com *Escherichia coli* recombinante inativada expressando a toxina épsilon de *C. perfringens*. A metodologia consistiu em subclonagem do gene *etx* de *C. perfringens* em vetor pET28a e posterior expressão em *E. coli* BL21 (DE3) Star™; avaliação da solubilidade de rETX expressa em vetor pET28a; SDS-PAGE para avaliar a expressão de rETX; western blot para confirmação da antigenicidade; quantificação das proteínas; preparo das bacterinas recombinantes; vacinação dos animais e avaliação da resposta imune humoral por soroneutralização em camundongos. A concentração de rETX foi de aproximadamente 1,5 mg/mL. A dose de 50 µg de rETX na forma de bacterina recombinante não induziu títulos detectáveis de anti-toxina ETX. No entanto, a dose de 200 µg de rETX induziu títulos de 10 UI/mL de anticorpos neutralizantes. Dentre as vantagens da utilização de bacterinas recombinantes está a diminuição do tempo e custo de produção, uma vez que não se faz necessário o processo de purificação, e o lipopolissacarídeo (LPS) presente na membrana da *E. coli* pode exercer efeito adjuvante, além da dose utilizada no presente estudo ser 50 vezes inferior a dose tradicionalmente utilizada em toxoides comerciais. Essa forma alternativa de produção de vacinas recombinantes visa à disponibilização de antígenos de alta qualidade e baixo custo para utilização pela indústria veterinária.

Experimentação animal: Registro no CEEA 7542

Palavras-chave: Imunologia. Biotecnologia. Recombinantes. Vacinologia.



ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF EXTRACELLULAR VESICLES FROM *ECHINOCOCCUS* SPP. HYDATID FLUID

M. E. BATTISTELLA^{1*}, G. B. DOS SANTOS¹, E. D. DA SILVA¹ e A. ZAHA¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 9500; Bloco IV, Prédio 43421, Campus do Vale. Agronomia, Porto Alegre, RS, Brazil - 91501-970

*Apresentador: mebattistella@gmail.com

Helminths of the class Cestoda are obligate endoparasites of great biological importance worldwide. Some species of the genus *Echinococcus* are etiological agents of hydatid disease in humans and domesticated animals and require important attention. Humans and ungulate animals, intermediate hosts, are affected by the formation of the hydatid cyst, which is filled with hydatid fluid (HF), in the liver or lungs. Previous studies of our group showed the presence of proteins in the HF of both host and parasite. Interestingly, proteins without signal peptide were identified in the HF and in protoescoleces culture media (Monteiro *et al.* 2010). Thus, our hypothesis is that these proteins are transported by extracellular vesicles (EVs). This study focus on the isolation and characterization of EVs from the hydatid fluid of fertile and infertile cysts of *E. granulosus* and *E. ortleppi*. We first analyzed the HF samples from both fertile and infertile hydatid cysts by polyacrylamide-SDS gel electrophoresis (SDS-PAGE) to select samples with less host proteins, such as albumin. Once selected, we purified the EVs by three methods, all preceded by a series of centrifugations to remove cells and debris: "Salting out"; Total Exosome Isolation Kit (Invitrogen); and ultracentrifugation. Subsequently, we subjected the samples to trypsin treatment to assess the integrity of the EVs. Immunoblot, with specific antibodies against enolase and aldolase from *Echinococcus* spp., was performed to verify the presence of proteins usually found in EVs. To characterize the EVs, we analyzed purified samples by transmission electron microscopy (TEM). Among the three methods used for purification of EVs, we identified a larger quantity of proteins in EVs purified by ultracentrifugation. Our hypothesis that the samples contained EVs was further supported as the proteins present in the samples were not digested by trypsin. Furthermore, enolase and aldolase from *Echinococcus* were identified by immunoblot. Finally, the purified vesicles, from both fertile and infertile cysts, were identified and characterized by TEM. Our findings support the hypothesis that some proteins present in HF are transported by extracellular vesicles. Further studies based on proteomics, to identify the EVs composition, and transcriptomics, to assess the presence of mRNAs and miRNAs in the EVs, may clarify their role in the host-parasite interaction.

Keywords: *Echinococcus*. Microvesicles. Extracellular vesicles. Exosomes



MODULAÇÃO DA AUTOFAGIA E TERAPIA DE GLIOBLASTOMA

L. S. M. CONCEIÇÃO^{1*}, K. B. FELIPE², M. P. THOMÉ¹, L. YU³ e G. LENZ¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, RS – Brasil

² Universidade Federal do Paraná-A. Prof. Lothário Meissner, 632- Jardim Botânico, Curitiba – PR

³State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology; Tsinghua University-Peking University Joint Center for Life Sciences; Beichen West Road, Chaoyang District, Beijing 100101, P.R.China

*email: lucas.sobral@ufrgs.br

A autofagia apresenta papel duplo na biologia tumoral, podendo exercer efeito antitumoral, prevenindo a carcinogênese e pró-tumoral ao final deste processo. Diversos quimioterápicos, bem como a radioterapia ativam a autofagia, entretanto, o papel desta ativação ainda não é claro. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o papel da autofagia na ação terapêutica da temozolomida (TMZ) em células U-87MG, bem como caracterizar a ação dos inibidores de autofagia i15, i18 e i27 nesse tipo celular. A modulação da autofagia foi realizada geneticamente, inibindo via RNA de interferência; e farmacologicamente, através do uso do indutor rapamicina (RAPA) e dos inibidores 3-metiladenina (3-MA) e seus derivados (i15, i18, i27). Ensaios de western blot demonstraram que os três inibidores foram capazes de impedir a degradação da proteína SQSTM1/p62 e a conversão de LC3-I em LC3-II induzidos por RAPA. Adicionalmente, experimentos com microscopia confocal confirmaram a ação inibitória desses fármacos, mormente no i27. Ainda, resultados obtidos demonstram que o *knockdown* de BECN-1, mas principalmente de ATG7, são capazes de reduzir a proliferação de células tratadas com TMZ. Efeito semelhante (com exceção do i15) foi observado em células U-87MG wt tratadas com as combinações RAPA+TMZ+inibidores, mostrando que o bloqueio da autofagia potencializa a ação terapêutica da TMZ, de forma persistente em células silenciadas para ATG7, demonstrando que a inibição da autofagia é capaz, ainda, de reduzir a resistência à TMZ. Por fim, células silenciadas e tratadas com as combinações RAPA+TMZ+inibidores (principalmente com 3-MA) apresentaram índices de proliferação menores do que aquelas tratadas apenas com TMZ, mostrando que o efeito antiproliferativo dessas combinações não se deve apenas a interferências na autofagia, mas também em outros processos celulares. A execução desse trabalho permite concluir que i18 e i27 tratam-se de promissores inibidores de autofagia, uma vez que são capazes de bloquear a ocorrência deste processo de modo mais efetivo que o 3-MA. Além disso, observou-se que neste contexto, a autofagia está exercendo efeito pró-tumoral, sendo a inibição deste processo, uma estratégia terapêutica interessante para sensibilizar células U-87MG a ação da TMZ

Palavras-chave: Glioblastoma. Autofagia. Temozolomida. Rapamicina. Inibição.



AVALIAÇÃO DE VACINAS RECOMBINANTES CONTRA LEPTOSPIROSE CONTENDO OS ANTÍGENOS *LIGBREP* E *LIGBNI* ASSOCIADOS A UM ADJUVANTE A BASE DE SAPONINA

A. BAKRI^{1*}, C. E. P. da CUNHA², A. S. NETO², M. A. MEDEIROS³ e O. A. DELLAGOSTIN⁴

1 Laboratório de Vacinologia, CDTEC, UFPel

2 Laboratório de Vacinologia, CDTEC, UFPel

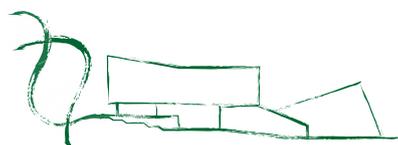
3 Bio-manguinhos, Fiocruz, RJ

4 Laboratório de Vacinologia, CDTEC, UFPel

*Apresentador: aishefarid@gmail.com

A leptospirose é uma enfermidade de caráter zoonótico causada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira*. Embora exista a utilização de vacinas contra a leptospirose humana em alguns países, estas são bacterinas, que apresentam efeitos adversos locais e sistêmicos e conferem proteção apenas contra os sorovares que compõem a vacina. Buscando sanar as deficiências apresentadas pelas bacterinas, vários antígenos recombinantes têm sido avaliados em vacinas contra essa zoonose, focando principalmente em fatores de virulência. Há um interesse na utilização das proteínas Lig (Leptospiral immunoglobulin-like) em formulações vacinais, pelo seu envolvimento com mecanismos patogênicos. A proteína LigB é conservada em todas as espécies patogênicas do gênero. A proteína apresenta uma porção idêntica (LigBrep) e outra não idêntica (LigBni) à proteína LigA. Porém, vacinas compostas por antígenos recombinantes purificados estão relacionadas com baixa imunogenicidade, necessitando adjuvantes que potencializem a resposta imune. Neste cenário, este estudo buscou avaliar a resposta imunoprotetora induzida pelos antígenos recombinantes LigBrep e LigBni de *Leptospira interrogans* sorovar Copenhageni L1-130 associado a um adjuvante comercial à base de saponina contra desafio letal homólogo. O estudo obteve parecer favorável da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPel (permissão número 6843). Os hamsters foram imunizados por via intramuscular com duas doses vacinais nos dias 0 e 14. Coletas de sangue foram realizadas nos dias 0 e 28 do experimento. Para o desafio, 10^3 *L. interrogans* sorovar Copenhageni L1-130 foram inoculadas por via intraperitoneal 14 dias após a segunda dose. Após 28 dias do desafio, os sobreviventes foram eutanasiados. Rim esquerdo macerado com a finalidade de reisolamento do patógeno. A resposta humoral promovida pelas formulações foi avaliada por ELISA indireto e os soros positivos a esse teste foram titulados. Para avaliação da imunidade esterilizante buscou-se o reisolamento do patógeno através dos macerados renais. Todos animais do grupo controle vieram a óbito. O grupo inoculado com a proteína LigBrep apresentou apenas um óbito. No grupo inoculado com a LigBni, vieram a óbito quatro animais. Não houve imunidade esterilizante. Novos antígenos e adjuvantes serão buscados e testados.

Palavras-chave: Vacinas. Adjuvantes. Leptospirose.



AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNOPROTETORA CONTRA LEPTOSPIROSE INDUZIDA POR ANTÍGENO *LIGANI* ASSOCIADO A DIFERENTES ADJUVANTES

E. BETTIN^{1*}, C. E. P. da CUNHA¹, A. C. P. SEIXAS NETO¹, C. P. PESTANA², M. A. MEDEIROS² e O. A. DELLAGOSTIN¹

1 Laboratório de Vacinologia - Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/nº Pelotas, RS

2 Biomanguinhos - Fiocruz, Av. Brasil, 4365 - Manguinhos, Rio de Janeiro - RJ, Brasil

*Apresentador: everton.bettin@ufpel.edu.br

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial causada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira*. A vacinação contra a leptospirose humana é existente em poucos países através de bacterinas, que apresentam efeitos adversos e conferem proteção sorovar específica. Antígenos recombinantes têm sido avaliados em vacinas contra essa zoonose. A região não idêntica da proteína LigA (LigAni) apresentou resultados promissores em experimentos de imunoproteção em modelo animal. Vacinas compostas por antígenos purificados necessitam da presença de adjuvantes que potencializem a resposta imune, na medida em que não possuem uma diversidade antigênica suficiente para produzir uma atividade imunoestimulatória por si mesmas. Este trabalho avaliou a resposta imunoprotetora induzida pelo antígeno recombinante LigAni de *Leptospira interrogans* sorovar Copenhageni cepa L1-130 associado a três diferentes adjuvantes contra desafio letal homólogo. O estudo teve aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPel, obtendo o parecer favorável (CEEA 6843). Foram construídas formulações vacinais contendo 30 µg do antígeno rLigAni associado ao adjuvante hidróxido de alumínio e a outros dois adjuvantes comerciais (B e C). Hamsters (*Mesocricetus auratus*) machos com 6 semanas de idade, foram imunizados com duas doses, por via intramuscular, em um intervalo de 14 dias (dias 0 e 14). Foram realizadas coletas de sangue nos dias 0 e 28. Os animais foram desafiados com 10³ *L. interrogans* sorovar Copenhageni cepa L1-130 por via intraperitoneal 14 dias após a segunda dose e acompanhados por mais 28 dias. A resposta humoral promovida foi avaliada por ELISA indireto e os soros positivos foram titulados. Para avaliação da imunidade esterilizante buscou-se o reisolamento do patógeno através de macerados renais. Foi realizada quantificação da carga bacteriana do fígado, rim e pulmão dos animais eutanasiados através de PCR em tempo real (RT-PCR) utilizando o gene *lipL32* como alvo. Todos os animais dos grupos imunizados com o antígeno rLigAni associado ao adjuvante Al(OH)₃ e aos dois adjuvantes comerciais tiveram proteção contra o desafio homólogo. Nenhuma das formulações foi capaz de conferir imunidade esterilizante. A proteína rLigAni associada ao Adjuvante C induz uma resposta humoral específica significativamente maior que quando associada ao hidróxido de alumínio (p < 0,05). Novas formulações serão testadas em busca de uma imunidade esterilizante.

Palavras-chave: leptospirose; vacinas; adjuvantes; LigAni.



EXPRESSÃO PROTEICA DE MAPK P38- α E DE CASPASE-3 EM CÉLULAS DE HEPATOCARCINOMA HUMANO (HEPG2) TRATADAS COM EXTRATOS DE ESPÉCIE VEGETAL NATIVA DO VALE DO TAQUARI-RS

D. J. MARMITT^{1*}, S. BITENCOURT¹, D. M. KICH¹, D. FALEIRO¹, S. IMMICH¹, N. O. FLORES¹, W. O. B. da SILVA¹ e M. I. GOETTERT¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Laboratório de Cultura de Células, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia;

*Apresentador: diorgemarmitt@yahoo.com.br

Pesquisas realizadas com diversos gêneros da família Myrtaceae relatam sua importância para inúmeras aplicações medicinais, devido à presença de fitoconstituintes como os taninos, flavonoides e antocianinas. Alguns desses compostos apresentam potencial antioxidante, o qual está relacionado com a resposta anti-inflamatória. A proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) p38- α atua na regulação de processos celulares como proliferação, apoptose, sobrevivência e diferenciação celular, além de estar envolvida na produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-1 β . A modulação da proteína MAPK p38- α pode desempenhar um papel-chave no tratamento de doenças inflamatórias crônicas, bem como na regulação de processos oxidativos. Diante dessas considerações, este trabalho objetivou, avaliar os extratos etanólico (EtOH) e hexânico (Hex) das folhas de uma espécie vegetal nativa do Vale do Taquari-RS, os quais foram submetidos a análise fitoquímica, avaliação do potencial antioxidante, viabilidade celular e avaliação da expressão proteica de MAPK p38- α , MAPK pp38- α e caspase-3 em células de hepatocarcinoma humano (HepG2). Ensaios colorimétricos e de precipitação foram utilizados para o *screening* fitoquímico, e o método de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil-hidrato) para determinação do potencial antioxidante. A viabilidade celular e expressão proteica foram avaliados pelos métodos de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) e *Western blotting*, respectivamente. Em ambos os extratos foram identificados alcaloides. Esteroides, taninos e flavonóis foram identificados somente no extrato EtOH, sendo que a presença de distintas classes de compostos fenólicos está relacionada com a elevada quantidade de fenóis totais, os quais estão relacionados ao potencial antioxidante. O extrato EtOH, na concentração de 200 μ g/mL, diminuiu a viabilidade das células. A análise densitométrica das proteínas demonstrou diminuição da expressão de MAPK pp38- α e de caspase-3 em células HepG2 tratadas com os extratos na concentração de 200 μ g/mL. MAPK p38 promove a ativação de caspase-3, nesse contexto, a diminuição encontrada na expressão da forma total de caspase-3 pode ser por meio da supressão da via da MAPK p38. Os resultados fazem presumir que potenciais fitoconstituintes com atividade anti-inflamatória atuam por meio da inibição de alvos moleculares específicos da cascata das MAPKs.

Palavras-chave: p38- α MAPK. HepG2. Myrtaceae.



AVALIAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA PARA O TRATAMENTO *IN VITRO* DE LARVAS DE *TOXOCARA CANIS*

M. C. DE FREITAS^{1*}, A. SENA-LOPES¹, R.B. PINHO¹, R.N. DAS NEVES¹, A.C. NASCIMENTO¹, F. S. B. BEZERRA¹, M. T. O. SILVA¹, M. E. A. BERNE¹, J. A. P. HENRIQUES² e S. BORSUK¹

¹ Universidade Federal de Pelotas – Pelotas, RS

² Universidade de Caxias de Sul - Caxias do Sul, RS

*Marina Freitas: marinacardosodfreitas@gmail.com

A Toxocaríase visceral humana é uma infecção zoonótica negligenciada causada por larvas de *Toxocara canis* e, menos frequentemente, *Toxocara cati*. Sua prevalência é subestimada, principalmente por causa das dificuldades de diagnóstico e sintomatologia não específica, as manifestações clínicas dependem do número de larvas, o padrão de migração, da distribuição de *Toxocara spp.*, e a resposta imune do hospedeiro. As drogas usadas para tratar esta doença têm eficácia limitada podendo conduzir a resistência aos fármacos. Com isso, a busca por novas alternativas para o tratamento da Toxocaríase visceral, como o desenvolvimento de novos fármacos, deve ser investigado. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a atividade larvicida do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha brasileira (EHPV). Para os ensaios, ovos de *T.canis* foram coletados das tubas uterinas dos parasitos adultos fêmeas, obtidos após o tratamento de cães com pamoato de pirantel (15 mg/kg), depois disso, os ovos foram incubados em formalina a 2% solução a 28 °C durante 30 dias, a seguir, foi realizada a extração das larvas (L3), sendo estas cultivadas em meio RPMI-1640 a 37 °C em estufa com 5% de CO₂. Para avaliar o efeito larvicida, foram utilizadas placas de microcultivo de 96 poços com 100 larvas/cavidade em RPMI 1640 e acrescentados o EHPV na concentração final 1 mg/mL em PBS, foram utilizados dois controles, um deles com larvas sem tratamento e outro com larvas mortas por choque térmico, este material foi incubado, durante 24, 48 e 72 h a 37 °C em estufa com 5% de CO₂. Em todas as cavidades da placa foi adicionado o corante trypan blue 0,4%, como marcador de viabilidade celular; após, foi avaliada a morfologia e motilidade das larvas, em microscópio óptico, sendo consideradas vivas aquelas que apresentaram motilidade positiva e ausência de coloração pelo trypan blue. O experimento foi realizado em triplicata e os dados obtidos submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (p<0,05). Como resultado, no período de exposição de 24 h, as larvas apresentaram motilidade negativa mas não coraram; em 48 h, 90% das larvas apresentaram alterações morfológicas, mas coraram somente em 72 h. Os controles de larvas vivas apresentaram motilidade até completar 72 h e o controle de larvas mortas coraram em 24 h de exposição ao corante. Pode-se concluir que o EHPV demonstrou ser eficaz no tratamento de *T. canis*, quando testada *in vitro*.

Palavras-chave: Própolis vermelha. *Toxocara canis*. Larvicida.



AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DE NANOCÁPSULAS DE SINVASTATINA: ESTUDO *IN VITRO*

M. FORTUNA ^{1*}, M. DAL BERTO², F. BARBISAN ^{1,3}, C. C. MACHADO¹, R. P. RAFFIN¹, J. DE R. MOTTA¹, T. D. ALGARVE^{1,4}, P. GOMES ⁵ e I. B. M. DA CRUZ^{1,3,4}

- 1-Laboratório Biogenômica- Centro de Ciências da Saúde-Universidade Federal de Santa Maria - Av. Roraima, 1000 – Camobi -RS
2-Programa de Pós-Graduação em Patologia- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - R. Sarmento Leite, 245 - Centro Histórico, Porto Alegre - RS
3-Programa de Pós-Graduação em Farmacologia- Centro de Ciências da Saúde-Universidade Federal de Santa Maria- Av. Roraima, 1000 – Camobi -RS
4-Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica-Centro de Ciências Naturais e Exatas- Universidade Federal de Santa Maria - Av. Roraima, 1000 – Camobi -RS
5- Centro Universitário Franciscano-Unifra - R. Silva Jardim, 1175 - Ns. do Rosário, Santa Maria – RS
*Apresentador: milena.fortunaz@gmail.com

A nanotecnologia é um campo científico multidisciplinar que tem avançado rapidamente nos últimos anos. As principais vantagens do nanoencapsulamento são proteção do fármaco contra degradação e direcionamento a sítios de ação específicos, podendo melhorar a biodisponibilidade de fármacos no seu sítio de ação. Sabe-se que as estatinas atingem o sistema nervoso central (SNC), porém, há uma grande dificuldade de penetração destes fármacos através da barreira hematoencefálica (BHE). Assim, o desenvolvimento de nanocápsulas (NC) é farmacologicamente relevante e estudos precisam ser realizados buscando-se avaliar se as interações entre sinvastatina (SV) e NC podem ser citotóxicas. O objetivo do seguinte trabalho foi avaliar *in vitro* o efeito citotóxico diferentes concentrações de NCSV em células mononucleares do sangue periférico (CMSP). Tanto a sinvastatina da NC quanto a livre, foram obtidas na Sigma Aldrich. A elaboração das NCSV ocorreu através do método de deposição interfacial do polímero pré-formado. Para testar a viabilidade nas CMSP do efeito das NC foi realizado uma cultura de células em condições ideais a partir de amostras de sangue obtidas de indivíduos jovens adultos e saudáveis. As células tratadas nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/ml de SV, NCSV e Nano Branca foram cultivadas por 24 horas e 72 horas antes da realização dos ensaios de viabilidade: MTT [4,5dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolic bromide) e DNA Picogreen utilizando Quant iT™ PicoGreen® kit. Não se detectou qualquer efeito citotóxico relacionado aos tratamentos no teste MTT ou DNA Picogreen, tanto em 24 como em 72 horas de tratamento. Com isso, os resultados sugerem que as NCSV não apresentam efeito citotóxico às células. Mais estudos necessitam ser realizados principalmente *in vivo*, a fim de atestar a segurança da utilização deste tipo de nanocápsula.

Palavras-chave: Nanocápsulas. Sinvastatina. Citotoxicidade.



POSSÍVEL ATIVIDADE ANTITUMORAL DE 1,4-DIIDROPIRIDINAS GRAXAS E NÃO-GRAXAS EM LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA

C. O. VIAN^{1*}, M. A. G. MARINHO¹, A. P. HORN¹ e F. S. DE OLIVEIRA¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, 96210-900, Laboratório de Cultura Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Brasil.

*Apresentador: camilavianbio@gmail.com

Glioblastomas são considerados os tumores cerebrais malignos mais comuns e mais agressivos que se desenvolvem no sistema nervoso central, sendo altamente invasivos e com prognóstico extremamente desfavorável. Os tratamentos para os tumores cerebrais tornam-se difíceis, pois a entrega de fármacos ao sistema nervoso central é dificultada em razão da presença da barreira hematoencefálica (BHE). Com isso, novas alternativas para o tratamento da doença tornam-se necessárias. As diidropiridinas (DHPs) podem ser uma boa alternativa para a síntese de novos fármacos, pois apresentam uma série de ações farmacológicas previamente descritas, como vasodilatação, broncodilatação, neuroproteção, efeito antitumoral e antioxidante. Sendo assim, a modificação estrutural dessas moléculas, com a adição de cadeias graxas, aumentando sua lipofilicidade e, conseqüentemente, a permeabilidade à BHE, possa ser uma alternativa eficaz para o tratamento da doença. Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar os possíveis efeitos antitumorais *in vitro* das novas 1,4-DHPs derivadas de ácidos graxos em linhagem de glioblastoma de rato (C6). Nós observamos através do ensaio com MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromídico) que essas moléculas induzem uma significativa queda na viabilidade celular na maior concentração utilizada. Além disso, a marcação com iodeto de propídeo sugere que as novas 1,4-DHPs apresentam uma atividade citotóxica na linhagem celular utilizada, pois houve um aumento significativo na morte celular após o tratamento. A contagem celular mostrou que as novas 1,4-DHPs apresentaram um potencial citostático/citotóxico eficaz, pois observamos uma diminuição significativa de células após o tratamento. Nossos resultados indicam que as novas 1,4-DHPs derivadas de ácidos graxos apresentam atividade biológica *in vitro* em uma linhagem de tumor cerebral maligno, sendo promissoras para futuros experimentos *in vivo*.

Palavras-chave: Barreira hematoencefálica. Cadeia graxa. Efeito antitumoral. Tumor cerebral maligno.



AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE EM *ESCHERICHIA COLI* DE PLASMÍDEOS CONTENDO GENES QUE CODIFICAM PARA SEIS DIFERENTES PROTEÍNAS DE *LEPTOSPIRA INTERROGANS*

G. R. P. INDA^{1*}, T. L. OLIVEIRA² e D. D. HARTWIG³

1Laboratório de Vacinologia - Núcleo de Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/nº Pelotas, RS, Brasil

2Laboratório de Biologia Molecular de Microrganismos, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/nº Pelotas, RS, Brasil

*Apresentador: guilhermeinda@hotmail.com

A tecnologia do DNA recombinante baseia-se na transferência gênica entre organismos, onde a recombinação do DNA é proveniente de diferentes fontes. Nesta área, o processo de clonagem destaca-se, sendo os plasmídeos os vetores mais utilizados. A tecnologia recombinante está pavimentando o caminho para o uso terapêutico de moléculas complexas, razão pela qual um número crescente de produtos biológicos é baseado em proteínas recombinantes. Atualmente, uma grande variedade de proteínas recombinantes tem sido produzida utilizando a bactéria *Escherichia coli*, sistema bem estabelecido e que apresenta inúmeros fatores positivos, mas também negativos, como: a toxicidade da proteína heteróloga e a instabilidade do plasmídeo contendo o gene exógeno. A leptospirose é uma zoonose causada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira*. A utilização de vacinas recombinantes de subunidade utilizando antígenos conservados em diferentes sorovares da bactéria já é foco de inúmeras pesquisas. Com o presente trabalho, buscamos avaliar a estabilidade de plasmídeos contendo genes que codificam para seis diferentes proteínas de *Leptospira interrogans*, bem como, a toxicidade das mesmas, utilizando como sistema de expressão duas cepas de *Escherichia coli* (BL21 Star e C43 (DE3)). Com isso, pretende-se estabelecer uma plataforma de expressão mais rentável para a produção de proteínas recombinantes de *L. interrogans*. Os testes de toxicidade foram avaliados em dois conjuntos de placas ágar LB-ampicilina, sendo um conjunto contendo o indutor IPTG e o outro não. A toxicidade dos plasmídeos foi definida através da ausência de colônias em placas contendo ampicilina e o indutor, e na presença de colônias nas placas contendo apenas ampicilina. Para os testes de estabilidade, a cada 1 h de indução da expressão da proteína, uma série de diluições dos cultivos foram preparadas e, para cada diluição, 20 µl foram imediatamente plaqueados em placas de ágar LB com e sem ampicilina. A estabilidade de cada um dos plasmídeos foi estabelecida como a razão entre o número de colônias crescidas nas placas contendo ampicilina sobre o número de colônias crescidas nas placas sem ampicilina. Na cepa BL21 Star, todas as proteínas testadas foram tóxicas para a bactéria, bem como os plasmídeos se mostraram instáveis durante a expressão das proteínas. Para a cepa C43 (DE3), nenhuma proteína se mostrou tóxica, e os plasmídeos apresentaram maior estabilidade em relação a outra cepa.

Palavras-chave: *Leptospira interrogans*. *Escherichia coli* bl21 star. *Escherichia coli* c43 (de3). Toxicidade. Estabilidade.



AVALIAÇÃO MUTAGÊNICA *IN VIVO* DE COMPOSTOS EXTRAÍDOS DE *P. BORYANUM*

C. L. F. FERNANDES^{1*}, A. L. M. BAISCH¹, M. G. C. DA SILVA¹ e F. M. R. DA SILVA JR¹

¹ Universidade Federal Do Rio Grande, Km 8 – Av. Itália – Carreiros, Rio Grande - RS

*Apresentador: e-mail carolinefernandes@furg.br

Pesquisas recentes sobre a atividade farmacológica de compostos extraídos da microalga *Pediastrum boryanum*, mostraram o seu potencial terapêutico. Tendo em vista que esta microalga pode ser utilizada como princípio ativo para futuros fármacos. É necessário investigar o seu potencial toxicológico. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi fazer uma avaliação do potencial mutagênico, da biomassa, do meio extracelular e dos compostos fenólicos extraídos de *P. boryanum* após administração intraperitoneal em ratos Wistar, através do teste de micronúcleo. O teste de micronúcleo é utilizado para identificar compostos mutagênicos que causam quebra cromossômica. Neste trabalho foram utilizados ratos Wistar machos e adultos que receberam, por via intraperitoneal, uma única dose dos seguintes extratos de *P. boryanum*: biomassa suspendida em carboximetilcelulose (PbBio), meio extracelular (PbExtra) e compostos fenólicos (PbFe). Para compor os grupos controle, foram administradas solução salina e carboximetilcelulose (CMC). Foram utilizados 6 animais por grupo conforme protocolado no CEUA-FURG (Pq002/2013). Após 4h da administração dos tratamentos, realizou-se a eutanásia dos animais e dissecação dos tecidos. O teste de micronúcleo foi aplicado em células eritroblásticas PCEs e NCEs, da medula óssea, sendo contadas ao total 1000 células por amostra. Nos resultados foram obtidos a relação entre eritrócitos policromáticos anucleados (PCEs) e eritrócitos normocromáticos (NCEs). Sendo dentro dos tratamentos com sal ($3,14 \pm 0,33$), CMC ($5,13 \pm 1,30$), PbBio ($4,47 \pm 0,45$), PbExtra ($7,54 \pm 2,28$), PbFe ($2,87 \pm 0,51$). A porcentagem de micronúcleos em 1000 PCEs nos seguintes tratamentos foram: com sal ($8,25 \pm 0,85$), CMC ($8,85 \pm 0,96$), PbBio ($5,0 \pm 1,35$), PbExtra ($8,00 \pm 0,41$) e PbFe ($4,75 \pm 1,03$). Conforme estes resultados podemos perceber que a administração dos extratos de *P. boryanum* não induziram toxicidade, pois não houve alteração na proporção de PCEs e NCEs e nem aumento na incidência de micronúcleos. Sendo assim podemos concluir que através do teste de micronúcleo os tratamentos não causaram mutagenicidade.

Palavras-chave: Avaliação mutagênica. Micronúcleo. *Pediastrum boryanum*. Toxicidade.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TRICOMONICIDA DE SELANILTRIAZOIL CARBONITRILAS

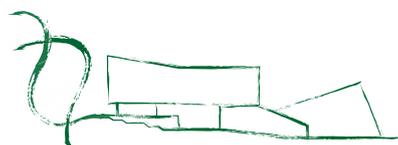
A. C. NASCIMENTO¹, A. SENA-LOPES¹, R. N. DAS NEVES¹; R. B. PINHO¹; F. S. B. BEZERRA¹; M. T. DE OLIVEIRA¹; M. S. CARDOSO¹; M. DO SACRAMENTO¹; D. ALVES¹; L. SAVEGNAGO¹ e S. BORSUK¹

¹ Universidade Federal de Pelotas

*Apresentador: audreydacycn@hotmail.com

A Tricomoníase, doença sexualmente transmissível (DST) não viral com maior frequência no mundo, associada à infertilidade feminina, inflamações pélvicas, câncer cervical e até mesmo à transmissão do vírus HIV, tem como agente etiológico o protozoário *Trichomonas vaginalis*. Atualmente, a forma de tratamento mais utilizada é pelos compostos 5-nitroimidazóis, como o metronidazol, ao qual alguns isolados de *T. vaginalis* já desenvolveram resistência. Dessa forma existe a necessidade de estudos para a utilização de compostos alternativos para o tratamento da Tricomoníase, como os compostos orgânicos de selênio, já que estes mostraram atividade imunomodulatória, antifúngica e antiteratogênica em diferentes estudos. Como objetivo do presente trabalho testou-se selaniltriazol carbonitrilas (SeTCN) contendo diferentes substituintes na molécula (H, Me, OMe e Br). Para os ensaios, usou-se isolados ATCC 30236 cultivadas em meio tripticase-extrato de levedo-maltose (TYM) sem ágar, pH 6,0, suplementado com 10% de soro bovino, inativado a 56 °C. O *screening* de atividade foi realizado em microplaca de 96 poços, adicionando-se os parasitos em cada poço na densidade de 2,0x 10⁵ trof/mL TYM e os compostos SeTCN 1 (H), SeTCN 2 (OMe), SeTCN 3 (Br) e SeTCN 4 (Me) na concentração final de 100 µM diluídos em DMSO; mantendo-se as mesmas condições, em estufa de 5% de CO₂ a 37 °C por 24 h. Além dos controles negativo (somente trofozoítos) e positivo (100 µM/mL Metronidazol), havia um controle com DMSO, não podendo exceder a concentração de 0,6% de DMSO em cada poço. Assim, determinou-se a viabilidade, motilidade e morfologia dos trofozoítos em relação aos controles através de contagem em câmara de Neubauer e exclusão com corante trypan blue 0,4%, a fim de testar a eficácia dos compostos. No entanto, os resultados obtidos da experimentação *in vitro*, mostraram que os quatro compostos, SeTCN 1, SeTCN 2, SeTCN 3 e SeTCN 4, não apresentaram atividade anti-*T. vaginalis*. Como perspectiva tem-se o estudo de outros compostos sintéticos contendo selênio.

Palavras-chave: Tricomoníase. Selênio. Metronidazol.



GERAÇÃO DE MODELO CELULAR DE DISPLASIA CORTICAL COM O USO DE CÉLULAS-TRONCO PLURIPOTENTES INDUZIDAS A PARTIR DE FIBROBLASTOS DE PACIENTES AFETADOS

F. MAJOLO^{1*}, D. R. MARINOWIC², R. D. MOLLINA¹, J. C. DA COSTA² e D. C. MACHADO¹

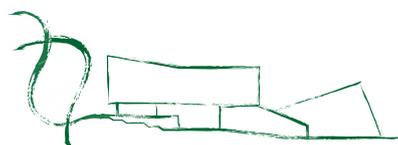
1 Laboratório de Biologia Molecular e Celular, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

2 Laboratório de Neurociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

*Apresentador: fernandamajolo@hotmail.com

A Displasia Cortical é uma das formas mais frequentes de malformações do desenvolvimento cortical e refratária ao tratamento medicamentoso. A Displasia Cortical Focal (DCF) engloba anormalidade da arquitetura cortical e citológicas, sendo suas causas desconhecidas. O estudo de células pluripotentes induzidas (iPS) permite o estudo da fisiopatologia, dos mecanismos, identificação de alvos terapêuticos e testes de novas drogas, pois são células semelhantes às células-tronco embrionárias. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um modelo celular de DCF através da geração de iPS a partir de fibroblastos de pacientes afetados. Os fibroblastos humanos foram obtidos de biópsias de pele de pacientes atendidos no Hospital São Lucas da PUCRS após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. As iPS foram obtidas através da exposição dos fibroblastos a vetores virais contendo os genes OCT4, SOX2, KLF4 e c-MYC utilizando KIT CytoTune®-iPS 2.0 Sendai Reprogramming. Os clones obtidos foram repicados e mantidos em cultivo sobre matrigel em meio de cultura para células pluripotentes mTSE. A reprogramação foi caracterizada utilizando kit ES Cells Marker Sample Kit que contém anticorpos anti Nanog, anti Sox2, anti Oct4, anti TRA1-60 e anti TRA1-81. Foram realizadas duas coletas de pele de pacientes portadores de DCF e uma coleta de paciente controle. Após a exposição aos vetores virais foi observado o crescimento de clones com características morfológicas semelhantes a células embrionárias a partir do 13º dia. Após o terceiro repique dos clones, foi possível a caracterização das células iPS. A marcação positiva da caracterização das células evidencia o sucesso na geração de iPS dos dois cultivos de fibroblastos. Modelar doenças neurodegenerativas a partir de iPS tem o potencial de fornecer um impacto importante na medicina moderna. Através do uso deste modelo celular, a investigação isolada de cada um dos possíveis mecanismos envolvidos na formação do cérebro e potencialmente alterados nos pacientes com displasia cortical focal permitirá contribuir de forma relevante e considerável para o entendimento da neuroembriologia das displasias. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS, sob o número CAAE 17943213.9.0000.5336.

Palavras-chave: Células-tronco de pluripotência induzida. Displasia Cortical Focal. Fibroblastos humanos.



Fosforilação DA FAMÍLIA DO RECEPTOR Trk DURANTE A NEUROINDUÇÃO E NEURODIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DE CORDÃO UMBILICAL HUMANO

R. D. MOLINA^{1*}, F. MAJOLO¹, D. R. MARINOWIC², J. C. DA COSTA³ e D. C. MACHADO¹

1 Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Pesquisas Biomédicas, Hospital São Lucas da PUCRS, Prédio 60 – 2º andar, Av. Ipiranga 6690, Porto Alegre – Rio Grande do Sul, CEP 90610-000.

2 Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Laboratório de Neurociências, Instituto de Pesquisas Biomédicas, Hospital São Lucas da PUCRS, Prédio 60 – 2º andar, Av. Ipiranga 6690, Porto Alegre – Rio Grande do Sul, CEP 90610-000.

3 Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Instituto do Cérebro, Prédio 63, Av. Ipiranga 6690, Porto Alegre – Rio Grande do Sul, CEP 90610.000

*Apresentador: rachelmolina16@hotmail.com

A terapia com células-tronco mesenquimais (MSCs) é promissora para o tratamento de várias doenças neurodegenerativas que podem ter sido desencadeadas por alterações em diferentes processos de sinalização celular. As neurotrofinas compreendem uma família de proteínas secretadas, em sua maioria, pela via dependente de cálcio, capazes de promover o crescimento, proliferação, diferenciação, sobrevivência e a mielinização de neurônios do sistema nervoso central e periférico, dentre outros efeitos. As ações exercidas pelas neurotrofinas são mediadas por dois tipos principais de receptores membranares, os RTKs do tipo Trk e o receptor p75. Os receptores Trks são divididos em subtipos, TrkA, TrkB e TrkC. O objetivo desta pesquisa foi determinar o perfil de fosforilação dos receptores TrkA, TrkB e TrkC durante a neuroindução e neurodiferenciação de MSCs de tecido de cordão umbilical humano. As amostras de cordão umbilical humano foram obtidas de parturientes (n=3) do Centro Obstétrico do Hospital São Lucas da PUCRS, após assinatura do TCLE (CEP Nº 1.108.833). O tecido do cordão umbilical foi cultivado para obtenção das MSCs adultas as quais foram então cultivadas com meio específico de neurodiferenciação. A fosforilação dos RTKs foi determinada com o uso do kit Human Phospho-RTK Array. As imagens das membranas de nitrocelulose foram digitalizadas com o scanner Chemi Doc MP, e os pixels foram quantificados utilizando o programa Image J. As MSCs obtidas do tecido do cordão umbilical foram confirmadas através da indução de diferenciação em células adipócitas e osteócitas. A neurodiferenciação foi confirmada pela expressão de SOX2, GFAP, GAPDH, MAP1, NFL, ASCL1, STX1A, Neuro D6, bem como através da coloração positiva para β III-tubulina, MAP 2, NeuN e NF-H. Durante os processos de neuroindução e neurodiferenciação os níveis de fosforilação dos receptores TrkA, TrkB e TrkC foram variáveis, sem um padrão definido. Sendo assim foi possível concluir que os receptores TrkA, TrkB e TrkC estão sendo ativamente fosforilados durante a neuroindução e neurogênese, com padrões variáveis entre as diferentes etapas e entre diferentes amostras, refletindo a variabilidade das células-tronco adultas humanas.

Palavras-chave: Tecido de cordão umbilical. Receptor TRK. Células-tronco mesenquimais.



EFICÁCIA DA FOSFOLIPASE D RECOMBINANTE DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS* NA COMPOSIÇÃO DE VACINA DE SUBUNIDADE PARA A LINFADENITE CASEOSA

R. B. PINHO^{1*}, M. T. O. SILVA¹, F. S. B. BEZERRA¹, R. N. DAS NEVES¹, A. S. LOPES¹, M. C. DE FREITAS¹, A. C. NASCIMENTO¹ e S. BORSUK¹

¹ Laboratório de Biotecnologia Infecto-parasitária. Centro de Desenvolvimento Tecnológico. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas RS
*rodrigobpinho@hotmail.com

As vacinas comercialmente disponíveis para a linfadenite caseosa (LC) apresentam algumas limitações como baixa eficácia e reações adversas. Por isso, é constante a busca por novos alvos. Dentre eles a fosfolipase D (PLD) surge como um dos principais fatores de virulência, uma vez que atua como um fator de permeabilidade e contribui para a propagação da infecção. Assim, objetivou-se avaliar a eficácia da proteína rPLD de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em uma vacina recombinante de subunidade quanto à indução de proteção e resposta imune humoral em camundongos. Um fragmento de 825 pb do gene *pld* foi amplificado e clonado nos sítios de restrição *Bam*HI e *Eco*RI do vetor pAE. O plasmídeo recombinante pAE/*pld* foi transformado em *Escherichia coli* BL21 (DE3) Star por choque térmico e a expressão da proteína rPLD foi induzida com IPTG. A purificação foi realizada por cromatografia de afinidade ao níquel em coluna de sepharose (HisTrap) e um Western blot com anticorpo monoclonal anti-6xhis foi realizado para confirmar a identidade da rPLD, onde se obteve uma banda com o tamanho de 31 kDa. Para os experimentos de imunização e desafio foram utilizados 30 camundongos Balb/c fêmeas, com 6 a 8 semanas de idade divididos em 3 grupos de 10 animais, imunizados com 2 doses da vacina recombinante em intervalo de 21 dias (CEEA UFPel nº 2422). Os grupos foram: G1, inoculado com 300 µl solução salina 0,9%; via s.c.; G2, inoculado com 50 µg de rPLD + 7,5 µg de saponina em 300 µl, via s.c.; e G3, bacterina da cepa MIC-6 de *C. pseudotuberculosis* (10^5 10^6 UFC em 100 µl). Coletas de sangue foram realizadas nos dias 0, 21 e 42 do experimento. ELISA indireto foi realizado para avaliar os níveis IgG total, IgG1 e IgG2a. Desafio com a cepa MIC-6 (10^4 10^4 UFC) de *C. pseudotuberculosis* foi realizado no dia 42 pós- imunização e os animais foram observados por 30 dias. Decorrido esse tempo, observou-se que a rPLD foi capaz de induzir uma taxa de proteção de 30% nos camundongos desafiados. Os níveis de IgG total específica para rPLD se mostrou significativamente maior ($p < 0,05$) no grupo experimental G2 em relação aos controles, nos dias 21 e 42. Os isótipos IgG1 e IgG2a também demonstraram níveis mais elevados em G2 no dia 42, sugerindo perfil misto de resposta imune Th1/Th2. Em conclusão, a proteína rPLD apresentou-se promissora na formulação de vacinas de subunidade, uma vez que foi capaz de induzir proteção e resposta humoral contra a linfadenite caseosa em camundongos.

Palavras-chave: *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Fosfolipase D. Vacina recombinante de subunidade. Linfadenite caseosa.



POTENCIAL DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE *LEPTOSPIRA INTERROGANS* PELOS ANTICORPOS MONOCLONAIS ANTI-LIPL32 E ANTI-LIGBREP

V. D. PACCE^{1*}, C. K. GOMES¹, N. R. OLIVEIRA¹, S. JORGE¹ e O. A. DELLAGOSTIN¹

¹ Laboratório de Vacinologia, CD Tec, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

*Apresentador: violettapacce@gmail.com

A leptospirose, causada por bactérias do gênero *Leptospira*, é uma zoonose de importância global que afeta o homem e os demais mamíferos. Por ser considerada uma das maiores causadoras de perdas econômicas no setor animal de produção no mundo todo, alternativas para o controle dessa enfermidade se fazem necessárias. A vacinação é uma das medidas mais eficazes para o controle da doença, porém, as vacinas disponíveis no mercado são bacterinas e apresentam uma eficácia limitada devido à grande vacinação antigênica do patógeno. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial inibitório de anticorpos monoclonais (mAbs) anti-LipL32 e anti-LigBrep, frente ao crescimento de *Leptospira interrogans in vitro*. Os anticorpos utilizados foram purificados por cromatografia líquida de afinidade utilizando coluna de proteína A. O teste de Inibição do Crescimento foi realizado com a utilização de 3 diferentes anticorpos produzidos, mAb3 e 1D9 (anti-LipL32) e LigBrep (anti-LigBrep). Os anticorpos foram diluídos em E.M.J.H., em diluição seriada até 10^{-4} , partindo da concentração inicial de 500µg para mAb3 e 1D9, e 250µg para LigBrep. Juntamente aos anticorpos foram adicionadas a *Leptospira interrogans* FioCruz cepa L1130 na concentração de 10^3 células. Para análise do crescimento bacteriano, foram feitas três contagens nos dias 0, 5 e 10. Para medir a significância estatística foi utilizado o teste ANOVA e quando necessário, aplicado o teste de Turkey. Os valores foram considerados significantes quando $p < 0,05$. Após a realização do teste foi possível observar que na primeira diluição (concentração mais alta de anticorpo), foi obtido um significativo potencial inibitório dos 3 mAbs frente ao controle ($p < 0,05$). O anticorpo monoclonal anti-LipL32 (mAb3) também mostrou uma capacidade inibitória superior aos demais anticorpos mesmo quando mais diluído em concentração de 250µg. Todos os demais anticorpos, quando diluídos, não demonstraram um significativo potencial inibitório ao final do experimento. O ensaio de inibição *in vitro* revelou os anticorpos monoclonais mAb3, 1D9 e LigBrep como potenciais ferramentas a serem utilizadas para o controle da leptospirose, indicando também uma possível aplicabilidade destes em futuros ensaios *in vivo* de imunização passiva.

Palavras-chave: *Leptospira*. Anticorpos monoclonais. Inibição do Crescimento. *In vitro*.



INIBIÇÃO DAS ENZIMAS JAK3, JNK3 E P38 α *IN VITRO* POR EXTRATOS VEGETAIS

S. N. STOLL^{1*}, B. CAYE¹, D. FALEIRO¹, S. IMMICH¹, D. M. KICH¹, D. MARMITT¹, S. BITENCOURT¹, S. LAUFER² e M. I. GOETTERT¹

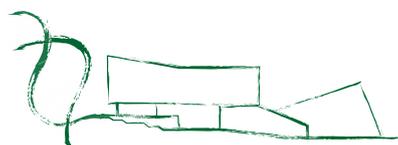
¹PPGBiotec UNIVATES, Av. Avelino Talini, 171 - Universitário, Lajeado-RS, Brasil

²Universidade de Tübingen, Auf der Morgenstelle 8, 72076 Tübingen, Germany

*Apresentador: stefani.stoll@gmail.com

As proteínas ativadas por mitógenos (MAPK) p38- α e a JNK-3 são ativadas por estímulos extracelulares, e juntamente com a tirosina quinase JAK3, são ativadas durante a inflamação e envolvidas na progressão de doenças inflamatórias crônicas. A JNK3 é seletivamente expressa no cérebro, sendo também um marcador em doenças neurodegenerativas, enquanto a p38- α é expressa de forma ubiquitária e está relacionada com a inflamação. A JAK3 é seletivamente expressa em tecidos hematopoiéticos e atuando em células do sistema imune. Essa seletividade desperta interesse na busca de novas terapias para o tratamento de condições neurodegenerativas, inflamatórias crônicas, doenças imunológicas e câncer. Sendo assim, é interessante o estudo de novos compostos que tenham capacidade de inibir seletivamente essas proteínas. O objetivo do estudo foi avaliar a atividade de extratos aquosos, etanólicos e hexânicos de plantas da família *Myrtaceae* quanto à inibição de JNK3, JAK3 e p38- α . A metodologia consiste em determinar o potencial inibitório dos diferentes extratos vegetais através da avaliação da fosforilação do substrato STAT3 da JAK3 e o substrato ATF-2 da p38- α e JNK3, pelo do método enzimático ELISA. Os extratos etanólico e aquoso das três plantas testadas apresentaram maior potencial inibitório frente à JNK3, JAK3 e p38- α , diferentemente do extrato hexânico, que apresentou menor efeito inibitório das três proteínas. A inibição das proteínas p38- α e JNK3 apresentou maior potencial frente aos extratos etanólico, aquoso e hexânico, respectivamente. O extrato etanólico da planta B teve maior potencial inibitório da JAK3, e na inibição da JNK3 o extrato aquoso da planta C apresentou maior potencial. A inibição da p38- α foi superior frente ao extrato etanólico da planta A. Com base nesses resultados, pode-se inferir que extratos etanólicos de diferentes plantas da família *Myrtaceae*, apresentam seletividade frente a inibição de p38- α , JNK3 e JAK3. Estes resultados caracterizam os extratos como potenciais candidatos na busca e desenvolvimento de novas drogas.

Palavras-chave: Extratos. Inibição. p38- α . JNK3. JAK3.



AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE CÉLULAS HaCaT ASSOCIADAS A EXTRATOS DE PRÓPOLIS MARROM PARA APLICAÇÃO NA REGENERAÇÃO DA PELE

A. T. CAUDURO¹; C. S. C. GARCIA¹, J. A. P. HENRIQUES¹ E M. ROESCH-ELY¹

¹ Laboratório de Genômica, Proteômica e Reparo de DNA, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

A própolis marrom é um produto resinoso produzido pelas abelhas do gênero *Apis mellifera* utilizado na medicina tradicional. Relatada por ter propriedades imunoestimulatória, antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e cicatrizante, a própolis marrom torna-se uma perspectiva para aplicação em feridas de pessoas queimadas ou que sofreram outros danos na pele. Determinar a viabilidade e alterações celulares frente ao efeito biológico de dois extratos hidroalcoólicos de própolis marrom originárias de Caxias do Sul e Antônio Prado – RS, em culturas de células de queratinócitos humanos (HaCaT). Células HaCaT foram cultivadas em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) suplementado com 10% soro fetal bovino e 1% de antibiótico (Penicilina/Estreptomicina) em estufa a 37°C e atmosfera umidificada com 5% de CO₂. Semeou-se (8×10⁴ células/mL) em placas de 96 poços até obtenção de 70-80% de confluência e realizou-se o tratamento das células com dois extratos hidroalcoólico de própolis marrom nas concentrações de 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 µg/mL, controle negativo de DMEM e o veículo etanol 50% (v/v) e controle positivo com 5% de dimetilsulfóxido (DMSO), durante o período de 24, 48 e 72 horas. A viabilidade celular foi determinada pela redução do MTT (brometo de 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio). Avaliou-se as alterações morfológicas das células tratadas com os extratos hidroalcoólicos de própolis marrom através da coloração de Giemsa e microscopia. Os resultados foram analisados pelo teste de Tukey no programa SPSS v.19. Os extratos de própolis marrom em todas as concentrações testadas no ensaio de MTT não evidenciaram citotoxicidade nem alterações morfológicas substanciais pela coloração de Giemsa nas concentrações testadas. Em adição, ressalta-se que a própolis de Caxias do Sul em concentrações de 12,04 µg/mL para 24 horas, 10,62 µg/mL para 48 horas e 4,79 µg/mL para 72 horas, bem como, a própolis de Antônio Prado em concentrações de 47,64 µg/mL para 24 horas, 39,56 µg/mL para 48 horas e 10,98 µg/mL para 72 horas de tratamento mantiveram a viabilidade celular em 80%, demonstrando que os extratos de própolis marrom não foram citotóxicos para linhagem HaCaT. O extrato de própolis marrom não apresentou atividade citotóxica em células HaCaT, podendo ser objetivo de mais estudos com a finalidade de comprovar sua eficácia como possível agente coadjuvante para regeneração da pele.

Palavras-chave: Citotoxicidade. Cultura de células. Própolis marrom. Regeneração da pele.



PHARMACOLOGICAL PERSPECTIVES FROM BRAZILIAN *SALVIA OFFICINALIS* (LAMIACEAE): ANTIOXIDANT, AND ANTITUMOR IN MAMMALIAN CELLS

C. S. C. GARCIA¹; A. P. F. LAMBERT²; T. BARCELLOS³; S. MOURA³; M. SALVADOR⁴; M. ROESCH-ELY¹ e J. A. P. HENRIQUES¹

1 Laboratory of Genomics, Proteomics and DNA Repair, Biotechnology Institute, University of Caxias do Sul, RS, Brazil.

2 Faculty of Pharmacy, University of Caxias do Sul, RS, Brazil.

3 Laboratory of Biotechnology of Natural and Synthetic Products, Biotechnology Institute, University of Caxias do Sul, RS, Brazil.

4 Laboratory of Oxidative Stress and Antioxidants, Biotechnology Institute, University of Caxias do Sul, RS, Brazil.

Salvia officinalis (Lamiaceae) has been used in south of Brazil as a diary homemade, in food condiment and tea-beverage used for the treatment of several disorders. The objective of this study is to characterize chemical compounds found in the hydroalcoholic and aqueous extracts obtained from *Salvia officinalis* (L.), evaluate antioxidant properties and cytotoxic activity in tumor and non-tumor cell lines and alterations on cell morphology after cell treatment using *Salvia officinalis* (L.). The identification of chemical substituent of dried *S. officinalis* hydroalcoholic (ExtHS) and aqueous (ExtAS) extract was performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and high-resolution electrospray ionization mass spectrometry (ESI-HRMS) analysis. Total phenolic content was measured using the Folin-Ciocalteu. The antioxidant activity was evaluated through radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS^{•+}), enzymatic activities for superoxide dismutase (Sod)-like and Catalase-like. Cytotoxicity was evaluated through MTT assay and morphological alterations were observed in giemsa stained and apoptosis evaluated by annexin V staining after salvia extracts treatment. The chemical identification sage extracts by GC-MS and ESI-HRMS in negative mode revealed the presence of acids and phenolic compounds. *In vitro* antioxidant analysis for both extracts indicated promising activities. The cytotoxic assays using tumor (Hep-2, HeLa, A-549, HT-29 and A-375) and in non-tumor (HEK-293 and MRC-5), showed selectivity for tumor cell lines. After 24h treatment, the Hep-2 strain was more susceptible to the ExtHS (IC₅₀ = 45.00 ± 1.00 ?g mL⁻¹) and line HeLa (IC₅₀ = 1500 ± 2.5 mg mL⁻¹) by ExtAS. Immunocytochemistry presenting a majority of tumor cells at late stages of the apoptotic process and necrosis. Given the results presented here, Brazilian *Salvia officinalis* (L.) used as condiment and tea, may protect the body against some disease, in particularly those where oxidative stress is involved, like neurodegenerative disorders, inflammation and cancer.

Keywords: Antioxidant. Apoptosis. Câncer. Chemical compounds. *Salvia officinalis* (L.).



DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE DE CÉLULAS DE QUERATINÓCITOS HUMANOS ASSOCIADAS A EXTRATOS DE PRÓPOLIS VERMELHA

G. LORENZET¹, C. S. C. GARCIA¹, M. ROESCH-ELY¹, J. A. P. HENRIQUES¹

¹ Laboratório de Genômica, Proteômica e Reparo de DNA, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil.

A própolis vermelha, denominada assim devido sua intensa coloração vermelha, é encontrada na região Nordeste brasileira, principalmente nos estados de Sergipe, Alagoas, Bahia, Pernambuco e Paraíba. Este tipo de própolis tem-se mostrado bem tolerada pelo organismo, com raros incidentes de alergia e baixa ou nenhuma toxicidade. Além disso, apresenta atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e regenerativa, propriedades importantes para o tratamento de lesões em queimados. Determinar a viabilidade e alterações morfológicas frente ao efeito biológico do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha originária do Alagoas - AL em culturas de células de queratinócitos humanos (HaCaT). Células HaCaT foram cultivadas em meio DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) suplementado com 10% soro fetal bovino inativado e 1% de antibiótico (Penicilina/Estreptomicina) em estufa a 37°C e atmosfera umidificada com 5% de CO₂. Na segunda etapa foram semeadas (8×10^4 células/mL) em placas de 96 poços até obtenção de 70-80% de confluência. Realizou-se o tratamento das células com extrato hidroalcoólico de própolis vermelha nas concentrações de 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 µg/mL, controle negativo de DMEM e o veículo etanol 50% (v/v) e controle positivo com 5% de dimetilsulfóxido (DMSO), durante o período de 24, 48 e 72 horas. A viabilidade celular foi determinada pela redução do MTT (brometo de 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio). Avaliou-se as alterações morfológicas das células tratadas com o extrato hidroalcoólico de própolis vermelha através da coloração de Giemsa. Os resultados foram analisados pelo teste de Tukey no programa SPSS v.19. O extrato de própolis vermelha em todas as concentrações testadas no ensaio de MTT não apresentou citotoxicidade e alterações morfológicas substanciais nas células através da coloração de Giemsa. Em adição, ressalta-se que até concentrações de 49,17 µg/mL para 24 horas, 24,63 µg/mL para 48 horas e 25,24 µg/mL para 72 horas de tratamento manteve-se a viabilidade celular em 80%, demonstrando-se que os extratos de própolis vermelha não foram citotóxico para linhagem HaCat. O extrato própolis vermelha não apresentou atividade citotóxica em células HaCat, podendo ser objetivo de mais estudos com a finalidade de comprovar sua eficácia como possível agente para regeneração da pele no tratamento de queimados.

Palavras-chave: Citotoxicidade. Cultura de células. Própolis vermelha. Tratamento de queimados.



IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA EXTERNA DE *LEPTOSPIRA INTERROGANS* POR IMUNOFLUORESCÊNCIA

G. N. R. TIMM^{1*}, J. D. SOUZA¹, A. A. GRASSMANN¹ e A. J. A. MCBRIDE¹

¹ Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Núcleo de Biotecnologia

*Apresentador: gabi.timm@hotmail.com

A Leptospirose é uma zoonose causada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira*. No Brasil não existe vacina para uso humano e a bacterina usada em animais apresenta uma série de problemas. As proteínas expostas na superfície de leptospiros são alvos potenciais para o desenvolvimento de uma vacina capaz de evitar a infecção letal e transmissão. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia para localização celular de proteínas preditas *in silico* como expostas na superfície de *L. interrogans*. Inicialmente foram produzidas 2 flagelinas e 1 proteína predita como exposta na superfície de leptospiros, FlaA e FlaB, e LigB, respectivamente. As sequências codificadoras foram clonadas em vetor pAE e as proteínas recombinantes (fusionadas a 6xHis) foram expressas em *Escherichia coli*. As proteínas foram purificadas por cromatografia de afinidade ao níquel e avaliadas por SDS-PAGE e *Western blotting* (WB). A bacterina foi produzida pela inativação por calor de *L. interrogans* sorovar Copenhageni (10⁸ leptospiros/dose). Ratos Wistar adultos foram utilizados para produção de soro hiperimune (CEEA nº 4336-2015). O soro foi avaliado por WB e imunofluorescência (IF). Para determinação da localização dessas proteínas na célula de *L. interrogans*, as leptospiros foram aprisionadas em blocos de agarose de baixo ponto de fusão para garantir a integridade da membrana externa (ME). A ME foi rompida utilizando Triton X-114 e EDTA. Em seguida, foi realizado uma IF utilizando os soros hiperimunes produzidos neste estudo e anticorpos monoclonais contra LipL32 (fornecidos por colaboradores). Ao final da IF, os blocos de agarose contendo leptospiros foram analisados em microscopia de fluorescência. As proteínas recombinantes foram produzidas com eficiência e os soros hiperimunes foram capazes de reconhecer até 2 ng de proteína no WB. Estes soros também reconheceram a proteína nativa no WB e no IF com células fixadas. As leptospiros foram eficientemente aprisionadas em agarose, porém, nas análises preliminares, apenas os soros anti-bacterina e anti-LipL32 reconheceram a proteína nativa na bactéria intacta. Há controvérsias na literatura quanto à localização de LipL32 e mais experimentos serão realizados para determinar sua localização celular. Atualmente, estamos produzindo soro contra uma nova flagelina. A técnica descrita é promissora, está em processo de otimização para determinação da localização de proteínas preditas como expostas na superfície de *L. interrogans*.

Palavras-chave: Proteínas de membrana externa. Vacinas. Leptospirose.



POLIMORFISMO *RBP4* rs3758539 -803 C>T E SUA RELAÇÃO COM ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E ANTROPOMÉTRICAS EM ESCOLARES DE SANTA CRUZ DO SUL – RS, BRASIL

L. BRIXNER^{1*}, E. I. KLINGER¹, A. C. R. GERALDO¹, M. FIEGENBAUM², C. P. REUTER¹, M. S. BURGOS¹, P. F. TODENDI² e A. R. M. VALIM¹

1 Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul - RS

2 Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre - RS

*Apresentador: lucasr@mx2.unisc.br

Entre os maiores problemas de saúde pública da atualidade estão a obesidade, a diabetes mellitus tipo 2 e as doenças cardiovasculares, cujas manifestações mais precoces são alterações bioquímicas, e que por sua vez estão relacionadas a variações comuns nos genes que codificam proteínas que atuam nos processos de homeostase metabólica. Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), o tipo mais comum de variação genética, tornaram-se importantes marcadores para diagnóstico e prognóstico de doenças. Um SNP associado a alterações do metabolismo glicídico e lipídico é o rs3758539 -803 C>T do gene *RBP4*, cuja proteína transporta retinol e participa do metabolismo a nível celular. Nosso objetivo foi verificar a relação de parâmetros bioquímicos e antropométricos com o SNP *RBP4* rs3758539 -803 C>T em escolares de Santa Cruz do Sul – RS. Este estudo de caráter transversal, aprovado pelo CEP-UNISC pelo protocolo nº 714.216/14, contou com a participação de 1171 escolares, na faixa dos sete aos 17 anos de idade. Os escolares foram classificados conforme o Índice de Massa Corporal (IMC), tendo sido mensurados também o percentual de gordura e a circunferência da cintura. Os exames bioquímicos foram realizados com kits comerciais da DiasSys™ e Kovalent™, tendo sido mensurados os níveis séricos de glicose, triglicerídeos, LDL, HDL, e colesterol total. A genotipagem foi realizada por qPCR no aparelho StepOne Plus® (Applied Biosystems) utilizando o sistema TaqMan™. O tratamento estatístico foi realizado pelo programa SPSS 20.0, por estatística descritiva e regressão logística binária para relacionar os genótipos considerados de risco (CT, TT) com as variáveis avaliadas. A amostra foi composta predominantemente por adolescentes (74,2%) e indivíduos do sexo feminino (57,6%), com uma elevada prevalência de sobrepeso (17,3%) e obesidade (16,8%). Em relação ao polimorfismo, 30,1% dos escolares apresentam os genótipos tidos como de risco, mas que na população estudada, não estiveram relacionados a nenhuma das variáveis avaliadas. A variável que mais se aproximou de uma relação foi o HDL (OR 3,073 [95% IC 0,936, 3,293]), dado que se destaca por polimorfismos de outras regiões desse gene já terem sido relacionados com alterações no HDL por outros autores. Concluímos que os escolares apresentam alta prevalência de excesso de peso e que o polimorfismo *RBP4* rs3758539 -803 C>T não está relacionado com a predição de risco de distúrbios metabólicos na população estudada.

Palavras-chave: *RBP4*. Escolares. Distúrbios metabólicos. qPCR. Marcador genético.



CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA NATIVA ERPY-LIKE DE *LEPTOSPIRA INTERROGANS* ATRAVÉS DE IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA

H. Q. SIMÃO^{1*}, S. B. de FREITAS¹, B. C. ROLOFF², T. F. COLLARES², L. G. MONTE² e D. D. HARTWIG³

1 Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS

2 Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS

3 Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS
henrique15@gmail.com

A leptospirose é uma zoonose causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*. É uma doença com ampla distribuição mundial, principalmente em países em desenvolvimento, de grande ameaça à saúde pública. Os sintomas podem variar de leves até mais graves, podendo levar o indivíduo a morte. O teste de aglutinação microscópica (MAT) é a técnica “padrão ouro” para o diagnóstico da leptospirose, entretanto, este apresenta limitações. Por isso, a busca por novos alvos para controle da leptospirose torna-se necessária. A lipoproteína ErpY-like (LIC11966) foi reportada como um novo potencial fator de virulência de *Leptospira interrogans*, que possui importância no processo de infecção e, assim, possui potencial para ser utilizada em diagnóstico. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi a realização da técnica de imunofluorescência indireta para investigação da interação do anticorpo policlonal (pAb) anti-rErpY-like com a proteína nativa ErpY-like de *L. interrogans* cepa Fiocruz L1-130. Para tal, lâminas de vidro (ICN Biomedicals Inc., CA, USA) foram revestidas com uma solução de poly-L-lisina 0,1% por 1 h a 37 °C. Alíquotas de 10 µl contendo culturas com 10⁸ células.mL⁻¹ de leptospiros foram adicionados as lâminas e incubadas a 37 °C. Após, foi realizado bloqueio com soro fetal bovino 10% e, em seguida, foi adicionado o pAb anti-rErpY-like por 1 h a 37 °C, na diluição 1:100 em PBS 1x. Então, foi adicionado anticorpo secundário anti-camundongo conjugado com FITC (Invitrogen, EUA) na diluição 1:100 e incubado em câmara úmida e escura, por 1 h a 37 °C. Por fim, adicionou-se uma gota de meio de montagem (glicerol 90%) e foi realizada visualização em microscópio de fluorescência (Olympus BX 51). Entre todas as etapas foram realizadas duas lavagens com PBS-T. Como controle positivo, foi utilizado anticorpo monoclonal anti-rLipL32 e, como controle negativo soro normal de camundongo. Para confirmar a presença das leptospiros no campo microscópico foi realizada coloração do DNA com Hoechst 33258. Observou-se reação do pAb anti-rErpY-like, marcando com fluorescência a proteína ErpY-like nativa na *Leptospira*, bem como o mAb utilizado no controle positivo. No controle negativo não houve reação, apesar da presença de leptospiros na lâmina. Estes resultados mostram que a proteína ErpY-like tem potencial para o desenvolvimento de testes para diagnóstico da leptospirose. Contudo, mais estudos são necessários.

Palavras-chave: ErpY-like. Imunofluorescência indireta. Imunodiagnóstico. Leptospirose.



PERFIL DE CAROTENOIDES E CITOTOXICIDADE DA ALGA ANTÁRTICA *DESMARESTIA ANCEPS* MONTAGNE

R. FRASSINI¹; PAULINO. Y¹; S. MOURA²; C. M. P. PEREIRA³; P. COLEPICOLO ⁴; L. Z. VILLELA⁴; A. P. MARTINS⁴; M. T. FUJII⁵; J. A. P. HENRIQUES¹; M. ROESCH-ELY¹

1 Laboratório de Genômica Proteômica e Reparo de DNA – Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

2 Laboratório de Produtos Sintéticos e Naturais– Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

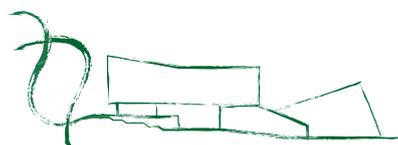
3 Instituto de Química e Geociência - UFPel, Pelotas/RS, Brasil

4 Laboratório de Bioquímica de Algas - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, SP, Brasil

5 Instituto de Botânica – São Paulo, SP, Brasil

A busca de novos fármacos com atividade antitumoral tornou-se fundamental nas últimas décadas. As algas são uma importante fonte de compostos provenientes de seu metabolismo primário e secundário, muitos deles com atividade antitumoral. Caracterização química de carotenoides e avaliação do potencial citotóxico de extratos da macroalga antártica *Desmarestia anceps*. A extração dos compostos foi realizada por esgotamento, utilizando ultrassom, com os solventes n-hexano, clorofórmio e metanol. A citotoxicidade contra a linhagem de câncer colorretal HCT – WT foi determinada através do ensaio de MTT. Para a avaliação do perfil de carotenoides foram utilizados quatorze padrões de carotenoides e clorofila a e b em HPLC (SCL-10AVP Shimadzu). Após 24 h de tratamento, o extrato hexânico apresentou IC₅₀ entre 50 e 100 µg/mL, o clorofórmico IC₅₀ entre 50 e 100 µg/mL e o metanólico IC₅₀ entre 25 e 50 µg/mL. Após 48 h, o IC₅₀ da fração hexânica ficou entre 25 e 50 µg/mL, da fração clorofórmica inferior a 50 µg/mL e a metanólica entre 50 e 100 µg/mL. Depois de 72 h horas de exposição ao extrato, a fração hexânica apresentou IC 50 entre 25 e 50 µg/mL, a fração clorofórmica IC₅₀ entre 50 e 100 µg/mL e a metanólica IC 50 entre 25 e 50 µg/mL. Com relação à análise química, foi identificada a presença de três carotenoides (fucoxantina, violaxantina, β-caroteno) e clorofila a e b. Os resultados sugerem que a macroalga antártica *D. anceps* possui potencial citotóxico contra a linhagem tumoral HCT-WT, provavelmente associado a compostos provenientes da adaptação a um ambiente com condições extremas. Para sobreviver em um ambiente hostil e competitivo, as macroalgas antárticas desenvolveram estratégias de defesa que resultaram numa grande diversidade de compostos. A presença de fucoxantina, associada ou não com outros compostos, pode estar correlacionada com a atividade antitumoral. Os extratos (hexânico, clorofórmico e metanólico) da alga *D. anceps* foram citotóxicos contra a linhagem tumoral HCT-WT. O perfil de carotenoides da alga revelou a presença de fucoxantina, violaxantina e β-caroteno.

Palavras-chave: *Desmarestia anceps*. Macroalgas antárticas. Atividade antitumoral.



CARACTERIZAÇÃO DA PROTÉINA NATIVA ERPY-LIKE DE LEPTOSPIRA INTERROGANS ATRAVÉS DE ELISA INDIRETO

S. B. DE FREITAS^{1*}, H. Q. SIMÃO¹, B. C. ROLOFF², T. F. COLLARES², L. G. MONTE² e D. D. HARTWIG³

1 Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS

2 Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS

3 Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS

*stellafreitas@gmail.com

A leptospirose é uma doença causada por bactérias do gênero *Leptospira*. O diagnóstico padrão é a soroprecipitação microscópica (MAT), porém este apresenta limitações. A lipoproteína ErpY-like foi reportada como sendo uma proteína de *Leptospira interrogans* que apresenta sequência muito similar a fatores de virulência encontrados em outras espécies patogênicas. Desta forma, apresenta-se como uma importante ferramenta no processo de infecção, sugerindo um grande potencial para aplicação em testes diagnósticos. Sendo assim, a produção de anticorpos policlonais (pAbs) contra a ErpY-like consiste em um poderoso instrumento na tentativa de detectar antígenos apresentados durante o processo de infecção, fundamentando, assim, o diagnóstico da leptospirose. Diante disso, buscou-se avaliar a capacidade dos pAbs produzidos a partir da proteína rErpY-like em reconhecer a proteína nativa presente em *Leptospira interrogans* sorovar Copenhageni cepa Fiocruz L1-130 com base na aplicação de um teste ELISA indireto. Para tal, placas de poliestireno foram revestidas com solução 0,1% de poli-L-lisina e incubadas a 37 °C por 1 h. Após esse período, as cavidades foram sensibilizadas com, aproximadamente, 10^8 células.mL⁻¹ de *L. interrogans*. Algumas dessas cavidades foram sensibilizadas com células inteiras, enquanto outras foram sensibilizadas com as células lisadas com intuito de expor as proteínas. Posteriormente, foi realizado bloqueio com solução de soro fetal bovino 1% por 1 h e, na sequência, pAbs anti-rErpY-like foram adicionados em uma diluição de 1:100 em PBS- 1x. Anticorpos secundários anti-camundongo conjugados a enzima peroxidase foram adicionados, e a presença do complexo antígeno-anticorpo foi verificada através da reação com o substrato peróxido de hidrogênio 0,03% e OPD. Os resultados da reação foram visualizados em leitor de ELISA VICTOR™ X5 Multilabel Plate Reader (Perkin Elmer, USA) no comprimento de onda de 450 nm. Observou-se a reação dos pAbs tanto com células inteiras de *Leptospira* quanto com células lisadas, o que sugere a capacidade de exposição da proteína ErpY-like na membrana externa da bactéria. De acordo com as características elucidadas, esta proteína pode ser um importante alvo a ser estudado para o desenvolvimento de novos testes de diagnóstico para a leptospirose, objetivando o controle da doença. Contudo, mais estudos são necessários para identificar novos potenciais diagnósticos e possíveis candidatos vacinais contra a leptospirose.

Palavras-chave: ErpY-like. ELISA indireto. Imunodiagnóstico. Leptospirose.



BIOTRANSFORMAÇÃO DE LINAGLIPTINA POR CUNNINGHAMELLA ELEGANS ATCC 9245

J. M. SORRENTINO^{1*}, R. M. SPONCHIADO¹, S. S. OLIVEIRA¹, N. O. dos SANTOS¹, A. M. FUENTEFRIA¹, C. V. GARCIA¹ e M. STEPPE¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Avenida Ipiranga, 2752 – Porto Alegre/RS

*Apresentador: juliamsorrentino@gmail.com

O metabolismo de micro-organismos permite transformações de grupamentos funcionais de produtos biologicamente ativos que, geralmente, só seriam possíveis através de reações químicas convencionais. A utilização de fungos endófitos em processos de biotransformação de fármacos tem se apresentado como uma estratégia de produção de novas estruturas químicas de interesse farmacêutico, além de abordagem de estudos farmacológicos *in vivo/ in vitro*. Este trabalho tem como objetivo o estudo e otimização das condições de biotransformação do fármaco linagliptina utilizando o fungo *Cunninghamella elegans* ATCC 9245. O desenvolvimento fúngico foi avaliado nos meios de cultivo Caldo Czapek e Caldo Batata, presença de agitação e a influência do pH do meio no desenvolvimento do micro-organismo e na estabilidade do fármaco. O experimento foi composto por frascos tipo Erlenmeyer estéreis denominados: Controle Negativo (meio e fármaco), Controle Positivo (meio e inóculo), Controle Diluente (meio, inóculo e diluente do fármaco), Branco (apenas meio de cultivo) e Biotransformação (meio, fármaco e fungo). Todas as amostras foram submetidas a processo de extração líquido-líquido com diclorometano e posterior análise por cromatografia líquida. As condições cromatográficas foram: Coluna C8, fase móvel: trietilamina a 1% (pH 4,5): Acetonitrila (80:20, v/v), fluxo de 1,0 ml.min⁻¹ e temperatura do forno a 30°C. Para a análise da interferência do pH, o meio de cultivo foi ajustado para valores de pH 5,00, 6,00 e 7,00 antes do processo de esterilização. Para avaliação da agitação, o experimento foi realizado em estufa microbiológica e em agitador orbital a 120 RPM a 26°C. Através da análise da pureza dos picos cromatográficos e ausência de picos de degradação do fármaco, os diferentes pHs testados não interferiram na estabilidade do fármaco. O desenvolvimento fúngico apresentou-se adequado e semelhante entres os três valores de pH avaliados, porém o Caldo Czapek apresenta menor interferência no processo de extração. A constituição dos meios de cultivo não interferiu para que o desenvolvimento fúngico, considerado satisfatório. A agitação mostrou-se fundamental para o desenvolvimento do estudo. A biotransformação foi verificada a partir da redução das áreas dos picos cromatográficos da linagliptina.

Palavras-chave: Biotransformação. Fármacos. Linagliptina.



OTIMIZAÇÃO DE EXPRESSÃO DA PROTEÍNA RECOMBINANTE LIGBREP DE LEPTOSPIRA INTERROGANS EM ESCHERICHIA COLI

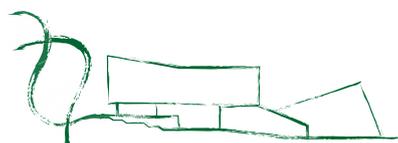
G. A. FERRONATO*, M. C. da ROSA, C. MOREIRA JR e O. A. DELLAGOSTIN

Centro de desenvolvimento tecnológico, Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

*Apresentador: giulianaferronato@hotmail.com

Leptospirose é uma doença infecciosa causada por bactérias do gênero *Leptospira*, capaz de contaminar ambientes através da urina de animais infectados, disseminando-a para outros indivíduos. A prevenção da doença é feita por vacinação, porém as vacinas, compostas por bacterinas, disponíveis no mercado, são eficazes somente para os sorovares que as compõe. Sendo assim, vacinas recombinantes vêm sendo desenvolvida com o intuito de se obter uma vacina de amplo espectro, através de antígenos que sejam comuns a todos sorovares. Um destes antígenos é a LigBrep (Leptospiral Immunoglobulin-like repeat), proteína da membrana externa de leptospiros patogênicas, com características antigênicas e imunogênicas com potencial para compor uma vacina recombinante. O presente trabalho teve como objetivo a otimização da expressão da proteína LigBrep em *Escherichia coli*, utilizando o vetor pAE/ligBrep. Para isso, foram avaliadas diferentes condições de cultivo, como temperatura (25, 30 e 37°C), concentração de IPTG (0,25, 0,5, 1,0 e 1,5 mM), período de indução (1 a 16 h) e quatro diferentes cepas de expressão (BL21(DE3) Star, BL21(DE3) PlysS, Rosetta PlysS e Top10f'). Para a avaliação da expressão foi realizado um SDS-PAGE seguido de um *Western blot* utilizando um anticorpo anti-His, e para quantificação foi utilizado o programa TotalLab Quant. Os resultados obtidos demonstram que diferentes condições de cultivo podem influenciar nas concentrações de proteína recombinante. Pode-se observar que o maior nível de expressão foi obtido com a cepa BL21(DE3) cultivada à 37°C, com 0,25 µg/µl de IPTG, e com tempo de indução de 10 h, alcançando 374,5 µg/µl de proteína recombinante. As diferentes concentrações de IPTG tiveram pouca influência no rendimento da proteína. Já a temperatura, a escolha da cepa e o tempo de indução foram decisivos para alcançar um alto nível de expressão. Conclui-se que as variáveis estudadas são determinantes para a obtenção de um alto rendimento, e que estudos como este devem ser realizados quando o objetivo é maximizar o nível de expressão de uma proteína recombinante.

Palavras-chave: Otimização da expressão. Leptospirose. LigBrep. Antígenos recombinantes.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DA PRÓPOLIS VERMELHA EM CARCINOMA DE BEXIGA UTILIZANDO O ENSAIO LIVE/DEAD

R. R. FAEDO^{1*}, L. P. da SILVA^{1,2}, K. R. BEGNINI^{1,2}, J. H. BUSS^{1,2}, J. A. P. HENRIQUES³, T. COLLARES^{1,2} e F. K. SEIXAS^{1,2}

1 Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário – Capão do Leão - Prédio 19.

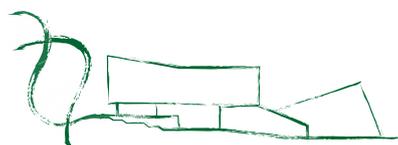
2PPGBiotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário – Capão do Leão - Prédio 19.

3Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

*raquelrofa@htomail.com

O câncer de bexiga é o nono mais frequente no mundo, segundo agência internacional de pesquisa no câncer (IARC). E de acordo com o instituto nacional do câncer (INCA) estima-se que neste ano 9.670 novos casos de câncer de bexiga serão diagnosticados. Ainda que este tipo de câncer não apresente um elevado índice de prevalência mundial, é recorrente e necessita de acompanhamento contínuo. Na busca de novos fármacos antitumorais destacam-se substâncias de origem natural, as quais já representam 47,1% dos medicamentos utilizados na clínica. Neste campo de desenvolvimento encontra-se a própolis vermelha brasileira, um composto natural constituído por uma variedade de compostos químicos, como os flavonóides, que já demonstraram eficiência em linhagens tumorais através da indução de morte celular por apoptose e diminuição do potencial de migração. Neste estudo a própolis vermelha foi fracionada, através da cromatografia utilizando os solventes hexano e acetato de etila, um dos principais compostos encontrados foi a formononetina, um isoflavonoide que vem sendo alvo de inúmeros estudos em câncer, devido as suas propriedades antiangiogênica e antitumoral, presente nas frações 1 e 2. Estas foram testadas em uma linhagem celular de carcinoma de bexiga (5637) numa concentração de 12.5µg/ml por 48h. Após foi realizado o ensaio de LIVE/DEAD, baseia-se na detecção da integridade da membrana celular. Os dados obtidos foram analisados através do teste one-way ANOVA seguido de tukey e valores de $P < 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos. O ensaio de LIVE/DEAD demonstrou danos às células, indicando morte celular da linhagem 5637 em relação ao controle, evidenciando que as frações da própolis vermelha brasileira que contêm este flavonóide possuem atividade citotóxica. Este resultado corrobora com estudos já realizados em outros tipos tumorais, onde foi relatado que a formononetina é capaz de inibir a proliferação celular, migração, angiogênese e induz parada de ciclo celular. Estes dados fornecem evidências que o flavonóide formononetina presente nas frações obtidas neste estudo exerce uma atividade citotóxica nesta linhagem, porém mais estudos são necessários para elucidar o mecanismo de ação deste flavonoide em câncer de bexiga.

Palavras-chave: Câncer de bexiga. Flavonoide. Formononetina. Citotoxicidade.



EFEITO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA (PVB) NA REDUÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA CELULAR EM LINHAGEM DE CÂNCER COLORRETAL (HT-29)

J. H. BUSS^{1*}, K. R. BEGNINI^{1,2}, L.P. SILVA^{1,2}, R.R. FAEDO¹, J. A. P. HENRIQUES³, T. COLLARES^{1,2} e F.K. SEIXAS^{1,2}

1Universidade Federal de Pelotas, Graduação em Biotecnologia – Capão do Leão - Prédio 19.

2PPGBiotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário – Capão do Leão - Prédio 19.

3Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

*Apresentador: julietibuss@hotmail.com

O câncer colorretal (CCR) é uma neoplasia que se origina de qualquer porção do colón, reto ou canal anal, sendo um dos tipos de câncer mais incidentes no mundo. Como alternativas para o tratamento, a sociedade científica vem estudando novos compostos com potenciais antitumorais. Dentre eles, a própolis vem sendo considerada uma fonte potencial e ilimitada para o desenvolvimento de novos fármacos. A própolis Vermelha Brasileira (PVB) é o tipo mais recente identificado, e desde sua descoberta tem sido amplamente estudada devido às atividades antitumorais apresentadas tanto *in vitro* como *in vivo*. Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do extrato hidroalcoólico da PVB em células de adenocarcinoma colorretal humano (linhagem HT-29), avaliando a capacidade do extrato em inibir a formação de colônias celulares. Para a realização desse ensaio, o extrato da PVB foi preparado nas concentrações de 25 e 50µg/mL utilizando EtOH-H₂O 50% (v/v). As células da linhagem HT-29, obtidas no Banco de Células do Rio de Janeiro, foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB). As células cresceram em atmosfera controlada a 37 °C e 5% de CO₂ e os experimentos foram realizados com as células em fase logarítmica de crescimento. Para a realização do ensaio clonogênico, as células foram semeadas em placas de seis poços (500 células por poço), e após 24 h foram adicionadas as diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico (25 e 50µg/mL). Após 24 h de tratamento, o meio foi renovado e as placas foram incubadas durante 15 dias para posterior contagem das colônias formadas. Para a contagem das colônias, as placas foram lavadas com PBS, fixadas com uma solução de metanol e ácido acético (3:1), e posteriormente coradas com cristal violeta para visualização das colônias. Os dados obtidos foram analisados através de one-way ANOVA considerando valores de $P < 0.05$ significantes. Por meio de uma análise quantitativa do tamanho das colônias, foi possível observar que a concentração de 50µg/mL foi capaz de reduzir significativamente o número de colônias em relação ao grupo controle, inibindo em aproximadamente 70 % o número de colônias formadas. Os resultados obtidos demonstraram que o extrato hidroalcoólico da PVB foi capaz de reduzir a sobrevivência celular *in vitro*. Assim, podemos inferir que mais pesquisas são necessárias visando maior compreensão dos mecanismos de ação da PVB em linhagens de células tumorais.

Palavras-chave: Própolis vermelha brasileira (PVB). Ensaio clonogênico. Câncer colorretal. Sobrevivência celular.



EXTRATO AQUOSO DE CECROPIA PACHYSTACHYA APRESENTA REDUÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR SELETIVA EM LINHAGEM DE GLIOMA (C6)

N. P. BONA^{1*}, J. H. AZAMBUJA¹, S. M. PACHECO¹, M. S. P. SOARES¹, F. H. REGINATTO², R. M. SPANEVELLO¹, F. M. STEFANELLO¹ e M. F. B. GERZSON¹

¹ Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas-RS, Brasil.

² Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis-SC, Brasil.

*Apresentador: natinhabona@hotmail.com

O glioblastoma multiforme (GBM) constitui a forma mais comum e devastadora de tumor cerebral, apresentando elevada resistência à quimioterapia disponível sendo, portanto, um tumor com alta morbidade. Sendo assim, é de visível importância a pesquisa de novas terapias farmacológicas que possam melhorar o prognóstico dos pacientes. Nesse sentido, o estudo do potencial antitumoral do extrato aquoso de *Cecropia pachystachya* sobre o GBM torna-se uma proposta interessante levando em conta a sua interação com o sistema nervoso central já comprovada. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito antitumoral *in vitro* do extrato de *C. pachystachya* em linhagem de glioma de rato (C6) e o potencial citotóxico em cultura primária de astrócitos de ratos wistar. As células da linhagem C6 foram cultivadas em meio DMEM 5% de soro fetal bovino (SFB) 37 °C/5% CO₂. Para a cultura primária de astrócitos foram utilizados córtex de ratos de 1-2 dias para o isolamento das células que foram cultivadas em DMEM 10% SFB 37 °C/5% CO₂. Ambas as células foram semeadas em placas de 96 poços e tratadas com o extrato (0,1-2mg/mL na linhagem C6 e 0,25-4 mg/mL nos astrócitos). A proliferação (nas células C6) e a viabilidade celular (nos astrócitos) foi determinada pelos métodos da Sulforrodamina B e MTT respectivamente após 48 e 72 h de tratamento. Os dados foram analisados por ANOVA seguido de post-hoc de Tukey. O extrato de *C. pachystachya* em ambos os tempos reduziu a proliferação celular das células de glioma em 80% a partir de 0,25 mg/mL, não exibindo um perfil de dose-dependência e não demonstrando citotoxicidade em cultura de astrócitos nas mesmas concentrações e tempos testados, indicando uma seletividade de efeito e uma segurança quanto ao seu uso. Sendo assim, o extrato de *C. pachystachya* apresenta uma ação antitumoral em glioma de rato (C6) promissora, porém mais estudos são necessários para melhor elucidar os mecanismos envolvidos.

Palavras-chave: *Cecropia pachystachya*. Glioma. Proliferação celular.



REDUÇÃO DE GANHO DE PESO CORPORAL EM CAMUNDONGOS COM DIETA SUPLEMENTADA COM MICROALGAS

J. L. NONNENMACHER^{1*}, M. BREDA¹, A. MATTHIENSEN³, W. MICHELON⁴, R. L. CANSIAN¹, B. S. MIKULSKI¹ e S. S. ROMAN¹

1 URI – Erechim, Av. Sete de Setembro 1621, CEP 99709-910, Erechim – RS, Brasil

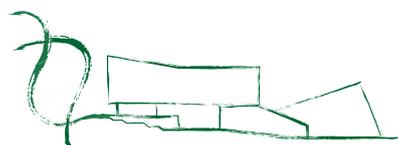
3 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Suínos e Aves, Rod. BR153 s/nº, CEP 89700-991, Concórdia – SC, Brasil.

4 Universidade do Contestado – Campus Concórdia, Rua Victor Sopesla 3000, Bairro Salete, CEP 89700-000, Concórdia – SC, Brasil

*julia_nonnenmacher@outlook.com

O sobrepeso é um problema de Saúde Pública, sendo considerado um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de diversas doenças crônicas. Atualmente, existe uma grande demanda por microalgas nas indústrias nutracêutica e farmacêutica pelo fato de que a suplementação com dietas que possuam ácidos graxos, podem ter um efeito benéfico em doenças como a obesidade. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar as alterações no peso corporal de camundongos tratados com extrato de microalgas nas doses de 1500 e 2500 mg/kg, administrados por via oral. Os animais foram divididos em 3 grupos: controle (CTL) (n=8), que recebeu solução salina 0,9%, na dose de 10mL/kg; EXP 1 (n=8), que recebeu o extrato de microalgas na dose 1500 mg/kg e EXP 2 (n=7), que recebeu o extrato de microalgas na dose de 2500 mg/kg. O projeto foi aprovado pelo CEUA sob protocolo número 30. A administração nos três grupos ocorreu diariamente, durante 30 dias e o peso corporal, consumo de água e ração foram avaliados a cada 7 dias. As microalgas foram obtidas de uma lagoa facultativa empregada como processo de tratamento terciário, localizada na EMBRAPA Suínos e Aves. O cultivo foi realizado em escala piloto em uma casa de vegetação sob luz natural e temperatura ambiente. Foram submetidas à privação nutricional por 25 dias, após foram centrifugadas e liofilizadas. Analisando os resultados, verificou-se uma redução significativa no ganho de peso corporal do grupo EXP 1 no início (1º-7º dia) e ao longo de todo o tratamento (1º-30º dia), assim como do grupo EXP 2 em relação ao CTL. Este resultado sugere um possível efeito termogênico causado pelo extrato. Além disso, houve uma diminuição significativa no consumo de água do grupo EXP 1 no início do tratamento (1º-7º dia), comparando com CTL e EXP 2, mas que foi recuperado ao final da exposição ao extrato. Da mesma forma, os animais do grupo EXP 2 tiveram o consumo de água diminuído, comparando-se ao CTL e EXP 2. O consumo de ração foi maior significativamente no grupo EXP 2 em relação ao CTL em todos os períodos registrados e igualmente maior no grupo EXP 1, ao longo do tratamento. Estes resultados mostram que o extrato microalgal, promoveu maior ingestão de ração sem aumentar o peso corporal dos camundongos. Em conclusão, o extrato de microalgas nas doses de 1500 e 2500 mg/kg, por serem ricas em nutrientes e servirem como suplemento, surgem como alternativa terapêutica e profilática para possíveis casos de sobrepeso em camundongos.

Palavras-chave: Microalgas. Camundongos. Peso corporal.



EFEITO CITOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO DO *LENTINULA EDODES* EM CÉLULAS TUMORAIS DE LARINGE

C. MENTI^{1*}, T.C. FINIMUNDY¹, N. BONETTO¹ J.A.P. HENRIQUES¹ e M. ROESCH-ELY¹

¹ Universidade de Caxias do Sul, Rua Francisco Getúlio Vargas nº 1130, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul

*Apresentador: caromenti@hotmail.com

O cogumelo *Lentinula edodes* (Shiitake) é conhecido mundialmente por suas propriedades medicinais, *in natura*, em forma de extrato ou em pó. Esse fungo é popularmente recomendado para vários propósitos, e têm sido utilizado na terapia contra o câncer pela medicina popular. Os principais componentes encontrados no extrato já isolados incluem β -glucanos, polifenóis e proteínas. Estes componentes inibiram o crescimento de células do melanoma B-16, conforme demonstrado previamente em um outro estudo. O objetivo deste estudo, portanto, foi investigar os efeitos do extrato aquoso do pó do *L. edodes* sobre o crescimento das linhagens tumorais de células de laringe humanas Hep-2, comparando os resultados com a linhagem celular não tumoral de pulmão humano MRC-5, utilizando método colorimétrico (Giemsa e 4',6-diamidino-2-phenylindole-DAPI). A coloração por laranja de acridina/brometo de etídeo foi utilizada para avaliar morte celular, e as alterações celulares foram avaliadas através do microscópio de fluorescência. O extrato apresentou efeitos citotóxicos na linhagem Hep-2 e não apresentou efeito na célula não tumoral MRC-5. Morte celular e alterações morfológicas foram observadas com 1 mg/mL do extrato aquoso por 24 h de tratamento. Foi observado degeneração de componentes citoplasmáticos e alterações morfológicas sugestivas de morte celular por apoptose. Enquanto que, com o tratamento de 2 mg/mL deste extrato, houve alterações citoplasmáticas e nucleares incompatíveis com a viabilidade celular. Estes resultados indicam efeitos citotóxicos do extrato aquoso de *L. edodes* em linhagens celulares de tumor de laringe, apresentando uma seletividade para as células tumorais.

Palavras-chave: *Lentinula edodes*. Citotoxicidade. Hep-2. MRC-5.



EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO DO FRAGMENTO C-TERMINAL DA CADEIA PESADA (H_c) DAS TOXINAS BOTULÍNICAS SOROTIPOS C E D RECOMBINANTES EM BIORREATOR DE BANCADA

M. S. MEDEIROS¹, C. MOREIRA Jr¹, M. R. A. FERREIRA², R. A. DONASSOLO² e F. R. CONCEIÇÃO¹

¹ Laboratório de Imunologia Aplicada, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, Brasil
medeirosmarina82@gmail.com

Clostridium botulinum é uma bactéria Gram-positiva que produz toxinas que agem inibindo a liberação de acetilcolina na junção neuromuscular, desencadeando uma doença paralítica denominada botulismo. As neurotoxinas botulínicas (BoNTs) são divididas em oito sorotipos distintos (A-H), sendo os sorotipos C e D causadores da doença em bovinos. A vacinação é a principal forma de proteção contra o botulismo, porém, a vacina disponível no mercado é constituída pela toxina inativada com formaldeído (toxóide) e sua produção é laboriosa, oferece riscos aos manipuladores e apresenta um rendimento variável. Uma alternativa às limitações de produção é o desenvolvimento de vacinas recombinantes atóxicas, que possibilitem uma produção dinâmica e eficiente. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi expressar e caracterizar o fragmento C-terminal da cadeia pesada (H_c) das BoNTs sorotipos C e D em *Escherichia coli*, utilizando biorreator de bancada. Os vetores recombinantes pET28a/c e pET28a/d foram utilizados individualmente para transformar cepas de *E. coli* BL21 (DE3) Star™ através de choque térmico. Para expressão das proteínas recombinantes, o pré-inóculo foi cultivado em agitador orbital, sendo 600 ml transferidos para biorreator de bancada contendo 5,4 L de meio M9 suplementado com 50 µg/mL de canamicina e mantidos em pH 7 à 37 °C, com agitação constante de 900 rpm e 1 vvm de ar. Uma alíquota foi coletada a cada hora de cultivo para dosagem de glicose, densidade óptica (DO_{600nm}), contagem de células viáveis e caracterização das proteínas recombinantes por SDS-PAGE e *Western blot* (WB) utilizando Mab anti-His6x. Em ambos experimentos, o consumo total de glicose do meio se deu com 9 h de cultivo, quando a expressão da proteína recombinante foi induzida com 0,5 mM de IPTG por 4 horas. Ao final dos experimentos, foi possível obter uma DO₆₀₀ de 9,35 com 1,6 x10¹⁰ UFC/ml para a expressão rH_cC e 9,66 com 1,0 x10¹⁰ UFC/ml para a expressão rH_cD. As proteínas foram avaliadas por SDS-PAGE quanto a integridade, sendo possível observar uma banda reativa íntegra no WB com a massa molecular esperada de 50 kDa, correspondente as proteínas rH_cC e rH_cD. O rendimento alcançado para as proteínas rH_cC e rH_cD foi de 263 mg/L e 196 mg/L de cultivo, respectivamente, demonstrando a eficiência da produção das BoNTs C e D utilizando biorreator de bancada. Os resultados obtidos são promissores para futuros experimentos de escalonamento para produção em larga escala.

Palavras-chave: Botulismo. *Clostridium botulinum*. Neurotoxinas botulínicas. Vacina recombinante.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DE 1,3-DIOXOLANAS CONTENDO TELÚRIO EM *TRICHOMONAS VAGINALIS*

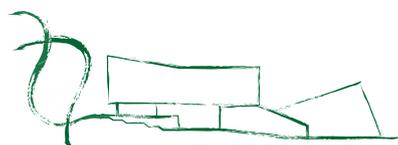
R. N. DAS NEVES^{1*}, A. SENA-LOPES¹, R. B. PINHO¹, F. S. B. BEZERRA¹, M. T. DE OLIVEIRA¹; M. C. DE FREITAS¹, A. C. NASCIMENTO¹, P. C. NOBRE¹, G. PERIN¹, L. SAVEGNAGO¹ e S. BORSUK¹

¹ Universidade Federal de Pelotas, campus Capão do Leão – Pelotas, RS

*Raquel Nascimento das Neves: raquelneves@hotmail.com

Trichomonas vaginalis é o protozoário flagelado causador da tricomoníase, doença sexualmente transmissível (DST) de origem não viral mais comum no mundo. A infecção é caracterizada por amplo espectro clínico, desde casos assintomáticos até severa vaginite. A tricomoníase é considerada doença negligenciada e causa complicações na gestação, câncer cervical e de próstata, além do parasita atuar como cofator na aquisição do vírus HIV. A partir de relatos de efeitos adversos e toxicidade causados pelo metronidazol, fármaco utilizado no tratamento da tricomoníase, bem como aparecimento de resistência dos parasitos a esta medicação, mostra-se necessária a busca por novas substâncias com atividade anti-*T.vaginalis*. O emprego farmacológico de compostos orgânicos contendo telúrio vem sendo estudado e já apresentou propriedades imunomodulatórias, podendo ser usados como drogas antitumorais, anti-inflamatórias, antivirais e antiparasitárias. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade tricomonocida *in vitro* dos compostos 1,3-dioxolanas contendo telúrio (PTeDOX) em *T.vaginalis*. Para isso, foram selecionados três compostos: PTeDOX01, PTeDOX02 e PTeDOX03; e o isolado de *T.vaginalis* ATCC 30236, cultivadas em meio tripticase-extrato de levedo-maltose (TYM), pH 6,0, suplementado com 10% de soro bovino, inativado a 56°C. O *screening* de atividade foi realizado em microplaca de 96 cavidades, onde os parasitos foram adicionados na densidade de 2,0x10⁵trof/mL TYM/cavidade e os compostos em concentração final de 100µM diluídos em DMSO. As mesmas foram mantidas em estufa de 5% de CO₂ a 37°C por 24h. A fim de confirmar a atividade dos compostos, além dos controles negativo (somente trofozoítos) e positivo (100 µM/mL Metronidazol), havia um controle com DMSO, não podendo exceder a concentração de 0,6% de DMSO em cada cavidade. As atividades dos compostos foram determinadas considerando-se a viabilidade, motilidade e morfologia dos trofozoítos em relação aos controles através de contagem em câmara de Neubauer e exclusão com corante trypan blue 0,4%. No *screening* apenas o composto PTeDOX01 reduziu a viabilidade dos parasitos em 100%. O PTeDOX03 reduziu a viabilidade em 30% e o PTeDOX02 não apresentou atividade anti-*T.vaginalis*. Diante do exposto, o desenvolvimento de novos fármacos contendo telúrio, deve ser investigado como nova alternativa no tratamento de diferentes parasitoses, assim como a importância de posteriores estudos sobre os efeitos destes compostos.

Palavras-chave: *Trichomonas vaginalis*. Telúrio. Antiparasitário.



EXPRESSÃO DO MICRORNA 135 E DO GENE *HOXA10* EM LESÕES DE ENDOMETRIOSE EM PACIENTES SUBMETIDAS A TRATAMENTO CIRÚRGICO

A. P. B. SILVA^{1*}, R. G. PETRACCO² e D. C. MACHADO Jr³

1 Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 6681 - Partenon, Porto Alegre - RS, 90619-900

2 Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - Centro de Medicina Reprodutiva Fertilidade - Centro Clínico, Av. Ipiranga, 6681 - Partenon, Porto Alegre - RS, 90619-900

3 Universidade Católica do Rio Grande do Sul - Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB), Av. Ipiranga, 6681 - Partenon, Porto Alegre - RS, 90619-900

*Apresentador: ana.bornes@acad.pucrs.br

A endometriose é uma doença dependente de estrogênio, cujos sintomas mais comuns, são a dor pélvica e a infertilidade. Afeta até 15% das pacientes em idade reprodutiva e até 50% das pacientes inférteis. A etiopatogenia ainda não está bem definida, mas há evidências do envolvimento de componentes genéticos. O aumento ou diminuição da expressão dos microRNAs (135a e 135b) é inversamente proporcional a expressão do gene *HOXA10*, um importante mediador da receptividade endometrial e implantação. Os microRNAs têm sua expressão alterada no endométrio de mulheres com endometriose quando comparado com o endométrio normal. O objetivo deste trabalho foi investigar a expressão dos microRNAs 135a e 135b do endométrio em diferentes fases do ciclo menstrual e comparar com a expressão do gene *HOXA10*. Foram realizadas biopsias endometriais e exérese de lesões de endometriose de vinte e três pacientes submetidas à cirurgia para diagnóstico ou tratamento de endometriose. Para a extração do miRNA foi utilizado o método poly (A) RT-PCR utilizando o kit Invitrogen NCode miRNA first-strand cDNA synthesis MIRC-50 kit (Invitrogen, California, USA) e oligonucleotídeos iniciadores específicos para o miR135a e miR135b com um iniciador universal para amplificação por PCR em tempo real. Para determinar a expressão relativa, foi utilizado o gene U6. A expressão do gene *HOXA10* também foi determinada por PCR em tempo real (qRT-PCR). Para a extração do mRNA usamos o reagente Trizol (Invitrogen®) conforme instruções do fabricante. A concentração do mRNA foi determinada através de espectrofotometria, seguido da conversão para cDNA utilizando o iScript cDNA synthesis kit. Oligonucleotídeos específicos para o gene *HOXA10* utilizando o método SYBR Green supermix foi utilizado para quantificação da expressão gênica. Os níveis relativos da expressão gênica foram apresentados conforme a fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$. A análise estatística foi realizada utilizando o teste de Mann-Whitney, considerando como significativo um $p < 0,05$. A expressão do miR135a ($p=0,013$) e miR135b ($p=0,032$) foi menor na fase secretora do ciclo menstrual quando comparada com a fase proliferativa. A expressão do gene *HOXA10* em pacientes doentes aparentemente está aumentada se comparada com o tecido normal. As relações das expressões ainda estão sendo analisadas. Protocolo nº 228.944.

Palavras-chave: Endometriose. MicroRNA 135^a. MicroRNA 135b. *HOXA10*.



DESENVOLVIMENTO DE UM TESTE DIAGNÓSTICO PARA LEPTOSPIROSE UTILIZANDO PROTEÍNAS RECOMBINANTES

J. C. RAMOS^{1*}, C. A. S GONÇALVES¹, M. A. MONTANO¹ e A. J. A. MCBRIDE¹

¹ Laboratório de Pesquisa em Doenças Infecciosas, Núcleo de Biotecnologia, Centro de desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, *jessicamos_15@hotmail.com

A leptospirose é uma zoonose causada por espiroquetas do gênero *Leptospira*. São capazes de infectar diversos animais domésticos, incluindo os cães, que são fatores de risco para infectar humanos. Caninos são portadores do sorovar Canicola mas pode ser infectado pelo sorovar Icterohaemorrhagiae. Infecções acidentais por sorovar Icterohaemorrhagiae podem causar uma doença aguda com falência renal e hepática. E os donos dos cães podem se contaminar através de contato direto ou indireto. Existem dois métodos principais para o diagnóstico da doença: o Teste de Microaglutinação (MAT), indicado pela OMS como o teste padrão, e a cultura da bactéria. Entretanto, ambos os testes possuem limitações, dificultando o diagnóstico da leptospirose. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho é o desenvolvimento de um teste de ELISA indireto, utilizando proteínas recombinantes identificadas por análise de bioinformática, para a detecção de anticorpos IgG em soro de caninos infectados. Foi feito um ELISA *checkerboard* (repetidas 2x em duplicata) para estabelecer as diluições de soro e de anticorpo anti-IgG canino. Os soros caninos usados nesse ELISA, tiveram origem de um projeto de vigilância epidemiológica realizada na cidade de Pelotas/RS. Todos os soros foram previamente submetidos a técnica-padrão de diagnóstico, o MAT, caracterizando-os como positivos (N=16) ou negativos (N=9). Na padronização com a proteína rLigB, foram escolhidas as diluições de soro 1:100 e 1:2000 do anti-IgG, obtendo valores de sensibilidade de 87,5% e de especificidade de 100%. Com o mesmo protocolo, os resultados obtidos com a proteína Quimera foram de 1:100 da diluição do soro e 1:4000 da diluição do anticorpo secundário, com valores de sensibilidade e especificidade de 60,0% e 100%, respectivamente. Portanto, o presente trabalho apresenta resultados promissores para o desenvolvimento de um teste de diagnóstico para leptospirose canina. Como perspectivas futuras, pretende-se aumentar o número de soros caninos e testar outras proteínas recombinantes, a fim de aprimorar o diagnóstico por ELISA indireto.

Palavras-chave: Leptospirose canina. Diagnóstico. ELISA indireto. Proteínas recombinantes.



COMPORTAMENTO DE CÉLULAS TRONCO ORIUNDAS DA POLPA DE TERCEIROS MOLARES MEDIANTE A SUPLEMENTAÇÃO COM SORO HUMANO

M. M. M. BRIÃO^{1,2*}, C. C. do AMARAL², C. P. FERRÚA² e F. NEDEL²

1 Faculdade de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas Brasil

2 Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, Brasil

*Apresentador: marinambriao@hotmail.com

Na tentativa de recriar *in vitro* nichos, microambientes onde se situam as células-tronco (CT), gerando quantidade suficiente de células a fim de realizar estudos e proporcionar avanços práticos na área da saúde, tem-se estudado sobre a suplementação dos meios de cultivo celular. Sabe-se que o soro fornece elementos importantes, como fatores de crescimento, vitaminas, fatores de fixação, fatores de transporte e nutrientes. O uso do soro de origem animal é bastante difundido, contudo acredita-se que este pode acarretar em infecções e reações imunológicas, assim uma nova vertente de autores têm procurado um substituto, o soro humano (SH). O SH tem sido sugerido como um substituto válido aos meios com alta concentração de soro fetal bovino (SFB). Nesse contexto, este estudo analisou a morfologia e a viabilidade de células-tronco oriundas da polpa de terceiros molares (DPSCs), isoladas pela técnica de explante, após 24, 48 e 72 horas de contato com SFB, SH e SH em conjunto com SFB. A viabilidade celular foi determinada através da técnica colorimétrica de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina). A absorbância foi verificada em um leitor de microplacas (Thermo TP-plate reader, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) no comprimento de onda de 450 nm. Os ensaios foram realizados em triplicata e validados por 2 experimentos independentes. Os dados obtidos foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste post-hoc de Tukey. Os resultados mostram que independente do tempo e da concentração de SH em contato com as células, as mesmas mantiveram-se morfológicamente semelhantes entre si e em comparação com o controle. Ao que tange à viabilidade celular, observou-se, após 24 (P=0.0001) e 72 (P=0.0302) horas, maior proliferação celular quando as células estavam em contato com o meio suplementado somente com SH em comparação com os demais grupos. Após 48 horas, os nossos achados sugerem que a proliferação celular no grupo do SH é maior em comparação ao SFB (P=0.0101), contudo sem diferença estatística significativa se considerado o SFB acrescido de SH. Conclui-se que, quando em contato com SH, as DPSCs tiveram um aumento na viabilidade celular em comparação com o SFB, contudo morfológicamente não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Sendo possível cogitar a utilização de SH como um provável substituto ao soro animal em futuras pesquisas laboratoriais e aplicações clínicas com as DPSCs.

Palavras-chave: Sheds. Isolamento celular. Células-tronco. Técnica do explante.



EFEITO NEUROPROTETOR DE EXTRATO DE PLANTA NATIVA DO RIO GRANDE DO SUL EM CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA

J. A. DÖRR^{1*}, D. M. KICH¹, J. SILVA², C. ALVES², S. PINTEUS², S. BITENCOURT¹, R. PEDROSA², L. SANTI³, W. O. B. da SILVA³ e M. I. GOETTERT¹

1 Laboratório de Cultura de Células, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado/RS, Brasil.

2 Grupo de Investigação em Recursos Marinhos (GIRM), Instituto Politécnico de Leiria, Leiria, Portugal.

3 Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado/RS, Brasil.

*jdorr@universo.univates.br

Apesar dos avanços no desenvolvimento de novos fármacos, as plantas continuam sendo uma alternativa importante no tratamento de várias doenças. Ainda, estudos etnofarmacológicos são essenciais para a seleção de espécies vegetais com potencial farmacológico. Muitas doenças autoimunes, infecciosas, inflamatórias e neurodegenerativas são causadas devido à formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) no organismo. Este é um processo crônico que conduz à dano oxidativo, causando a perda de estabilidade celular e função biológica. A doença de Parkinson é a segunda desordem neurodegenerativa mais comum no mundo e que leva à geração de ROS em neurônios dopaminérgicos. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito neuroprotetor do extrato aquoso da semente de uma planta nativa do Rio Grande do Sul em células humanas de neuroblastoma SH-SY5Y. Para tal, a viabilidade das células SH-SY5Y expostas a toxicidade induzida por 6-hidroxidopamina (6-OHDA) e tratadas com a concentração não citotóxica do extrato (300 µg/mL) foi avaliada através do método MTT. Os efeitos do extrato sobre os mecanismos intracelulares da neurotoxicidade induzida pela 6-OHDA também foram avaliados através da concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), potencial mitocondrial e atividade de caspase-3 usando fluorimetria. Os resultados mostraram que o extrato etanólico possui capacidade de recuperar a viabilidade das células SH-SY5Y quando expostas à 6-OHDA. Em relação aos mecanismos intracelulares envolvidos na toxicidade induzida pela 6-OHDA, foi possível verificar que o extrato diminuiu a produção de H₂O₂. Entretanto, o extrato não exibiu efeito preventivo na despolarização da membrana, provavelmente por outro mecanismo estar relacionado com a morte celular. Avaliando a atividade da proteína caspase-3, foi averiguado que o extrato conseguiu diminuir significativamente o aumento induzido pela 6-OHDA. Esses dados levam à conclusão que o extrato tem um potencial neuroprotetor em células humanas de neuroblastoma por meio da inibição de morte celular oxidativa.

Palavras-chave: Neuroproteção. Extrato vegetal. Apoptose.



A BACTERINA INDUZ PROTEÇÃO DE LONGA DURAÇÃO CONTRA LEPTOSPIROSE?

M. A. MONTANO^{1*}, M. M. SILVEIRA¹, N. L. CONRAD¹, J. D. SOUZA¹ e A. J. A. MCBRIDE¹

¹ Universidade Federal de Pelotas, Laboratório de Pesquisa em Doenças Infeciosas, Biotecnologia, CDTEc

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial causada por espiroquetas do gênero *Leptospira*, sendo seus principais disseminadores urbanos ratos e cães – portadores crônicos da doença. É uma doença que afeta amplamente a pecuária, provocando infertilidade, perda de peso, abortos e mortes. A falta de medidas eficazes de controle, somado ao fato de que as ferramentas laboratoriais disponíveis para o diagnóstico são laboriosas dificultam respostas efetivas contra a doença. As vacinas aprovadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) são de bacterinas, leptospiros inativadas por calor ou formalina, na forma monovalente ou multivalente e falham em proteger contra sorovares diferentes dos presentes na vacina. No entanto, a falta de pesquisas, que demonstrassem a correlação do tempo e proteção, foi fundamental para desenvolver o projeto de avaliar se a bacterina confere proteção de longa duração contra leptospirose. Foram realizados três experimentos independentes utilizando hamsters, um modelo letal de leptospirose, de 3 a 4 semanas de idade (CEEA – 2682). Em cada experimento haviam 2 grupos, um da bacterina (n=4) e outro da tampão fosfato-salino (PBS) (controle, n=3). Os animais foram vacinados, via intramuscular com a bacterina (10^8 leptospiros/dose) ou PBS, nos dias 1 e 14. O desafio homólogo ($5 \times DL_{50}$ de *L. interrogans* sorovar Copenhageni cepa Fiocruz L1-130) foi realizado, via intraperitoneal, 1, 2, 4 e 6 meses após a última dose da vacina. Para a avaliação de anticorpos utilizamos um ELISA indireto a partir de coletas de sangue: pré-imune (ausência de anticorpos), após a última dose da vacina e após a eutanásia (presença de anticorpos circulantes). Os resultados preliminares mostram que 1 mês depois da vacinação a eficácia foi de 100% (12/12), de 2 meses foi entre 50% (2/4) e 100% (8/8) e depois de 4 meses foi 100% (4/4). Esses resultados preliminares mostram que a bacterina foi capaz de proteger até 4 meses depois da vacinação e que induziu imunidade esterilizante nos sobreviventes, sugerindo que uma posterior avaliação seja estendida por um período de até 12 meses para mostrar perda da eficácia. Por cursar a fase aguda da doença o modelo utilizado talvez não seja o melhor para experimentos de longa duração, talvez portadores crônicos da doença, como ratos possam ser utilizados para esses estudos.

Palavras-chave: Leptospirose animal. Medicina veterinária. Modelo hamster. Vacina inativada.



ESTUDO DO POLIMORFISMO TAQI C>T, DO GENE RECEPTOR DA VITAMINA D EM UMA AMOSTRA DE PACIENTES DO RIO GRANDE DO SUL COM CÂNCER DE PRÓSTATA

S. S. H. SAUSEN^{1*}, A. DAS CHAGAS¹, V. BIOLCHI¹, A. POZZOBON¹, I. S. BRUM² e I. C. BUSTAMANTE FILHO¹

1 CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES, Av. Avelino Talini, nº 171, Bairro Universitário, Lajeado – RS, 95.900-000

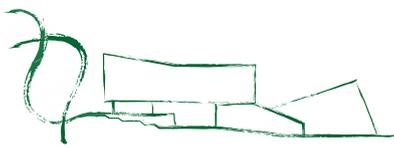
2 ICBS, UFRGS, Porto Alegre-RS

*Apresentador: shelfer@universo.univates.br

O Câncer de Próstata (CaP) é uma enfermidade de grande importância à saúde do homem, e vêm aumentando sua incidência nos últimos anos. A doença está em sexto lugar entre os maiores causadores de morte em homens no mundo. Assim, é importante conhecer as características da doença e realizar o diagnóstico precoce. O tumor da próstata é caracterizado por um parênquima de células epiteliais em proliferação, vasos sanguíneos e um estroma de tecido conjuntivo. A evolução dos tumores é variada e pode ocorrer de três formas: tumores benignos que não causam danos e consequências maiores aos indivíduos, tumores que se desenvolvem de forma lenta e ainda os tumores malignos que se desenvolvem rapidamente e levam o paciente à morte em pouco tempo. Vários fatores são relacionados como risco para o desenvolvimento desta patologia, dentre eles a deficiência da vitamina D vem sido relatada como importante influenciador no desenvolvimento do CaP. Isso está atribuído ao papel que a Vitamina D tem na regulação do crescimento e diferenciação das células da próstata. O gene receptor da Vitamina D (VDR) está localizado em 12q12-14 e apresenta nove éxons. Um dos polimorfismos presentes neste gene é o *TaqI*, localizado no éxon 9 onde ocorre a troca de uma citosina (C) por uma timina (T). O objetivo deste trabalho é analisar se o polimorfismo *TaqI* C>T do gene VDR está relacionado com o CaP. As amostras foram divididas em dois grupos: Controle e CaP, todos pacientes recrutados do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Foi realizada reação em cadeia da polimerase, seguida de restrição enzimática (PCR-RFLP). O resultado foi confirmado em eletroforese em gel de agarose. Avaliando 56 controles e 86 CaP, pacientes CaP apresentaram PSA ($P<0,001$), volume ($P<0,001$) e testosterona total ($P=0,003$) maior em relação aos controles. O polimorfismo de 33 pacientes controles e 15 CaP, apresentou distribuição semelhante entre os alelos TT, TC e CC. Nesta amostra estudada, a idade pode ser um fator de risco para o CaP, avaliando os alelos corrigidos pela idade através de regressão logística binária. As variantes alélicas entre os grupos, não foram associadas a diferentes níveis de testosterona, volume prostático e PSA. Estes são resultados parciais na população em estudo. Até o presente momento, pacientes com CaP apresentam níveis de testosterona mais elevados. A continuação do estudo e o incremento de pacientes serão necessários para avaliar o impacto final dos resultados obtidos.

Palavras-chave: Câncer de próstata. Vitamina D. VDR. *TaqI*.

Comitê de ética do HCPA número: 07-533.



ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO *Apal* T>G DO GENE DO RECEPTOR DA VITAMINA D EM PACIENTES COM HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA

A. DAS CHAGAS^{1*}, S. S. H. SAUSEN¹, I. C. BUSTAMANTE FILHO¹, A. POZZOBON¹, I. S. BRUM² e V. BIOLCHI¹

1 CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES, Av. Avelino Tallini, nº 171, Bairro Universitário, Lajeado – RS, 95.900-000

2 ICBS, UFRGS, Porto Alegre-RS

*Apresentador: adchagas@universo.univates.br

A próstata é uma glândula acessória exclusiva do sistema reprodutor masculino, sendo acometida por alterações proliferativas, como a hiperplasia prostática benigna (HPB) e o câncer de próstata (CaP). Histologicamente a HPB é caracterizada como hiperplasia das células estromais e epiteliais, sendo que o crescimento é progressivo ao longo do tempo. Os fatores de risco para o desenvolvimento da HPB estão relacionados com o envelhecimento e com o aparecimento de manifestações clínicas em parentes próximos. O mecanismo de regulação do crescimento e proliferação das células prostáticas pode estar envolvido com a forma ativa da Vitamina D, quando ligada ao seu receptor, o VDR, expresso nas células prostáticas. Este receptor é um fator de transcrição pertencente à família dos receptores hormonais, sendo que nos humanos encontra-se localizado no cromossomo 12q13.11, composto por 11 éxons. Um dos polimorfismos estudados neste gene é o *Apal*, localizado no íntron 8, onde ocorre a troca de uma timina (T) por uma guanina (G). O objetivo deste trabalho foi analisar a relação entre o polimorfismo *Apal* (T>G) do gene *VDR* em uma amostra de pacientes controles e com hiperplasia prostática benigna. As amostras foram divididas em dois grupos: grupo controle (87 pacientes) e com HPB (67 pacientes) recrutados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Foi realizada a reação em cadeia da polimerase seguida de digestão enzimática (PCR-RFLP) de 43 pacientes do grupo controle e 37 pacientes do grupo HPB. A confirmação das bandas amplificadas foi analisada através de eletroforese em gel de agarose. O volume prostático e o PSA foram mais elevados nos pacientes com HPB ($P \leq 0,001$), enquanto que os níveis de testosterona total foram semelhantes entre os grupos, avaliando 87 controles e 67 HPB. Até o momento, a distribuição das frequências fenotípicas foram semelhantes entre os grupos. Os alelos TT, TG ou GG não tiveram associação com níveis de testosterona, porém pacientes com alelo GG tinham um volume prostático maior do que pacientes com o alelo TG ($P \leq 0,05$) e maior do que pacientes com o alelo TT ($P \leq 0,001$). Estes são resultados preliminares da amostra estudada. Mais pacientes serão analisados afim de poder verificar o real efeito deste polimorfismo na população estudada.

Palavras-chave: Hiperplasia prostática benigna. Vitamina D. VDR. *Apal*.

Número do Comitê de Ética do HCPA: 07-533.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E FITOQUÍMICA DE EXTRATOS DE PLANTAS DA FAMÍLIA MYRTACEAE

B. CAYE¹, D. FALEIRO¹, D. J. MARMITT¹, D. M. KICH¹, S. M. IMMICH², C. ALVES³, S. PINTEUS³, J. SILVA³, R. PEDROSA³ e M. I. GOETTERT¹

1 Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – PPGBiotec Univates - Av. Avelino Talini, 171 - Universitário, Lajeado - RS, Brasil

2 Centro de Ciências da Saúde – CCBS Univates

3 Instituto Politécnico de Leiria - Portugal

As informações e o conhecimento sobre as plantas utilizadas na medicina tradicional simbolizam muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades. Inúmeros estudos descrevem seus diferentes potenciais terapêuticos e aplicações, entre eles a utilização de espécies vegetais com potencial anti-inflamatório, antifúngico, antimicrobiano, entre outras. Atualmente, são distribuídos 12 fitoterápicos pelo SUS (RENAME) e há ainda uma lista com 71 plantas de interesse ao SUS para que sejam estudadas (RENISUS). Com base nestas informações e na busca de novos extratos com potenciais terapêuticos, este trabalho tem por objetivo avaliar os constituintes fitoquímicos, a atividade antioxidante e o potencial antimicrobiano dos extratos aquoso, etanólico e hexânico de três plantas da família Myrtaceae. As plantas foram determinadas como: planta A, B e C e os extratos diferenciados em 1- aquoso, 2- hexânico e 3- etanólico. O potencial antioxidante foi determinado pelo método de DPPH e ORAC e a fitoquímica através de métodos adaptados de técnicas de coloração e precipitação da Farmacopeia Brasileira. A atividade antimicrobiana foi determinada através da concentração inibitória mínima (CIM) frente a 5 microrganismos. Em ambos extratos, etanólico e aquoso, das plantas A, B e C foram identificados taninos, flavonoides, esteroides, triterpenoides e alcaloides. Apenas na amostra C2 foi identificada a presença de alcaloides. Os extratos B1, C1, A3, B3 e C3 apresentaram maior potencial antioxidante. Quanto à atividade antimicrobiana, os extratos A1, A2, B1, B2, B3, C1, C2 e C3 apresentaram atividade acima de 50 % na concentração de 300ug/ml. O extrato que apresentou maior atividade antimicrobiana foi o C2, inibindo em mais de 70% o crescimento de todos os microrganismos, apresentando maior atividade frente *C. albicans*, *S. aureus* e *E.coli*, e contra *P. aeruginosa* e *B. subtilis*, respectivamente. Ainda, o extrato A1 apresentou importante atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* e *P. aeruginosa* inibindo o crescimento em 55% e 90%, respectivamente. Com esses resultados, podemos observar que os extratos etanólico e aquoso possuem maior potencial antioxidante e antimicrobiano. Estes resultados sugerem a planta C como uma importante fonte de compostos biativos com potencial terapêutico para o tratamento de doenças infecciosas.

Palavras-chave: Fitoquímica. DPPH. ORAC. Atividade antimicrobiana. Atividade antioxidante.



DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCÁPSULAS CONTENDO DIOSGENINA E ÓLEO ESSENCIAL DE *PIPER DILATATUM RICH.*

M. C. MARTELLET^{1*}, R. P. RAFFIN² e S. R. GIACOMELLI³

1 Centro Universitário Franciscano, Rua Silva Jardim, 1175, Nsa. Senhora do Rosário, Santa Maria, RS.

2 Centro Universitário Franciscano, Rua Silva Jardim, 1175, Nsa. Senhora do Rosário, Santa Maria, RS.

3 Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Rua Assis Brasil, 709, Itapajé, Frederico Westphalen, RS.

*mmartellet@hotmail.com

O Brasil comporta o maior depósito da biodiversidade do planeta, exibindo grande potencial para expandir a pesquisa, o desenvolvimento e a inovação de produtos oriundos de plantas medicinais. Em virtude destes fatores elencados, a busca por novas opções terapêuticas se torna de extrema relevância e o uso de medicamentos de origem natural com ação antioxidante, têm recebido uma maior atenção devido a sua ampla utilização, potencial efeito terapêutico e baixa incidência de efeitos adversos. Vários estudos com antioxidantes extraídos de plantas medicinais têm sido elucidados, destacando-se a DIOSGENINA e o óleo essencial da planta *Piper dilatatum rich*, mostrando-se eficientes para retardar os processos oxidativos e impedir ou diminuir a atividade dos radicais livres. Aliado a esse interesse de pesquisa foi que objetivamos introduzir a nanotecnologia, com o intuito de evitar a volatilização dos óleos essenciais nas formulações, preservando sua integridade química, aumentando a biodisponibilidade de substratos de pouca solubilidade em água, assim como prolongar o tempo de permanência no local de destino. As suspensões de nanocápsulas foram preparadas utilizando o método de precipitação do polímero pré-formado descrito na literatura. As formulações de nanocápsulas foram compostas por uma fase orgânica e outra oleosa, onde ambas foram mantidas sob agitação magnética moderada e a 40° C. Após, a fase orgânica foi vertida sobre a fase aquosa em agitação constante e o solvente orgânico foi evaporado em evaporador rotatório. Como caracterização físico-química, foi verificada a distribuição do tamanho das partículas, onde fez-se leitura no equipamento Microtrac (EUA) através da técnica de difração de laser. O equipamento foi zerado com água destilada e os resultados expressos em número de partícula. As concentrações dos constituintes da formulação utilizada são usuais para produção de nanocápsulas poliméricas pela técnica citada e demonstraram estáveis corroborando com resultados encontrados na literatura. Através da técnica de difração a laser, foi possível observar que todas as partículas encontram-se na escala manométrica, onde a distribuição média das partículas foi de $145 \pm 0,28$ nm para as nanocápsulas produzidas. O presente estudo demonstrou a possibilidade da produção de nanocápsulas de DIOSGENINA contendo o óleo de *Piper* como núcleo oleoso pela primeira vez. O diâmetro da partícula formada foi adequado ao tamanho esperado. A partir destes resultados a pesquisa continuará a fim de avaliar a segurança das formulações.

Palavras-chave: Antioxidante. Diosgenina. Nanocápsulas. Óleo de *Piper*. Plantas.



PRODUÇÃO E MANUTENÇÃO DE CÉLULAS DE QUALIDADE CERTIFICADA

P. G. B. MIRANDA^{*1,2}, J. L. P. RAMOS-Jr^{1,2}, D. O. ALMEIDA¹, N. C. SANTOS¹, R. F. C. Pereira¹, B. C. GOMES¹, J. M. GRANJEIRO^{1,2,3}, A. V. FOLGUERAS-FLATSCHART¹ e L. C. BOLDRINI^{1,3}

1 Diretoria de Metrologia Aplicada as Ciências da Vida, Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, R. Nossa Sra. das Graças, 50, prédio 27, Labio, Xerém, Duque de Caxias, RJ.

2 Programa de Pós-graduação em Biotecnologia do Inmetro

3 Programa de Pós-graduação em Biomedicina Translacional – Inmetro, Unigranrio e Uezo

*P. G. B. Miranda: priborchio@gmail.com

O cultivo de células é ferramenta fundamental em ensaios biológicos que envolvem desenvolvimento de biomateriais, produção de biofármacos e realização de ensaios de citotoxicidade *in vitro* aplicados à indústria de cosméticos e dispositivos médicos implantáveis. Nas últimas décadas, diversos estudos apresentaram comprovada contaminação cruzada de linhagens celulares ou por microrganismos em estudos prévios, invalidando resultados obtidos e ocasionando prejuízos às agências de fomento e laboratórios de pesquisa e biotecnologia. Considerando a missão do Inmetro em garantir confiabilidade à sociedade e a indústria e que o Laboratório de Bioengenharia Tecidual (Labio) utiliza linhagens celulares em seus trabalhos de pesquisa e desenvolvimento, buscamos aplicar ferramentas de avaliação de controle de qualidade de células cultivadas. Para a autenticação celular, busca-se a confirmação da espécie de origem, a correlação com o tecido de origem e o perfil genético específico da linhagem. Para a pureza, se faz necessário garantir que elas estejam livres de microrganismos contaminantes. No presente trabalho, selecionamos as principais linhagens celulares utilizadas no Labio e laboratórios associados. Para a produção de lotes de qualidade certificada, executamos, para diferentes amostras criopreservadas: (1) o controle microbiológico utilizando caldo Tioglicolato (TIO/ 22,5°C ± 2,5°C) e caldo Casoy (TSB/ 32,5°C ± 2,5°C) pelo período de 14 dias, conforme a Farmacopeia brasileira, para a avaliação de bactérias e fungos; (2) para detecção de micoplasma realizamos os ensaios de bioluminescência e PCR; (3) para autenticidade celular, utilizamos a avaliação de perfil genético por STR (short tandem repeats); (4) para viabilidade celular optamos pelo ensaio de exclusão por azul de trypan. O acervo conta, atualmente, com 45 lotes de células de qualidade certificada, sendo 36 humanas e 9 não humanas. 97 lotes estão no processo de certificação. 21 linhagens foram descartadas, após apresentarem resultado insatisfatório em algum dos testes. O presente trabalho demonstra um esforço inicial de controle de qualidade nesta área, que tem se mostrado uma preocupação internacional. Após a padronização destes ensaios, o INMETRO dispõe de linhagens de qualidade, oferece o serviço de controle de qualidade de linhagens e se apresenta como uma instituição que pode disseminar os protocolos estabelecidos nesta área de atuação.

Palavras-chave: Linhagens celulares. Controle de qualidade. Autenticidade. Pureza. *In vitro*.



EFEITOS DA POLARIZAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE PÓS-INFARTO DO MIOCÁRDIO NA EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS À REGENERAÇÃO CARDIOVASCULAR: UMA ANÁLISE *IN SILICO*

M.C. AREND*^{1,3}, M. KRISTOCHECK¹, M. A. BASTIANI², F. KLAMT² e M. M. MARKOSKI¹

1 Laboratório de Cardiologia Molecular e Celular e Laboratório de Experimentação Animal, Serviço de Medicina Experimental, Instituto de Cardiologia/Fundação Universitária de Cardiologia, Porto Alegre, RS – Brasil

2 Laboratório 32. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Porto Alegre, RS- Brasil.

3 Universidade do Vale dos Sinos, São Leopoldo, RS- Brasil

*arendmarcela@gmail.com

O infarto agudo do miocárdio (IAM) induz mudanças pato-fisiológicas no tecido cardíaco. A ação do eixo SDF-1/CXCR4 está envolvida com migração, proliferação e diferenciação celular, promovendo respostas fisiológicas de reparo no pós-IAM. No entanto, os efeitos benéficos promovidos pelo eixo podem ser modulados por respostas inflamatórias, envolvendo vias moleculares pouco estudadas. Nesse contexto, redes de interação gênica são capazes de sugerir mecanismos moleculares envolvidos na modulação do eixo SDF-1/CXCR4, frente aos diferentes perfis de resposta imunológica. Assim, nosso objetivo é avaliar *in silico* a rede de interação entre genes da ativação da resposta imune pós IAM e genes associados ao eixo SDF-1/CXCR4, em condições agudas e crônicas. Para tanto, foram analisados dados de 3 microarranjos independentes. A resposta inflamatória foi inferida de acordo com assinaturas gênicas previamente estabelecidas. Os elementos do eixo foram obtidos a partir dos GO:0007186/GO:0070098 do *Gene Ontology Consortium*. Os genes utilizados para as redes bayesianas (RB) foram selecionados segundo sua expressão diferencial. As RB foram construídas pelo algoritmo *TABU*. A pontuação de redes foi equivalente à análise *Bayesian Dirichlet* modificada. A estrutura final do grafo foi construída pela média de 5000 redes, mantendo os arcos que passaram por um limiar de relacionamento probabilístico. Nossos resultados apontam uma forte relação entre os genes TPRA1/AKT/CXCR4/ITGB7/IL15 em condições agudas pró-inflamatórias, sugerindo o aumento da expressão de proteínas de adesão endotelial e do infiltrado celular, contribuindo para o aumento da lesão. Em condições crônicas anti-inflamatórias, encontramos forte relação entre os genes TPRA1/AKT/PIK3CB/FZD2/CXCR4/OSBPL7/CADR9, sugerindo a ativação de mecanismos de remodelamento tecidual e bloqueio de vias apoptóticas, contribuindo para a manutenção das funções vitais. Dessa forma, concluímos que a resposta imune influencia os efeitos promovidos pelo eixo SDF-1/CXCR4. Nossos resultados sugerem que, em condições de agudas pró-inflamatórias, a ação do eixo SDF-1/CXCR4 contribui para o aumento da lesão pós-IAM. No entanto, propomos que, em condições crônicas anti-inflamatória, o eixo pode influenciar mecanismos fisiológicos de reparo cardíaco.

Palavras-chave: Infarto agudo do miocárdio. SDF-1/CXCR4. Interação gênica.



PROTEOMA DIFERENCIAL DA INFECÇÃO DE PULMÃO CAUSADA PELA LEVEDURA PATOGENICA *CRYPTOCOCCUS GATTII*

R. L. ROSA^{1*}, M. BERGER², J. YATES³, L. SANTI¹ e W. O. BEYS-DA-SILVA¹

1 Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UNIVATES, Av. Avelino Tallini, 171 - Universitário, Lajeado - RS, 95900-000

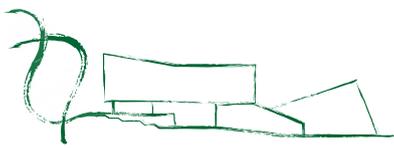
2 Hospital de Clínicas (HCPA), R. Ramiro Barcellos, 2350 - Porto Alegre - RS, 90035-503

3 The Scripps Research Institute, 10550 North Torrey Pines Rd. Department of Chemical Physiology, SR302 La Jolla, CA 92037

*Apresentador: rafaelbiotec@gmail.com

O Complexo *Cryptococcus* compreende as leveduras das espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. Estes organismos são os agentes causadores da criptococose, tanto em indivíduos imunocomprometidos quanto imunocompetentes, levando a quadros de pneumonia e meningite. A utilização de ferramentas proteômicas associadas à bioinformática, têm contribuído para o melhor entendimento de como os patógenos conseguem influenciar na expressão proteica do hospedeiro, afetando rotas metabólicas, sistema imune e desencadeando a patogênese de diversas doenças. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo identificar e caracterizar as proteínas diferencialmente expressas em condição de infecção no hospedeiro, permitindo a elucidação dos aspectos moleculares da patogênese de *C. gattii* em ratos. Para isto, está sendo realizada a caracterização molecular por bioinformática do proteoma de pulmão de ratos (*Rattus norvegicus*) infectados com *C. gattii* comparados com controles. Foram procedidos três grupos experimentais de 6 animais cada, inoculados via intranasal com a cepa hipervirulenta *C. gattii* R265, com a cepa avirulenta *capΔ67* (controle negativo) e um terceiro grupo sem inoculação (controle negativo adicional). Após 3 dias pós-inoculação, foram coletados o pulmão inteiro para o processamento, extração de proteínas e posterior identificação do proteoma por espectrometria de massas através de MudPIT. As análises de comparação dos diferentes grupos experimentais e proteínas identificadas foram realizadas com o software *PatternLab* e resultaram na identificação de 2873 proteínas do pulmão inoculados com a cepa R265, 2572 com a cepa avirulenta *capΔ67* e 2454 do controle negativo. Na comparação mútua desses resultados, 203 proteínas foram exclusivamente identificadas nos animais inoculados com a cepa virulenta em comparação com os grupos controles. As análises comparativas da expressão proteica estão ainda em andamento e somadas à caracterização posterior destes dados por diversas ferramentas de bioinformática poderão contribuir para o entendimento dos efeitos causados por este patógeno de humanos e, potencialmente, para futuros avanços na terapia da doença e prevenção da infecção.

Palavras-chave: *Cryptococcus gattii*. Infecção. Hospedeiro. Proteoma. MudPit.



EXPRESSÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DE BIOMARCADORES EM CARCINOMAS DE CABEÇA E PESCOÇO: ESTUDO PILOTO

R. GIACOMINI^{1*}, A. E. G. GODOY², I. E. LITVIN³ e F. F. PASQUALOTTO⁴

1 Universidade de Caxias do Sul, Instituto de Biotecnologia. Pinheiro Machado 2569. Rio Branco, 95020172 - Caxias do Sul, RS - Brasil

2 Universidade de Caxias do Sul, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Patologia.

Francisco Getulio Vargas, 1130. Universitário, 95020-972 - Caxias do Sul, RS - Brasil

3 Universidade de Caxias do Sul, Centro de Ciências da Saúde. Rua Francisco Getúlio Vargas. Petrópolis, 95070560 - Caxias do Sul, RS - Brasil

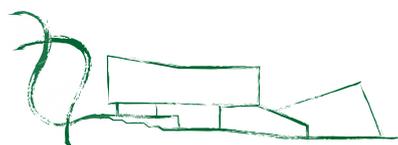
4 Universidade de Caxias do Sul, Instituto de Biotecnologia, Laboratório do Estresse Oxidativo. Pinheiro Machado 2569 sls 23/24.

Rio Branco, 95020172 - Caxias do Sul, RS - Brasil

*Apresentador: rosanegiacomini@gmail.com

O carcinoma epidermoide de cabeça e pescoço é o sexto tipo de câncer mais comum, com estimada incidência anual, de um milhão de casos em todo o mundo, sendo considerado um problema global de saúde pública. O tabaco e o álcool são os principais fatores etiológicos, mas nas últimas décadas a infecção pelo HPV tem sido associada à doença. Os biomarcadores podem ser úteis no manejo clínico dos pacientes com câncer, além de auxiliar no desenvolvimento de novas modalidades terapêuticas. O gene *p53* é um supressor tumoral, comumente mutado em neoplasias humanas, sendo identificado aumento da sua expressão em neoplasias malignas. A expressão de tubulina está relacionada com a resistência a fármacos que tem como alvo a tubulina e os microtúbulos. A superexpressão do receptor do fator de crescimento epidermico (EGFR) é um fator de prognóstico negativo, associado com pior controle local e sobrevida do paciente. *p63*, homólogo de *p53*, é um marcador de diferenciação escamosa, sendo observado uma relação inversamente proporcional entre a expressão de *p63* e sobrevida em carcinoma oral. A superexpressão de *p16* pode ser considerada um marcador de prognóstico favorável, afetando o comportamento clínico dos tumores. O objetivo deste trabalho foi identificar, por imunohistoquímica, os níveis de expressionais de *p53*, tubulina, EGFR, *p63* e *p16* em amostras de lesões malignas de cabeça e pescoço. O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa da UCS através do CAAE: 47152015.5.0000.5341. Foram utilizadas sete amostras teciduais, obtidas por biópsia de lesões de cabeça e pescoço, de pacientes submetidos a tratamento para câncer, atendidos no Serviço de Oncologia Do Hospital Geral de Caxias do Sul. As amostras foram selecionadas retrospectivamente, tendo como critério de seleção a presença de carcinoma de cabeça e pescoço. Avaliou-se a expressão proteica por imunohistoquímica. A análise foi realizada em microscópio óptico, por dois médicos patologistas treinados, independentemente, através da utilização do escore H. Com exceção do *p63*, que não apresentou alteração na sua expressão, os demais marcadores apresentaram alterações que variam, da ausência de expressão a expressão elevada, indicando que a obtenção de um maior número de informações sobre a expressão dos biomarcadores pode auxiliar na decisão terapêutica.

Palavras-chave: Câncer. Cabeça e pescoço. Biomarcadores.



INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES *CD14* E *TLR4* COM A DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA

C. WÜNSCH^{1*}, P. GIRARDI, P. R. V. FALLAVENA², M. E. ARNDT³ e V. CONTINI^{1,2}

1 Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil.

2 Setor de Genética e Biologia Molecular do Museu de Ciências Naturais, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil.

3 Serviço de Hemodinâmica, Hospital Bruno Born, Lajeado, RS, Brasil

*camile.wunsch@yahoo.com.br

A doença arterial coronariana (DAC) é a principal causa de morbidade e mortalidade no mundo, caracterizada como uma doença inflamatória crônica, multifatorial, cuja fisiopatologia é a aterosclerose. Diversos estudos apontam que polimorfismos genéticos estão associados com o surgimento da DAC e, entre eles, destacam-se variantes nos genes *CD14* e *TLR4*, os quais estão envolvidos no desencadeamento do processo inflamatório. Desse modo, o estudo tem como objetivo verificar a possível associação de polimorfismos nos genes *CD14* (rs2569190) e *TLR4* (rs4986790) com a DAC. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética do Centro Universitário Univates (CAAE: 01464812.0.0000.5310). A amostra foi composta por 648 indivíduos adultos submetidos ao exame de cateterismo cardíaco no Hospital Bruno Born, de Lajeado, RS. Todos os participantes do estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Os indivíduos foram classificados entre casos e controles, por um médico cardiologista, com base no seguinte critério: presença de estenose, com comprometimento maior do que 50%, em pelo menos uma das artérias coronárias. Foram também coletadas amostras de sangue periférico para análises bioquímicas e moleculares. A extração de DNA foi realizada pelo método de *salting out*. Os polimorfismos foram genotipados pelo sistema de discriminação alélica TaqMan, em equipamento de PCR em Tempo Real (StepOnePlus®). As frequências alélicas foram estimadas por contagem direta e o equilíbrio de Hardy-Weinberg foi testado pelo teste do qui-quadrado de Pearson. A associação entre os polimorfismos e a DAC foi testada pelo teste do qui-quadrado de Pearson. As frequências alélicas da variante rs2569190 foram 0,50 e 0,44 para o alelo T e 0,50 e 0,56 para o alelo C, em casos e controles, respectivamente. Para a variante rs4986790 as frequências foram 0,96 e 0,96 (alelo A) e 0,04 e 0,04 (alelo G), em casos e controles. As frequências genotípicas, em ambas as amostras, estão de acordo com o esperado para o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não foram observadas diferenças significativas nas frequências genotípicas entre casos e controles (rs2569190: p=0,60 e rs4986790: p=0,99). Nossos resultados sugerem que os polimorfismos rs2569190 e rs4986790 não influenciam o desenvolvimento da DAC, nesta amostra. No entanto, ressalta-se a importância da realização de análises complementares, especialmente considerando a variabilidade clínica dos pacientes, para confirmar nossos achados.

Palavras-chave: Inflamação. DAC. Aterosclerose. Polimorfismos.



TESTE DE ATIVIDADE E INTERNALIZAÇÃO CELULAR DE rhGCCase PRODUZIDA EM LEITE DE CAPRINOS TRANSGÊNICO

D. D. MENDONÇA^{1*}, E. TICIANI¹, A. C. O. DIAS², L. H. de AGUIAR³, C. E. M. CALDERÓN³, K. S. TAVAREZ³, L. T. MARTINS³, J. M. CHIES², M. BERTOLINI⁴ e L. R. BERTOLINI¹

1 Laboratório de Biotecnologia e Engenharia Genética, Faculdade de Farmácia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Quatro G Pesquisa & Desenvolvimento Ltda., Tecnopuc, Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Laboratório de Biologia Molecular e do Desenvolvimento, Núcleo de Biologia Experimental, Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, Ceará, Brasil.

4 Laboratório de Embriologia e Biotécnicas de Reprodução, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

*Apresentador: denise.dor@gmail.com

A Doença de Gaucher (DG) é uma doença genética caracterizada pelo acúmulo de um glicocerebrósídeo nos lisossomos pela ausência funcional da enzima glucocerebrosidase. A glucocerebrosidase recombinante humana (rhGCCase) é usada em terapias de reposição enzimática em pacientes com DG e, entre os sistemas viáveis para a produção de proteínas recombinantes, a plataforma animal é particularmente favorável. Desta forma, cabras transgênicas foram produzidas para expressar rhGCCase no leite (5,0 g/L). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade *in vitro* sobre o substrato 4MU-Glc e a capacidade de internalização celular da rhGCCase presente no leite total e no soro do leite em relação a controle positivo (enzima recombinante comercial Imiglucerase, Cerezyme[®], Genzyme Co.). Três preparações (leite, soro, controle) foram testadas para a captação de macrófagos alveolares de ratos da linhagem NR8383 em suspensão, em concentrações de 30, 60 e 120 µg/mL de rhGCCase, a 37°C por 1 h. As preparações e as células lisadas após exposição à rhGCCase tiveram a atividade da GCCase mensuradas usando o substrato 4MU-Glc. Os dados foram analisados usando o procedimento MIXED do pacote estatístico SAS. Os resultados da atividade *in vitro* da rhGCCase foram semelhantes entre os grupos, confirmando a atividade da enzima recombinante do leite na metabolização do 4MU-Glc. Os valores obtidos para atividade biológica relativa foram de $2,19 \pm 0,15$; $0,86 \pm 0,15$; $1,20 \pm 0,15$; $1,23 \pm 0,22$ para Imiglucerase, leite total, soro do leite e controle negativo, respectivamente, sem efeito para a concentração da enzima. O nível de captação de Imiglucerase foi significativamente maior ($P < 0,05$) do que os demais grupos. Entretanto, não houve diferença entre os grupos de leite total e soro de leite e o controle negativo ($P > 0,05$), demonstrando não ter havido a internalização da rhGCCase produzida na glândula mamária da cabra transgênica. Este resultado pode estar associado a modificações na ocupação dos sítios de glicosilação da enzima, afetando o reconhecimento pelos macrófagos e dificultando a internalização, uma vez que esta é mediada por receptores de manose. Assim, o tratamento da enzima recombinante com glicosidase pode ser necessário para que ocorra a internalização, a exemplo da industrialização da imiglucerase, sendo uma etapa a ser realizada após a purificação da rhGCCase do leite.

Palavras-chave: Doença de Gaucher. Glucocerebrosidase. Internalização celular.



CITOTOXICIDADE E EFEITO IMUNOMODULADOR DE EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DAS PLANTAS T₁ E T₂ EM CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGUE PERIFÉRICO (PBMC) HUMANO

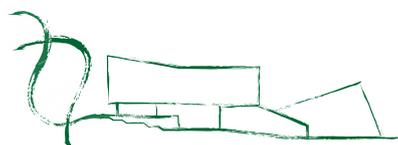
D. FALEIRO^{1*}, B. CAYE, D. M. KICH¹, G. C. BERGMANN¹, L. BORTOLUZZI¹, N. FLORES, S. IMMICH, S. BITENCOURT¹ e M. I. GOETTERT¹

¹ Laboratório de Cultura de Células, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado/RS, Brasil

*Apresentador: dfaleiro@universo.univates.br

A utilização de plantas medicinais e seus metabólitos secundários têm desempenhado papel importante no tratamento de diferentes doenças desde os tempos antigos, a fim de contribuir para o crescimento e desenvolvimento contínuo de drogas mais eficazes. Muitos compostos orgânicos de origem vegetal, derivados do metabolismo primário e secundário, como flavonoides, alcaloides e triterpenos, são considerados compostos biologicamente ativos, sendo avaliados como essenciais e determinantes quanto a eficiência e função dos extratos das plantas medicinais. Compostos são considerados biologicamente ativos quando exercem ação sobre o organismo, ou seja, apresentam ações como, por exemplo, tranquilizante, analgésica, anti-inflamatória, citotóxica e características imunomoduladoras. Inúmeras patologias podem ser tratadas a partir de imunomodulação, através do uso de plantas medicinais, substituindo a quimioterapia, o que vem a neutralizar efeitos colaterais e o custo de terapias. Deste modo, o presente estudo buscou avaliar o efeito imunomodulador e atividade citotóxica dos extratos etanólico e aquoso da planta T₁ e T₂ frente a cultura de células mononucleares de sangue periférico (PBMC) humano. Para avaliação da citotoxicidade as células foram tratadas nas concentrações de 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL dos extratos, por 96h. A partir desse resultado, avaliou-se o efeito imunomodulador utilizando concentrações não tóxicas. Para a determinação do potencial citotóxico dos extratos, utilizou-se a técnica de contagem por azul de tripan e para análise de lipoproliferação, a técnica de MTT. Como resultado, o extrato etanólico da planta T₁ não mostrou citotoxicidade nas concentrações testadas, enquanto que o extrato aquoso, da mesma planta, apresentou citotoxicidade significativa na concentração de 200 µg/mL. Quando avaliados os extratos da planta T₂, o aquoso não revelou efeito citotóxico, o que difere do extrato etanólico, o qual foi tóxico na concentração mais alta. Ao analisar o efeito imunomodulador, o extrato que demonstrou potencial significativo foi o T₁ etanólico, na concentração de 200 µg/mL. Os demais extratos não foram capazes de diminuir de forma relevante a lipoproliferação. A partir destes resultados, experimentos complementares serão realizados para caracterizar o extrato etanólico da planta T₁, determinar os fitoconstituintes responsáveis pelo potencial indicado, e assegurar o uso do extrato quanto ao efeito imunomodulador.

Palavras-chave: Citotoxicidade. Imunomodulador. Plantas medicinais.



AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DO cfDNA EM BIÓPSIA LÍQUIDA UTILIZANDO-SE QPCR COM OS PRIMERS L1PA2

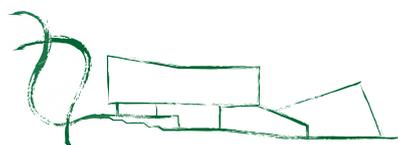
A. KOEHLER^{1*}, D. R. DALLEMOLE¹, S. E. JACKISCH¹ e A. RIEGER¹

¹ Universidade de Santa Cruz do Sul – Av. Independência, 2293 – Bairro Universitário – CEP 96815-900 – Santa Cruz do Sul – RS/Brasil

*Apresentador: aleskoehler@gmail.com

A utilização de biópsia líquida tem-se tornado frequente, sendo que o DNA livre de células (cfDNA) é um potencial biomarcador, principalmente em casos de câncer. O cfDNA origina-se da morte de células, seja por apoptose (normal) ou necrose (câncer e outras patologias). Fragmentos longos (>200pb) são oriundos de células necróticas e, curtos (<180pb), de células que morrem por apoptose. A razão entre a concentração de fragmentos longos e curtos resulta na determinação da integridade do cfDNA (int-cfDNA), de modo que quanto maior a int-cfDNA mais necrose está presente. O objetivo do presente trabalho foi testar um método de avaliação da int-cfDNA através de qPCR utilizando-se *primers* que amplificam sequências repetitivas LINEs (*Long Interspersed Nuclear Elements*) da classe L1. O estudo foi aprovado pelo CEP-UNISC (nº 35195214.1.0000.5343), no qual foram utilizadas 14 amostras de sangue de voluntários saudáveis. O plasma foi obtido por 2 etapas de centrifugação e o cfDNA isolado com o QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen). As amostras foram submetidas à qPCR utilizando-se dois conjuntos de *primers* L1PA2, sendo que um amplifica fragmentos curtos de 90pb e outro fragmentos longos de 222pb. Para a quantificação absoluta das sequências L1PA2 curtas e longas foram feitas duas curvas padrão (1; 1/2; 1/4; 1/8; 1/16; 1/32; 1/64) a partir de um *pool* de cfDNA de 10 amostras de indivíduos normais. A eficiência das curvas padrão e a concentração das amostras foram analisadas utilizando-se o *software Real Time PCR v7.7*. A eficiência da curva de L1PA2 90pb foi de 100%, com o coeficiente de determinação (r^2) de 0,98 e para L1PA2 222pb foi de 99%, com $r^2=0,97$, valores que estão dentro dos recomendados para análises quantitativas utilizando-se qPCR (MIQE: *Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments*). A int-cfDNA foi calculada pela razão entre a concentração de amplicons das sequências longas (222pb) e curtas (90pb), resultando em uma média de $0,64 \pm 0,28$; IC95%(0,45-0,83). Os resultados sugerem que a qPCR com os *primers* L1PA2 pode ser utilizada de forma confiável como um preditor de situações patológicas relacionadas com a morte celular por necrose, tais como ocorre em pacientes oncológicos, processos inflamatórios e de rejeição tecidual, por exemplo. Estudos posteriores incluindo amostras de pacientes oncológicos serão realizados para que se possa validar a metodologia de biópsia líquida para o diagnóstico e acompanhamento em casos de câncer.

Palavras-chave: cfDNA. Biópsia líquida. PCR em tempo real. Índice de integridade.



ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DO GENE KRAS EM PACIENTES PORTADORES DE NEOPLASIA COLORRETAL ATENDIDOS PELO HOSPITAL ANA NERY

E. PAPPEN^{1*}, L. G. POSSUELO¹, M. F. GEWEHR¹, I. SWAROSWSKY² e J. D. P. RENNER¹

1 Universidade de Santa Cruz do Sul, Avenida Independência, 2293, Universitário, Santa Cruz do Sul

2 Hospital Ana Nery, Rua Pereira da Cunha, 209, Ana Nery, Santa Cruz do Sul

*Emelin Pappen: millapappen@yahoo.com.br

O câncer de colorretal é a quarta neoplasia mais incidente no estado, sendo mais prevalente em mulheres. O diagnóstico precoce pode aumentar o tempo de sobrevivência dos pacientes em até cinco anos. Nos últimos anos pesquisas na área de oncogenética vem ganhando espaço, devido à necessidade de personalização terapêutica. No caso específico da neoplasia colorretal, a pesquisa de polimorfismos no gene *Kras*, tenta identificar possíveis pacientes que não terão resposta satisfatória com a utilização de anticorpos monoclonais como tratamento. O objetivo deste estudo é detectar a prevalência de polimorfismos no gene *Kras* nos códons 12, 13, 61 e 146 de pacientes com diagnóstico de câncer colorretal atendidos pelo Hospital Ana Nery de Santa Cruz do Sul. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UNISC sob o número de protocolo 110866/2015. Foram incluídos no estudo pacientes pré-cirúrgicos, entre fevereiro de 2015 e janeiro de 2016, diagnosticados com tumor de intestino, maiores de 18 anos e que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. As amostras de tecido *in natura* dos tumores foram coletadas durante a cirurgia para retirada do tumor e encaminhadas para o laboratório do Centro de Pesquisa e Treinamento em Biotecnologia (CPTBio) para realização da extração de DNA, reação em cadeia da polimerase e sequenciamento. Foram amplificados três segmentos do gene *Kras* para posterior identificação de polimorfismos através de sequenciamento. Foram obtidas 11 amostras, sendo 5 (45,45%) do sexo masculino, com média de idade de 67,6 ±13,18 anos e 6 (54,54%) do sexo feminino, com média de idade de 61,16 ±7,38 anos. Entre as amostras analisadas, foi identificado um polimorfismo no códon 12/13 do gene *Kras* (9,09%) em uma paciente do sexo feminino. Até o momento não foram identificados nas análises, polimorfismos nos códons 61 e 146 do gene *Kras*. Como resultados preliminares, percebe-se maior incidência de casos de neoplasia colorretal em pacientes do sexo feminino, assim como média de idade de diagnóstico menor, quando comparado ao sexo masculino. É necessário um maior número de amostras para estimar-se a prevalência de polimorfismos no gene *Kras* na população estudada, pois até o momento encontrou-se somente um caso (9%) de mutação.

Palavras-chave: Câncer colorretal. Polimorfismo. *Kras*.



EFEITOS DO POLIMORFISMO RS1799990 DO GENE PRNP EM PACIENTES COM TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/ HIPERATIVIDADE

C. SILVA^{1*}, P. GIRARDI, E. H. GREVET², C. H. D. BAU², M. H. HUTZ² e V. CONTINI^{1,2,3}

1 Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil.

2 Programa de Déficit de Atenção e Hiperatividade, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.

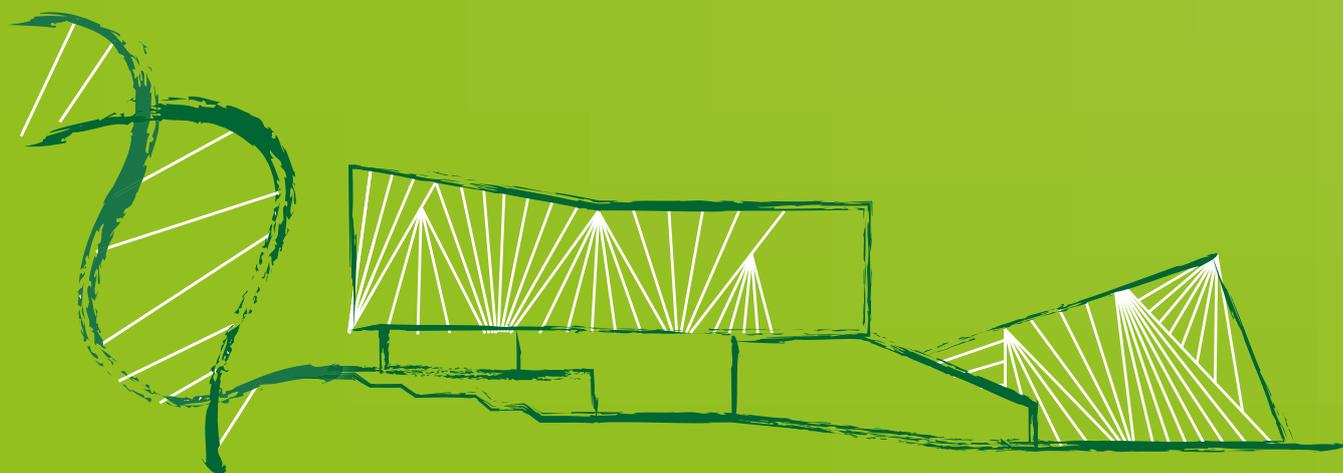
3 Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil.

*carolines5@hotmail.com

O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é uma desordem comportamental comum em crianças e que pode persistir na idade adulta. Ele caracteriza-se por sintomas persistentes de desatenção, hiperatividade e impulsividade. Além disso, uma proporção significativa dos pacientes com TDAH também apresenta outras comorbidades envolvidas, especialmente os transtornos por uso de álcool e nicotina. Diversos estudos moleculares têm sido realizados na busca pelos genes envolvidos com o TDAH e alguns estudos têm apontando que fatores genéticos de susceptibilidade ao TDAH são também importantes na dependência de álcool e no uso de nicotina. O objetivo deste estudo é investigar a influência do polimorfismo rs1799990, no gene *PRNP*, no TDAH e nas dependências de álcool e nicotina. As amostras foram compostas por pacientes com TDAH, 431 crianças e 535 adultos, 130 homens dependentes de álcool, 639 indivíduos adultos da população geral e 77 crianças controles. O polimorfismo foi genotipado através do sistema de discriminação alélica TaqMan. As análises estatísticas envolveram o teste do qui-quadrado e ANOVA. Nossos resultados evidenciaram uma associação entre o alelo A do polimorfismo rs1799990 com o TDAH na infância ($p=0,04$). Em adultos com TDAH, indivíduos heterozigotos AG apresentaram uma maior frequência de transtorno opositor desafiante (TOD) ($p=0,017$), assim como escores médios dos sintomas de TOD significativamente maiores ($p=0,012$), em comparação aos indivíduos homozigotos GG. Não foram detectadas associações significativas com as dependências de álcool e nicotina. Em conjunto, nossos resultados indicam que o polimorfismo rs1799990 pode estar associado com o TDAH na infância e com a presença de TOD em adultos com TDAH. Esses resultados, no entanto, são preliminares e não foram testados para múltiplos testes.

Palavras-chave: TDAH. *PRNP*. Polimorfismo. TOD.

VEGETAL





ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *EUCALYPTUS STAIGERIANA* E *EUCALYPTUS GLOBULUS* CONTRA *BOTRYTIS CINEREA* CAUSADOR DA PODRIDÃO CINZENTA EM UVAS

C. PEDROTTI^{1*}, R. T. S. RIBEIRO¹ e J. SCHWAMBACH¹

¹ Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas/ Instituto de Biotecnologia - Universidade de Caxias do Sul, CEP 95070-560, Caxias do Sul, RS.

*Apresentador: carine_pedrotti@yahoo.com.br

A Serra Gaúcha é a principal região produtora de uvas e vinhos do Brasil, todavia, o elevado índice pluviométrico favorece o desenvolvimento de doenças fúngicas. A podridão cinzenta da uva causada por *Botrytis cinerea*, ataca principalmente as bagas, reduzindo a qualidade e produtividade, além de elevados prejuízos econômicos. O uso de agroquímicos no combate à doença representa diversos riscos ambientais se tornando necessária a busca por controles alternativos de menor impacto, como o uso de Óleos Essenciais (OEs). O presente trabalho objetivou avaliar a atividade antifúngica dos OEs de *Eucalyptus staigeriana* e *Eucalyptus globulus* no controle de *B. cinerea in vitro*. Folhas de *E. staigeriana* e *E. globulus* foram coletadas e os OEs extraídos por arraste a vapor por 1 h e analisados por GC/MS para identificação química. O fungo *B. cinerea* foi isolado de uvas cultivadas em Caxias do Sul. Para o teste de Crescimento Micelial (CM), os OEs foram emulsificados com Tween 20 (1:1) e adicionados ao meio BDA autoclavado e fundente (40°C) nas concentrações de 0.0 a 0.5 µL ml⁻¹. O meio de cultura com as diferentes concentrações de OEs foram vertidas em placas de Petri de 9 cm (Ø), ao centro de cada placa inoculou-se um disco de 5 mm (Ø) da colônia de *B. cinerea*. A incubação foi feita a 25°C com fotoperíodo de 12h durante 14 dias. As medições de diâmetro das colônias foram realizadas no 3º, 5º, 7º, 10º e 14º dias após a inoculação. No 14º dia realizou-se a contraprova, transferindo os discos de 5 mm (Ø) das placas onde houve inibição do CM para placas contendo somente BDA. No teste de Germinação de Conídios (GC) uma suspensão com 1x10⁶ conídios/mL foi obtida com a lavagem de uma placa de Petri com uma colônia do fungo com 14 dias crescida em BDA. Aliquotas de 50 µL da suspensão de conídios foram colocadas em microtubos contendo 500 µl de caldo de batata dextrose. Os OEs foram emulsificados com Tween 20 (1:1) e adicionados nas concentrações de 0.0 a 0.4 µL ml⁻¹. Os microtubos foram incubados a 25 °C durante 16 horas. A avaliação foi realizada pela observação de 100 conídios por repetição em microscópio óptico. O OE de *E. staigeriana* inibiu completamente o CM e a GC a partir da concentração 0.05 µL ml⁻¹. O OE de *E. globulus* inibiu completamente o CM e a GC a partir da concentração 0.3 µL ml⁻¹, demonstrando que os OEs possuem ação fungicida. Esses resultados preliminares sugerem que estes OEs podem ser utilizados no controle alternativo de *B. cinerea* isolado de uva.

Palavras-chave: *Eucalyptus*. Fungicida. Controle alternativo. Uva.



RAÍZES DE ARROZ SÃO IMPORTANTES PARA A TOLERÂNCIA AO FRIO NA FASE INICIAL DO DESENVOLVIMENTO?

D. S. FRIEDRICH¹, É. A. dos R. BLASI², F. KUHN¹, A. G. S. RATIVA³, J. M. ADAMSKI⁴, J. P. FETT^{4,5}, F. RICACHENEVSKY⁶, G. L. de MORAIS⁷, J. B. de CARVALHO⁷, R. A. SPEROTTO^{1,2}

¹Setor de Genética e Biologia Molecular do Museu de Ciências Naturais (MCN), Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS)

²Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec), Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, RS

³Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad Pedagógica Nacional, Bogotá, Colômbia

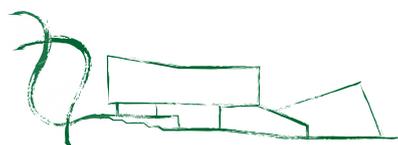
⁴Departamento de Botânica, ⁵Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS

⁶Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS

⁷Laboratório de Bioinformática (Labinfo), Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC), Petrópolis, RJ

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos cereais mais consumidos no mundo, sendo importante para a nutrição humana e para a economia mundial. O Brasil é o nono maior produtor deste cereal, sendo que o estado do RS ocupa uma posição de destaque neste cenário, responsável por mais de 60 % do arroz produzido no Brasil. Entretanto, as baixas temperaturas que ocorrem no RS durante os meses de setembro ao novembro (fases iniciais de desenvolvimento) prejudicam a germinação e o desenvolvimento inicial, implicando em redução no rendimento dos grãos. Assim, o frio é um dos estresses que mais limitam a produção de arroz no RS. Previamente foram detectadas duas linhagens irmãs que apresentavam resposta contrastante quanto à tolerância ao frio. Estudos de análise de expressão gênica diferencial foram realizados nas fases de germinação e na fase vegetativa, permitindo a identificação de diversos genes diferencialmente expressos no genótipo tolerante ao frio. Nestas análises, foi possível verificar que as raízes dessas plantas também apresentavam características contrastantes. Portanto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a resposta radicular de plantas dos dois genótipos, tolerante e sensível ao frio. Foram realizadas análises fisiológicas (peso seco da raiz, comprimento da raiz e número de pelos radiculares) e análises moleculares (expressão diferencial por RNAseq). Foi verificado que as raízes das plantas tolerantes ao frio apresentam maior massa e maior comprimento radicular, além de maior número de pelos radiculares, evidenciando um melhor desenvolvimento que o genótipo sensível em condição de baixa temperatura. As análises de RNAseq mostraram apenas 27 genes com expressão diferencial em condição de frio, sendo 15 mais expressos nas raízes do genótipo tolerante, e 12 mais expressos nas raízes do genótipo sensível. Entre eles, destaca-se a maior expressão de genes relacionados à manutenção de estruturas proteicas, assimilação de nitrogênio e síntese de etileno nas raízes das plantas tolerantes, além de uma maior expressão de genes relacionados com remodelamento de parede celular nas raízes das plantas sensíveis. A expressão diferencial desses genes será confirmada por análises de PCR em Tempo Real. Com este estudo podemos concluir que a tolerância ao frio apresentada por um dos genótipos é parcialmente explicada pela modificação na estrutura das raízes, além de modificação na expressão de diversos genes que poderiam ser utilizados futuramente em programas de melhoramento, com o intuito de aumentar a produção, mesmo quando as plantas são expostas à baixa temperatura.

Palavras-chave: Raízes. RNAseq. Tolerância ao frio.



SHOTGUN PROTEOMICS REVEALS THAT *HERBASPIRILLUM SEROPEDICAE* INOCULATION LEADS WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) TO A RESTING STATE IN CELLULAR METABOLISM

C. G. VOLPIANO^{1*}, A. NEIVERTH¹, L. V. FLORES¹, E. C. G. VENDRUSCOLO¹, M. BATISTA², F. K. MARCHINI² e M. F. dos SANTOS¹.

¹ Universidade Federal do Paraná, 2153, Pioneiro St., Jardim Dallas, 85950-000. Palotina, Paraná – Brazil.

² Instituto Carlos Chagas, 3775, Prof. Algacyr Munhoz Mader St., CIC, 81350-010. Curitiba, Paraná – Brazil.

*Presenter: gazollavolpiano@gmail.com

Herbaspirillum seropedicae SmR1 is a plant growth-promoting bacteria (PGPB) capable of colonizing wheat and other non-legumes. PGPB are able to stimulate plant-growth in several ways such as biological nitrogen fixation, production of plant growth regulators and enzymes that affect the plant physiology and, decreasing inhibitory effects of various phytopathogens. However, the molecular basis of PGPB-plant association is still poorly understood. Proteomic analysis may be used as a powerful tool to identify key proteins mediating interaction, especially considering new high-throughput protein identification methods. The aim of this work was to investigate response in protein level from wheat roots subjected to *in vitro* co-cultivation with *H. seropedicae* through shotgun proteomics. Proteins were extracted from 28 days *in vitro* cultured wheat roots (cv. CD 120) inoculated (1.5×10^7 *H. seropedicae* SmR1.mL⁻¹ on 3rd day of seeds germination) or non-inoculated in three biological replicates. The proteins were then reduced, alkylated, digested, desalted and analyzed by RP-LC-ESI-MS/MS with an EASY nLC 1000 coupled to a LTQ-Orbitrap mass spectrometer. MaxQuant (1.5.2.8) was used for peak list picking, protein identification and validation. A t-test was performed using p-values <0.01 for consideration. A total of 1,504 proteins were identified in wheat roots. In inoculated plants and non-inoculated were identified 1,275 and 1,185 proteins, respectively. In addition, 210 proteins varied statically their abundances and about 70% are unknown function proteins. Only an uncharacterized protein (W5DNV0) and a triosephosphate isomerase (TPI) increased their abundances in inoculated plants. Several stress-related, ribosomal/translation process and enzymes involved in energy producing were found with low abundance in inoculated wheat. Proteomic data point to a more efficient process of post-translational modification and folding in proteins from inoculated cell roots. Proteome and measurements of inoculated wheat roots indicate a resting state comparing to non-inoculated roots. In addition, inoculation, in the tested time, was not perceived as a stress factor by the wheat, and it was also able to confer a protective effect against nutritional stress. Considering the number of protein identification, this work reached the most in-depth proteomic exploitation for *T. aestivum* up to date. Our analysis detected several changes in plant protein abundance due to PGPB inoculation.

Keywords: Plant growth-promoting bacteria. Gel-free proteomics. Inoculation.



GERMINAÇÃO *IN VITRO* E CULTURA DE TECIDOS DE TUNGUE (*VERNICIA FORDII*)

R. S. GONÇALVES¹, N. J. PAFIADACHE², L. MASCARENHAS³ e L. B. DODE⁴

¹ UFPEL, Rua Marechal Deodoro 890, Pelotas RS,

² UFPEL, avenida 25 de julho, numero 755, casa 135, Pelotas RS,

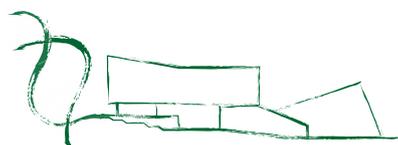
³ UFPEL, Rua Santiago Dantas 235-323, Pelotas RS,

⁴ UFPEL, Avenida Eliseu Maciel, - Campus Universitário Capão do Leão, Prédio 19 laboratório 2.

*Apresentador: ric-s-g@hotmail.com

A *Vernicia fordii*, sinônimo *Aleurites fordii*, pertencente a família das *Euphorbiaceas* é nativa da Ásia e cultivada comercialmente na China, Américas e África com a finalidade de extração de óleo para produção biodiesel. Apesar do cultivo comercial, o tungue ainda apresenta parâmetros fisiológicos como germinação e frutificação desuniformes. Por este fato existe a necessidade de desenvolver protocolos adequados para a germinação e cultura de tecidos *in vitro* de *Vernicia fordii*. As sementes foram descascadas mecanicamente, mantidas a 4 °C durante um período de 14 dias e divididas em quatro tratamentos: A e AN, mantidos imersas em água durante este período, S e SN apenas resfriadas. O tratamento AN foi resfriado a -150 °C utilizando gás nitrogênio durante 5min, o grupo SN foi resfriado com gás nitrogênio durante 5 min, o grupo S foi mantido como controle. Após o tratamento, as sementes foram desinfestadas em hipoclorito de sódio 1% durante 20 min e alocadas individualmente em tubos contendo 20 mL de meio MS3% contendo 7 g Agar/L, os tubos foram mantidos em uma estufa BOD a 28,5 +- 2 °C e a germinação acompanhada durante 35 dias. Após terminado o período de germinação as plântulas resultantes foram seccionadas tendo hipocótilos e cotilédones excisados. Os explantes foram inoculados em placas de petri contendo 15mL de meio MS3%, as placas foram divididas entre diferentes tratamentos: 2mg/L de 2,4-D; 1mg/L de ácido diclorofenoacético (2,4-D) e 5mg/L de Benzilaminopurina (BAP)+0,2mg/L de Ácido Naftalenoacético (ANA). As placas contendo os tecidos foram mantidas em uma estufa BOD a 28,5°C por um período de 14 dias. No final do período foi avaliada a taxa de ocorrência de calogênese de cada tratamento. As taxas de germinação obtidas para cada grupo foram: S-21%, SN-46%, A-40% e AN-33%, o que colabora com a literatura com relação à influência de baixas temperaturas e de umidade no processo de quebra de dormência das sementes. As taxas de calogênese nas secções de hipocótilos foram de 78,5% no meio contendo 2mg/L 24-D, 91,3% no meio acrescido de 5mg/L BAP+0,2 ANA e 78,04% no 1mg/L 24-D, para as secções de cotilédones as taxas foram de 8,2% no 2mg/L 24-D, 92,9% no 5mg/L BAP+0,2 ANA e 72% no 1mg/L 24-D, sugerindo a combinação de auxinas e citocininas como a mais eficiente para a desdiferenciação e cultura de tecidos para a *Vernicia fordii*, similar a outras *Euphorbiaceas*. Mesmo obtendo resultados promissores estes necessitariam ser complementados por mais experimentos.

Palavras-chave: Tung. *Euphorbiaceas*. Calogênese. Germinação. Fitohormônios.



OTIMIZAÇÃO DA EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DO PEPTÍDEO RECOMBINANTE SOYURETOX DERIVADO DA UREASE DE SOJA (*GLYCINE MAX*)

C. K. DIAS^{1*}, F. C. LOPES², A.H.S. MARTINELLI³, C.R. CARLINI⁴.

¹ UFRGS, Campus do Vale, Departamento de Biofísica, Laboratório de Proteínas Tóxicas.

² UFPEL, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Núcleo de Biotecnologia

³ UFRGS, Departamento de Biofísica, Laboratório de Proteínas Tóxicas

³ PUCRS, Instituto do Cérebro, Laboratório de Neurotoxinas

*Apresentador: camila.kehldias@gmail.com

A Canatoxina, uma isoforma de urease de *Canavalia ensiformis*, apresenta atividade entomotóxica devido a liberação de um peptídeo de 10 kDa (Pepcanatox). Tal liberação é mediada pela ação de catepsinas do sistema digestório de insetos suscetíveis. Baseado na sequência N-terminal do Pepcanatox, um peptídeo denominado Jaburetox, apresentou amplo espectro de ação contra insetos, foi clonado e expresso em *Escherichia coli*. Tendo como molde a sequência da urease ubíqua de soja, um peptídeo recombinante equivalente ao Jaburetox foi clonado em *E. coli*. Denominado Soyuretox este peptídeo apresentou atividade contra leveduras e fungos filamentosos, e nematocida para *Meloidogyne javanica*, quando superexpresso em plantas transgênicas de soja. Os objetivos deste trabalho são otimização das condições de expressão e avaliação da capacidade entomotóxica contra *Dysdercus peruvianus* do Soyuretox. Um planejamento fatorial 2², tendo como variáveis a temperatura e a concentração do indutor IPTG (Isopropil β-D-1-tio galactopiranosídeo) no processo de indução e expressão do peptídeo, foi desenvolvido para determinar as condições ótimas de expressão. Concentrações de IPTG aplicadas variaram entre 0,1 mM e 1 mM e temperaturas entre 18 °C e 37 °C. O efeito das variáveis sobre o rendimento de Soyuretox por cultivo foi avaliado pela quantificação das bandas de expressão de Soyuretox (*software* GelQuantNET) em SDS-PAGE. A Metodologia de Superfície de Resposta foi utilizada para analisar os resultados obtidos do planejamento fatorial (*software* Statistica 8.0) quanto a significância estatística, utilizando análise de variância. Visando avaliar a atividade entomotóxica do peptídeo serão realizados bioensaios de ingestão e injeção de Soyuretox, em grupos de 5 insetos (incluindo grupo controle apenas tampão) de *D. peruvianus*. A taxa de mortalidade dos insetos nos grupos será acompanhada após administração de Soyuretox. Os resultados dos bioensaios serão avaliados de modo a caracterizar a entomotoxicidade do peptídeo recombinante Soyuretox e seu potencial biotecnológico no controle de pragas. A Superfície gerada possibilitou a identificação da região de ótimo de expressão de Soyuretox, convergindo para menores valores de temperatura (18-21 °C) e concentração de IPTG (0,1-0,23 mM). Foi possível comprovar a validade estatística do planejamento fatorial, pois o teste F de análise de variância foi significativo, assim como outros testes estatísticos que avaliam a significância do experimento.

Palavras-chave: Urease. Soyuretox. Metodologia de Superfície de Resposta. Atividade inseticida.



PLANT PLASMIDS AS A BIOTECHNOLOGICAL TOOL FOR SEED MORPHOGENESIS CHARACTERIZATION IN GRAPEVINE

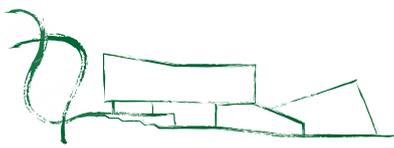
J. MALABARBA^{1,2}, V. BUFFON², L. FRÂNCIO², F. S. MARASCHIN³, M. MARGIS-PINHEIRO^{1,3}, G. PASQUALI¹e L. F. REVERS²

¹Graduate Program in Cell and Molecular Biology, Biotechnology Center, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 91501-970, Brazil

²Laboratory of Plant Molecular Genetics, National Center of Grape and Wine Research, EMBRAPA, Bento Gonçalves, RS, 95700-000, Brazil

³Graduate Program in Genetics and Molecular Biology, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 91501-970, Brazil

Seedlessness is one of the most appreciated traits for table grapes. Previous data confirmed that the MADS-box *VvAGL11* grapevine gene is essential for seed morphogenesis by complementation analysis in *Arabidopsis agl11* mutants. Plant plasmids turn out to be a useful approach for functional gene studies without the traditional laborious somatic embryogenesis transformation. The present study aimed to explore the TraitUp™ (Morflora) plant plasmid system to analyze the *VvAGL11* function in grapevine. *VvAGL11* was amplified from 'Chardonnay' seeds and cloned into the overexpression plasmid pH7WG2D and into the silencing plasmid pH7WIWG2D (Invitrogen). The portions comprising the 35S promoter or the hairpin structure were inserted into the plant plasmid pIR. Eighteen adult grapevine plants from the field were placed in 90 L pots into the greenhouse. Two micrograms of the plasmid pIR-35S::*VvAGL11* and the helper plasmid p1470 were injected into the seedless cultivars BRS Clara and BRS Linda. The same procedure was performed using the plasmid pIR-RNAi-*VvAGL11* to inject the seeded cultivars Itália and Rubi. Plants from the Proseco cv. were used as control and were treated with empty pIR+p1470 or pIR-35S::*GUS* in the greenhouse. Control samples from each cultivar were kept in the field. The treatments were performed before flower development. Plasmids were detected in leaves by PCR. Berries, leaves and stems samples were collected at 6 weeks after fruit-set for RT-qPCR analysis. Ripened berries were sampled for seed development evaluation. *VvAGL11* was overexpressed in stem samples of 'Clara' and 'Linda'. Additionally, 'Linda' presented diminute seeds that were not found in untreated plants. The transfected seeded cultivars Itália and Rubi showed a reduced number of seeds and an increased number of seed traces. However, no differences in *VvAGL11* expression was detected in the silencing assay between field and transfected plants. Our study confirms the biotechnological applicability of the TraitUp™ Platform in perennial plants bringing up the possibility for fast introgression of interesting traits as also gene function studies.



ESTABELECIMENTO DE FATORES ABIÓTICOS PARA O CULTIVO *IN VITRO* DE *CYATHEA PHALERATA* MART. (CYATHEACEAE)

C. MARCON^{1,2*}, T. SILVEIRA² e A. DROSTE^{1,2}

¹ Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental, Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brasil

² Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brasil

*Apresentador: cati.marcon@hotmail.com

A cultura *in vitro* é uma importante ferramenta para a conservação e o uso sustentável de recursos vegetais. *Cyathea phalerata* Mart. é uma samambaia arborescente que figura na lista de espécies ameaçadas de extinção do Rio Grande do Sul. O objetivo do estudo foi avaliar a influência de fatores abióticos sobre o desenvolvimento gametofítico de *C. phalerata* cultivada *in vitro*. Esporos coletados em Caraá foram cultivados em meio Meyer. No experimento para verificar as condições de pH, os meios foram ajustados em 4; 5; 6 e 7. Para verificar o efeito da temperatura, as culturas foram expostas a 10, 15, 20, 25 e 30 °C. A influência de fotoperíodo foi avaliada por meio da exposição das culturas a 0, 6, 12, 18 e 24h de luz. Após 60 dias, as porcentagens de gametófitos laminares e cordiformes (estádios de desenvolvimento mais avançados) foram registradas com a contagem de 300 indivíduos por tratamento. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Duncan, a 5% de probabilidade. Nas culturas com pHs 5 e 6, foram verificados 78 e 76% de gametófitos laminares, diferindo significativamente dos pHs 4 (63%) e 7 (31%). Nos pHs 4 a 6, foram observados 7 a 9% de gametófitos cordiformes. Quanto à temperatura, não houve germinação a 10 e 15 °C. A 25 °C, verificaram-se 68% de gametófitos laminares, diferindo significativamente de 20 °C (35 %) e 30°C (13%). Gametófitos cordiformes somente foram observados a 20 °C (4%) e 25 °C (8%), com diferença estatística. A espécie é fotoblástica positiva, pois os esporos não germinaram na ausência de luz. Nos fotoperíodos de 6, 12 e 18 h luz, foram registrados entre 56 e 60% de gametófitos laminares, diferindo significativamente dos mantidos a 24 h luz (46%). Esta diferença estatística também foi verificada nos gametófitos cordiformes, pois nos fotoperíodos de 6 a 18 h luz, ocorreram aproximadamente 15% de indivíduos, enquanto que a 24h luz, foram registrados 9%. Os dados obtidos no presente trabalho condizem com as condições abióticas verificadas no ambiente de ocorrência natural da espécie. Além disso, os resultados são semelhantes aos de outros estudos realizados com *C. atrovirens* (Langsd. & Fisch.) Domin e *C. corcovadensis* (Raddi) Domin, que ocorrem no Rio Grande do Sul. O conhecimento adquirido acerca dos fatores abióticos de preferência de *C. phalerata* é requisito para o entendimento da distribuição geográfica desta espécie no Brasil, bem como para a criação de programas de manejo e conservação.

Palavras-chave: Conservação. Propagação *in vitro*. Samambaia arborescente.



EXPRESSÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NOVAS ENZIMAS DE MAMONA (*RICINUS COMMUNIS*) RELACIONADAS À PRODUÇÃO DE ÓLEO

T. S. TRENZ^{1*}, A. C. TURCHETTO-ZOLET¹, R. MARGIS², J. E. A. MARIATH³, T. MENEGOL⁴, E. RODRIGUES⁴, M. MARGIS-PINHEIRO¹ e F. S. MARASCHIN³

¹ Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43321, 91501970 – Agronomia, Porto Alegre, RS.

² Departamento de Biofísica e Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43431, Agronomia, Porto Alegre, RS.

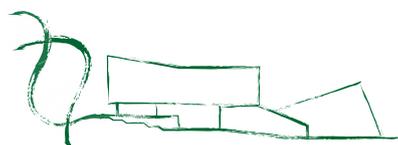
³ Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43423, 91501970 - Agronomia, Porto Alegre, RS.

⁴ Instituto de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43212, 91501970 - Agronomia, Porto Alegre, RS.

*Apresentador: thomaztst@gmail.com

Os triacilgliceróis (TAGs), componente majoritário dos óleos vegetais, correspondem à principal forma de estoque de lipídeos em sementes de plantas. As propriedades químicas dos TAGs dependem da composição de seus ácidos graxos. As Diacilglicerol Aciltransferases (DGATs) são as principais enzimas para a biossíntese de TAG, pois catalisam a condensação de diacilglicerol (DAG) com ácidos graxos para a formação de TAGs. Diferentes tipos de genes de DGATs (nomeados como DGAT1, DGAT2, DGAT3 e DAcT) foram identificados em plantas. DGAT1 e DGAT2 já foram bem caracterizados, mas pouco se sabe sobre a DGAT3 e a DAcT na maioria das espécies. O entendimento da via enzimática de biossíntese de TAGs, e sua regulação em plantas, é importante para ajudar no desenvolvimento de estratégias para o melhoramento do conteúdo de óleos nutricionais e industriais. O óleo de mamona (*Ricinus communis*) possui altos níveis de ácido ricinoléico, um ácido graxo “não usual” com características únicas que o tornam interessante para a indústria. Este trabalho objetivou caracterizar os genes de DGAT3 e DAcT de mamona. Foram identificados quatro diferentes genes homólogos da DAcT (DAcTA, DAcTB, DAcTC e DAcTD) e um homólogo para DGAT3 em mamona. Foram caracterizados os padrões de expressão de DGAT3 e DAcTs por meio de RT-qPCR durante o desenvolvimento da semente de mamona, onde foi verificado que DGAT3 é expresso na semente, enquanto que nenhum dos genes de DAcTs parece ser expresso nesse tecido. Fusões traducionais a YFP, expressas em protoplastos, indicam que DAcTA parece se comportar igual as outras DGATs, associando-se a membranas do retículo endoplasmático; porém, DGAT3 apresentou uma localização diferente das outras DGATs, sendo confirmada como citoplasmática. Linhagens de *Arabidopsis thaliana* superexpressando RcdGAT3-CFP foram obtidas. A caracterização qualitativa de lipídeos neutros nas sementes dessas plantas via cromatografia gasosa, não apresentou diferença na composição lipídica em relação a plantas do tipo selvagem. A análise qualitativa, por HPLC-MS, dos lipídeos produzidos pelas folhas dessas plantas possibilitará uma melhor caracterização do papel de RcdGAT3 no metabolismo lipídico. Este trabalho visou contribuir com o entendimento da síntese de óleo em mamona.

Palavras-chave: Óleos vegetais. Biocombustíveis. Expressão gênica. Genômica funcional.



A GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE CAPIM ANONNI É REDUZIDA NA AUSÊNCIA DE LUZ

J. MALDANER^{1*}, G. P. K. STEFFEN¹, C. W. SALDANHA¹, R. M. MORAIS¹, E. L. MISSIO¹ e TEIXEIRA, A. S.¹

¹ Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Fepagro Florestas - BR 287, Acesso VCR 830, km 4,5 | Boca do Monte, Santa Maria, RS
*jomaldaner@gmail.com

Dentre as espécies exóticas invasoras de maior impacto na região sul do Brasil destaca-se o capimannoni (*Eragrostis plana* Nees). Dados recentes afirmam que aproximadamente 20 % da vegetação campestre do Rio Grande do Sul encontram-se infestadas por essa invasora, introduzida acidentalmente na década de 1950. O potencial de disseminação e concorrência por espaço com espécies nativas fez com que o capimannoni se tornasse um inimigo a ser combatido. Em um período de 10 anos (1996-2005), considerando a falta de produção das áreas invadidas e a consequente incapacidade de produzir nessas condições, são estimadas perdas de US\$ 88.500.000,00. O objetivo deste trabalho foi acompanhar a germinação, *in vitro*, de sementes de capimannoni em resposta a falta de luz. Sementes de capimannoni, coletadas na região central do Rio Grande do Sul em 2014, foram desinfestadas, inoculadas em placas de Petri contendo 20 mL de meio MS cada, e mantidas em sala de crescimento climatizada com temperatura de 25 °C ± 2 e com fotoperíodo de 16 h. Os tratamentos consistiram na exposição das sementes inoculadas a diferentes períodos de escuro (0; 7; 14; 21 e 28 dias). Após o tempo de escotofase estipulado para cada tratamento o material permaneceu sob o fotoperíodo de 16/8 h L/E, ou seja, as placas permaneciam completamente no escuro até serem expostas ao fotoperíodo da sala, conforme o tratamento. Utilizaram-se 12 placas de petri contendo seis sementes por tratamento. Aos 40 dias após a semeadura, foi avaliado o percentual das sementes germinadas. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha= 0,05$), com o auxílio do software BioEstat 5.3. Constatou-se que a luminosidade é um fator que regula a germinação de capimannoni, de modo que sementes que permaneceram 28 dias no escuro apresentaram porcentagem de germinação cerca de cinco vezes menor que àquelas que foram expostas ao fotoperíodo de 16/8 L/E desde a inoculação. Esses resultados indicam que fatores abióticos afetam o potencial germinativo de sementes de *E. plana*. Os dados aqui apresentados fazem parte de um projeto aprovado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico que prevê estudos visando compreender melhor a fisiologia do capimannoni e suas respostas às condições de estresse, além de buscar alternativas sustentáveis de manejo que contribuam para o processo de prevenção e controle da expansão desta espécie no bioma Pampa.

Palavras-chave: Espécie exótica invasora. Luminosidade. Fatores abióticos.



SÍNTESE E DISPERSÃO DE NANOPARTÍCULAS EM EXTRATOS VEGETAIS BRASILEIROS: VARIAÇÕES NA ROTA DE SÍNTESE PARA APLICAÇÃO EM TÊXTEIS ANTIMICROBIANOS

OTÁVIO A. L. SANTOS^{1*}, G. M. A. OLIVEIRA¹ e B. P. BACKX¹

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus Xerém, Estrada de Xerém Nº 27, Xerém.

Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil

*Apresentador: tavinho_752@hotmail.com

Espécies nativas brasileiras serão investigadas objetivando a descoberta de novos meios antimicrobianos e fases dispersantes para nanopartículas (NP's) sintetizadas por via verde em extratos vegetais. O uso de várias espécies vegetais para a biossíntese de nanopartículas é considerado uma tecnologia verde, uma vez que não envolve nenhum impacto ambiental. Nanopartículas de prata serão dispersas em extrato vegetal, por planta comercialmente disponível no Brasil, tais como *Anacardium occidentale* L. e *Euterpe oleracea*. Com o desenvolvimento tecnológico, o entendimento de princípios ativos das plantas no que envolve às suas variadas propriedades medicinais, inclusive quanto à atividade antimicrobiana, permite relacionar substâncias químicas às propriedades medicinais. O objetivo principal do trabalho é gerar rotas de síntese de nanopartículas que ofereçam critérios passíveis de repetição e resultados repetitivos para a área de biotecnologia, por possuírem ação antimicrobiana. A avaliação do meio dispersante será feita pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A caracterização das NP's será realizada por meio de análises de Microscopia de Força Atômica (AFM), Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) e Nanosight. Assim será possível através de cada rota de síntese avaliar a quantidade de NP's e morfologia das mesmas, além de ser possível avaliar a funcionalização visando as modificações superficiais para confecção de têxteis inteligentes com ação antimicrobiana. Nanomateriais em biotecnologia ainda são objeto de curiosidade pela comunidade científica e a sociedade e nos instiga a busca de entendimentos e procedimentos criteriosos.

Palavras-chave: Nanopartículas. Antimicrobiano. Extratos.



EFEITOS DA CONCENTRAÇÃO DE BAP E GA₃ NO DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE *CODONANTHE DEVOSIANA* LEM

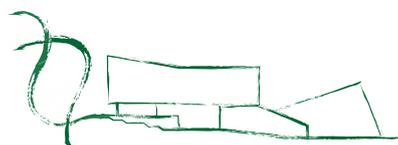
A. A. EMER^{1*}, G. SCHAFER¹, C. S. FIOR¹, G. T. GRZEÇA¹ e M. C. WINHELMANN¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre RS

*Apresentador: aquelis_emer@hotmail.com

Codonanthe devosiana Lem. (Gesneriaceae) ocorre naturalmente nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. É encontrada crescendo sobre rochas úmidas ou tronco de árvores em ambientes sombreados. A espécie tem caules pendentes e floresce todo o ano, apresentando potencial ornamental para uso em vasos suspensos em ambientes sombreados. A micropropagação pode ser uma alternativa para a propagação de espécies nativas, viabilizando seu cultivo comercial e evitando o extrativismo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da combinação de diferentes concentrações de BAP e GA₃ na multiplicação e desenvolvimento de explantes *in vitro* de *C. devosiana*. O experimento foi conduzido no laboratório de Biotecnologia Vegetal da UFRGS, Porto Alegre – RS. Foi utilizado meio MS 100% e testadas as combinações dos reguladores de crescimento BAP (6-Benzilaminopurina) nas concentrações de 0, 0,2 e 0,4 mg.L⁻¹ e GA₃ (Ácido Giberélico) nas concentrações 0; 0,25 e 0,50 mg.L⁻¹. Como explantes foram utilizados seguimentos apicais, já cultivados *in vitro*, padronizados para cerca de 0,5 cm de altura e quatro a seis folhas. Após a incubação dos explantes, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com 16 horas de fotoperíodo e temperatura de 25°C, sendo avaliados após 108 dias quanto ao número de brotações, altura de brotação, matéria seca de brotação e calo. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado e a parcela experimental foi composta por três frascos contendo seis explantes cada, tendo quatro repetições para cada tratamento. Os dados foram submetidos à Anova e regressão linear. Houve interação significativa para número de brotos, massa seca de brotação e calo. A combinação de 0,2 mg.L⁻¹ de BAP e 0,5 GA₃ mg.L⁻¹ foi a que promoveu um maior número de brotações (4,8 por explante inicial). Para altura de brotação houve apenas efeito das concentrações de BAP, sendo observado efeito linear crescente. Na ausência de BAP, as concentrações crescentes de GA₃ provocaram aumento na formação de calo, efeito oposto foi encontrado quando utilizado 0,2 de BAP. A massa seca de brotação foi crescente com o aumento das concentrações de BAP e GA₃. Considerando as variáveis analisadas, conclui-se que a combinação de 0,2 mg.L⁻¹ de BAP e 0,5 mg.L⁻¹ de GA₃ permite o melhor desempenho para multiplicação de explantes de *C. devosiana*.

Palavras-chave: Floricultura. Gesneriaceae. Reguladores de crescimento.



LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR DA PROTEÍNA ASR₃ DE SOJA

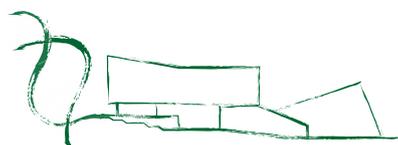
K. T. R. NUNES^{1*}, L. B. NETO¹ e M. MARGIS-PINHEIRO¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS.

*Apresentador: kairatrn@gmail.com

As plantas estão constantemente expostas a situações ambientais limitantes ao crescimento. A presença de estresses ambientais tais como a contaminação por metais pesados, seca, alta salinidade, alterações na quantidade de temperatura e luz, bem como ataques de herbívoros e patógenos causam grandes problemas para a agricultura mundial. A soja cultivada [*Glycine max* (L.) Merrill] possui destaque no cenário mundial como importante fonte de proteína e óleo vegetal, tanto para a alimentação humana como animal. Os genes que codificam as proteínas ASR (do inglês, ABA [*Abscisic acid*], *stress and ripening*) são fatores de transcrição regulados ao longo do desenvolvimento das plantas, bem como durante a exposição a variados estresses de natureza abiótica. Apesar do significativo papel biológico desempenhado por essa família de proteínas, são escassos os estudos que indicam com precisão o compartimento subcelular no qual são expressas. Sabe-se que em soja a família ASR é composta por três membros, sendo que um deles (ASR₃) possui maior nível de expressão em raízes e folhas. Identificar a localização subcelular dessa proteína é o objetivo principal deste trabalho. O RNA total, extraído de plântulas de soja, foi utilizado para a síntese de cDNA e iniciadores específicos foram projetados para a amplificação do gene que codifica a proteína ASR₃ de soja. O produto amplificado foi introduzido no vetor pENTR (sistema Gateway). Os clones positivos foram confirmados por meio de sequenciamento e o vetor recombinado com o plasmídeo p2YGW7,0. O plasmídeo de localização subcelular p2YGW7,0, contendo o gene da proteína ASR₃ fusionado ao gene da proteína de fluorescência YFP, foi extraído de bactéria (midiprep) e foi utilizado para transformar protoplastos isolados de *Arabidopsis thaliana*. A proteína de fusão em protoplastos foi visualizada em um microscópio confocal no Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS com o objetivo de identificar em qual organela a proteína se localiza.

Palavras-chave: Soja. Estresse abiótico. Localização subcelular. Protoplastos.



GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES PELETIZADAS DE *EUCALYPTUS GRANDIS* (MYRTACEAE)

C. G. GARLET^{1*}, F. REIS², L. MENEZES², L. MORANDINI³, D. RUSSOWSKI³, J. T. PARANHOS⁴, Z. I. ANTONIOLLI⁵ e A. F. MOREL⁶

¹ UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 16-Depto. Biologia/Bolsista IC/PRAE

² UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 18-Depto. Química/Bolsista IC/CNPq

³ UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 18-Depto. Química/Bolsista DTI/CNPq

⁴ UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 16-Depto. Biologia

⁵ UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 44-Depto. Biologia do Solo

⁶ UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 18-Depto. Química

*Apresentador: cinthiagarlet@hotmail.com

Um dos maiores desafios nos cultivos *in vitro* é o controle da contaminação exógena, principalmente quando se trata de experimentos de germinação *in vitro*. Contaminações indesejadas são responsáveis, na maioria das vezes, pelos baixos índices germinativos e de sobrevivência das plântulas geradas, em sistemas *in vitro*. Apesar dos vários protocolos de assepsia de sementes para germinação *in vitro* de espécies de *Eucalyptus* na literatura e outras espécies de Myrtaceae, o baixo rendimento germinativo parece ser uma constante. Este estudo visa estabelecer um protocolo de assepsia de sementes de *Eucalyptus grandis* de fácil e reproduzível método de germinação *in vitro*, que garanta bons percentuais germinativos das sementes e de desenvolvimento e sobrevivência das plântulas obtidas. Sabe-se que assepsias em explantes oriundos diretamente da natureza são, geralmente, ineficazes na produção de plântulas assépticas, principalmente quando a meta é se obter uma grande população de eucalipto. Para isso, sementes peletizadas de *E. grandis* foram submetidas a lavagens com água corrente e esterilizada, imersão em etanol 70 %, em hipoclorito de sódio 1 %, 2,5 % ou 5 % e em solução fungicida Maxim 1 %. Tais etapas foram executadas em diversas ordens e tempos, perfazendo cinco tratamentos. Após a assepsia, cada semente foi colocada em tubo de ensaio, contendo 15 mL de meio Murashige & Skoog a 50% da concentração de sais, com 30 g de sacarose e solidificado com 6,0 g.L⁻¹ de ágar e vedados com papel alumínio. O cultivo foi mantido por 64 dias em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C. Cada tratamento contou com 120 repetições e o experimento foi realizado em triplicata. Os parâmetros avaliados foram: percentual de germinação, de contaminação, de enraizamento e de sobrevivência, número de raízes, de brotações, de folhas e de nós e comprimento da maior brotação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e ANOVAS calculadas pelo software SPSS 22.0. O tratamento constituído de: 1º) lavagem com água corrente/1 min.; 2º) imersão em etanol 70 %/1 min.; 3º) imersão em hipoclorito de sódio 5 %/10 min.; 4º) imersão em Maxim 1 %/10 min. e 5º) três lavagens com água destilada/1 min. cada, foi o de melhor rendimento em termos de percentual de germinação e número de raízes, mas o pior em termos de percentual de contaminação e de sobrevivência. Apesar disso, apresentou resultados equivalentes para os demais parâmetros avaliados dos outros tratamentos.

Palavras-chave: Assepsia das sementes. Eucalipto. Contaminação.



ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE *EUCALYPTUS GRANDIS* (MYRTACEAE) NA AUSÊNCIA DE SUBSTÂNCIAS REGULADORAS DE CRESCIMENTO

F. REIS^{1*}, L. MENEZES¹, C. GARLET¹, L. MORANDINI³, D. RUSSOWSKI³, J. T. PARANHOS⁴, Z. I. ANTONIOLLI⁵ e A. F. MOREL⁶

¹ UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 18-Depto. Química/Bolsista IC/CNPq

² UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 16-Depto. Biologia/Bolsista IC/PIBIC

³ UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 18-Depto. Química/Bolsista DTI/CNPq

⁴ UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 16-Depto. Biologia

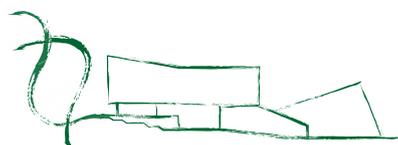
⁵ UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 44-Depto. Biologia do Solo

⁶ UFSM, Av. Roraima, n.1000/Prédio 18-Depto. Química

*Apresentador: fredy_reis@hotmail.com

Este trabalho se propôs estabelecer um protocolo de enraizamento *in vitro* eficaz para *E. grandis* na ausência de reguladores de crescimento e de outros estímulos indutores bióticos e abióticos, exceto redução de sais e/ou sacarose do meio de cultivo Murashige & Skoog (MS), para posterior estudos de micorrização *in vitro*. Para isso, segmentos apicais e nodais (± 1 cm de comprimento) provenientes de plântulas assépticas de *E. grandis* de 64 dias de idade, obtidas de sementes germinadas *in vitro* e crescidas em meio MS a 50 % da concentração de sais (MS 50%), suplementado com 30 g de sacarose e solidificado com 6,0 g.L⁻¹ de ágar, foram usados como explantes. Cada explante foi inoculado em tubo de ensaio contendo 15 mL de meio MS 50%, suplementado com 6,0 g L⁻¹ de ágar, sacarose, ácido naftaleno acético (ANA) e 6-benzilaminopurina (BAP), perfazendo 6 tratamentos, a saber: T1) Meio MS 50%, 30 g sacarose, 0,0 mg.L⁻¹ ANA, 0,0 mg.L⁻¹ BAP; T2) Meio MS 50%, sacarose 20 g, 0,0 mg.L⁻¹ ANA, 0,0 mg.L⁻¹ BAP; T3) Meio MS 50%, 30 g sacarose, 0,01 mg.L⁻¹ ANA, 0,1 mg.L⁻¹ BAP; T4) Meio MS 50%, 20 g sacarose, 0,01 mg.L⁻¹ ANA, 0,1 mg.L⁻¹ BAP; T5) Meio MS 50%, 30 g sacarose, 0,1 mg.L⁻¹ ANA, 1,0 mg.L⁻¹ BAP; T6) Meio MS 50%, 20 g sacarose, 0,1 mg.L⁻¹ ANA, 1,0 mg.L⁻¹ BAP. Tratamentos isentos de reguladores de crescimento (T1 e T2) foram considerados tratamentos-controle. O experimento foi mantido por 64 dias em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 \pm 2 °C. Cada tratamento contou com 17 repetições e o experimento foi realizado em triplicata. Delineamento experimental inteiramente casualizado e software SPSS 22.0 foram adotados para o cálculo das ANOVAS. Teste de Duncan (95% significância) foi utilizado para comparação das médias. Os tratamentos foram significativamente diferentes entre si, tendo T1 e T2 apresentado os melhores resultados para os parâmetros de crescimentos referentes às raízes e os piores para os parâmetros de crescimentos de partes aéreas. Assim, este protocolo garantiu a obtenção de sistemas radiculares bem desenvolvidos, normais e saudáveis em plântulas assépticas de *E. grandis*. Os resultados são considerados excelentes em vista de eucalipto ser uma planta lenhosa e, por isso, muitas de suas espécies exibem enraizamento recalcitrante, sendo, portanto, de difícil enraizamento, tanto *ex vitro* como *in vitro*, de acordo com a literatura vigente.

Palavras-chave: Auxinas. Citocininas. Enraizamento recalcitrante. Cultivo *in vitro*.



GERMINAÇÃO *IN VITRO* E ACLIMATIZAÇÃO DE *DYCKIA* *HEBDINGII*

J. PAOLAZZI^{1*}, M. C. WINHELMANN¹, G. T. GRZEÇA¹, P. PARIS¹, A. A. EMER¹, M. TEDESCO¹, C. S. FIOR¹,
e G. SCHAFER¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, Bairro Agronomia, Cep: 91540-000, Porto Alegre – RS.

*Apresentador: joanabrescia@hotmail.com

A *Dyckia hebdingii* L.B. Sm. (Bromeliaceae) é endêmica do Brasil, sendo encontrada nos biomas Mata Atlântica e Pampa, principalmente no Rio Grande do Sul. O objetivo deste trabalho foi testar a germinação *in vitro* de *D. hebdingii* sob concentrações de meio MS e posterior aclimatização e desenvolvimento das mudas. A semeadura *in vitro* foi realizada em abril de 2015, com desinfestação das sementes em álcool 70%, por 2 minutos, e em hipoclorito de sódio 1,5%, por 15 minutos. Em fluxo laminar foi realizada a tríplice lavagem do material em água deionizada e autoclavada. Foram utilizadas quatro concentrações de sais em meio MS (25 %, 50%, 75% e 100%), 30 g.L⁻¹ de sacarose e 8 g.L⁻¹ de ágar. Foram feitas seis repetições de cinco frascos com cinco sementes cada. Foi avaliado o percentual de germinação e o IVG (índice de velocidade de germinação). A aclimatização foi realizada em dezembro de 2015. A partir disso, as plântulas obtidas foram transferidas para bandejas de 50 células preenchidas com casca de arroz carbonizada, mantendo-se a identificação da origem dos tratamentos iniciais, com sete repetições para cada concentração do meio e dez plântulas por repetição. As bandejas foram mantidas por dois meses em casa de vegetação com nebulização intermitente e posteriormente dois meses em casa de vegetação com irrigação manual. A avaliação final da aclimatização foi realizada em abril de 2016, avaliando diâmetro do colo (mm), comprimento da planta inteira (altura em cm), comprimento do sistema radicular (cm), comprimento da parte aérea (cm), número de folhas e massa da fresca e seca (g). As médias de germinação e aclimatização foram submetidas a análise de variância e análise de regressão linear. A concentração de sais no meio afetou negativamente o percentual de germinação, que foi maior em MS 25%. O IVG não foi significativo entre os tratamentos. Na aclimatização, a concentração de sais refletiu positivamente no desenvolvimento das plantas, tendo resultado em uma relação linear do crescimento da planta em relação à concentração de sais do meio. Nas condições apresentadas, o meio MS 25% apresentou as melhores taxas de germinação, sendo o mais indicado para esta fase. Contudo, as plântulas tiveram melhor desenvolvimento *ex vitro* quando germinadas em meio MS 100%. Assim, seriam necessários mais estudos, considerando a germinação e o desenvolvimento de plantas em diferentes concentrações de meio MS, a fim de obter plantas melhor desenvolvidas para a aclimatização.

Palavras-chave: Floricultura. Produção de mudas. Bromeliácea. Ornamental nativa.



DEVELOPMENT OF MARKERS FOR ASSISTED SELECTION OF SEEDLESSNESS AND DOWNY MILDEW RESISTANCE IN GRAPEVINE

L. FRÂNCIO^{1,2}, J. MALABARBA^{2,3}, V. BUFFON², L. F. REVERS² e A. WAIRICH³

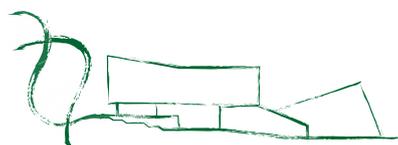
¹Bioprocess and Biotechnology Engineering, State University of Rio Grande do Sul, Bento Gonçalves, RS, 95700-346, Brazil

²Laboratory of Plant Molecular Genetics, National Center of Grape and Wine Research, EMBRAPA, Bento Gonçalves, RS, 95700-000, Brazil

³Graduate Program in Cell and Molecular Biology, Biotechnology Center, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 91501-970, Brazil

To investigate the genetic control of seedlessness and downy mildew resistance in grapevine our group analyzed the offspring generated from the crossing of cultivating seedless *Vitis vinifera*, 'Crimson Seedless', and the complex hybrid downy mildew resistant, 'Villard Blanc'. The results revealed the co-localization of QTLs on the distal portion of LG18 for seedlessness, in the SDI locus (Development Seed Inhibitor) and for downy mildew resistance in the *Rpv3* locus (*Plasmopara viticola* Resistance). Studies have shown that *Rpv3* locus region is enriched with TIR-NBS-LRR genes and the associated phenotype is a high hypersensitive response on the resistant individuals. In the present work, the objective was to develop markers for assisted selection for this two important traits, seedlessness and downy mildew resistance. Forty-one markers were develop based on single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *Rpv3* locus and nine markers were develop based on SNPs and INDELS found in *VvAGL11* mutant allele from the seedless cultivar Sultanina. Two hundred genotypes from a 'Villard Blanc' self-crossing population and seedless cultivars were analyzed with the fifty makers by Kompetitive Allele Specific PCR (KASP®). The phenotype evaluation of downy mildew resistance was determined by the OIV-452 descriptor after *P. viticola* challenge assays. The results showed that the markers *Rpv3_15* (r^2 calc= 59,81, chr18_26844557) and *Rpv3_33* (c^2 calc= 119,9, chr18_27469511) correlated with downy mildew resistance and that the markers *VvAGL11_KASP2*; *VvAGL11_KASP3*; *VvAGL11_KASP8* and *VvAGL11_KASP9* correlated with the seedless phenotypes. The next step is the validation of these markers in segregating populations for seedless and downy mildew resistance. The combined use of these markers in an assisted selection strategy can be an alternative to be explored in grapevine breeding.

Keywords: KASP genotyping. Grapevine. Marker assisted selection.



AVALIAÇÃO DO QTL *QPc-crc-14D* E DO PERFIL TRANSCRICIONAL DE GENES CANDIDATOS À RESISTÊNCIA PARCIAL À FERRUGEM DA FOLHA EM *Avena sativa* L

A. WAIRICH* e C. A. DELATORRE²

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da UFRGS, Bento Gonçalves, 9500 Porto Alegre

² Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFRGS, Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre

*Apresentador: andriwairich@gmail.com

A aveia branca (*Avena sativa* L.) é um dos principais cereais de inverno cultivados na região Sul do Brasil. A ferrugem da folha é atualmente a doença economicamente mais importante da aveia. Genótipos que apresentam resistência parcial à ferrugem da folha encontram-se disponíveis atualmente. Exemplos são as linhagens irmãs URS 21 e UFRGS 988012-1. Sugere-se que para a cultivar URS 21, o possível mecanismo associado à resistência parcial envolve a indução do metabolismo secundário. Recentemente, o QTL *QPc-crc-14D*, responsável por explicar até 76% da variação fenotípica para a resistência parcial de planta adulta à ferrugem da folha, foi identificado para a linhagem MN 841801. Assim, objetivou-se avaliar se a região genômica do QTL *QPc-crc-14D* é a mesma região que confere esse caráter nos genótipos brasileiros URS 21 e UFRGS 988012-1, bem como avaliar a expressão ao longo do tempo, de genes relacionados ao metabolismo secundário em genótipos parcialmente resistentes e suscetíveis à ferrugem da folha e portanto, inferir se o mecanismo que confere a resistência parcial em URS 21 é o mesmo que confere esse caráter em UFRGS 988012-1. Marcadores SNPs associados ao QTL *QPc-crc-14D* foram utilizados para comparar o DNA genômico de cada genótipo. Plantas adultas de URS 21, URS 22, UFRGS 19 e UFRGS 988012-1 foram desafiadas com *Puccinia coronata* e, tecido foliar foi coletado nos tempos 0, 6, 12, 24, 48 e 72 hai. A partir de sequências do transcriptoma de plântulas de URS 21, induzidas sob essa mesma condição, iniciadores foram projetados e a expressão relativa avaliada ao longo do tempo, por RT-qPCR. Sequências envolvidas no metabolismo secundário, fatores de transcrição da família WRKY, e o gene que confere resistência parcial a múltiplas doenças em trigo, *Lr34*, foram analisados. A resistência parcial apresentada pelos genótipos brasileiros não é conferida pela região gênica que atribui esse caráter à linhagem MN 841801. Os marcadores SNPs para o QTL *QPc.crc-14D* não se diferenciaram entre os genótipos URS 21, URS 22, UFRGS 19 e UFRGS 988012-1, independentemente de serem resistentes ou suscetíveis à ferrugem da folha. Para a maioria das sequências avaliadas por RT-qPCR, observou-se um perfil de expressão contrastante entre os genótipos irmãos parcialmente resistentes URS 21 e UFRGS 988012-1, o que sugere a possibilidade de mecanismos parcialmente distintos conferirem a resistência parcial a estes genótipos.

Palavras-chave: Aveia hexaploide. Resistência horizontal. *Puccinia coronata*.



BIOCONTROLE DE ASPERGILLUS FLAVUS E FUSARIUM VERTICILLIOIDES EM PLÂNTULAS DE MILHO POR BACILLUS SPP

T. C. EINLOFT^{1*}, P. B. OLIVEIRA¹ e R. G. DIONELLO¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de Fitossanidade, Av. Bento Gonçalves 7712, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

*Apresentador: tiago.einloft@gmail.com

Os fungos toxigênicos *Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides* podem colonizar plantas de milho em todas as etapas do cultivo, levando a queda de produtividade e qualidade do grão. Em adição, estes fungos podem produzir micotoxinas que põem em grande risco a saúde dos consumidores. O controle biológico é um método de controle fúngico alternativo ao uso de fungicidas químicos e o uso de bactérias provenientes do sistema radicular de plantas de milho é extremamente promissor em função da capacidade competitiva e de sobrevivência destes micro-organismos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento de sementes de milho com três isolados de *Bacillus* sp. nos fatores agronômicos de crescimento de plântulas de milho cultivadas em câmara de vegetação e na proliferação de *A. flavus* e *F. verticillioides* nos tecidos radiculares vegetais. Sementes de milho foram submetidas a bacterização com isolados rizobacterianos *Bacillus safensis* RF69, *B. amyloliquefaciens* RP103 e *B. subtilis* RP242 inoculados individualmente e em consórcio, formando um Mix Bacteriano. As sementes tratadas foram inoculadas em copos plásticos contendo solo não-rizosférico proveniente de um campo experimental, previamente contaminado com *A. flavus* ou *F. verticillioides*. Foram realizados tratamentos controle, plantados sem a inoculação bacteriana ou em solo estéril, objetivando a comparação com os tratamentos experimentais. Após 10 e 20 dias de cultivo, foram realizadas contagens fúngicas nos tecidos radiculares das plântulas de milho, assim como a medição de diferentes fatores agronômicos de crescimento vegetal e o cálculo das taxas de emergência de plântulas e percentual de germinação de sementes. Os três isolados rizobacterianos inoculados individualmente ou em consórcio foram capazes de reduzir significativamente as contagens de *A. flavus* e *F. verticillioides* em comparação aos tratamentos controle após 10 e 20 dias de cultivo. De maneira geral, todos os tratamentos rizobacterianos apresentaram melhoria dos fatores agronômicos de crescimento das plântulas, assim como um aumento significativo da taxa de emergência de plântulas e do percentual de germinação de sementes, com destaque para os tratamentos com o isolado *B. amyloliquefaciens* RP103 e o Mix Bacteriano. Os agentes de biocontrole avaliados demonstraram grande potencial para o controle de *A. flavus* e *F. verticillioides*, objetivando a redução das perdas de produção e de qualidade causada por estes fitopatógenos toxigênicos.

Palavras-chave: Micotoxinas. Controle biológico. Rizobactérias. Fungos toxigênicos.



PROTOCOL ADJUSTMENT TO MULTI-HORMONAL ANALYSIS IN APPLE BUDS DURING THE DORMANCY

J. A. GARIGHAN^{*1,2}, G. PASQUALI¹, L. F. REVERS², D. D. PORTO³, D. A. SOUZA² and H. P. SANTOS²

¹Graduate Program in Cell and Molecular Biology, Centre for Biotechnology, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 91501-970, Brazil

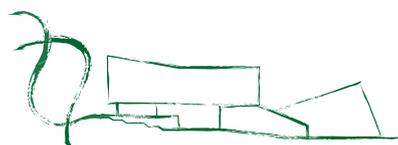
²Embrapa Grape & Wine, Bento Gonçalves, RS, 95700-000, Brazil

³Embrapa Semi-Arid, Petrolina, PE, 56302-970, Brazil

*Apresentador: julio.garighan@outlook.com

Apple trees, like all plants of temperate climates, become dormant during the fall/winter in response to environmental stimuli, such as photoperiod and cold. In this process, during the fall is observed the paralyzation of the vegetative growth and buds enter in the endodormancy state. Since endodormancy is established, it is necessary that the buds have exposure to cold to overcoming this state. This cold requirement is related to genotype and the endogenous control of this process is still unclear. In this scenario, our group has investigated the apple buds metabolism in response to cold, and some genes associated with hormonal signaling stand out among the probable points of control. Therefore, the aim of this work is to develop a protocol to multi-hormonal analysis (abscisic acid, auxin, gibberellin, zeatin, salicylic acid and jasmonate) in buds, to characterize the balance of these compounds during the endodormancy process. For this work, we are employing buds of contrasting cultivars in cold requirement ('Gala Standard' and 'Castel Gala') grown on rootstocks with different vegetative vigor (Marubakaido, M9 and M9 as Marubakaido with inter- stock). To hormones detection, the method is employing a LC/MSMS (Waters), and so far the best extraction solution of these compounds has been with methanol, formic acid and water (75:20:5). Furthermore, considering the chemical characteristics of apple buds, we verify the necessity of using SPE columns to improve the selectivity and robustness of the results as well as to minimize the matrix effect (ME). Without using SPE columns, it was found that ME gave reductions of up to 99.5% for the detection of some hormones (eg.: auxin, gibberellin), while for zeatin it induced an increase of 3200%. With proper adjustments until now, we emphasized that, in preliminary tests, was possible to see differences in the proportion of hormones in buds. Salicylic acid, jasmonate and abscisic acid are more present during endodormancy, while gibberellins, zeatin and auxin were more significant after overcoming this state of buds. The protocol still needs adjustments and improvements so that we can move forward in a more detailed analysis of the hormonal balance in all possible contrasts of buds, cultivars and rootstocks.

Keywords: Plant metabolism. Hormone extraction. Dormancy. Uplc/ms.



DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO ÓTIMA DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE FARELO DE SOJA

R. STROHER^{1*} e L. F. S. GOMES¹

¹ Universidade Federal do Paraná, Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, 85950-000, Palotina-PR, Brasil

*Apresentador: raquelstroher@ufpr.br

Ainda que considerada uma fonte rica em proteína, a maior parte do farelo de soja é destinada ao uso como suplemento proteico em rações animais. Diante do crescente interesse na busca por componentes e aditivos alimentares e pela sua disponibilidade, surge o processo de modificação enzimática para produção de hidrolisado do farelo de soja em substituição aos processos químicos tradicionais de extração de proteína. Este trabalho visa à otimização de algumas condições dessa hidrólise para investigar os efeitos dos fatores concentração de enzima e tempo de reação na quantificação dos peptídeos que estão na faixa molecular entre 2,86 e 6,50 kDa. Os hidrolisados foram obtidos utilizando-se farelo de soja com um teor de proteína em torno de 73% (b.u) e diâmetro médio de 1,02 mm e a enzima Alcalase® 2.4L, em ensaios conduzidos a 60 °C e 100 rpm. Analisando os perfis de cromatografia de exclusão molecular dos hidrolisados obtidos variando a quantidade de enzima utilizada (0,00; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00% proteína enzimática/proteína contida no substrato b.u) e o tempo de reação (1, 2 e 3 horas), verificou-se que a fração contendo maior quantidade de peptídeos correspondeu aos peptídeos correspondentes a faixa molecular entre 2,86 e 6,50 kDa. Procedeu-se a análise estatística em busca de investigar os efeitos desses fatores e visando a otimização das condições dessa reação. Avaliando as variáveis concentração de enzima e tempo de reação em relação à determinação da concentração de proteína solúvel da faixa de peptídeos avaliada, constata-se que apenas a variável quantidade de enzima em sua forma linear é significativa, para um intervalo de confiança de 95%. Apesar do variável tempo de reação não ser significativa na avaliação estatística, optou-se por investigá-la realizando o Teste de Tukey. Determinou-se como condições ótimas concentração de enzima de 1,00% (proteína enzimática/proteína do substrato) e o tempo de reação de 2 horas. Obteve-se um modelo que fornece uma boa estimativa da concentração de proteína do pico cromatográfico, satisfazendo a predição dos dados experimentais. Sendo assim é possível afirmar que o farelo de soja é um material com potencial uso na produção de alimentos destinados ao consumo humano e a hidrólise enzimática proporciona uma possibilidade de agregar valor a esse subproduto e viabiliza a criação de novos produtos no mercado industrial da soja.

Palavras-chave: Farelo de soja. Hidrólise enzimática. Condição ótima. Proteínas. Peptídeos.



DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE TRANSGENES INSERIDOS EM *EUCALYPTUS* GENETICAMENTE MODIFICADO

R. V. MARQUES^{1*} e G. PASQUALI¹

¹Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500 - Prédio 43.431 - Lab 212, Campus do Vale/UFRGS - CEP 91501-970 - Porto Alegre, RS - Brasil

*Raíssa Volpatto Marques: rai_vol@hotmail.com

Nos últimos anos, houve um aumento no número de países que adotou o cultivo de plantas geneticamente modificadas (GM) ou transgênicas, chegando, em 2014, a 28 países produtores. Para o desenvolvimento e a liberação comercial dos transgênicos, as agências reguladoras exigem uma série de testes e análises de forma a certificar a segurança dos transgênicos à saúde humana, animal e ao meio ambiente. Análises baseadas na detecção e na caracterização do DNA exógeno inserido no genoma das plantas, visando determinar os locais de integração e o número de cópias integradas, fazem parte das típicas exigências destas agências reguladoras. Estes testes são realizados principalmente por técnicas como a hibridização de Southern *blot* e a reação em cadeia da DNA polimerase (PCR). Estes métodos, apresentam limitações no seu uso e na qualidade dos resultados gerados, sendo necessário o desenvolvimento de novas metodologias de análise. Pelo presente trabalho, teve-se por objetivo o desenvolvimento de um novo método de detecção e caracterização de eventos de transformação de plantas GM em substituição às técnicas previamente citadas. A estratégia proposta faz uso dos marcadores moleculares denominados “Polimorfismos de Comprimento de Fragmentos Amplificados” ou AFLP. Para desenvolvimento e teste da nova metodologia, realizou-se a extração de DNA de folhas de *Eucalyptus* GM e não-GM, o planejamento e a projeção de *primers* e adaptadores específicos às sequências do transgene integrado nas plantas. A clivagem do DNA genômico e a ligação dos adaptadores aos fragmentos gerados foi cumprida com sucesso, seguindo-se com as análises via PCR. Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese capilar avaliando-se o número de fragmentos gerados pelas combinações de 14 diferentes *primers*. Comparou-se os fragmentos obtidos de mais de uma amostra de DNA, assim, os fragmentos que se mostraram exclusivos nas amostras indicam os possíveis transgenes inseridos no genoma de *Eucalyptus*. Foi possível obter uma variedade de tamanhos de fragmentos pelo *primer* MseI-AG, os de 79; 100 e 378 pares de bases foram detectados em amostras únicas de *Eucalyptus*. Deste modo, estes fragmentos possivelmente indicam ser originados dos transgenes inseridos no genoma de *Eucalyptus* GM. Estes estudos ainda são preliminares e devem ser realizados na presença de uma amostra controle (*Eucalyptus* não-GM), que se conheça os tamanhos de fragmentos, para a correta detecção dos fragmentos gerados por *Eucalyptus* GM.

Palavras-chave: GM. Plantas transgênicas. Detecção de transgenes. Eucalipto. AFLP.



GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE *ANGELONIA INTEGERRIMA* SPRENGEL. SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MEIO MS

M. C. WINHELMANN^{1*}, A. A. EMER¹, G. T. GRZEÇA¹, J. PAOLAZZI¹, M. TEDESCO¹, P. PARIS¹, C. S. FIOR² e G. SCHAFER²

¹ Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

² Professor do Departamento de Horticultura e Silvicultura, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

*Mara Cíntia Winhelmann: e-mail: marawinhelmann@yahoo.com.br

Angelonia integerrima Sprengel. é conhecida popularmente como violeta-do-campo, sendo uma planta herbácea, perene, nativa no Rio Grande do Sul e que ocorre em afloramentos rochosos e campos pedregosos. Essa espécie possui potencial ornamental, podendo ser cultivada em canteiros, floreiras e vasos, como também pode ser utilizada como complemento de arranjos florais. O trabalho teve como objetivo testar a germinação *in vitro* de sementes de *A. integerrima* sob diferentes concentrações do meio MS. O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia em Horticultura (LBH) da Faculdade de Agronomia da UFRGS em Porto Alegre – RS. As sementes foram coletadas *in situ* em fevereiro de 2015, no município de Barão do Triunfo – RS e armazenadas à temperatura de 4 a 6°C até o uso, em dezembro de 2015. Foram utilizadas 4 concentrações de sais do meio MS (100%, 75%, 50% e 25%), acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose e 7 g L⁻¹ de ágar. As sementes foram desinfestadas por 2 minutos em álcool 70%, após, 15 minutos em hipoclorito de sódio 1,5% (i. a.) e, em seguida, no fluxo laminar foi realizada a tríplice lavagem do material com água deionizada e autoclavada. O delineamento foi inteiramente casualizado com 4 repetições, 5 frascos por repetição e 5 sementes em cada frasco. Os frascos com as sementes foram colocados em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 24 a 29 °C e intensidade luminosa de 27 a 33,75 μmol m⁻² s⁻¹. Foram avaliados a porcentagem de germinação, tempo médio de germinação, índice de velocidade de germinação e porcentagem de plântulas formadas, acompanhada pela contagem a cada dois dias, sendo considerada germinada a semente que emitiu a radícula de forma que estivesse visível. A análise de variância mostrou não haver diferenças significativas para as variáveis analisadas. A porcentagem média de germinação foi de 58%, o tempo médio de germinação foi de 6,69 dias, o índice de velocidade de germinação foi de 2,35 e a porcentagem de plântulas formadas foi de 52%. Portanto, para as condições desse experimento, recomenda-se utilizar o meio MS com 25% da concentração de sais, o que contribui em economia no uso de reagentes e, conseqüentemente, no custo final.

Palavras-chave: Floricultura. Produção de mudas. Violeta-do-campo. Plantaginacea, Propagação sexuada.



ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *PSIDIUM SALUTARE* FRENTE À *ESCHERICHIA COLI*

T. SCHEIBEL^{1,*}, B. BUHL¹, A. V. SOARES¹ e E. M. ETHUR¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini 171, Bairro Universitário, Lajeado/RS, CEP 95900-000.

*Talita Scheibel: talisc95@gmail.com

A família Myrtaceae é uma das mais importantes do Brasil, sendo uma das principais famílias da flora brasileira. Possui cerca de 5800 espécies, das quais cerca de 1000 são encontradas em todos os biomas brasileiros. O gênero *Psidium* está amplamente distribuído pelo Brasil e outros países da América do Sul, pertencendo a este gênero os araçás e as goiabeiras. Devido ao potencial antioxidante, à presença de vitaminas e óleo essencial, muitas indústrias farmacêuticas estão despertando interesse quanto ao estudo de algumas das espécies pertencentes a este gênero. Diversos estudos demonstraram atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica, antipirética, espasmolítica e depressora do Sistema Nervoso Central. Muitas são utilizadas popularmente como plantas medicinais, sendo as espécies de *Psidium* popularmente utilizadas para cicatrização e contra diarreia. Apesar de algumas espécies já serem amplamente estudadas e pesquisadas quanto as suas atividades biológicas, outras espécies do gênero ainda carecem de informações. Como é o caso das espécies de *Psidium*, as quais foram relatadas significativas atividades anti-inflamatórias, por exemplo. O presente trabalho tem por objetivo detectar a atividade antimicrobiana frente a bactéria *Escherichia coli*, um micro-organismo Gram-negativo responsável por causar infecções urinárias, gastroenterite, dentre outras infecções com quadro clínico de diarreia, febre, vômito e outras complicações que podem evoluir levando pacientes a óbito. A coleta do material vegetal foi realizada no município de Alegrete – RS, o óleo essencial foi preparado com folhas frescas que foram trituradas em liquidificador industrial. Foi utilizada a proporção de droga:solvente 1:10 (m/v). O óleo foi obtido utilizando a técnica de arraste à vapor, com Clevenger modificado. Para atividade antimicrobiana, utilizou-se a técnica de micro diluição em caldo, *Escherichia coli* (ATCC 25922), em concentrações que variaram de 40 mg/mL – 0,625 mg/mL. Encontrou-se a concentração bactericida mínima (CBM) do óleo na concentração de 5 mg/mL e a concentração inibitória mínima (CIM) em 5 mg/mL. Pode se concluir a partir dos resultados obtidos que o óleo essencial apresentou uma CIM e CBM moderada, porém promissora; uma vez que óleos essenciais são misturas complexas de mono- e sesquiterpenos e, se isolados, poderão apresentar valores de CIM e CBM muito menores.

Palavras-chave: *Escherichia coli*. *Psidium salutare*. Óleo essencial. CIM.



ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS AQUOSOS E ETANÓLICOS DE *EUGENIA PYRIFORMIS* CAMBESS CONTRA *STREPTOCOCCUS MUTANS*.

B. BUHL^{1*}, A. P. V. SOARES¹ e E. M. ETHUR¹

¹ Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, Lajeado/RS, 95900-000

*Apresentador: barbara.buhl@univates.br

A família Myrtaceae é considerada uma das principais famílias da flora brasileira, possuindo mais de 5500 espécies, das quais cerca de 1000 são encontradas em todos os biomas brasileiros. Um dos gêneros mais numerosos dentro desta família é o gênero *Eugenia*, que abrange mais de 1000 espécies. Diversos estudos demonstraram atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica, antipirética, espasmolítica e depressora do Sistema Nervoso Central para espécies do gênero *Eugenia*, das quais muitas são utilizadas popularmente como plantas medicinais. Apesar de algumas espécies já serem amplamente estudadas e pesquisadas quanto as suas atividades biológicas, outras espécies do gênero ainda carecem de informações. Dentre elas podemos salientar a *Eugenia pyriformis* Cambess, uma espécie nativa do Brasil. A espécie é bastante empregada em paisagismo, devido ao fato de seus frutos serem consumidos por diversas espécies de pássaros, tem também seu uso indicado em reflorestamento. O objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana frente à bactéria *Streptococcus mutans*, um micro-organismo Gram-positivo responsável por causar cáries e doenças periodontais. A coleta do material vegetal foi realizada no município de Lajeado – RS, os extratos foram preparados com folhas secas ao ar livre que foram trituradas em liquidificador industrial. Foi utilizada a proporção de droga:solvente 1:10 (m/v). O extrato aquoso foi obtido por infusão durante 30 minutos, já o extrato etanólico foi obtido por maceração estática, a frio, empregando álcool etílico 90% por um período de 7 dias. Após o período de extração, em ambos procedimentos, o material foi filtrado e o solvente evaporado em rota-evaporador. Para atividade antimicrobiana, utilizou-se a técnica de micro diluição em caldo, *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), em concentrações que variaram de 40 mg/mL - 0,625 mg/mL. Encontrou-se a concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos aquosos e etanólicos na concentração de 1,25 mg/mL e a concentração inibitória mínima (CIM) em 2,5 mg/mL. A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que ambos os extratos apresentaram uma CIM e CBM moderada, porém promissoras; uma vez que extratos constituem misturas complexas de metabólitos e, se fracionados, poderão apresentar valores de CIM e CBM muito menores.

Palavras-chave: *Streptococcus mutans*. *Eugenia*. Concentração inibitória mínima. Concentração bactericida mínima.



GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE *DYCKIA HEBDINGII* COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE

G. T. GRZEÇA^{1*}, M. C. WINHELMANN¹, A. A. EMER¹, M. TEDESCO¹, J. PAOLAZZI¹, P. PARIS¹, G. SCHAFFER² e M. LAZAROTTO²

¹ Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

² Professor do Departamento de Horticultura e Silvicultura, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

*Gislaine Taís Grzeça: e-mail (gis_tais@hotmail.com)

Dyckia hebdingii L. B. Sm. é uma bromélia endêmica do Rio Grande do Sul, encontrada facilmente sobre afloramentos rochosos. Considerando seu valor ornamental e as dificuldades de propagação sexuada da espécie em condições naturais, objetivou-se com este trabalho avaliar a germinação de sementes de *D. hebdingii* em meio MS sob diferentes dosagens de sacarose. As sementes foram coletadas *in situ* em Barão do Triunfo, RS em fevereiro de 2015 e armazenadas sob temperatura de 4 a 6°C até instalação dos testes. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia em Horticultura (LBH) da Faculdade de Agronomia da UFRGS. Primeiramente, foi realizada a desinfestação das sementes em álcool 70%, por 1 minuto seguido de hipoclorito de sódio a 2%, por 10 minutos. Em fluxo laminar foi realizada a tríplice lavagem do material em água deionizada e autoclavada. Foram utilizados cinco tratamentos, 0 g.L⁻¹, 10 g.L⁻¹, 20 g.L⁻¹, 30 g.L⁻¹, e 40 g.L⁻¹, de sacarose em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de quatro frascos e cinco sementes por frasco para a semeadura *in vitro*. Os frascos permaneceram em sala de crescimento com temperatura de 25 a 29°C e fotoperíodo de 16 horas. Após 4 dias de realizada a semeadura, a cada 2 dias foram avaliadas a germinação (G), IVG (índice de velocidade de germinação), IVGM (índice de velocidade de germinação médio), TMG (tempo médio de germinação), TMP (tempo médio de plântulas), IVPM (índice de velocidade de plântulas), formação de plântulas e plântulas formadas por semente germinada, durante 22 dias. As variáveis foram submetidas à ANOVA e análise de regressão linear a 1% de probabilidade. Para as variáveis germinação, formação de plântulas e plântulas formadas por semente germinada não houve diferença estatística entre os tratamentos. Para as variáveis IVGM, IVG e IVPM houve uma resposta negativa com a adição de sacarose diminuindo em 55, 50 e 63%, respectivamente. Já para as variáveis TMG e TMP houve um aumento com adição de sacarose em 54% e 61,5%, respectivamente. Portanto, o aumento da dosagem de sacarose aumenta o tempo e conseqüentemente diminui a velocidade de germinação e formação de plântulas. Nessas condições, a ausência de sacarose se mostrou favorável para que as sementes dessa espécie germinem e formem plântulas em um menor tempo.

Palavras-chave: Bromélia. Espécie nativa. Propagação sexuada. Floricultura.



PROPAGAÇÃO IN VITRO DE VRIESEA FLAMMEA L.B.SM. (BROMELIACEAE) EM BAIXAS CONCENTRAÇÕES DE MACRONUTRIENTES

M. H. SASAMORI^{1,2*}, D. ENDRES JÚNIOR^{1,2} e A. DROSTE^{1,2}

¹ Universidade Feevale, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Rodovia ERS 239, 2755, Novo Hamburgo – RS, CEP. 93.525-075

² Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental

*e-mail: marcio_sasamori@yahoo.com.br

Vriesea flammea L.B.Sm. é uma espécie endêmica do Brasil, do bioma Floresta Atlântica. O objetivo do estudo foi avaliar a influência de diferentes concentrações de macronutrientes do meio MS sobre o desenvolvimento de *V. flammea*. Os tratamentos consistiram em: 25% e 50% dos sais nitrogenados (T1 e T2), bem como 25% e 50% dos macronutrientes (T3 e T4), além do tratamento com 100% dos nutrientes do meio MS (T5). Ao meio, foram acrescidos 0,4% de Phytigel™, 0,5% de carvão ativado, 3% de sacarose e o pH foi ajustado em 6,4 antes da esterilização. Plântulas com $1,0 \pm 0,5$ cm de comprimento da parte aérea (CPA) oriundas da germinação *in vitro* foram cultivadas em frascos com 30 mL de meio. Para cada tratamento, foram cultivados 70 indivíduos, totalizando 350 plântulas. A cada 60 dias, foi realizado um subcultivo. A sobrevivência, o CPA, o número de folhas (NF), o comprimento da raiz maior (CRM), o número de raízes (NR) e a massa fresca (MF) das plântulas foram mensurados após 180 dias. As médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p=0,05$). As maiores porcentagens de sobrevivência das plântulas foram observadas em T1 (86%) e T2 (93%), enquanto que em T3, T4 e T5 a sobrevivência foi de 76 a 79% ($H=10,121$; $p=0,038$). Para o sistema aéreo, o T3 proporcionou significativamente as maiores médias de CPA (5,1 cm; $H=19,641$; $p=0,001$) e NF (14; $H=26,992$; $p<0,001$). Em T1, T2 e T4, os valores foram intermediários para o CPA (4,4 a 4,7 cm), enquanto que T5 proporcionou significativamente a menor média (4,0 cm). Para o NF, T1, T2, T4 e T5 proporcionaram médias significativamente inferiores, que variaram de 10 a 12. No sistema radicular, o CRM das plântulas em T1, T2, T3 e T4 não diferiu significativamente e variou de 2,2 a 2,4 cm ($H=23,395$; $p<0,001$), porém em todos foi superior ao CRM em T5 (1,8 cm). Para o NR, as plântulas oriundas do meio T3 apresentaram significativamente a maior média (3,3; $H=37,010$; $p<0,001$). Os demais tratamentos proporcionaram médias entre 2,1 e 2,7. Para a MF, T3 proporcionou significativamente a maior média (250 mg; $H=18,819$; $p=0,001$), enquanto que T1, T2 e T4 proporcionaram valores intermediários (200 a 213 mg) e T5 proporcionou a menor média (146 mg). Os resultados indicam que as reduções dos macronutrientes do meio MS beneficiaram o desenvolvimento das plântulas de *V. flammea*, sendo o meio com 25% dos macronutrientes (T3) recomendado para a propagação da espécie, visando sua conservação.

Palavras-chave: Bromélias. Conservação. Micropropagação. Sais nitrogenados.



PATOGENICIDADE DE *ISARIA FUMOSOROSEA* SOBRE O PRINCIPAL ÁCARO PRAGA DA Videira DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

C. A. GRÄFF^{1*}, L. JOHANN, C. F. V. de SOUZA² e N. J. FERLA³

¹ Centro Universitário UNIVATES, Avenida Avelino Tallini, 171. Bairro Universitário, Lajeado – RS, Brasil.

*Apresentador: claudiagraff@univates.br

A vitivinicultura no estado do Rio Grande do Sul tem sofrido infestações significativas de ácaros praga, destacando-se recentemente *Panonychus ulmi* (Koch) cujo aparecimento deve-se ao uso excessivo de produtos fitossanitários. Há relatos sobre a capacidade de controle de ácaros fitófagos com *Isaria fumosorosea*. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação patogênica de *I. fumosorosea* sobre populações de *P. ulmi*. As criações de *P. ulmi* foram estabelecidas em laboratório a partir de coleta realizadas em videiras da Serra Gaúcha. As aplicações de suspensões de esporos em diferentes concentrações sobre ovos de *P. ulmi*. As triplicatas consistiram de 10 fêmeas de 12 a 15 dias tratadas com suspensão a 10^8 esporos.mL⁻¹. As testemunhas foram tratadas com água destilada. Sete dias da aplicação, observou-se 55,6% de ovos não eclodidos tratados com suspensão a 10^6 esporos.mL⁻¹; com fêmeas tratadas obteve-se mortalidade total entre 85-90% e mortalidade confirmada entre 50-55%. A mortalidade máxima dos controles no tratamento dos ovos e das fêmeas foi, em média, de 12,8 e 15,5%, respectivamente. Conclui-se que o isolado *I. fumosorosea* possui habilidade para infectar ovos e fêmeas adultas de *P. ulmi* e portanto, estimulam a continuidade da pesquisa para aplicação a campo.

Palavras-chave: *Panonychus ulmi*. Fungos entomopatogênicos. Controle microbiano.



RESPOSTAS DE FOLHAS DE ARROZ ALTAMENTE INFESTADAS PELO ÁCARO FITÓFAGO *SCHIZOTETRANYCHUS ORYZAE* (ACARI: TETRANYCHIDAE)

G. BUFFON^{3*}, É. A. R. BLASI¹, M. A. S. dos SANTOS², M. BERGER⁴; L. SANTI^{1,2}, M. LAVALLÉE-ADAM⁵, J. R. YATES III⁵, J. SCHWAMBACH³, W. O. BEYS-da-SILVA^{1,2} e R. A. SPEROTTO^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec), ²Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec), Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brasil.

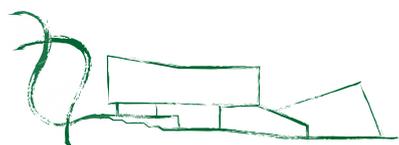
⁴Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CPE-HCPA/UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

⁵Department of Chemical Physiology, The Scripps Research Institute, La Jolla, California, USA.

*Giseli Buffon: gisi@universo.univates.br

O arroz é o principal alimento para aproximadamente metade da população mundial, além de contribuir com 20% da produção de cereais no mundo. No entanto, o rendimento da produção de arroz sofre queda em virtude de diferentes estresses bióticos. Uma das perdas mais significantes nesta produção é causada pela infestação de ácaros fitófagos, que podem danificar as plantas de arroz durante todo o seu desenvolvimento. Com o objetivo de melhor entender as respostas fisiológicas e moleculares de plantas de arroz altamente infestadas pelo ácaro fitófago *Schizotetranychus oryzae*, plantas contendo aproximadamente 180 ácaros por folha foram analisadas. Plantas controle (sem infestação de *S. oryzae*) foram mantidas isoladas para prevenir a infestação dos ácaros. A localização histoquímica *in situ* de espécies reativas de oxigênio, utilizando *nitro blue tetrazolium* (NBT) e *diaminobenzidine* (DAB), além da localização histoquímica de perda de integridade de membrana plasmática, utilizando *Evans Blue*, indicou que as folhas infestadas apresentavam altos níveis de radical superóxido e peróxido de hidrogênio, além de apresentarem sinais que indicavam altos níveis de morte celular. Estes resultados sugerem um estresse oxidativo bem estabelecido nas folhas infestadas pelo ácaro. As folhas altamente infestadas também mostraram redução na quantidade de clorofila, indicativo de um processo de senescência na planta. Tal hipótese foi confirmada pela alta expressão do gene *OsSGR* (marcador de senescência) nas folhas infestadas. A análise por MudPIT (*Multidimensional Protein Identification Technology*) levou à identificação de 184 proteínas diferencialmente expressas, sendo 94 exclusivas ou mais abundantes nas folhas controle, e 90 exclusivas ou mais abundantes nas folhas altamente infestadas. Os dados de proteômica serão confirmados por ensaios enzimáticos e RT-qPCR, a fim de se obter um conjunto de dados altamente confiáveis que represente as proteínas diferencialmente expressas em folhas de arroz após infestação do ácaro *S. oryzae*. Estes dados poderão ser úteis em futuros programas de melhoramento genético de plantas de arroz que busquem a resistência de plantas de arroz à infestação de ácaros fitófagos.

Palavras-chave: Histoquímica *in situ*. MudPIT. Proteínas expressas.



SOPHRONITIS CERNUA LINDL. (ORCHIDACEAE) PROPAGADA IN VITRO SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE

D. ENDRES JÚNIOR^{1,2}, M. H. SASAMORI^{1,2*} e A. DROSTE^{1,2}

¹ Universidade Feevale, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Rodovia ERS 239, 2755, Novo Hamburgo – RS, CEP. 93.525-075

² Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental

*e-mail: deliojendres@hotmail.com

Sophronitis cernua Lindl. é uma pequena orquídea epifítica, que apresenta flores de coloração alaranjada, sendo alvo da coleta indiscriminada. O estudo teve como objetivo avaliar a influência da sacarose sobre o desenvolvimento de *S. cernua*. Plântulas oriundas da germinação assimbiótica ($1,1 \pm 0,3$ cm de altura da parte aérea - APA) foram cultivadas em frascos contendo 30 mL de meio MS. Os tratamentos consistiram nas concentrações de 10, 30, 60 e 90 g L⁻¹ de sacarose (S1, S3, S6 e S9), combinada com a redução de 50% dos macronutrientes originais. Os meios foram acrescidos de 0,4% de Phytigel™, 1% de carvão ativado e o pH foi ajustado a 5,7 antes da esterilização. Para cada tratamento, foram cultivados 70 indivíduos, totalizando 280 plântulas. Após 180 dias de cultivo, a sobrevivência, a APA, o número de folhas (NF), o comprimento da raiz maior (CRM), o número de raízes (NR) e a massa fresca (MF) foram mensurados. As médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p=0,05$). O tratamento S3 proporcionou maior sobrevivência dos indivíduos (100%), seguido por S1 (93%), S6 (90%) e S9 (88%) ($H=5,06$; $p=0,167$). As plântulas dos tratamentos S3 (1,9 cm) e S6 (1,8 cm) apresentaram maiores médias de APA, que diferiram significativamente daquelas de S1 e S9 (1,6 e 1,7 cm; $H=15,46$; $p=0,002$). Os tratamentos S1 (6,0), S6 (5,6) e S9 (5,0) proporcionaram maiores médias para o NF, diferindo significativamente de S3 (4,8; $H=9,16$; $p=0,027$). Para o NR, as plântulas oriundas do meio S6 apresentaram significativamente a maior média (12,6), enquanto que em S1 (6,6), S3 (9,4) e S9 (8,8), os valores foram inferiores ($H=31,93$; $p<0,001$). Nos meios S1 e S3, as plântulas apresentaram as maiores médias de CRM (5,2 e 5,0 cm), não diferindo de S6 (4,4 cm), enquanto em S9, a média foi significativamente inferior (3,3 cm; $H=20,98$; $p<0,001$). O tratamento S3 proporcionou maior massa às plântulas (625 mg), seguido de S6 e S1 (508 e 475 mg). A maior concentração de sacarose (S9) não foi benéfica para a MF, proporcionando significativamente a menor média (341 mg; $H=11,68$; $p=0,009$). Os resultados indicam que a concentração de sacarose influenciou no desenvolvimento das plântulas de *S. cernua*. A adição de 30 g L⁻¹ de sacarose ao meio beneficiou a propagação dos indivíduos, permitindo a conservação da espécie por meio da cultura *in vitro*.

Palavras-chave: Orquídea. Conservação. Micropropagação. Carboidrato. Nutrição.



PAPEL DO FATOR DE TRANSCRIÇÃO *OsNAC5* NO DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES DE ARROZ

H. K. COSTA^{1*}, L. R. PONTE¹, G. L. DUARTE², R.A. SPEROTTO³, J. P. FETT² e F. K. RICACHENEVSKY¹

¹ Departamento de Biologia, Laboratório de Fisiologia Vegetal e Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

² Laboratório de Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica e Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil

³ Setor de Genética e Biologia Molecular do Museu de Ciências Naturais (MCN), Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil.

*Apresentador: henriquekellercosta@gmail.com

O arroz (*Oryza sativa*) é alimento básico para metade da população mundial. Os grãos, em especial o endosperma, apresentam baixas concentrações de micronutrientes essenciais como ferro (Fe) e zinco (Zn). Deficiências de Fe e Zn são as duas mais comuns em humanos, afetando de 25 a 30 % da população mundial. Em trabalhos anteriores, o fator de transcrição *OsNAC5* foi caracterizado como possível regulador da senescência em folhas-bandeira de arroz, possivelmente atuando na remobilização de Fe e Zn para os grãos. O gene *OsNAC5* é regulado por ABA e tem sua expressão induzida por estresses abióticos. Dados anteriores do nosso grupo identificaram plantas mutantes que apresentam inserção de T-DNA no promotor do gene *OsNAC5* (*OsNAC5-OX*). Essa inserção levou a acúmulo de transcritos de *OsNAC5*, causando diversas alterações fenotípicas na linhagem mutante em relação ao respectivo tipo selvagem. Dentre elas, observou-se redução no crescimento de raízes e parte aérea nas plantas da linhagem *OsNAC5-OX*. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o efeito da superexpressão de *OsNAC5* no rendimento, tamanho e peso de sementes. O rendimento das sementes foi analisado por meio de contagem de panículas e de número de, sementes cheias e vazias por panícula, provenientes de plantas *OsNAC5-OX* e do tipo selvagem. O tamanho das sementes foi medido com o auxílio do programa ImageJ[®]. A pesagem dos grãos foi realizada em balança de precisão, sendo os valores expressos na forma de peso de 1000 sementes. O número de panículas, o número total de sementes e o número de sementes cheias foram significativamente menores em plantas *OsNAC5-OX* do que em plantas do tipo selvagem. O tamanho das sementes de *OsNAC5-OX* foi 13,44% menor do que do tipo selvagem. O peso de sementes, de plantas *OsNAC5-OX* foi 32,30% menor do que o peso de sementes do tipo selvagem. Pode-se concluir que a superexpressão de *OsNAC5* leva à redução de rendimento dos grãos, bem como a menor tamanho e peso de grãos. Como perspectivas, serão quantificados 22 elementos em grãos de plantas *OsNAC5-OX* e do tipo selvagem por ICP-MS (*inductively-coupled plasma mass spectrometry*) além de determinados os tamanhos de células da camada de aleurona e do endosperma em cortes histológicos de sementes.

Palavras-chave: Fator de transcrição. Arroz. Mutante. Semente. Senescência.



PROJETO BIOGC: MAPEAMENTO DE PROCESSOS DE UM LABORATÓRIO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL

G. S. MARTINEZ¹, S. de Á. e SILVA¹, R. R. FAORO¹ e J. SCHWAMBACH¹

¹Universidade de Caxias do Sul, (Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, Caxias do Sul, RS)

*E-mail apresentador (sganzerlagustavo@gmail.com, joselischwambach@gmail.com)

Processos trata-se de uma ordenação específica das atividades de trabalho no tempo e espaço, com um começo e fim; entradas e saídas claramente visíveis constituindo uma estrutura para a ação. Desta forma, processos ajudam a implementar a estratégia da organização, os valores que uma organização tem serão colocados em prática através dos processos, que são ativos de grande valor e refletem o funcionamento da organização. Ao mapear processos, utiliza-se uma ferramenta gerencial para ajudar a melhorar os processos existentes; esta técnica também auxilia a organização a ter uma visão mais clara e objetiva de quais são seus pontos fortes e fracos. O objetivo geral desse trabalho concentra-se em realizar o mapeamento de processos do laboratório de biotecnologia vegetal pertencente ao Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul. Ao realizar o mapeamento de processos, identificando os pontos fortes e fracos da organização, serão propostas melhorias. Primeiramente, para poder propor essas melhorias, foi necessário realizar um estudo de caso, diagnosticando a situação atual do laboratório, isto deu-se através de visitas estruturadas. Nessas visitas foi analisado e documentado pelo pesquisador como os processos acontecem no laboratório. Lado a lado da análise dos processos foram realizadas entrevistas documentadas com os integrantes dos laboratórios, buscando mais detalhes sobre o funcionamento interno e também identificando pontos fortes e fracos. Ao realizar o mapeamento dos processos do laboratório, foi identificado dois tipos principais de pesquisa que são conduzidos: relacionadas a propagação e ao controle de doenças. Internamente, o laboratório está submetido a grande rotatividade de integrantes, fazendo com que o conhecimento esteja detido em poucas pessoas; não está presente nele nenhum sistema informatizado para recorrer a atividades corriqueiras. Ao concluir esse trabalho, ficou claro a necessidade das organizações atuais padronizarem seus processos, tendo ganho em diversos setores e podendo assim sobrepor alguns pontos fracos identificados. Isso somado ao modo atual de funcionamento, com integrantes muito experientes, traz benefícios concretos para o laboratório. Será proposto num trabalho posterior uma ferramenta que implemente e entregue gestão do conhecimento ligado ao mapeamento de processos. Mapear processos entra como peça fundamental neste trabalho, onde em primeiro ponto é necessário identificar a maneira da qual os processos ocorrem para, após incorporar este diagnóstico em uma ferramenta computacional para promover a gestão do conhecimento.

Palavras-chave: Gestão do conhecimento. Processos. Tecnologia da informação.



CARACTERIZAÇÃO DE PLANTAS DE ARROZ COM MUTAÇÃO NO TRANSPORTADOR OsNRAMP1

L. H. PRIGOL^{1*}, J. P. FETT², F. K. RICACHENEVSKY¹

¹ Departamento de Biologia, Laboratório de Fisiologia Vegetal e Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

² Departamento de Botânica e Centro de Biotecnologia, Laboratório de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil.

*Apresentador: lh.prigol@hotmail.com

O arsênio (As) é um elemento tóxico não-essencial. Em humanos, a exposição ao As aumenta o risco de desenvolvimento de câncer. O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos alimentos mais consumidos no mundo, sendo básico para metade da população mundial. Porém, quando cultivado sob irrigação, como no Rio Grande do Sul, os grãos de arroz podem acumular As em concentrações acima do limite de toxidez. Assim, é crucial entender os mecanismos de absorção e acúmulo de As em plantas de arroz, desde a rizosfera até a alocação para os grãos. Estudos anteriores indicam que o transportador OsNRAMP1 pode ser importante para o acúmulo de As em sementes. OsNRAMP1 também já foi caracterizado como um transportador de ferro, sendo induzida a sua síntese em raízes sob deficiência de ferro. O objetivo deste trabalho é caracterizar plantas de arroz de uma linhagem mutante que não apresenta cópia funcional de OsNRAMP1, *osnramp1*, pois o gene possui inserção do transposon Tos17. Plantas mutantes e selvagem foram germinadas em placas de petri por sete dias e cultivadas em solo de turfa por 30 dias, sendo irrigadas com solução nutritiva controle. Após, as plantas foram submetidas a excesso de ferro (Fe, 2.23 mM), excesso de zinco (Zn; 200 µM) ou excesso de manganês (Mn; 50 µM), além do tratamento controle. Depois de 15 dias, foram coletadas amostras da terceira folha completamente expandida para análise por ICP-MS (*inductively-coupled plasma mass spectrometry*; n = 6), sendo quantificados 22 elementos (Zn, Fe, Mn, Co, Ni, Cu, As, Mo, Cd, B, Na, Mg, P, S, K, Ca, Ti, Cr, Se, Rb, Sr e Pb). Quando em solução controle, a concentração de As foi 24,60% menor nas folhas do mutante do que no tipo selvagem. Quando cultivado sob excesso de Zn, o mutante apresentou concentração de Zn 71,95% maior em folhas maior do que o selvagem. Sob excesso de Mn, o mutante apresentou aumento de 29,95% na concentração de Mn. Os resultados indicam que OsNRAMP1 pode ter papel na absorção de As em plantas de arroz, além de ser importante para a homeostase de Zn e Mn. A seguir, serão quantificados os mesmos 22 elementos em sementes de plantas do tipo selvagem e *osnramp1*. Também será realizada análise de crescimento de raízes e parte aérea de plantas sob condição de deficiência de Fe e sob concentrações tóxicas de As, além da quantificação de expressão tecido-específica de OsNRAMP1 (e de transportadores conhecidos que respondem à deficiência de Fe) por PCR em tempo real em diferentes tecidos de plantas mutantes e selvagens.

Palavras-chave: Arroz. Arsênio. Transportador. Nramp. Ferro.



RECONHECIMENTO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO ÓLEO DE SEMENTE DO TABACO ENERGÉTICO

F. FORNASIER^{1*}, J. F. C. GOMEZ², R. C. S. SCHNEIDER¹, D. SOUZA¹ e A. B. COSTA¹

¹ Universidade de Santa Cruz do Sul, CEP 96815-900, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

² Universidad del Quindío, Carrera 15 Calle 12 Norte, Armenia, Colômbia

*Apresentador: franc_ces_ca@hotmail.com

Óleos vegetais são considerados grandes potências energéticas para a produção de biodiesel. As técnicas de produção variam e dependem do tipo de óleo vegetal. Devido suas características, o óleo da semente de tabaco representa uma alternativa como matéria-prima oleoquímica e uma potencialidade de diversificação da produção de tabaco no Sul do Brasil com um cultivo que não é utilizado para a produção de folhas para fumar. Assim, objetivou-se com este trabalho, analisar a qualidade do óleo presente nas sementes do tabaco Solaris e assim, poder avaliar a potencialidade de desenvolvimento de novos bioprodutos a partir desta matéria-prima. Inicialmente foi extraído o óleo da semente por prensagem em escala piloto, obtendo o óleo que foi centrifugado e analisado por Cromatografia Gasosa, Índice de iodo, Índice de acidez, densidade, viscosidade, Índice de insaponificáveis, Índice de saponificáveis, índice de refração, conforme métodos descritos pela *American Oil Chemist's Society (AOCS)*. Na extração foi obtido aproximadamente 30% de óleo contendo borra da extração. As amostras centrifugadas foram analisadas e armazenadas para uso em processos de transformação. Os resultados das análises indicaram que os valores obtidos conferem com os valores previstos para óleo de semente de tabaco, independente da cultivar estudada. O índice de iodo resultou em 144,74 g I/100g de óleo, o índice de acidez em 3,7 mg KOH g⁻¹ de óleo, índice de saponificação em 190,66 mg KOH g⁻¹ de óleo, a viscosidade foi de 84,77 cSt, densidade foi determinada como 0,923 g cm⁻³, o índice de refração à temperatura ambiente foi de 1,478 e o peso específico de 0,9877 N/m³. Estes dados associados a análise cromatográfica da fase saponificável e insaponificável, nas quais se identificou a composição de ácidos graxos, bem como a presença de tocoferóis, permitem inferir que o óleo de semente de tabaco Solaris apresenta uma composição semelhante a de outros óleos vegetais com potencial para a produção de vários bioprodutos. Muitos dos bioprodutos oriundos do óleo de soja, como biodiesel, polímeros, lubrificantes e outros, podem ser produzidos a partir do óleo de semente de tabaco Solaris.

Palavras-chave: Semente de tabaco. Oleoquímica. Caracterização do óleo.



ESTAQUIA DE UMA ESPÉCIE NATIVA DA FAMÍLIA CARICACEAE

C. GRIEBELER^{1*}, Z. F. FOLHARINI¹, D. R. MULLER¹, L. R. VIEIRA¹, J. A. da L. CORREIA¹, J. SIQUEIRA¹, C. S. FIOR² e E. M. de FREITAS¹

¹Centro Universitário UNIVATES, Av. Avelino Tallini, 171, Lajeado, RS.

²Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS

*camillaa_griebeler@hotmail.com

Uma espécie arbórea nativa, dioica, da família Caricaceae, está incluída na Lista das Plantas Alimentícias Não Convencionais. Além disso, é portadora de um gene que a torna resistente ao vírus causador da mancha anelar no mamão e é produtora de papaína, enzima que o Brasil importa. Com o estabelecimento de uma técnica para a produção de mudas em escala, a espécie poderá passar a ser explorada de diferentes formas, o que inclui as agroflorestas e as reservas legais, conforme permitido pela legislação vigente. O estudo teve como objetivo testar a propagação da espécie através da aplicação da técnica de estaquia. Estabeleceu-se um experimento piloto em casa de vegetação com nebulização automática com diferentes substratos e diâmetros das estacas, sem o uso de hormônios. O acompanhamento do experimento possibilitou a constatação de que excesso de água gerado pela nebulização poderia estar causando o apodrecimento das estacas. Um novo experimento foi estabelecido em estufa agrícola com irrigação manual diária, utilizando casca de arroz carbonizada como substrato. Foram testadas estacas com duas escalas de diâmetros (0,8 a 1,2 cm e 1,5 a 2,5 cm) obtidas de uma planta pistilada, e a imersão destas por 10 segundos em uma solução hidro alcóolica com adição de Ácido Indolbutírico (AIB) ($0,3 \text{ g L}^{-1}$) e em água autoclavada. Para cada tratamento foram estabelecidas quatro repetições de dez estacas. Após sessenta dias, as estacas foram avaliadas quanto ao percentual de enraizamento, número, comprimento, volume, massa fresca e seca de raízes, número e altura das brotações, número de folhas, massa fresca e seca das brotações. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Poucas estacas sobreviveram nos tratamentos com estacas finas e sem o uso de AIB, neste caso, independente do tipo de estaca. Nas variáveis da parte aérea, as diferenças foram significativas ($p < 0,05$) somente para massa fresca e seca na interação entre os fatores (tipo de estaca e uso do AIB). Para número e volume de raízes, a diferença foi significativa para o tipo de estaca e presença de AIB, cujas médias foram mais elevadas. Já o comprimento de raízes foi favorecido apenas pelo uso do AIB, embora na interação dos dois fatores, a diferença tenha sido significativa. Os resultados mostram que a propagação por estaquia é possível e favorecida quando utilizadas estacas grossas tratadas com AIB. Mais estudos serão necessários para a definição clara da metodologia a ser seguida.

Palavras-chave: Ácido indolbutírico. Agroflorestas. Espécie nativa. Planta alimentícia não convencional. Propagação vegetativa.



ESTAQUIA DE UMA ESPÉCIE DA FAMÍLIA LAMIACEAE COM POTENCIAL ACARICIDA

J. SIQUEIRA^{1*}, C. R. ORLANDI¹, M. TEIXEIRA¹, J. A. da L. CORREIA¹, C. GRIEBELER¹, C. S. FIOR² e E. M. de FREITAS¹

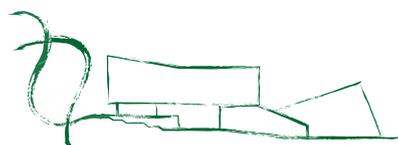
¹Centro Universitário UNIVATES, Av. Avelino Tallini, 171, Lajeado, RS.

²Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS

* joseane.siqueira@yahoo.com.br

A espécie em estudo, da família Lamiaceae, é endêmica dos campos do Bioma Pampa do Rio Grande do Sul e ameaçada de extinção. Apresenta altas concentrações de óleo essencial com ação alelopática, antimicrobiana, antifúngica, inseticida e larvicida. No entanto, para que a espécie possa ser explorada comercialmente para os diferentes fins, garantindo a sua preservação, é preciso desenvolver uma metodologia para a produção de mudas em escala. Assim, com o objetivo de verificar se a espécie pode ser propagada por estaquia e estabelecer algumas técnicas a serem adotadas, foram estabelecidos dois experimentos. No primeiro, foram testadas estacas com e sem ápice, oriundas de material coletado de uma população *in situ*, padronizadas em 6,0 cm, três pares de folhas apicais seccionadas pela metade e estabelecidas em bandejas pretas de polietileno. Foram testados os substratos casca de arroz carbonizada (CAC) e uma mistura de CAC com fibra de coco (FC) (66 e 33 %), com delineamento completamente casualizado. No segundo experimento, utilizando a mesma metodologia, foram testadas estacas apicais obtidas de plantas mantidas em casa de vegetação e oriundas de população *in situ*. A avaliação foi realizada aos 25 dias após a instalação, sendo contabilizados: o percentual de enraizamento, a massa fresca e seca das estacas, o número de brotações, a altura da parte aérea e, comprimento, volume, massa fresca e seca de raízes. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Para ambos os experimentos, o percentual médio de enraizamento foi de 77%, sem diferença estatística entre os tratamentos. No primeiro experimento, ao considerar o tipo de estaca, as variáveis volume de raiz e massa seca das plantas não enraizadas diferiram entre si, sendo as maiores médias atingidas pelas estacas não apicais. No segundo experimento, o substrato formado por CAC e FC possibilitou maior comprimento de raízes, não havendo diferença entre as demais variáveis. Ao considerar a origem das estacas, as variáveis massa fresca e seca das estacas enraizadas, comprimento, volume e massa fresca e seca de raízes foram superiores nas estacas oriundas de plantas mantidas em casa de vegetação. Os experimentos mostraram que a propagação da espécie por estaquia é viável, sendo esta favorecida pela utilização de estacas com ápice, obtidas de plantas em casa de vegetação, dando-se preferência para o substrato formado pela mistura de CAC e FC, pois houve melhor desenvolvimento radicular.

Palavras-chave: Propagação vegetativa. Produção de mudas. Espécie endêmica. Óleo essencial.



CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE MUTANTES YELLOW STRIPE-LIKE DE ARROZ

L. R. PONTE^{1*}, H. K. COSTA¹, J. P. FETT² e F. K. RICACHENEVSKY¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Biologia, Laboratório de Fisiologia Vegetal e Laboratório de Biotecnologia Vegetal

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Botânica e Centro de Biotecnologia, Laboratório de Fisiologia Vegetal

*Apresentador: lucp109@gmail.com

O arroz (*Oryza sativa*) é alimento básico para a dieta de cerca de metade da população mundial. O endosperma, parte mais comumente consumida, é rico em amido, porém pobre em micronutrientes essenciais para humanos, como o ferro (Fe). A anemia causada pela deficiência de Fe atinge mais de um terço da população mundial. Logo, a caracterização dos genes envolvidos na absorção de Fe e no seu acúmulo nos grãos de arroz pode impactar diretamente a nutrição humana. Proteínas da família YSL (*Yellow stripe-like*) de arroz foram anteriormente descritas como transportadores de metais ligados a fitossideróforos. Portanto, o objetivo desse trabalho foi caracterizar duas linhagens mutantes contendo inserção do transposon Tos17 em genes da família YSL: *ysl13* e *ysl15*. Plantas dos mutantes e do tipo selvagem foram germinadas em placas de petri por sete dias e cultivadas em solo de turfa por 30 dias, sendo irrigadas com solução nutritiva controle. Após, as plantas foram submetidas a excesso de ferro (Fe; 2,23 µm), excesso de zinco (Zn; 200 µm) ou excesso de manganês (Mn; 50 µm), além do tratamento controle. Depois de 15 dias, foram coletadas amostras da terceira folha completamente expandida para análise por ICP-MS (*inductively-coupled plasma mass spectrometry*; n = 6), sendo quantificados 22 elementos (Zn, Fe, Mn, Co, Ni, Cu, As, Mo, Cd, B, Na, Mg, P, S, K, Ca, Ti, Cr, Se, Rb, Sr e Pb). Plantas mutantes apresentaram menor concentração foliar de Fe do que plantas selvagens, em todos os tratamentos, exceto em excesso de Fe para *ysl15*. Também foi observada menor concentração foliar de Mn, exceto em excesso de Zn para os dois mutantes. Posteriormente, foi avaliado o crescimento dos mutantes em condição controle ou de deficiência de Fe. Em condição controle, o comprimento radicular foi 54% e 30% menor em *ysl13* e *ysl15* do que no tipo selvagem. O comprimento de parte aérea foi, respectivamente, menor 60% e 38%. Em condição de deficiência de Fe, o comprimento de parte aérea foi 32% menor em *ysl13* do que no tipo selvagem. Estes resultados sugerem que YSL13 e YSL15 são potenciais transportadores de Fe e Mn, e que podem ter papel na resposta à deficiência de Fe em plantas de arroz. A seguir, serão realizadas análises de ICP-MS de raízes e folhas de plantas sob condição controle e de deficiência de Fe, assim como a quantificação de expressão tecido-específica por PCR em tempo real de YSL13 e de transportadores conhecidos que respondem à deficiência de Fe, em plantas mutantes e selvagens.

Palavras-chave: Arroz. Ferro. Transportador. Mutantes. Deficiência.



GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *PSIDIUM GUAJAVA* L. SUBMETIDAS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAIS E SACAROSE

N. J. PAFIADACHE^{1*}, M. B. FUHRMANN¹, R. S. GONÇALVES¹ e L. B. DODE¹

¹Universidade Federal de Pelotas, Rua Campus Universitário - s/n, Capão do Leão - RS, 96160-990

*Apresentador: nicollasjp@gmail.com

Uma das espécies conhecidas como parte constituinte da flora da região sul, a goiabeira (*Psidium guajava* L.) é amplamente cultivada por sua fruta, e foi mundialmente difundida em áreas tropicais e subtropicais. Atualmente ainda para muitas espécies frutíferas os problemas de conservação e de germinação das sementes, como a goiabeira são relevantes. Apesar da importância dessa espécie e de seu intenso cultivo no Brasil, não há recomendação para o teste de germinação nas Regras para Análise de Sementes por este motivo o objetivo deste trabalho foi testar o meio de cultura MS com diferentes concentrações de sais e sacarose e avaliar sua influência na germinação e índice de velocidade de germinação em sementes de goiaba. Para a obtenção de sementes os frutos foram esterilizados e cortados, sua polpa foi retirada e foram realizadas sucessivas lavagens utilizando água corrente para que removesse todo excesso de polpa. As sementes foram esterilizadas com hipoclorito 2,5% durante 20 minutos, pois apresentam um alto índice de contaminação, e foram realizadas sucessivas lavagens utilizando água destilada autoclavada. Os meios de cultivo foram preparados para a germinação inicial, contendo sais inorgânicos do Meio MS e diferentes concentrações de sacarose (0%, 1%, 3%). Os meios foram dispostos em 4 placas divididas contendo 2 repetições contendo 10 sementes. Após 25 dias a inoculação das sementes no meio nutritivo, foi realizada a avaliação de germinação das sementes durante 10 dias. Após 35 e 48 dias as plantas foram transferidas para o substrato para avaliar sua capacidade de adaptação ao ambiente. Após os 25 dias de crescimento inicial, poucas sementes apresentaram germinação, com destaque a concentração de 0% de sacarose, com metade dos sais do meio MS que apresentou média de 3,5 sementes germinadas. Após 30 dias, foi avaliada uma maior taxa de germinação, ainda com destaque do meio sem adição de sacarose e com metade dos sais, onde o meio MS com metade dos sais e 0% de sacarose apresentou média de 6 sementes germinadas por placa deste meio. No processo de aclimação, houve adaptação das plantas ao substrato com perda não significativa de mudas. Conclui-se através desse experimento que o tempo ideal para a germinação das sementes da goiaba é entre 30 e 35 dias, com alta eficiência do meio sem adição de sacarose, com metade dos sais do meio MS para produção de mudas de qualidade que resistam a aclimação.

Palavras-chave: Goiaba. Goiabeira. Cultivo. Aclimação.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E TOXICIDADE DE EXTRATOS DE *CEDRELA FISSILIS* VEL.

L. B. ANDRADE^{1*}, C. MARTININGHI¹, A. CASSINELLI¹, F. AGOSTINI², V. A. A. GOMES², M. SALVADOR³ e J. SCHWAMBACH¹

¹ Laboratório de Biotecnologia Vegetal. Universidade de Caxias do Sul, Francisco Getúlio Vargas 1130 CEP 95070-560, Caxias do Sul, RS.

² Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos. Universidade de Caxias do Sul, Francisco Getúlio Vargas 1130 CEP 95070-560, Caxias do Sul, RS.

³ Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes. Universidade de Caxias do Sul, Francisco Getúlio Vargas 1130 CEP 95070-560.

*Apresentador: lbatougu@ucs.br

A espécie *Cedrela fissilis* Vel. (cedro) possui sua ocorrência no Brasil que se estende desde o Rio Grande do Sul até Minas Gerais. O cedro é usado na medicina popular como antisséptico, combate à febre, diarreias, catarro pulmonar, gripe, dores de estômago, artrismo e seu chá também serve para lavar feridas e úlceras. O objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de compostos fenólicos e flavonoides totais e determinar a atividade antioxidante, bem como avaliar a toxicidade da espécie através da análise do seu efeito sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de *Allium cepa* utilizando extratos de *C. fissilis*. Para os ensaios bioquímicos foram avaliados extratos aquosos obtidos por infusão e maceração e extrato hidroetanólico na razão 1:100 (m/v) de folhas e casca utilizando o método de Folin-Ciocalteu para quantificação de fenólicos, o método de complexação por alumínio para flavonoides e para atividade antioxidante o método de DPPH*. Para os testes de toxicidade, foram utilizados extratos aquosos obtidos por infusão, maceração e hidroetanólico apenas de folhas nas concentrações de 0,5%, 1%, 2% e 4%, e água destilada como controle. Os extratos hidroetanólico e maceração permaneceram por 24 h em repouso e o extrato de infusão utilizou água destilada a 100°C por 10 minutos. Todos os extratos foram filtrados e distribuídos em placas de Petri forradas com papel-filtro, umedecidas com 5 mL dos extratos, sobre as quais foram semeadas as sementes de cebola ou foram transferidas sementes pré-germinadas. Os testes foram conduzidos em sala de cultivo com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 16 horas. Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação, tempo médio de germinação e comprimento de hipocótilo e de raiz. Como resultados obtidos se pode constatar que o teor de fenólicos e flavonoides foi maior nos extratos proveniente de folhas e que maceração e infusão foram as formas de extração para folhas que apresentaram maior teor de fenólicos e flavonoides respectivamente. Quanto a avaliação da toxidez de *Cedrela fissilis* todos parâmetros avaliados apresentaram efeitos inibitórios em presença dos diferentes extratos a partir da concentração de 2,0%. As concentrações 0,2% a 0,4% tiveram maior inibição do radical DPPH* em casca e as concentrações 0,5% e 0,6% foram mais eficientes em extratos de folha. Conclui-se que os extratos obtidos a partir de folhas de *C. fissilis* apresentam potencial atividade antioxidante e baixa toxicidade.

Palavras-chave: Compostos fenólicos. Flavonoides. Toxidez. Cedro.



ANÁLISE DA REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO, MEDIADA POR FITO-HORMÔNIOS, DAS UREASES DE SOJA

D. H. STRASSBURGER¹, R. da SILVA e SILVA² e A. B. BECKER RITT³

¹ Agronomia-ULBRA, Av Farroupilha, 8001, Canoas RS

² PPGBioSaúde- ULBRA Av Farroupilha, 8001, Canoas RS

³ PPGBioSaúde e PPGGTA-MP - ULBRA Av Farroupilha, 8001, Canoas RS

Ureases, enzimas níquel-dependentes, presentes em plantas, bactérias e fungos, mas não em animais. Em vegetais, atuam na defesa contra fitopatógenos, principalmente fungos e bactérias, sendo sintetizadas pelas plantas em resposta ao ataque de patógenos. Apesar de ser postulado que ureases estão envolvidas no metabolismo e biodisponibilidade de nitrogênio, pouco se sabe sobre sua regulação em plantas. Na leguminosa *Canavalia ensiformis* uma família gênica de ureases foi induzida pelo ácido abscísico. Diante disso, o principal objetivo desse projeto será avaliar, através de método fenol-nitroprussiato, a atividade da enzima urease, em plântulas de diferentes cultivares de soja. Para tanto, sementes de diferentes cultivares serão germinadas, seguidas de extração e quantificação de proteínas, bem como a atividade ureolítica será mensurada nessas plântulas. Resultados preliminares indicam que há pequenas diferenças na quantidade de proteínas presentes nas plântulas dos cultivares testados, mas, pequenas diferenças são percebidas quando se faz a análise quantitativa de urease através do método de fenol-nitroprussiato. Estudos adicionais deverão ser realizados para confirmação dos dados prévios encontrados. Futuramente, a correlação, com testes de herbivoria e tratamentos com diferentes fitohormônios, em plantas, poderá nos mostrar qual a rota metabólica é mais eficiente na síntese de ureases, após um ataque de insetos.

Palavras-chave: Proteínas. Quantificação. Atividade ureolítica.



QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM EXTRATOS DE FOLHAS DE MYRCIA OBLONGATA DC.

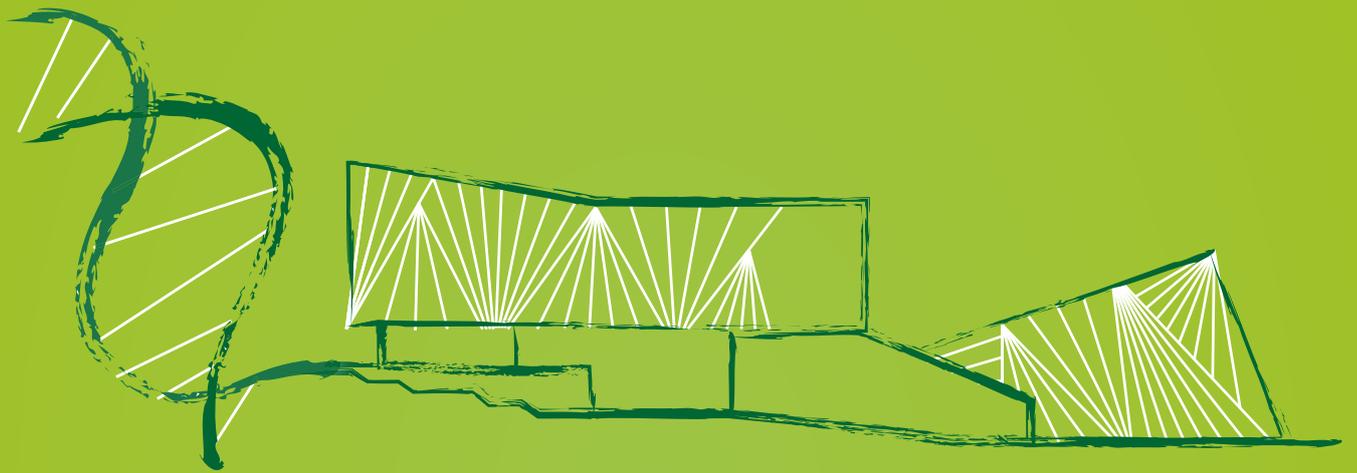
V. A. A. GOMES^{1*}, F. AGOSTINI¹, L. B. A. TOUGUINHA¹, M. SALVADOR¹ e J. SCHWAMBACH¹

¹ Universidade de Caxias do Sul, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130. CEP 95070-560. Caxias do Sul. RS

*Apresentador: e-mail (nessa.algomes@gmail.com)

As espécies reativas e sua possível relação com fisiopatologias humanas tem atraído o interesse de vários setores da sociedade envolvidos com a saúde pública. Muitas plantas têm sido investigadas quanto à presença de compostos não tóxicos e potencialmente antioxidantes. Diversos compostos de origem natural são conhecidos por possuírem capacidade antioxidante, especialmente os fenólicos, devido às suas propriedades redutoras e estrutura química, que atuam na iniciação e/ou propagação do processo oxidativo. *Myrcia oblongata* (guamirim) é uma espécie nativa do Rio Grande do Sul, a qual possui seus metabólitos secundários ainda pouco estudados. Até o momento, não foram encontrados estudos sobre seu conteúdo não volátil, apesar da existência de publicações com outras espécies de *Myrcia*. Em vista destes fatos, objetivou-se quantificar compostos fenólicos e avaliar a atividade antioxidante, correlacionando esses parâmetros, nos extratos aquoso e hidroetanólico de guarimim. Folhas desidratadas e trituradas foram submetidas à extração com água e etanol:água (1:1 v/v), na razão 1:10 (m/v), em banho ultrassônico (30 min.). O teor de fenólicos totais (TFT), expresso em mg equivalentes de ácido gálico/g extrato seco, foi quantificado pelo método Folin-Ciocalteu e suas absorvâncias lidas à 760 nm. A atividade antioxidante (AA) foi avaliada pelos ensaios de captura dos radicais livres DPPH• e ABTS^{•+} (expressas em IC₅₀, ou seja, a quantidade de extrato, em µg/ml, redutora de 50% dos radicais) e suas absorvâncias lidas a 517 nm. TFT apontou valores de 364,02 (água) e 465,28 (etanol:água), os quais evidenciaram a eficiência do método e solventes extrativos. Resultados de TFT sobressaíram-se aos achados para outras espécies do gênero (valores entre 72,22 e 463,69 para sete diferentes *Myrcia*). Não houve diferença significativa entre os extratos, quanto à AA para os dois ensaios (média de 3,40), porém os resultados foram similares e até melhores quando comparados a compostos padrões como ácido ascórbico, ácido cafeico, ácido clorogênico e myricetrina. O coeficiente de determinação indicou alta correlação entre os TFT e os ensaios antioxidantes dos extratos (r^2 valores entre 0,953 a 1), destacando os fenólicos como uma fonte de antioxidantes naturais, que podem atuar na prevenção de doenças degenerativas. Mais estudos devem ser conduzidos de modo a caracterizar e descrever o modo de ação antioxidante desses compostos.

Palavras-chave: Ensaios colorimétricos. Extrato aquoso. Extrato hidroetanólico. Extração assistida por ultrassom.



UNIVATES

R. Avelino Tallini, 171 | Bairro Universitário | Lajeado | RS | Brasil
CEP 95900.000 | Cx. Postal 155 | Fone: (51) 3714.7000
www.univates.br | 0800 7 07 08 09