

# III SIMPÓSIO DE BIOTECNOLOGIA APLICADA À AGRICULTURA

III Mostra de Trabalhos Científicos do Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura  
Organização: Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da UNIPAR - DEGPP/COPSS



**FUNDAÇÃO  
ARAUCÁRIA**

*Apoio ao Desenvolvimento Científico  
e Tecnológico do Paraná*

**UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR  
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA APLICADA À AGRICULTURA**

**Anais da III Simpósio em Biotecnologia Aplicada à  
Agricultura**

**III Mostra de Trabalhos Científicos do Mestrado em  
Biotecnologia Aplicada à Agricultura**

**Universidade Paranaense – UNIPAR  
Toledo – PR  
2008**

**Anais do III Simpósio em Biotecnologia Aplicada à Agricultura  
III Mostra de Trabalhos Científicos do Mestrado em Biotecnologia Aplicada à  
Agricultura  
24 de julho de 2008**

**As informações contidas nos resumos são de inteira responsabilidade dos autores.**

*Endereço para correspondência:*

**Coordenação do Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura  
Praça Mascarenhas de Moraes, s/n  
Umuarama – Paraná  
87502-210**

**www.unipar.br  
mtdbiotecnologia@unipar.br  
Fone: (0xx) 44 3621-2828**

## **UNIVERSIDADE PARANAENSE**

### **Mantenedora**

**ASSOCIAÇÃO PARANAENSE DE ENSINO E CULTURA – APEC**

### **Reitor**

Cândido Garcia

### **Vice-Reitora Executiva**

Neiva Pavan Machado Garcia

### **Vice-Reitor / Chanceler**

Carlos Eduardo Garcia

### **Diretoria Executiva de Gestão do Ensino Superior**

Maria Regina Celi de Oliveira

### **Diretoria Executiva de Gestão da Dinâmica Universitária**

José de Oliveira Filho

### **Diretoria Executiva de Gestão da Extensão Universitária**

Adriano Augusto Martins

### **Diretoria Executiva de Gestão da Pesquisa e Pós-Graduação**

Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana

### **Diretoria Executiva de Gestão do Planejamento Acadêmico**

Sônia Regina da Costa Oliveira

### **Diretoria do Instituto de Ciências Biológicas, Médicas e da Saúde**

Irinéia Paulina Baretta

### **Diretor Geral da Unidade Campus Toledo**

Leonildo Bagio

### **Coordenador do Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura**

Nelson Barros Colauto

## SUMÁRIO

**PROGRAMAÇÃO** .....07

**RESUMOS DAS PALESTRAS** .....08

---

### ARTIGOS ORIGINAIS

---

ANÁLISE DAS VARIAÇÕES INTERANUAIS NAS OCORRÊNCIAS ESPAÇO-TEMPORAIS DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES AMEAÇADOS DE EXTINÇÃO NA REGIÃO DO ALTO RIO PARANÁ .....12  
Rafael Bier Conte; Pablo Henrique dos Santos Picapedra; Aline Maria Gavião; Evelyn Barzotto da Silva; Edilaine Della Valentina Gonçalves; Maikon Levandowski; Renato Evandro Ortolan de Rezende; Paulo Vanderlei Sanches

AValiação DAS ABUNDÂNCIAS DE LARVAS DE *Salminus brasiliensis* (CHARACIDAE, SALMININAE) NA REGIÃO DO PARQUE NACIONAL DE ILHA GRANDE .....13  
Pablo Henrique dos Santos Picapedra; Aline Maria Gavião; Evelyn Barzotto da Silva; Edilaine Della Valentina Gonçalves; Maikon Levandowski; Renato Evandro Ortolan de Rezende; Rafael Bier Conte; Paulo Vanderlei Sanches

DINÂMICA TEMPORAL DOS ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO LARVAL DE *Hypophthalmus edentatus* NA LAGOA XAMBRÊ – REGIÃO DO PARQUE NACIONAL DE ILHA GRANDE – DADOS PRELIMINARES. ....14  
Maikon Levandowski; Aline Maria Gavião; Edilaine D. V. Gonçalves; Evelyn B. da Silva; Pablo Henrique dos Santos Picapedra; Rafael Bier Conte; Renato E. O. de Rezende; Paulo Vanderlei Sanches

DISTRIBUIÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL DE LARVAS DE *Rhamdia quelen* (PISCES – SILURIFORMES) NA REGIÃO DO PARQUE NACIONAL DE ILHA GRANDE – ALTO RIO PARANÁ. ....15  
Evelyn Barzotto da Silva; Pablo Henrique dos Santos Picapedra; Aline Maria Gavião; Edilaine Della Valentina Gonçalves; Maikon Levandowski; Renato Evandro Ortolan de Rezende; Rafael Bier Conte; Paulo Vanderlei Sanches

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE LINHAGENS DE *Agaricus brasiliensis* COM BASIDIOCARPO FECHADO .....16  
Francielly Mourão, Suzana Harue Umeo, Tatiane de Souza Domingos, Giani Andrea Linde Colauto, Nelson Barros Colauto

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE LINHAGENS DE *A. brasiliensis* COM BASIDIOCARPO ABERTO ..17  
Francielly Mourão, Suzana Harue Umeo, Tatiane de Souza Domingos, Giani Andrea Linde Colauto, Nelson Barros Colauto

ATIVIDADE ANTITUMORAL DO COGUMELO *Agaricus brasiliensis* EM DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DO BASIDIOCARPO .....18  
Francielly Mourão, Aristeu Vieira da Silva, Giani Andrea Linde colauto, Nelson Barros Colauto

AValiação DO POTENCIAL BIORREMEIADOR DE UMA LINHAGEM DE FUNGO ISOLADA DE MEIO DE TIOSSULFATO DE SÓDIO (NA<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) EM DIFERENTES MEIOS .....19  
Marcos Marques Mendonça, Andressa Caroline Flores, Heloana Karoline Pin, Giovana Mayara Müller, Rodrigo Patera Barcelos, Luana Zanettin, Dionéia Schahren, Kennedy Perreira da Silveira, Suzymeire Baroni, Izabel Aparecida Soares

ISOLAMENTO DE FUNGO FILAMENTOSO COM POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE ENZIMAS DE INTERESSE INDUSTRIAL. ....	20
Andressa Caroline Flores, Marcos Marques Mendonça, Heloana Karoline Pin, Giovana Mayara Müller, Luana Zanettin, Rodrigo Patera Barcelos, Dionéia Schahren, Kennedy Pereira da Silveira, Suzymeire Baroni, Izabel Aparecida Soares	
AVALIAÇÃO PROTEOLÍTICA DE FUNGOS BASIDIOMICETOS .....	21
Clodoaldo Campos, Débora Camila Dias, Giani Andréa Linde Colauto, Nelson Barros Colauto	
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE AMIOLÍTICA DE LINHAGENS DO FUNGO <i>Metarhizium anisopliae</i> EM DIFERENTES MEIOS .....	22
Dionéia Schahren, Rodrigo Patera Barcelos, Kennedy Pereira da Silveira, Luana Zanettin, Marcos Marques Mendonça, Andressa Caroline Flores, Heloana Karoline Pin, Giovana Mayara Müller, Suzymeire Baroni, Izabel Aparecida Soares	
AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM DIFERENTES SUBSTRATOS .....	23
Francielly Mourão, Suzana Harue Umeo, Giani Andrea Linde colauto, Nelson Barros Colauto	
ANÁLISE DO CRESCIMENTO VEGETATIVO, PIGMENTAÇÃO DOS CONÍDIOS E ESPORULAÇÃO DO FUNGO ISOLADO DO COMPOSTO TIOSULFATO DE SÓDIO (Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) .....	24
Marcos Marques Mendonça, Andressa Caroline Flores, Heloana Karoline Pin, Giovana Mayara Müller, Rodrigo Patera Barcelos, Luana Zanettin, Dionéia Schahren, Kennedy Perreira da Silveira, Suzymeire Baroni, Izabel Aparecida Soares	
CRESCIMENTO MICELIAL DO GÊNERO <i>Pleurotus</i> EM RESÍDUOS AGRÍCOLAS. ....	25
Talita Rafaela D'Agostini Mantovani, Henrique Susumu Tanaka, Érica Clarissa D'Agostini, Giani Andrea Linde Colauto, Nelson Barros Colauto	
CRIOPRESERVAÇÃO DO GÊNERO <i>Pleurotus</i> CRESCIDO EM GRÃOS DE TRIGO E MEIO BATATA-DEXTROSE-ÁGAR .....	26
Talita Rafaela D'Agostini Mantovani, Henrique Susumu Tanaka, Giani Andréa Linde, Nelson Barros Colauto	
COMPARAÇÃO DOS CONCENTRADOS PROTÉICOS E COMPOSTOS FENÓLICOS DA VARIEDADE BRANCA DE <i>Manihot esculenta</i> Crantz .....	27
Heloana Karoline Pin; Giovana Mayara Müller; Marcos Marques Mendonça; Andressa Caroline Flores; Luana Zanettin; Rodrigo Patera Barcelos; Dionéia Schahren; Kennedy Pereira da Silveira; Suzymeire Baroni; Izabel Aparecida Soares	
DETERMINAÇÃO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO E A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> EM PROGÊNIES DE ERVA-MATE ( <i>Ilex paraguariensis</i> St.Hil.) .....	28
Keiko Leonice Nakamura, Ariane C. Horn, Jakeline Hoscheid , Ana M. Pugens , Orlando Takemura, Euclides L. Cardozo Jr., Ivan Schuster	
PARÂMETRO GENÉTICO DO TEOR DE ÁCIDO URSÓLICO EM PROGÊNIES DE ERVA-MATE ( <i>Ilex paraguariensis</i> St .Hil.). ....	29
Keiko Leonice Nakamura, Ana M. Pugens, Euclides L. Cardozo Jr., Ivan Schuster	
VERIFICAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DAS FOLHAS DE <i>Psidium guajava</i> Linn. (MYRTACEAE) .....	30
Joselange Silveira, Miria Benetati Delgado Bertéli, Karina Clavisso Fonseca, Gustavo Fratucheli Aguiar, Antonio Laverde Jr	

## PROGRAMAÇÃO

---

**24 de agosto de 2008**

---

**08h00 Confirmação de inscrições e entrega do material**

**08h30 Abertura do evento**

Prof. Dr. Nelson Barros Colauto - UNIPAR

**09h00 Palestra: Técnicas moleculares para identificação e tipificação de bactérias patogênicas em alimentos.**

**Ministrante:** Dr. Eliezer Gandra

Universidade Estadual de Maringá – UEM – Umuarama, PR.

**10h30 Intervalo**

**11h00 Palestra: Expressão Gênica na Interação Nematóide-Planta**

**Ministrante:** Dr Cleber Furlanetto

Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, PR.

**12h30 Almoço**

**14h00 Apresentação de resumos**

**19h30 Palestra: Biotecnologia de culturas emergentes: uma visão bioeticista**

**Ministrante:** Dra. Luciana Grange

IAPAR – Londrina, PR

**20h30 Intervalo**

**21h00 Palestra: Agricultura Convencional e Biotecnologia**

**Ministrante:** Dra. Vanessa Silva Retuci

Instituto Agrônômico do Paraná

**22h30 Encerramento**

## RESUMOS DAS PALESTRAS

---

### Cleber Furlanetto

---

#### **Expressão Gênica na Interação Nematóide-Planta**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Rua Pernambuco 1777, Marechal Cândido Rondon, PR.

Os nematóides fitoparasitas são responsáveis por perdas econômicas na agricultura mundial da ordem de 125 bilhões de dólares. Dentre as espécies de importância econômica destacam-se as endoparasitas sedentárias pertencentes aos gêneros *Meloidogyne* (nematóide formador de galhas) e *Heterodera* e *Globodera* (nematóides formadores de cisto).

Esses gêneros apresentam o mais elevado grau de parasitismo dentre os nematóides fitoparasitas, pois penetram nas raízes das plantas hospedeiras e migram intra ou intercelularmente até atingirem o cilindro vascular, aonde induzem os chamados sítios de alimentação, conhecidos como células gigantes (*Meloidogyne* spp.) e sincícios (nematóides formadores de cisto).

As células gigantes são formadas pelo crescimento anormal de células seguido de mitoses sucessivas sem citocinese. Já os sincícios são formados pela fusão de células vegetais, seguida de degradação de paredes celulares.

Ao longo de sua evolução, os nematóides fitoparasitas desenvolveram estruturas como estilete, além de modificações morfológicas e fisiológicas no esôfago como as glândulas esofagianas, responsáveis pela secreção de substâncias para o interior das plantas e fundamentais para o estabelecimento das relações parasitárias.

Nas formas endoparasitas sedentárias há três glândulas esofagianas bem distintas, sendo duas subventrais, anterior e posterior, e uma dorsal. As glândulas subventrais são mais ativas e importantes durante os processos de infecção e migração intra ou intercelular de formas pré-parasíticas e parasíticas J2. Porém, durante e após a formação do sítio de alimentação, as glândulas dorsais assumem a função de produção e liberação de secreções para o interior das células.

Os primeiros genes descobertos e com papel importante no parasitismo de nematóides com plantas foram as celulases (Smant et al., 1998), tendo sido o primeiro relato de uma enzima degradadora de parede celular em animais. A partir de então, genes homólogos foram descobertos em diversas outras espécies fitoparasitas, sendo atualmente o gene mais estudado. Está comprovado que celulases são produzidas em glândulas subventrais de formas pré-parasíticas J2 por hibridização *in situ*, juntamente com outras enzimas de parede celular como poligalacturonases e pectinases, auxiliando na penetração e migração até o sítio de alimentação. Outro gene de importância para o parasitismo de nematóides endoparasitas denomina-se *corismato mutase*, o qual também é expresso em glândulas subventrais de nematóides de cisto e de galha. Provavelmente esses genes estão envolvidos na regulação de componentes de defesa das plantas.

Genes com as mais diferentes funções dentro do parasitismo de nematóides também foram descobertos. Como exemplo cita-se aqueles responsáveis pela regulação do ciclo celular como *KNOX* e *PHAN*, proteção contra espécies reativas de oxigênio como superóxido dismutases, catalases e peroxidases, além daqueles envolvidos na formação dos sítios de alimentação.

A evolução da biotecnologia nos últimos dez anos contribuiu consideravelmente para a descoberta de novos genes envolvidos no parasitismo. Técnicas moleculares de amostragem diferencial como cDNA-AFLP, RNA fingerprinting, além do desenvolvimento de anticorpos monoclonais, específicos para secreções de glândulas esofagianas, permitiu a descoberta de alguns genes de importância para o parasitismo nematóide-planta. No entanto, a construção de bibliotecas de cDNA e análises de ESTs (seqüências parciais expressas) em larga escala, abriu caminhos para o entendimento do parasitoma (conjunto de genes envolvidos no parasitismo). Dentre os tipos de bibliotecas, destacam-se aquelas construídas a partir de glândulas esofagianas de nematóides endoparasitas, as quais permitiram a descoberta de clones com função bioquímica desconhecida e sem homólogos em bancos de dados (genes pioneiros), os quais certamente contribuirão para um melhor entendimento das relações parasitárias entre nematóides e plantas.

Espera-se que o contínuo avanço da biotecnologia, aliado a descoberta de novos genes envolvidos no parasitismo nematóide-planta, em breve possamos entender os mecanismos de interação por completo e desenvolver estratégias de controle eficazes.

---

## **Eliezer Ávila Gandra**

---

### **Técnicas Moleculares para Identificação e Tipificação de Bactérias Patogênicas em Alimentos**

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Tecnologia, Rodovia PR 489, N 1400, Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Bloco B, Centro de Tecnologia, Campus Regional de Umuarama – PR.

A partir da década de 80, as técnicas moleculares começaram a ser utilizadas como uma alternativa aos métodos fenotípicos, tradicionalmente, utilizados em microbiologia de alimentos. Foi acelerada esta substituição com advento da descoberta da reação em cadeia da polimerase (polymerase chain reaction – PCR). Esta palestra tem por objetivo revisar as principais técnicas moleculares utilizadas como ferramentas na microbiologia de alimentos, desde as, inicialmente, desenvolvidas, como a análise do perfil plasmidial, até as mais contemporâneas como o PCR em tempo real, discutindo as características, vantagens e desvantagens destas técnicas, avaliando a potencialidade destas para suprir as limitações das técnicas tradicionais.

---

## **Vanessa Silva Retuci**

---

### **Agricultura Convencional e Biotecnologia.**

A atividade agrícola, conforme documentada pela história e por registros arqueológicos tem sido inseparável da evolução e da atividade da sociedade humana (Harlan, 1992).

A agricultura se originou da domesticação de plantas e animais e começou em vários locais, simultaneamente, promovendo mudanças notáveis na maneira como o homem obtinha seu alimento. O extrativismo passou gradativamente a dar lugar à agricultura, transição hoje conhecida como Revolução Agrícola (Flannery, 1973). Foram conseqüências da emergência da agricultura, aumento da população mundial, resultado da facilidade de obtenção alimentar, ou seja, antigamente para alimentar um homem eram necessários 250 há de terra / ano, hoje um há / ano; e o impacto ambiental observado com a substituição dos ecossistemas naturais pela produção agrícola (Borém, 1999).

Segundo Conway & Barbier (1990), o homem domesticou, na sua existência, somente cerca de cem a duzentas, de milhares de espécies vegetais. Destas, menos de 15 atualmente suprem a maior parte da dieta humana, e dividem-se em: cereais – arroz, trigo, milho, sorgo e cevada; raízes e caules – beterraba, cana-de-açúcar, batata, mandioca e inhame; legumes – feijão, soja e amendoim e frutas – citros e banana.

As modificações exigiam do homem a domesticação e melhoramento das plantas buscando as mais adequadas para satisfazer as suas necessidades. O procedimento utilizado pelo homem resumia-se na seleção visual das plantas que mostravam diferenças e que podiam ser de interesse econômico. O melhoramento até então era uma arte.

Com o avanço de outros ramos científicos, o melhoramento de plantas passou a possibilitar aos melhoristas a criação de novos tipos de plantas, pela modificação dirigida dos caracteres hereditários, juntamente, ocorreu o melhoramento ambiental, por intermédio de adubação, irrigação, controle de pragas, doenças e plantas invasoras e outras práticas agrícolas, e assim progresso no rendimento.

Para alcançar seus objetivos os melhoristas têm contado com o auxílio de algumas ferramentas valiosas. Dois dos principais fatores da evolução, a recombinação e a seleção, têm sido intensivamente utilizados pelos melhoristas, com o emprego de métodos refinados desenvolvidos na primeira metade do século passado. As mutações, o terceiro grande fator da evolução, são instrumentos adicionais, capazes de auxiliar os métodos convencionais de melhoramento, mais que substituí-los, para o aumento da variabilidade genética das espécies. A esterilidade masculina também tem sido empregada, pois facilita e diminui os custos do trabalho de cruzamentos para a criação de híbridos de culturas alógamas e, no caso de autógamas, abre perspectivas para o uso prático da heterose, por intermédio de variedades híbridas (Duvick, 1986). Nos últimos anos surgiu nova e altamente promissora ferramenta, a biologia molecular.

O início do século passado foi marcado pela redescoberta das leis de Mendel, por volta de 1910 descobriu-se a heterose, na década de vinte ocorreu o desenvolvimento do melhoramento convencional. A mutagenese e a utilização de métodos estatísticos, com marco na década de 30 e na

década seguinte os grandes avanços na genética quantitativa. Na década de 50 a fisiologia, na de 60 a bioquímica, 70 cultura de tecidos e na de 80 a biologia molecular (Borém, 1998).

A Revolução Verde certamente foi uma das maiores demonstrações do impacto econômico e social que o melhoramento de plantas pode ter no mundo, os avanços continuam e pode-se dizer que a biotecnologia está crescendo cada dia mais. Muitos melhoristas do setor público e privado, responsáveis por mais de vinte diferentes culturas, em diversos países, destacam que a importância atual dos marcadores moleculares no desenvolvimento de variedades foi considerada pequena, mas grande para o futuro próximo. Muitos dos pesquisadores acreditam que as principais aplicações dos marcadores moleculares seriam: introgressão de fatores monogênicos, assistida por marcadores, transferência de QTLs e transgenes, assistida por marcadores e seleção de progenitores (Lee, 1995). No melhoramento convencional são necessários vários ciclos de avaliação, seleção e recombinação dos melhores genótipos, para a obtenção de uma nova cultivar. A biologia molecular e celular possibilitou um conhecimento mais aprofundado da genética e biologia dos organismos, fornecendo ferramentas para a manipulação do genótipo dos mesmos. Assim, através da biotecnologia, uma série de metodologias surgiu para auxiliar o melhoramento genético, possibilitando resultados em menor tempo. Basicamente, estas técnicas correspondem à utilização da cultura de tecidos, transformação genética de plantas com genes vindos de outros organismos e utilização de marcadores moleculares. Porém o custo da tecnologia, a interação genótipo x marcador e a dificuldade operacional da técnica são fatores limitantes na utilização dos marcadores moleculares (Souza em Nass, 2001).

Segundo Borém (1999), especula-se que haja a necessidade de uma nova Revolução Verde para aumentar a produção de alimentos no mundo. Logo surge a pergunta: será que a biotecnologia poderá levar o melhoramento de plantas a uma nova Revolução Verde? Acredita-se que já existem evidências que apontam ser esse fato possível. O número de variedades transgênicas de várias espécies, a serem lançadas nos próximos anos, irá aumentar de forma substancial. Variedades resistentes a herbicidas já estão entre o grupo de produtos predominantes para a maioria das espécies, seguidas de resistência a insetos, entre outros.

O que preocupa é se há risco em tal prática agrícola, pois a transformação de diferentes espécies vegetais com o mesmo gene pode levar a vulnerabilidade biotecnológica interespecífica, resultando em um risco endêmico. Somente o uso correto da biotecnologia como auxiliar ao melhoramento, permitirá que os riscos sejam minimizados e os benefícios maximizados.

Ainda é importante lembrar que a fonte de genes mais utilizada no desenvolvimento varietal continuará sendo o germoplasma núcleo das espécies cultivadas. Os principais métodos para o desenvolvimento de novas variedades também serão aqueles que utilizam hibridação. A mais onerosa etapa no desenvolvimento será a das avaliações de campo, e a biotecnologia será gradativamente incorporada à rotina do melhoramento, como instrumento para desenvolver novas variedades, tornando o melhoramento genético mais preciso, tendo como objetivos: redução do tempo para obtenção de novas variedades e expansão do conjunto gênico disponível para cada programa de melhoramento.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORÉM, A. 1998. Melhoramento de Plantas. 22 edição, Viçosa: Editora UFV, 453 p.  
BORÉM, A.; MILACH, S. K. 1999. O Melhoramento de Plantas na Virada do Milênio. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, n. 7, p. 68-72.  
CONWAY, G.; BARBIER, E. 1990. After the Green Revolution. London: Earthscar Press, 204 p.  
DUVICK, D. N. 1986. Plant breeding: past achievements and expectations for the future. Econ. Bot., v.40, p. 289-297.  
FLANNERY, K. V. 1973. The origins of agriculture. Ann. Rev. of Anthropic, v.2, p. 271-310.  
HARLAN, J. R. 1992. Crops & Man, Madison: ASA Press, 184 p.  
LEE, M. 1995. DNA markers and plant breeding programs. Advances in Agronomy, v.55, p.265-344.  
NASS, L. L.; VALOIS A. A. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. 2001. Recursos Genéticos & Melhoramento – Plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 1183 p.

**ARTIGOS ORIGINAIS**

## ANÁLISE DAS VARIAÇÕES INTERANUAIS NAS OCORRÊNCIAS ESPAÇO-TEMPORAIS DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES AMEAÇADOS DE EXTINÇÃO NA REGIÃO DO ALTO RIO PARANÁ

Rafael Bier Conte<sup>1</sup>; Pablo Henrique dos Santos Picapedra<sup>2</sup>; Aline Maria Gavião<sup>2</sup>; Evelyn Barzotto da Silva<sup>2</sup>; Edilaine Della Valentina Gonçalves<sup>2</sup>; Maikon Levandowski<sup>2</sup>; Renato Evandro Ortolan de Rezende<sup>2</sup>; Paulo Vanderlei Sanches<sup>3</sup>

**INTRODUÇÃO** Atualmente as principais ameaças à diversidade genética nos rios brasileiros são a poluição, assoreamento, eutrofização, sobrepesca e a construção de barragens para diversos fins, que controla o regime natural de cheias. Dentre as 2.121 espécies de peixes, 134 estão ameaçadas de extinção (BUCKUP & MENEZES, 2003), entre elas, o Dourado (*Salminus brasiliensis*) que é considerada com alto risco e o Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) corre risco de ficar ameaçado num futuro próximo (MIKICH, S.B. & R.S. BERNILS. 2004). A região do Parque Nacional de Ilha Grande representa o último trecho livre de barramentos do rio Paraná em território nacional (AGOSTINHO et al. 1992), sendo assim, de extrema importância para a conservação da biodiversidade íctica.

**OBJETIVO** - Analisar os períodos mais relevantes e os principais locais de desova e desenvolvimento inicial, bem como as flutuações nas ocorrências interanuais nas capturas de *Pseudoplatystoma corruscans* e *Salminus brasiliensis*.

**MATERIAIS E MÉTODOS** - Foram determinadas 22 estações de amostragem distribuídas no leito principal do rio Paraná, lagoas marginais e principais afluentes. As coletas foram noturnas, realizadas em 4 etapas sempre entre outubro a março entre os anos de 2003 e 2007, utilizando-se redes de plâncton de malha 0,5 mm, as quais foram expostas por 10 minutos junto à superfície da água. As abundâncias foram padronizadas para um volume de 10m<sup>3</sup> de água filtrada.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO** - Para *Pseudoplatystoma corruscans*, em geral, ocorreram baixas capturas durante o período de estudo, variando de 0,019 (no período II), e 0,046 ind./10m<sup>3</sup> (IV período). Embora tenha sido registrado um aumento entre as capturas entre os períodos analisados, este foi pequeno, não permitindo afirmar com certeza que houve um aumento nas desovas da espécie. Dentre os meses de desova, ocorreu um acréscimo gradual a partir do mês de outubro (0,027 ind./10m<sup>3</sup>) com pico de desova no mês de dezembro (0,090 ind./10m<sup>3</sup>). Dentre as estações de amostragem as capturas mais relevantes foram registradas na estação Bandeirantes-margem direita, com densidade média de 0,33 ind./10m<sup>3</sup> no período IV, sendo que esta foi também a de maior abundância nos demais períodos. Tal fato indica que as áreas de desova de *P. corruscans* se localizam fora da área do Parque Nacional, provavelmente no rio Ivinheima, localizado alguns quilômetros acima. Com relação a *Salminus brasiliensis*, um acréscimo gradual na captura das larvas foi observado entre os períodos I e III (0,097 e 0,183 ind./10m<sup>3</sup>, respectivamente) com decréscimo brusco no último período (0,068 ind./10m<sup>3</sup>). Observou-se que o do período de desova ocorre entre os meses de outubro e março com pico no mês de outubro (0,312 ind./10m<sup>3</sup>). Dentre as estações de amostragem a mais relevante foi Amambaí, com 2,08 ind./10m<sup>3</sup> no período III, sendo que esta é mais relevante em todos os períodos. As maiores ocorrências de larvas nessa estação indica que a espécie procura o afluente para realizar suas desovas.

**CONCLUSÃO** - Os resultados obtidos nesse estudo indicam que ambas as espécies procuram os afluentes do rio Paraná para realizarem suas desovas e que embora tenha se observado um pequeno acréscimo nas ocorrências estas foram discretas e insuficientes para afirmar se esse acréscimo está mais relacionado a fatores como variação na pluviosidade e nível fluviométrico do que ao aumento da atividade reprodutiva das espécies em questão.

## REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, A. A.; JULIO JR.; H. F.; BORGHETTI, J. R.; Considerações sobre os impactos dos represamentos na ictiofauna e medidas para sua atenuação. Um estudo de caso: reservatório de Itaipu. **Rev. Unimar**. nº 14, 1992, p. 89 – 107
- BUCKUP, P.A. ; MENEZES, M.A. **Catálogo de peixes marinhos e de água doce do Brasil**, 2ª Ed., 2003.
- MIKICH, S.B. & R.S. BERNILS. **Livro Vermelho da Fauna Ameaçada no Estado do Paraná**. 2004.
- Disponível em: <http://www.pr.gov.br/iap>. Acessado em: 09 jul 2008.

<sup>1</sup> Mestrando em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – Universidade Paranaense

<sup>2</sup> Acadêmicos de Ciências Biológicas – Universidade Paranaense – Campus Toledo

<sup>3</sup> Docente – Universidade Paranaense– Campus Toledo e Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – Universidade Paranaense Campus Umuarama. [pvs@unipar.br](mailto:pvs@unipar.br) Orientador

**AVALIAÇÃO DAS ABUNDÂNCIAS DE LARVAS DE *Salminus brasiliensis* (CHARACIDAE, SALMININAE) NA REGIÃO DO PARQUE NACIONAL DE ILHA GRANDE**

Pablo Henrique dos Santos Picapedra<sup>1</sup>; Aline Maria Gavião<sup>1</sup>; Evelyn Barzotto da Silva<sup>1</sup>; Edilaine Della Valentina Gonçalves<sup>1</sup>; Maikon Levandowski<sup>1</sup>, Renato Evandro Ortolan de Rezende<sup>1</sup>; Rafael Bier Conte<sup>2</sup>; Paulo Vanderlei Sanches<sup>3</sup>

**INTRODUÇÃO:** *Salminus brasiliensis* popularmente conhecido como dourado é uma espécie reofílica, apresenta grande porte podendo chegar aos 30 quilos e 1,30 metros de comprimento. Em levantamentos realizados anteriormente à formação do reservatório da usina hidrelétrica de Itaipu, a espécie era uma das mais abundantes nas pescarias praticadas no rio Paraná. Vários fatores são apontados como responsáveis pelo declínio da espécie, variando desde sobrepesca até o controle de fluxo imposto pelas diversas barragens presentes no leito do rio Paraná (SANCHES et al., 2006).

**OBJETIVO:** Determinar as abundâncias e os possíveis locais de desova e desenvolvimento inicial de *S. brasiliensis* na área do Parque Nacional de Ilha Grande.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Para a execução do trabalho foram estabelecidas 22 estações de amostragem, distribuídas no canal principal do rio Paraná, principais afluentes e lagoas marginais na região do Parque Nacional de Ilha Grande. As amostragens foram realizadas mensalmente de outubro a março nos períodos de 2003 a 2007, sempre no período noturno, utilizando-se rede de plâncton de malhagem 0,5 mm, as quais ficaram expostas durante 10 minutos. Os indivíduos foram classificados de acordo com o grau de flexão da notocorda e desenvolvimento dos elementos de suporte da nadadeira caudal segundo Nakatani et al. (2001) e as abundâncias de larvas foram padronizadas para um volume de 10 m<sup>3</sup> de água filtrada.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Durante as etapas de amostragem foram coletadas 259 larvas sendo verificada maior média de captura por estação no período de 2005-2006 com 1,055 ind./10m<sup>3</sup>. Com relação à densidade média mensal, ocorreram capturas de outubro a março, sendo outubro o mais representativo, com média de 0,277 ind./10m<sup>3</sup>. Estes resultados mostram que o período de desova da espécie concentra-se nos meses de maiores temperaturas e fotoperíodo (SUZUKI; AGOSTINHO 1997). As estações de amostragem com maiores densidades foram Piquiri com 0,767 ind./10m<sup>3</sup> (03-04), e Amambaí com 2,00 ind./10m<sup>3</sup> (05-06). As maiores ocorrências de larvas em estágio inicial de desenvolvimento foi Amambaí com 4,55 ind./10m<sup>3</sup>, para o estágio larval vitelino, e estação Porto Santo Antônio com 0,47 ind./10m<sup>3</sup> para pré-flexão. Larvas em estágio mais avançado foram registradas na estação Bandeirantes Margem Direita com 0,40 ind./10m<sup>3</sup>. A captura de indivíduos em estágio inicial de desenvolvimento nas estações localizadas nos tributários e áreas de influência indica que estas estão próximas a áreas de desova e mostram que estes rios são utilizados como rotas migratórias e áreas de reprodução. A presença de larvas em estágio de flexão na estação Bandeirantes Canal Direito, é devida à desovas ocorridas provavelmente no rio Ivinheima, localizado alguns quilômetros acima da área do parque.

**CONCLUSÃO:** Os resultados verificados neste trabalho demonstram que as capturas de larvas *S. brasiliensis* em estágios iniciais do desenvolvimento nos tributários Amambaí e Piquiri permitem determinar estes locais como áreas de desova da espécie e revelam a importância da manutenção de sua integridade e a necessidade de sua preservação.

## REFERÊNCIAS

- Sanches, P. V.; Nakatani, K.; Bialetzki, A.; Baumgartner, L. C. G. e Luiz, E. A., **Flow regulation dams affecting ichthyoplankton: the case of Porto Primavera dam, Paraná river, Brasil**. River Research and Applications **22**:555-565. 2006.
- Nakatani, K.; Agostinho, A.A.; Baumgartner, G.; Bialetzki, A.; Sanches, P. V.; Markrakis, M.C.; Pavanelli, C. S. **Ovos e larvas de peixe de água doce: Desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá: EDUEM. 2001.
- Suzuki, H.I.; Agostinho, A.A.; Reprodução de peixes do reservatório de segredo. In: Agostinho, A.A.; Gomes, L.C. **Reservatório de segredo: bases ecológicas para o manejo**. Maringá: EDUEM. p. 163-180. 1997.

<sup>1</sup> Acadêmicos de Ciências Biológicas – Universidade Paranaense – Campus Toledo

<sup>2</sup> Mestrando em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – Universidade Paranaense – Campus Umuarama

<sup>3</sup> Docente – Universidade Paranaense – Campus Toledo e Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – Universidade Paranaense Campus Umuarama. pvs@unipar.br Orientador

DINÂMICA TEMPORAL DOS ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO LARVAL DE *Hypophthalmus edentatus* NA LAGOA XAMBRÊ – REGIÃO DO PARQUE NACIONAL DE ILHA GRANDE – DADOS PRELIMINARES

Maikon Levandowski<sup>1</sup>; Aline Maria Gavião<sup>1</sup>; Edilaine D. V. Gonçalves<sup>1</sup>; Evelyn B. da Silva<sup>1</sup>; Pablo Henrique dos Santos Picapedra<sup>1</sup>; Rafael Bier Conte<sup>2</sup>; Renato E. O. de Rezende<sup>1</sup>, Paulo Vanderlei Sanches<sup>3</sup>

**INTRODUÇÃO:** Os estudos sobre distribuição de ovos e larvas de peixes fornecem evidências consistentes sobre época e locais de reprodução e de criadouros naturais, sendo importante para a tomada de medidas efetivas de proteção das populações, visto que o recrutamento depende fortemente da integridade desses ambientes.

**OBJETIVO:** Verificar as variações temporais (mensal e nictimeral) das larvas de *H. edentatus* e relacionar a distribuição dos estágios de desenvolvimento com os diferentes horários de captura.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram realizadas coletas mensais na lagoa Xambrê, durante o período de outubro de 2006 a setembro de 2007, através de ciclos nictimerais com intervalos de 4 horas entre as coletas. Para tanto foram utilizadas redes de plâncton de malha 0,5mm, as quais foram arrastadas junto à superfície da água com o barco a baixa velocidade durante 10 minutos. As abundâncias foram padronizadas para um volume de 10m<sup>3</sup>, de acordo com Nakatani et al (2001). Após as triagens e identificação, as larvas foram classificadas de acordo com o grau de flexão da notocorda, de acordo com Alhstrom e Moser (1976), modificado por Nakatani et al (2001), em estágios Larval-vitelino (LV), pré-flexão (PF), Flexão (FL), pós-flexão (FP) e juvenil (Juv).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** As maiores capturas foram registradas nos meses de outubro de 2006 e setembro de 2007 (1635,13 e 770,25 ind./10m<sup>3</sup>, respectivamente), meses nos quais ocorrem maiores valores de temperatura e pluviosidade como gatilhos indutores da desova dos peixes. Com relação às ocorrências por horário, as maiores abundâncias foram registradas no período noturno, com predomínio das 04:00h, com 1228,35 ind/10m<sup>3</sup>. Esta é uma estratégia apresentada a fim de evitar uma predação por predadores visuais e por motivos tróficos, onde acompanha a migração vertical do zooplâncton, principalmente, microcrustáceos (cladóceros e copépodos), base de sua alimentação. Para as ocorrências por estágios de desenvolvimento, houve um predomínio de larvas em estágio de flexão com 1241,12 ind. 10m<sup>3</sup>, seguido de larvas em pós- flexão com 382,58 12 ind. 10m<sup>3</sup>. Em relação aos estágios de desenvolvimento por horário, foi observado que larvas em estágio inicial de desenvolvimento (LV e PF) ocorreram em todos os horários amostrados, enquanto que as em estágio mais adiantados (FL e FP) se concentraram no período noturno e às 08:00h. Já indivíduos juvenis ocorreram somente as 04:00 h. As larvas em estágios iniciais de desenvolvimento por não possuírem estruturas locomotoras e sistema nervoso bem desenvolvidos, ficam expostas no ambiente, até atingirem estágios mais avançados, onde procuram refúgio nas áreas protegidas, principalmente nas margens abundantemente cobertas por macrófitas, ali permanecendo e saindo no período noturno para se alimentarem.

**CONCLUSÃO:** Os dados obtidos revelam que as larvas de *H. edentatus* ocorreram nos períodos de maiores temperaturas e pluviosidades, e evitam a predação saindo a noite para se alimentar, acompanhando a migração do zooplâncton. Os estágios iniciais de desenvolvimento ficam expostos na coluna da água, procurando refúgio nas áreas protegidas conforme seu desenvolvimento.

**REFERÊNCIAS:**

Nakatani, K. Agostinho A.A.; Baumgartner, G.; Bialetzki, A.; Sanches, P.V., Makrakis, M.C., Pavanelli, C.S. 2001. **Ovos e larvas de peixes de água doce: Desenvolvimento e manual de identificação.** Eduem/Nupélia. Maringá.

<sup>1</sup>Acadêmicos de Ciências Biológicas – Universidade Paranaense.

<sup>2</sup>Mestrando em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – Universidade Paranaense

<sup>3</sup>Docente – Universidade Paranaense– Campus Toledo e Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – Universidade Paranaense Campus Umuarama. pvs@unipar.br Orientador

DISTRIBUIÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL DE LARVAS DE *Rhamdia quelen* (PISCES – SILURIFORMES) NA REGIÃO DO PARQUE NACIONAL DE ILHA GRANDE – ALTO RIO PARANÁ Evelyn Barzotto da Silva<sup>1</sup>; Pablo Henrique dos Santos Picapedra<sup>1</sup>; Aline Maria Gavião<sup>1</sup>; Edilaine Della Valentina Gonçalves<sup>1</sup>; Maikon Levandowski<sup>1</sup>; Renato Evandro Ortolan de Rezende<sup>1</sup>; Rafael Bier Conte; Paulo Vanderlei Sanches<sup>3</sup>

**INTRODUÇÃO:** A *Rhamdia quelen* conhecida popularmente como Jundiá ou bagre sapo, é considerada uma espécie migradora, é encontrada nas principais bacias brasileiras (AGOSTINHO; GOMES; PELICICE 2007). Por serem migradoras, as barragens e represas influenciam significativamente no seu ciclo de vida, uma vez que a bacia do rio Paraná é uma das mais impactadas em termos de usinas hidrelétricas no Brasil, representando assim um obstáculo para a continuidade da migração, prejudicando sua reprodução.

**OBJETIVO:** Determinar a abundância mensal e os possíveis locais de desova e desenvolvimento inicial da *Rhamdia quelen* na área do Parque Nacional de Ilha Grande.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram determinadas 22 estações de amostragem distribuídas no leito principal do rio Paraná, lagoas marginais e principais afluentes. As coletas foram noturnas, realizadas em 4 etapas sempre entre outubro a março entre os anos de 2003 e 2007, utilizando-se redes de plâncton de malha 0,5 mm, as quais foram expostas por 10 minutos junto à superfície da água. As abundâncias foram padronizadas para um volume de 10m<sup>3</sup> de água filtrada. Os indivíduos foram classificados de acordo com o grau de flexão da notocorda, conforme proposto por Ahlstrom e Moser (1984), modificado por Nakatani et. al (2001),

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Durante os período de amostragem, foram capturadas 415 larvas, sendo constatado maior média de captura por estação no período de 2006/2007 com 6,29 ind./10m<sup>3</sup>. Em relação à captura mensal, foram verificadas maiores médias no mês de Janeiro, fato ocorrido provavelmente pela influência do aumento da temperatura, fotoperíodo e da pluviosidade, considerados gatilhos para as desovas dos peixes. Em relação à distribuição espacial, as estações localizadas mais a jusante da área do parque, especificamente áreas lênticas foram as que apresentaram maiores abundâncias, sendo a estação Saraiva Meio com 1,63 ind./10m<sup>3</sup>, ambientes que se caracterizam por apresentarem densa cobertura vegetal nas margens, oferecendo abrigo e alimento abundante para as formas jovens. Larvas em início de desenvolvimento (LV e início de PF) foram capturadas em praticamente todas as estações presentes no rio Paraná e nos afluentes, porém as em estágios mais avançados de desenvolvimento (final de PF e FL) foram capturadas principalmente nas estações Saraiva Canal e Saraiva Meio, indicando que essa espécie provavelmente procura nas estações localizadas nos afluentes para realizar suas desovas e suas larvas são transportados passivamente pela correnteza até as áreas de crescimento, a jusante do parque especialmente nas lagoas marginais, ambientes que apresentam uma grande relevância na dinâmica reprodutiva e para o recrutamento das espécies migradoras.

**CONCLUSÃO:** Tais resultados revelam a importância dos afluentes do rio Paraná que se constituem em rotas migratórias alternativas para as desovas, e a importância das lagoas marginais como berçários naturais e a necessidade da preservação desses ambientes.

## REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, A.A.; GOMES L.C.; ZALEWSKI, M. **The importance of floodplains for the dynamics of fish communities of the upper river Paraná**, [S.L], Ecohydrology e hydrobiology, v.1, n.1, p. 209 – 217, 2001.
- NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A.A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P. V.; MARKRAKIS, M. C.; PAVANELLI, C. S. **Ovos e larvas de peixe de água doce: Desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá: EDUEM / Nupélia. 2001.

<sup>1</sup> Acadêmicos de Ciências Biológicas – Universidade Paranaense.

<sup>2</sup> Mestrando em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – Universidade Paranaense

<sup>3</sup> Docente – Universidade Paranaense – Campus Toledo e Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – Universidade Paranaense Campus Umuarama. pvs@unipar.br Orientador

## ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE LINHAGENS DE *Agaricus brasiliensis* COM BASIDIOCARPO FECHADO

Francielly Mourão<sup>1</sup>, Suzana Harue Umeo<sup>2</sup>, Tatiane de Souza Domingos<sup>3</sup>, Giani Andrea Linde Colauto<sup>4</sup>, Nelson Barros Colauto<sup>5</sup>.

**INTRODUÇÃO:** O *Agaricus brasiliensis* Wasser et al. (*A. blazei* Murrill ss. Heinemann), considerado como *A. subrufescens* por Kerrigan (2005), conhecido popularmente como “cogumelo-do-sol”, é um cogumelo funcional, que tem despertado a atenção da comunidade científica<sup>1</sup>. A funcionalidade deste cogumelo tem sido atribuída, principalmente, as  $\beta$ -glucanas, polissacarídeos de membrana que possuem variedade considerável de atividade biológica (antitumoral, antidiabético, antiféccioso, anticarcinogênico, antimutagênico e antimetastático) (TAKASHI, et al., 1990). Estudos relatam que o cogumelo *A. brasiliensis* possui função de antioxidantes que são substâncias que podem retardar os processos oxidativos (CAMELINI, et al., 2005). Entretanto, não foi verificado a diversidade das linhagens e a influência do estágio de maturação do basidiocarpo sobre a atividade antioxidante deste cogumelo. Outro fator é a dificuldade taxonômica encontrada para definir esta espécie, podendo este teste auxiliar a diferenciar as linhagens existentes. A busca por novas moléculas com propriedades antioxidantes é necessária para obtenção de novos fármacos e com maior eficiência.

**OBJETIVO:** O objetivo desse trabalho foi determinar a atividade antioxidante de linhagens do cogumelo *Agaricus brasiliensis* com basidiocarpo fechado.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Paranaense – Unipar, Campus Sede. Foram utilizadas 4 linhagens do fungo *A. brasiliensis* com basidiocarpo fechado (ABL26, ABL28, ABL29, ABL29A). Para o preparo do extrato bruto 0,1 g de cogumelo pulverizado foi homogeneizado com metanol (1:5). A mistura foi mantida em banho maria a 60°C por 15 min. Os extratos foram resfriados imediatamente em banho de gelo por 15 minutos e centrifugados a 7500 rpm por 5 minutos a 5 °C. O sobrenadante foi considerado extrato bruto e utilizado para teste da atividade antioxidante pelo método de DPPH. Para cada 0,1 ml da amostra foi adicionado 2,9 ml de solução de DPPH (60 $\mu$ m) preparado no momento do uso. A leitura foi realizada após 30 minutos. A absorbância foi medida a 515 nm usando o espectrofotômetro. A diminuição da absorbância indica maior atividade antioxidante.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** As diferentes linhagens estudadas de *A. brasiliensis* com basidiocarpo fechado apresentaram atividade antioxidante. A linhagem ABL29A apresentou melhor atividade (0,048611), seguida pela linhagem ABL26 (0,0585), ABL29 (0,073278) e ABL28 (0,0835). A atividade do cogumelo deve-se a presença de glucanas. A quantidade de glucanas pode ser diferente segundo a fase de desenvolvimento do cogumelo, refletindo assim em sua atividade biológica<sup>3</sup>. Esse estudo comprova a ação antioxidante das glucanas presentes no cogumelo *A. brasiliensis* com basidiocarpo fechado.

**CONCLUSÃO:** Conclui-se as diferentes linhagens do cogumelo *A. brasiliensis* com basidiocarpo fechado possui ação antioxidante, destacando a linhagem ABL29A com maior atividade.

### REFERÊNCIAS:

- TAKASHI, M.; HAGIWARA, T.; NAKAMURA, T.; ITO, H.; SHIMURA, K.; SUMIYA, T.; ASAKURA, A. Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from “himematsutake” the fruiting body of *Agaricus blazei* Murril. **Agric. Biology Chemical**, v. 54, n. 11, p. 2889-2896, 1990.
- CAMELINI, C. M.; MARASCHIN, M.; MENDONÇA, M. M.; ZUCCO, C.; FERREIRA, A. G.; TAVARES, L. A. Structural characterization of  $\beta$ -glucans of *Agaricus brasiliensis* in different stages of fruiting body maturity and their use in nutraceutical products. **Biotechnology Letters**, v. 27, p. 1295-1299, 2005.

<sup>1</sup>Mestranda em Biotecnologia Aplicada a Agricultura – UNIPAR – Umuarama - Pr (franciellymg@unipar.br)

<sup>2</sup>Acadêmica de Farmácia – PIBIC – UNIPAR – Umuarama – Pr.

<sup>3</sup>Acadêmica de Farmácia – PIC – UNIPAR – Umuarama - Pr

<sup>4</sup>Docente do curso de Farmácia – UNIPAR

<sup>5</sup>Docente do curso de Biologia – UNIPAR

### ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE LINHAGENS DE *A. brasiliensis* COM BASIDIOCARPO ABERTO

Francielly Mourão<sup>1</sup>, Suzana Harue Umeo<sup>2</sup>, Tatiane de Souza Domingos<sup>3</sup>, Giani Andrea Linde Colauto<sup>4</sup>, Nelson Barros Colauto<sup>5</sup>.

**INTRODUÇÃO:** *Agaricus brasiliensis* Wasser & Didukh (*Agaricus blazei* ss. Heineman), popularmente conhecido como Cogumelo Medicinal, é um fungo de cultivo expressivo no Brasil e nativo do continente americano. O fungo, devido às suas propriedades medicinais evidenciadas em diversos trabalhos científicos (WASSER e WEIS, 1999), vem ganhando importância em diversos países que utilizam os cogumelos. Os diferentes estágios de maturação podem influenciar na atividade biológica dos cogumelos. As  $\beta$ -D-glucanas dos fungos são polissacarídeos com função estrutural na parede celular do micélio e das frutificações, características que lhes conferem estruturas específicas e ações biológicas distintas, sendo, portanto, a característica estrutural um fator fundamental para a atividade das  $\beta$ -D-glucanas no sistema imunológico (PELOSI et al., 2003). Pesquisas confirmam variação na quantidade de substância ativa nos diferentes estágios de desenvolvimento, tendo-se verificado que existe variação no teor, na estrutura e na atividade biológica das  $\beta$ -D-glucanas (CAMELINI et al., 2005).

**OBJETIVO:** O objetivo desse trabalho foi determinar a atividade antioxidante de linhagens do cogumelo *Agaricus brasiliensis* com basidiocarpo aberto.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Paranaense – Unipar, Campus Sede. Foram utilizadas 5 linhagens do fungo *A. brasiliensis* com basidiocarpo aberto ABL26, ABL28, ABL29, ABL 29A, ABL30. Para o preparo do extrato bruto 0,1 g de cogumelo pulverizado foi homogeneizado com metanol (1:5). A mistura foi mantida em banho maria a 60°C por 15 min. Os extratos foram resfriados em banho de gelo por 15 minutos e centrifugados a 7500 rpm por 5 minutos a 5 °C. O sobrenadante foi considerado extrato bruto e utilizado para teste da atividade antioxidante pelo método de DPPH. Para cada 0,1 ml da amostra foi adicionado 2,9 ml de solução de DPPH (60 $\mu$ m) preparado no momento do uso. A leitura foi realizada após 30 minutos. A absorbância foi medida a 515 nm usando o espectrofotômetro. A diminuição da absorbância indica maior atividade antioxidante.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** As diferentes linhagens estudadas de *A. brasiliensis* com basidiocarpo aberto apresentaram atividade antioxidante. Dentre as linhagens estudadas a que mostrou maior atividade antioxidante foi ABL29A (0,089), seguida pelas linhagens ABL26 (0,099), ABL30 (0,143), ABL28 (0,205) e ABL29 (0,229). Esse fato pode ser explicado devido a maior quantidade de  $\beta$ -D-glucanas no basiocarpo aberto (CAMELINI et al., 2005).

**CONCLUSÃO:** Conclui-se as diferentes linhagens do cogumelo *A. brasiliensis* com basidiocarpo aberto possui ação antioxidante, destacando a linhagem ABL29A com maior atividade.

#### REFERÊNCIAS:

WASSER, S. P.; WEIS, A. L. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: Current perspectives (review). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 1, p. 31-62, 1999.

PELOSI, L.; IMAI, T.; CHANZY, H.; HEUX, L.; BUHLER, E.; BULONE, V. Structural and morphological diversity of (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucans synthesized in vitro by enzymes from *Saprolegnia monoica*: comparison with a corresponding *in vitro* product from blackberry (*Rubus fruticosus*). **Biochemistry**, v. 42, p. 6274-6274, 2003.

CAMELINI, C. M.; MARASCHIN, M.; MENDONÇA, M. M.; ZUCCO, C.; FERREIRA, A. G.; TAVARES, L. A. Structural characterization of  $\beta$ -glucans of *Agaricus brasiliensis* in different stages of fruiting body maturity and their use in nutraceutical products. **Biotechnology Letters**, v. 27, p. 1295-1299, 2005.

<sup>1</sup>Mestranda em Biotecnologia Aplicada a Agricultura – UNIPAR – Umuarama - Pr (franciellymg@unipar.br)

<sup>2</sup>Acadêmica de Farmácia – PIBIC – UNIPAR – Umuarama – Pr.

<sup>3</sup>Acadêmica de Farmácia – PIC – UNIPAR – Umuarama - Pr

<sup>4</sup>Docente do curso de Farmácia – UNIPAR

<sup>5</sup>Docente do curso de Biologia – UNIPAR

## ATIVIDADE ANTITUMORAL DO COGUMELO *Agaricus brasiliensis* EM DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DO BASIDIOCARPO

Francielly Mourão<sup>1</sup>, Aristeu Vieira da Silva<sup>2</sup>, Giani Andrea Linde colauto<sup>3</sup>, Nelson Barros Colauto<sup>4\*</sup>.

**INTRODUÇÃO:** O desenvolvimento de tumores pode ser induzido por algumas substâncias como aflatoxina B1, cafeína e aminas aromáticas. Estas substâncias podem ter efeito mutagênico, induzindo mutações no DNA. *Agaricus brasiliensis* Wasser et al. (*A. blazei* Murrill ss. Heinemann), que segundo Kerrigan (2005) é *A. subrufescens* Peck, é um Basidiomiceto que tem sido alvo de vários estudos em relação as suas substâncias antitumorais<sup>1</sup>. Basidiocarpos em diferentes estágios de crescimento de *A. brasiliensis* apresentaram aumento da concentração de proteínas e de  $\beta$ -D-glucanas, consideradas responsáveis pelo efeito antineoplásico<sup>2</sup>. Entretanto, não há relatos conclusivos se o(s) princípio(s) ativo(s) antineoplásico(s) do basidiocarpo são mais efetivos em um determinado estágio de crescimento.

**OBJETIVO:** o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antineoplásica de extrato de basidiocarpos abertos e fechados do fungo *Agaricus brasiliensis* em camundongos implantados com células de Sarcoma 180.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** O cogumelo utilizado para o experimento foi o *A. brasiliensis* 97/11 do Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Paranaense. O cogumelo foi colhido em diferentes fases de crescimento do basidiocarpo. Uma mistura de cogumelo moído com água na proporção de 1: 10 foi mantida em banho maria à 90 °C durante 12 h. A solução foi filtrada e armazenado em alíquotas diárias de uso a -70 °C. Após descongelado o filtrado foi administrado em roedores. Para a obtenção das células de Sarcoma 180 foram obtidas do peritônio de camundongos inoculados mantidos por 10 dias. Os camundongos Swiss fêmeas com 21 dias de idade do biotério da UNIPAR – Campus Umuarama, foram inoculados por via intraperitoneal com 10<sup>6</sup> células de Sarcoma 180. Após sete dias os roedores foram divididos em três grupos: "Controle" (0,1 ml de solução de NaCl 0,18%); "Fechado" (0,1 mL de extrato do cogumelo fechado) e "Aberto" (0,1 mL de extrato do cogumelo aberto). A solução salina e os extratos foram administrados via oral diariamente. Após 30 dias do início do tratamento os animais sofreram eutanásia, sendo o baço e a massa tumoral retirados e medidos. O volume do tumor foi calculado considerando seu diâmetro máximo e mínimo e a porcentagem de inibição foi calculada considerando o volume do tumor do grupo. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEEPA) pela Universidade Paranaense, em reunião realizada em 07/06/2004.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Não houve diferença significativa do índice esplênico entre os grupos experimentais. O grau de inibição do crescimento tumoral em comparação ao grupo Controle foi de 90,80% no grupo Fechado e de 87,64% no grupo Aberto. Segundo nossos resultados estas diferenças não foram suficientes para afetar a atividade biológica do basidiocarpo na capacidade de inibição do Sarcoma 180. Isto sugere que a beta-glucana não seja o principal componente da atividade biológica ou que outros fatores estão atuando concomitantemente.

**CONCLUSÃO:** Conclui-se que não há diferença significativa para a inibição do crescimento tumoral em função do estágio de crescimento do basidiocarpo para a linhagem 97/11 de *Agaricus brasiliensis*, sendo a atividade antineoplásica média dos basidiocarpos de 89,22%.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

<sup>1</sup> BRAGA, G. C.; EIRA, A. F.; CELSO, P. G.; COLAUTO, N. B. **Manual do cultivo de *Agaricus blazei* Murril "Cogumelo-do-sol"**. Botucatu: FEPAF, 1998.

<sup>2</sup> CAMELINI, C. M.; MARASCHIN, M.; MENDONÇA, M. M.; ZUCCO, C.; FERREIRA, A. G.; TAVARES, L. A. Structural characterization of  $\beta$ -glucans of *Agaricus brasiliensis* in different stages of fruiting body maturity and their use in nutraceutical products. **Biotechnology Letters**, v. 27, p. 1295-1299, 2005.

<sup>1</sup> Mestranda em Biotecnologia Aplicada a Agricultura – UNIPAR – Umuarama - Pr (franciellymg@unipar.br)

<sup>2</sup> Docente do curso de Medicina Veterinária – UNIPAR – Umuarama – Pr

<sup>3</sup> Docente do curso de Farmácia – UNIPAR

<sup>4</sup> Docente do curso de Biologia – UNIPAR

## **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIORREMEDIADOR DE UMA LINHAGEM DE FUNGO ISOLADA DE MEIO DE TIOSSULFATO DE SÓDIO (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) EM DIFERENTES MEIOS.**

Marcos Marques Mendonça,<sup>1</sup>Andressa Caroline Flores,<sup>1</sup>Heloana Karoline Pin,<sup>1</sup>Giovana Mayara Müller,<sup>2</sup>Rodrigo Patera Barcelos,<sup>2</sup>Luana Zanettin,<sup>3</sup>Dionéia Schauen,<sup>3</sup>Kennedy Perreira da Silveira,<sup>4</sup>Suzymeire Baroni,<sup>4</sup>Izabel Aparecida Soares.

**INTRODUÇÃO:** Os derivados de petróleo são grandes responsáveis por contaminações ambientais durante o processo de produção (URURAHY et al.,1998). Os novos processos industriais para o refino de petróleo acabam gerando vários compostos químicos sintéticos e muito tóxicos chamados xenobióticos, que através da biorremediação tem uma alternativa a mais, além da química e física, para serem removidos (MONTENEGRO et al., 1995). A remediação de áreas contaminadas é uma exigência legal e um compromisso social que precisa ser executado, dentre as inúmeras tecnologias para remediação de solos contaminados, destaca-se a biorremediação e a fitorremediação como opção para promover a destoxificação do local ou a remoção de elementos contaminantes do solo (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000). O fungo foi isolado do composto Tiossulfato de Sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), que é utilizado no processo de revelação fotográfica e chapas de raio X, possui micélio de coloração clara com melanização no fundo da colônia, é caracterizado como filamentosos pela presença de hifas.

**OBJETIVO:** O objetivo do presente trabalho foi o de verificar o potencial de biorremediação do fungo isolado do tiossulfato de sódio em diferentes concentrações de diesel, gasolina e formaldeído.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Foi utilizado o meio BDA em pH 6,5 e 7,0 com diferentes concentrações de diesel e gasolina, sendo estas concentrações 2,5; 5; 10; e 15 µL por placa, contendo 25 ML de meio por placa, também testado em de Formaldeído, sendo as concentrações 2,5%; 5%; 10% e 15% do meio de Formaldeído em temperatura 27°C. O potencial biorremediador deste fungo foi avaliado quando ao crescimento vegetativo da colônia e pigmentação dos conídios.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** O fungo apresentou crescimento reduzido em todas as concentrações testadas sem alteração na pigmentação dos conídios, sendo que o fungo apresentou maior diâmetro de colônia nas concentrações 5 e 10 µL de gasolina em pH 7,0; e maior diâmetro na concentração de 2,5µL de Diesel em pH 7,0. Já para o meio com formaldeído, o fungo não apresentou crescimento vegetativo em nenhuma das concentrações testadas. De acordo com os resultados pode se concluir que este fungo apresenta potencial biorremediador para o composto diesel e gasolina, que vem corroborar com Wenzel (2006), que selecionou o fungo *Paecilomyces javanicus* de peças anatômicas em solução de formol a 10% e o mesmo foi avaliado quanto ao seu potencial biorremediador nas concentrações de 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1,0; 1,1; 1,2; 1,3; e 1,5 g.L<sup>-1</sup> de óleo diesel e gasolina, os resultados indicaram que o fungo foi capaz de manter o crescimento vegetativo até a última concentração testado, porém apresentou crescimento reduzido em concentrações superiores a 0,5 g.L<sup>-1</sup>, tanto para gasolina quanto para óleo diesel em Meio Mínimo Modificado (MMM).

**CONCLUSÃO:** Pode-se concluir que o fungo foi capaz de crescer nos meios com diesel, gasolina, mas não foi capaz de crescer em formaldeído.

### **REFERÊNCIAS:**

- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1. p. 299-352.
- MONTENEGRO, M. A. P., et. al. Qualificação da biomassa autóctone degradadora de compostos monoaromáticos (BTX) e etanol em subsolo arenoso do litoral catarinense. In: III SEMANA DA PESQUISA, 1995 Florianópolis – SC. *Anais da III Semana da Pesquisa*, 1995, p. 49-50.
- URURAHY, A. F. P. *Et al.*, Effect of aeration on biodegradation of petroleum waste. **Microbiol.** V.29, n.4 p. 254-2548, 1998.
- WENZEL, J. B. **Identificação do potencial de um fungo filamentosos isolado de peças anatômicas conservadas em formol 10%**. 2006. 40 f. Monografia (Trabalho de graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Paranaense, Toledo, 2006.

<sup>1</sup>Discente do Curso de Ciências Biológicas - PIBIC - UNIPAR – Toledo

<sup>2</sup>Discente do Curso de Ciências Biológicas - PIC - UNIPAR – Toledo

<sup>3</sup>Aluno voluntário do Curso de Ciências Biológicas- UNIPAR – Toledo

<sup>4</sup>Docente do Curso de Ciências Biológicas – Unipar Toledo e Mestrado em Biotecnologia Aplicada a Agricultura - Umuarama - UNIPAR

## ISOLAMENTO DE FUNGO FILAMENTOSO COM POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE ENZIMAS DE INTERESSE INDUSTRIAL

Andressa Caroline Flores<sup>1</sup>, Marcos Marques Mendonça<sup>1</sup>, Heloana Karoline Pin<sup>1</sup>, Giovana Mayara Müller<sup>1</sup>, Luana Zanettin<sup>2</sup>, Rodrigo Patera Barcelos<sup>2</sup>, Dionéia Schauen<sup>3</sup>, Kennedy Pereira da Silveira<sup>3</sup>, Suzyneire Baroni<sup>4</sup>, Izabel Aparecida Soares<sup>4</sup>

**INTRODUÇÃO:** Os fungos filamentosos compõem o grupo microbiano com maior número de espécies e apresentam imensa variedade quanto à morfologia e quanto aos atributos fisiológicos e bioquímicos. (COLEN, 2006). Os fungos têm sido reconhecidos como as melhores fontes de lipases e ultimamente, varias partes envolvendo aplicações de lipases fúngicas têm sido requeridas. O Tween por ser um surfactante não-iônico, pouco tóxico para as membranas biológicas sendo constituído por ésteres de ácidos graxos de polioxietileno sorbitol (REGE et al., 2002 *apud* GIESE, 2004), tem sido utilizado para aumentar a viabilidade das reações entre as enzimas e seus respectivos substratos além de estimular a secreção de proteínas em microrganismos e alterar a morfologia e a superfície da parede celular tanto de bactérias como de fungos. Devido a isso, os tweens possuem efeito estimulante para o crescimento de microrganismos, bem como para a produção de enzimas lipolíticas (MOSCOSO, 1987).

**OBJETIVO:** Isolar fungos crescidos em solução tween 80 e verificar a capacidade de produção de enzimas lipolíticas.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Para tanto, linhagens crescidas em solução Tween 80 (0,1mL/99,9 mL) foram isoladas e repicadas em diferentes meios, tween 80 liquido e sólido, Meio Completo (MC), Batata-Dextrose-Agar (BDA), Meio Mínimo (MM), pH 6,0 na temperatura 27 °C por 5 dias. A atividade lipolítica foi avaliada utilizando o protocolo de Moscoso (1987) e para o cálculo do Índice Enzimático estabeleceu-se a relação halo/diâmetro da colônia.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Os resultados indicaram que o fungo selecionado cresceu em todos os meios testados. Em relação à produção de lipase, Moscoso (1987) relata que, a capacidade dos tweens em aumentarem a produtividade das culturas é explicada pelo fato de que, além de poderem ser usados como fonte de carbono suplementares e servirem como emulsificadores de óleos e gorduras, também podem promover uma excreção de lipase extracelular, devido a uma alteração na permeabilidade da parede celular. Neste trabalho, a partir do protocolo testado, o fungo não revelou halo de hidrolise, porém, estima-se que outros protocolos com maior suplementação de nutrientes e diferentes concentrações de tween possam vir a favorecer a atividade lipolítica desse fungo.

**CONCLUSÃO:** O fungo não apresentou atividade lipolítica na metodologia testada.

### REFERÊNCIAS:

- COLEN, G. **Isolamento e Seleção de Fungos Filamentosos Produtores de Lipase.** (Tese de doutorado em Ciência de Alimentos) 206f. Faculdade de Farmácia – UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006.
- MOSCOSO, I. L. **Produção de Enzimas Extracelulares em Haplóides, Heterocários e Diplóides de *Aspergillus nidulans*.** (Dissertação de Mestrado em Genética) 93f. UNICAMP, Campinas, São paulo, 1987.
- REGE, B.D. *et al.* Effects of nonionic surfactants on membrane transporters in Caco-2 cell monolayers. **Eur. J. Pharm. Sci.**, Shannon, v. 16, p. 237-246, 2002.
- GIESE, E. C. et al. Influência de Tween na produção de lacases constitutivas e indutivas pelo *Botryosphaeria* sp. **Acta Scientiarum. Biological Sciences.** Maringá, v. 26, n. 4, p. 463-470, 2004.

<sup>1</sup>Discente do Curso de Ciências Biológicas - PIBIC - UNIPAR – Toledo

<sup>2</sup>Discente do Curso de Ciências Biológicas - PIC - UNIPAR – Toledo

<sup>3</sup>Discente voluntário de Iniciação Científica do Curso de Ciências Biológicas- UNIPAR – Toledo

<sup>4</sup>Docente do Curso de Ciências Biológicas – Unipar Toledo e Mestrado em Biotecnologia Aplicada a Agricultura - Umuarama - UNIPAR

## AVALIAÇÃO PROTEOLÍTICA DE FUNGOS BASIDIOMICETOS

Clodoaldo Campos<sup>1</sup>, Débora Camila Dias<sup>2</sup>, Giani Andréa Linde Colauto<sup>3</sup>, Nelson Barros Colauto<sup>4\*</sup>

**INTRODUÇÃO:** As proteases são enzimas de interesse agroindustrial, devido a sua capacidade de degradar proteínas (CAPIRALLA et al., 2002). São enzimas utilizadas na industrialização de pães, cervejas, amaciamento de carne, detergentes, queijos entre outros (GUPTA et al., 2002). Para a industrialização de queijo as proteases normalmente utilizadas são a quimosina extraído do abomaso de bovinos jovens (KUMAR et al., 2005). Devido a aspectos econômicos, ambientais e éticos estas enzimas estão perdendo mercado para enzimas extraídas de microrganismos, *Rhizomucor miehei* e *Mucor miehei* (A. D'Ambrosio et al., 2003). Desta forma, é importante avaliar a capacidade produtora de enzimas proteolíticas de fungos com potencial de aplicação na área de alimentos. Alguns fungos basidiomicetos são importantes produtores de biocompostos com atividade biológica e são utilizados na alimentação tanto pelo seu sabor apreciado quanto pela sua atividade biológica reconhecida como anti tumoral, anti-inflamatória, anti-neoplásica (KIMURA et al., 2004).

**OBJETIVO:** Assim este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de produção de proteases por fungos basidiomicetos. Os fungos pertencentes à micoteca do Laboratório de Biologia Molecular.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Os fungos basidiomicetos foram transferidos para meio de cultivo contendo (g/mL) NaNO<sub>3</sub> (6,0); KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1,5); KCl (0,5); MgSO<sub>4</sub> (0,5); FeSO<sub>4</sub> (0,01); ZnSO<sub>4</sub> (0,01); glicose (10,0); Agar (15,0); caseína (8) g/L. Após o crescimento uma solução saturada de sulfato de amônio foi adicionada à placa de petri até completa submersão do micélio. Após 1 a 2 minutos houve a formação de um halo característico da produção de proteases. O halo e o crescimento do micélio foram medidos e as diferenças entre as médias determinadas pelo Teste de Tukey (p<0,05).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Pode-se observar que as linhagens *Flamulina* sp e *Lentinula edodes* LE10-UEL, não produziram proteases suficientes para serem medidas pela metodologia. Dentre as 27 linhagens testadas 17 produziram proteases em pequena quantidade como *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus*.

**CONCLUSÃO:** As melhores produtoras de proteases foram o *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* Corea, *Pleurotus ostreatus* florida e *Agaricus brasiliensis*. Todos estes fungos são comestíveis e de importância funcional sendo potenciais microrganismos para a expansão do estudo e para o desenvolvimento de novos produtos.

### REFERÊNCIAS:

- CAPIRALLA, H. et al. Purification and characterization of a hydrophobic amino acid – specific endopeptidases from *Halobacterium halobium* S9 with potential application in debittering of protein hydrolysates. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 4, p. 571-579, 2002.
- GUPTA, R. et al. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial application. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, n. 1, p. 15-32, 2002.
- KUMAR, S. et al. Extracellular acid protease from *Rhizopus oryzae*: purification and characterization. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1701-1705, 2005.
- A. D'AMBROSIO et al. Proteolytic and milk clotting activities in extracts obtained from the crustaceans *Munida*. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic** 22, p.145-150, 2003.
- KIMURA, Y., et al. Isolation of an anti angiogenic substance from *Agaricus blazei* Murill: its antitumor and antimetastatic actions, **Cancer Sci.** v. 95, p. 758-764, 2004.

<sup>1</sup>Discente do Curso do curso de Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura –UNIPAR – Umuarama – PR (clodoaldoccampos@bol.com.br)

<sup>2</sup>Discente de Farmácia – PIBIC – UNIPAR – Umuarama – PR (deboracamiladiaz@hotmail.com)

<sup>3</sup>Doscente Dr<sup>a</sup>. Adjunta do Curso de Farmácia e Nutrição – UNIPAR – Umuarama – PR.

<sup>4</sup>Doscente do Curso de Ciências Biológicas UNIPAR - Umuarama e Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE AMIOLÍTICA DE LINHAGENS DO FUNGO

### *Metarhizium anisopliae* EM DIFERENTES MEIOS

Dionéia Schauen<sup>1</sup>, Rodrigo Patera Barcelos<sup>1</sup>, Kennedy Pereira da Silveira,<sup>2</sup> Luana Zanettin<sup>1</sup>, Marcos Marques Mendonça<sup>3</sup>, Andressa Caroline Flores<sup>3</sup>, Heloana Karoline Pin,<sup>3</sup> Giovana Mayara Müller<sup>3</sup>, Suzymeire Baroni<sup>4</sup>, Izabel Aparecida Soares<sup>4</sup>.

**INTRODUÇÃO:** O amido é um polímero composto por amilose e amilopectina em proporções variáveis. Nos fungos, as principais enzimas envolvidas da degradação do amido são  $\alpha$ -amilase, glicomilase e  $\alpha$ -glicosidade (ANTRANIKINYAN, 1992). As amilases promovem a hidrólise do amido a açúcares redutores, sendo detectadas há mais de um século em grande variedade de materiais biológicos. A produção de amilases por culturas de microrganismos continua em destaque, uma vez que buscam enzimas cada vez mais eficazes e adequadas às condições químicas dos processos. O fungo *M. anisopliae* é um fungo entomopatogênico utilizado em grande escala no controle biológico de insetos-praga, notadamente as cigarrinhas da cana-de-açúcar (LUNA, 1985) e os gafanhotos. Mutantes de *M. anisopliae*, selecionados para aumento na produção de amilases mostraram também um aumento na atividade de virulência à *Culex pipiens* (ROBERTS & MESSING-AL-AIDROOSS, 1985).

**OBJETIVOS:** O presente trabalho objetivou-se na avaliação da atividade amilolítica do *Metarhizium anisopliae* em diferentes meios.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram utilizadas as linhagens MT selvagem e um mutante a BB4 em diferentes meios: ágar batata dextrose (BDA) com maltose; BDA com maltose e amido; BDA com amido; BDA com cálcio; BDA com cálcio e amido; meio completo (MC) com maltose; MC com maltose e amido; MC com amido. As variáveis para análise foram: pH (6,0 e 6,8); a temperatura (24°C e 27°C), e os diferentes meios de cultura citados. As linhagens foram repicadas e levadas à estufa por 15 dias. Para análise, foi medido o diâmetro da colônia e adicionado solução de iodo nas placas, observando a formação do halo, este que indica a região em que ocorreu a degradação do amido.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Os resultados preliminares indicaram que a linhagem BB4 apresentou um melhor potencial enzimático na degradação do amido em comparação com a linhagem MT selvagem. O meio BDA com cálcio apresentou melhor resposta para quebra do amido. A temperatura 27°C apresentou melhor resposta ao crescimento e a quebra de amido e, o pH 6.8 se mostrou mais propício ao crescimento das colônias e a quebra do amido.

**CONCLUSÃO:** Conclui-se que a linhagem BB4 apresenta maior potencial enzimático do à linhagem MT selvagem de *Metarhizium anisopliae* nos meios testados.

### REFERÊNCIAS:

- ANTRANIKINYAN, G. **Microbial degradation of starch.** In: G. Winkomann (Ed.) Microbial degradation of natural products. VCH, Winheim, 1992. p. 27-56.
- LUNA, E. A. A. L. **Características Citológicas e Genéticas de Linhagens Selvagens, Mutantes e Diploides de *Metarhizium anisopliae* (Metsc) Sorokin.** 1985. 260p. Tese (Doutorado) – UFRJ, Rio de Janeiro, 1985.
- ROBERT, A.; MESSING-AL-AIBROOS, K. **Acid Production by *Metarhizium anisopliae*: Effects on virulence against mosquitoes end on detection of *in vitro* amylase, protease and lipase activities.** Journal of Invertebrate Pathology, 1985. v. 45, p.9-15.
- MONTGOMERY, D. G. **Design and analysis of experiments.** John Wiley & Sons, New York, 2001.

<sup>1</sup>Discente do Curso de Ciências Biológicas - PIC - UNIPAR – Toledo

<sup>2</sup>Discente do Curso de Ciências Biológicas – aluno voluntário - UNIPAR - Toledo

<sup>3</sup>Discente do Curso de Ciências Biológicas - PIBIC - UNIPAR – Toledo

<sup>4</sup>Docente do Curso de Ciências Biológicas – Unipar Toledo e Mestrado em Biotecnologia Aplicada a Agricultura - Umuarama – UNIPAR

## **AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Agaricus brasiliensis* EM DIFERENTES SUBSTRATOS**

Francielly Mourão<sup>1</sup>, Suzana Harue Umeo<sup>2</sup>, Giani Andrea Linde Colauto<sup>3</sup>, Nelson Barros Colauto<sup>4</sup>.

**INTRODUÇÃO:** Os fungos constituem um dos grupos de microrganismos mais importantes na atividade de decomposição da matéria orgânica em função de sua capacidade especializada de degradação. Esta atividade ocorre, sobretudo, através de sua fase vegetativa ou miceliana. Nas fases vegetativa e reprodutiva, a formação de biomassa depende da produção de enzimas extracelulares, que são fundamentais na degradação dos componentes dos substratos, (VELÁZQUEZ-CEDENO et al., 2002). Para a produção de um composto seletivo para *A. brasiliensis* é importante conhecer as características fisiológicas da espécie, particularmente sua capacidade degradativa em relação aos componentes principais do substrato. A produtividade de um cultivo depende fatores básicos que envolvem, a estirpe do fungo utilizada, as condições ambientais propiciadas nas diferentes fases do cultivo e principalmente a qualidade do substrato. Essas podem ser estratégias importante para o aumento da produtividade de cultivos de *A. brasiliensis*.

**OBJETIVO:** O objetivo desse trabalho foi avaliar o vigor de crescimento micelial de *A. brasiliensis* em diferentes substratos.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Paranaense – UNIPAR, Campus Sede. Foi utilizado a linhagem do fungo *Agaricus brasiliensis* (AB 97/11) proveniente da micoteca do Laboratório de Biologia Molecular da UNIPAR. Para o crescimento do inóculo foi utilizado meio ágar extrato de malte (48g/L), esterilizado a 121°C por 30 minutos. O meio foi transferido para placas de petri e um fragmento do micélio foi transferido. O crescimento foi realizado em estufas sem circulação de ar a 28 °C por 20 dias. O meio foi compostos por 200 g de grãos (girassol, trigo, soja, linhaça, arroz, aveia, tremoço, lentilha, ervilha, alpiste, grão de bico, casca de soja e milho) ou 200 g de fibra de trigo, fibra de soja e aveia com casca submersos em água ultra-pura e mantidos a 90 °C por 45 min. O excesso de água foi removido e os grãos foram autoclavados a 121 °C por 20 min. Um cilindro de sete mm de diâmetro do inóculo foi transferido para o centro do meio de cultivo. O crescimento foi realizado em estufa sem circulação de ar a 28 °C ± 1 °C e medido após 70 dias de crescimento.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Nossos resultados demonstram que o fungo foi capaz de colonizar de forma adequada a casca de soja, o milho e a aveia. A eficiente colonização de um substrato por uma determinada estirpe pode ser resultado da capacidade do fungo em produzir substâncias fungistáticas e bacteriostáticas; dispor de elevadas velocidades de crescimento quando estimulado por nutrientes solúveis e produzir enzimas apropriadas e eficientes na degradação de substâncias recalcitrantes (SAVOIE, et al. 1996).

**CONCLUSÃO:** Dentre os diferentes substratos utilizados para o crescimento do fungo o grão de milho, a casca de soja e a casca de soja foram os melhores, promovendo alto vigor de crescimento do fungo.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

VELÁZQUEZ-CEDENO, M.A.; MATA, G.; SAVOIE, J.M. Waste reducing cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulpe changes in the production of some lignocellulolytics enzymes. **Word Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.18, n.3. 201-207, 2002.

SAVOIE, J-M; BRUNEAU, D. & MAMOUN, M. Resource allocation ability of wild isolates of *Agaricus bisporus* on conventional mushroom compost. **FEMS Microbiol ecology**. 21: 285-292, 1996.

<sup>1</sup>Mestranda em Biotecnologia Aplicada a Agricultura – UNIPAR – Umuarama - Pr (franciellymg@unipar.br)

<sup>2</sup>Acadêmica de Farmácia – PIBIC – UNIPAR – Umuarama – Pr.

<sup>3</sup>Docente do curso de Farmácia – UNIPAR

<sup>4</sup>Docente do curso de Biologia – UNIPAR

## **ANÁLISE DO CRESCIMENTO VEGETATIVO, PIGMENTAÇÃO DOS CONÍDIOS E ESPORULAÇÃO DO FUNGO ISOLADO DO COMPOSTO TIOSULFATO DE SÓDIO (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)**

Marcos Marques Mendonça<sup>1</sup>, Andressa Caroline Flores<sup>1</sup>, Heloana Karoline Pin<sup>1</sup>, Giovana Mayara Müller<sup>1</sup>, Rodrigo Patera Barcelos<sup>2</sup>, Luana Zanettin<sup>2</sup>, Dionéia Schauben<sup>3</sup>, Kennedy Perreira da Silveira<sup>3</sup>, Suzyneire Baroni<sup>4</sup>, Izabel Aparecida Soares<sup>4</sup>.

**INTRODUÇÃO:** O isolamento de microrganismos de áreas contaminadas pode facilitar a seleção de agentes despoluidores eficientes para os estudos de biorremediação. Ensaio prévios em escala de laboratório devem ser realizados visando avaliar o potencial biorremediador, verificando o grau de degradação dos contaminantes, a tolerância dos microrganismos ao estresse (SILVA-JÚNIOR, 2006). A pesquisa laboratorial com microrganismos é um dos passos para obtenção do conhecimento quanto ao potencial de degradação de vários poluentes nativos e o substrato necessário para incrementar o local contaminado possibilitando melhor desempenho de tais organismos no processo de biorremediação (CUNHA e LEITE, 2000; BENTO et al., 2003).

**OBJETIVO:** Este trabalho teve por objetivo verificar em quais condições nutricionais, pH e temperatura o fungo isolado do composto tiosulfato de sódio apresenta melhor crescimento vegetativo e esporulação.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** O microrganismo utilizado foi isolado do composto tiosulfato de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), que é utilizado no processo de revelação fotográfica e chapas de raio x, este microrganismo foi então chamado de Raio X, o mesmo foi submetido a comparação do seu crescimento e esporulação em diferentes meios, pH e temperatura; sendo os meios testados Meio Completo (MC), Meio Mínimo (MM) e Batata Dextrose Agar (BDA) nos pHs 6,0; 6,5; 7,0; nas temperaturas 27°C e 37°C, mantidos em estufa de crescimento por cinco dias. Para análise do crescimento foi medido o diâmetro da colônia, para a esporulação foi feita solução de esporos de 3 ML de solução salina e 2 ML de solução Tween 80, os conídios foram contados em diluição de 10<sup>-1</sup>.

**RESULTADOS E DISCUSSÕES:** O microrganismo se apresentou de forma filamentososa, com maior diâmetro de colônia em Meio BDA pH 7,0 na temperatura 27°C, apresentou melhor esporulação em Meio Completo pH 6,0 na temperatura 27°C. A coloração da colônia se apresentou branca com intensa produção de hifas aéreas em MM; laranja esbranquiçada em MC e BDA com produção de hifas aéreas, e melanização no fundo da colônia em todos os meios.

**CONCLUSÃO:** O fungo isolado do composto tiosulfato de sódio foi capaz de crescer em todos os meios testados.

### **REFERÊNCIAS :**

- BENTO, F. M. et al., Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. *Bras. J. Microbiol.*, v.34, supl. 1, p. 65-68, 2003.
- CUNHA, C. D. e LEITE, S. G. F., Gasoline Biodegradation in Different Soil Microcosms. *Bras. J. Microbiol.*, v. 31, n. 1, p. 45-49, 2000.
- SILVA-JÚNIOR, F.M.R. 2006. *Efeito dos metais pesados na microbiota do solo o semi-árido: um estudo investigativo com fungos do gênero Chaetomium Kunze*. (Trabalho de graduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife.

<sup>1</sup>Discente do Curso de Ciências Biológicas - PIBIC - UNIPAR – Toledo

<sup>2</sup>Discente do Curso de Ciências Biológicas - PIC - UNIPAR – Toledo

<sup>3</sup>Aluno voluntário do Curso de Ciências Biológicas- UNIPAR – Toledo

<sup>4</sup>Docente do Curso de Ciências Biológicas – Unipar Toledo e Mestrado em Biotecnologia Aplicada a Agricultura - Umuarama - UNIPAR

### CRESCIMENTO MICELIAL DO GÊNERO *Pleurotus* EM RESÍDUOS AGRÍCOLAS

Talita Rafaela D'Agostini Mantovani<sup>1</sup>, Henrique Susumu Tanaka<sup>1</sup>, Érica Clarissa D'Agostini<sup>2</sup>, Giani Andrea Linde<sup>3</sup>, Nelson Barros Colauto<sup>4</sup>.

**INTRODUÇÃO:** Os cogumelos comestíveis são uma alternativa de alto valor nutritivo e vêm de encontro às necessidades de melhor utilização de subprodutos agrícolas, agregando valor (BANO; RAJARATHNAM, 1988), já que possuem a capacidade de colonizar uma maior variedade de substratos (POPPE, 2005). O interesse da comunidade científica pelos cogumelos tem aumentado devido às suas propriedades medicinais, destacando entre eles o *Pleurotus* que possui propriedades antitumorais (WASSER; WEIS, 1999) e hipocolesterolêmicas (HOSSAIN et al., 2003). Os diferentes princípios ativos podem ser extraídos diretamente do micélio do fungo (SHU et al., 2006), não necessitando seu desenvolvimento em cogumelo. Sendo assim, a análise do crescimento micelial e a otimização deste processo é fundamental para o estudo de propriedades terapêuticas e nutricionais.

**OBJETIVO:** Avaliar a influência de diferentes formulações de substratos a partir de subprodutos da agricultura no crescimento micelial do gênero *Pleurotus*.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Foi utilizada a linhagem 8-6 de *Pleurotus* sp proveniente da micoteca da UNIPAR. Com base nos resultados do crescimento do fungo em placas de Petri, as matérias-primas utilizadas para compor os substratos de cultivo foram: fibra de soja, fibra de trigo, farelo de arroz e sabugo de milho. Todas as matérias-primas foram padronizadas de acordo com o diâmetro da partícula em: F1 (5 a 1,7mm), F2 (1,7 a 0,8mm), F3 (0,8 a 0,3 mm) e F4 (<0,3 mm), sendo que apenas o sabugo possui a granulometria de F1. As diferentes formulações de substratos foram calculados a fim de manter a relação C:N de 30:1. Partindo destas informações as matérias-primas foram misturados em Erlenmeyers e autoclavados com excesso de água ultra pura a 121 °C por 10 min, retirado o excesso de água e adicionado carbonato de cálcio a fim de obter pH de 6,6. Após 24 h estes substratos foram acondicionados em tubos de borosilicato (tubos de vidro cilíndricos com as extremidades abertas) observando a densidade de 0,62 a 0,81 g/ cm<sup>3</sup> e autoclavados a 121 °C por 40 minutos. A inoculação dos substratos foi realizada pela retirada de cilindros de 2,8 cm de diâmetro da área periférica do crescimento da placa de inóculo e tampões de algodão foram colocados em ambas as extremidades dos tubos. Estes foram dispostos ao acaso para crescimento em estufa (25°C). O crescimento micelial do fungo foi medido com paquímetro através de 4 medidas ao longo de cada tubo, sendo estes valores utilizados para a determinação da média de crescimento de cada tubo. Os dados obtidos foram analisados e as diferenças determinadas pela análise de variância e Teste de Tukey (p<0,05).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Pode-se observar que os melhores substratos foram o PT2, PT3 e PT7, compostos, respectivamente, por: sabugo (81%) e fibra de soja (19%), sabugo (60%) e trigo (40%) e sabugo (80%) e arroz (20%). O pior resultado foi observado no meio PT6 com alta porcentagem de arroz (57%) que gelatinizou devido a grande quantidade de amido, não permitindo a passagem de ar e, conseqüentemente, dificultando o crescimento do fungo.

**Conclusão:** Os resíduos agrícolas avaliados se mostraram apropriados para o crescimento micelial de *Pleurotus*, com exceção de concentrações acima de 57% de arroz.

#### REFERÊNCIAS:

- BANO, Z.; RAJARATHNAM, S. *Pleurotus* mushrooms: Part II. Chemical composition, preservation and role an human food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Minneapolis, v. 27, p. 87-158, 1988.
- HOSSAIN, S.; HASHIMOTO, M.; CHOUDHURY, E.; ALAM, N.; HUSSAIN, S.; HASAN, M.; CHOUDHURY, S.; MAHMUD, I. Dietary mushroom (*Pleurotus ostreatus*) ameliorates atherogenic lipid in hypercholesterolaemic rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, New York, v. 30, p. 470, 2003.
- POPPE, J. Substrate In: **Shiitake cultivation**. Korea: Mushroom, 2005. p. 75-85.
- SHU, C.; XU, C., LIN, E. Production, purification and partial characterization of a novel endo-b-1,3-glucanase from *Agaricus brasiliensis*. **Process biochemistry**, v. 41, 1229-1233, 2006.
- WASSER, S. P.; WEIS, A. L. Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, New York, v. 1, p. 31-62, 1999.

<sup>1</sup> Mestrandos em Biotecnologia Aplicada à Agricultura –Unipar –Umuarama–PR (talita.rd@gmail.com)

<sup>2</sup> Acadêmica do curso de Farmácia – Unipar –Umuarama – PR

<sup>3</sup> Docente do Curso de Farmácia – Unipar –Umuarama – PR

<sup>4</sup> Docente do Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura.

## CRIOPRESERVAÇÃO DO GÊNERO *Pleurotus* CRESCIDO EM GRÃOS DE TRIGO E MEIO BATATA-DEXTROSE-ÁGAR

Talita Rafaela D'Agostini Mantovani<sup>1</sup>, Henrique Susumu Tanaka<sup>1</sup>, Giani Andréa Linde<sup>2</sup>, Nelson Barros Colauto<sup>3</sup>.

**INTRODUÇÃO:** Os métodos de preservação têm como objetivo manter a viabilidade das características do organismo através da paralisação ou do retardamento do metabolismo celular (PUTZKE; PUTZKE, 1998), entre estes métodos destaca-se a criopreservação, uma das melhores formas de preservação de fungos filamentosos a baixas temperaturas. Apesar da sobrevivência de microrganismos a temperaturas baixas sem o uso de aditivos protetores, a presença de crioprotetores aumenta significativamente a sobrevivência dos organismos (HUBÁLEK, 2003). Contudo o substrato de crescimento do fungo é um fator que afeta também a capacidade de recuperação do fungo à criopreservação, podendo atuar como crioprotetor (MATA; SALMONES, 2005).

**OBJETIVOS:** Avaliar substratos associados a agentes crioprotetores na criopreservação a -20 °C e a -70 °C do gênero *Pleurotus*.

**MATERIAIS E MÉTODOS** Foi utilizada a linhagem 8-6 de *Pleurotus* sp proveniente da micoteca da UNIPAR. Inicialmente realizou-se um teste de inibição do crescimento micelial, onde diferentes concentrações de crioprotetores foram adicionadas ao meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA) a fim de selecionar a maior concentração do agente crioprotetor, com índice de inibição inferior a 25%. A concentração de crioprotetor selecionada foi utilizada para a criopreservação. Nesta etapa o fungo foi crescido nos substratos grãos de trigo (GT) e meio BDA. Ampolas plásticas receberam 800µl da solução crioprotetora previamente esterilizada e cinco GT ou cilindros de BDA colonizados com o micélio do fungo que foram armazenadas a -20 °C ou -70 °C. Após um ano de congelamento as ampolas foram descongeladas por submersão em água a 30 °C por 15 min, lavadas em álcool 70%, álcool 96% antes de ser aberta uma das extremidades de cada ampola. A solução crioprotetora foi removida e os GT ou os cilindros de BDA posicionados em placas de Petri com meio BDA. Considerou-se recuperado o fungo com média de recuperação maior ou igual a 75%.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** O aumento da concentração do crioprotetor no meio de cultivo causou inibição do crescimento do micélio, dessa forma, selecionou-se a concentração para o glicerol (GO), dimetilsulfóxido (DMSO), glicose (GI), sacarose (SA), extrato de malte (EM) e polietilenoglicol (PEG) de 5,0%, 1,0%, 4,0%, 10,0%, 5,5% e 6,0%, respectivamente, para as etapas de criopreservação. Os resultados de recuperação do crescimento micelial após criopreservação a -20° e a -70° em BDA foram piores que em GT para todos os agentes crioprotetores testados, com exceção do DMSO e da SA a -70°C. Houve recuperação total do fungo crescido em GT, independente do crioprotetor ou da temperatura utilizada, demonstrando a versatilidade desse grão na criopreservação e viabilizando a criopreservação a -20°C. O uso de temperaturas mais elevadas para a manutenção de linhagens fúngicas permite reduzir o custo de equipamentos e torna mais acessível o processo de criopreservação.

**Conclusão:** O substrato de crescimento do micélio influencia diretamente na sobrevivência do fungo criopreservado a -20 °C e a -70 °C, sendo GT mais eficiente que BDA, viabilizando a criopreservação do gênero *Pleurotus* em temperaturas comerciais de -20 °C.

### REFERÊNCIAS:

- HUBÁLEK, Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. **Cryobiology**, New York, v. 46, p. 205-229, 2003.
- MATA, G.; SALMONES, D. Preservation of shiitake spawn stocks by cryogenic storage. In: **Shiitake cultivation**. Korea: Mushroom, 2005. p. 42-45.
- PUTZKE, J; PUTZKE, M. T. L. **Os reinos dos fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 1998, 606p

<sup>1</sup> Mestrandos em Biotecnologia Aplicada à Agricultura –Unipar –Umuarama–PR (talita.rd@gmail.com)

<sup>2</sup> Docente do Farmácia – Unipar –Umuarama – PR

<sup>3</sup> Docente do Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura.

## COMPARAÇÃO DOS CONCENTRADOS PROTÉICOS E COMPOSTOS FENÓLICOS DA VARIEDADE BRANCA DE *Manihot esculenta* Crantz.

Heloana Karoline Pin<sup>1</sup>; Giovana Mayara Müller<sup>1</sup>; Marcos Marques Mendonça<sup>1</sup>; Andressa Caroline Flores<sup>1</sup>; Luana Zanettin<sup>2</sup>; Rodrigo Patera Barcelos<sup>2</sup>; Dionéia Schauen<sup>3</sup>; Kennedy Pereira da Silveira<sup>3</sup>; Suzyneire Baroni<sup>4</sup>; Izabel Aparecida Soares<sup>4</sup>

**INTRODUÇÃO:** No Brasil, alguns pesquisadores têm estudado as folhas de mandioca procurando uma possível alternativa para substituir alimentos convencionais, pois seu teor em proteínas, vitaminas e minerais é relativamente alto, quando comparado a hortaliças folhosas e grãos de cereais, além de apresentarem baixo custo e disponibilidade (MODESTI et al., 2007). A produtividade das folhas de mandioca varia consideravelmente, dependendo da cultivar, do solo, da fertilidade, da densidade de plantio, da idade da planta, da frequência da colheita e do clima (RAVINDRAN, 1993). A determinação dos concentrados protéicos da folha da mandioca pode oferecer informações importantes sobre a diferença da concentração de proteína das folhas da mandioca em regiões diferentes cultivos.

**OBJETIVO:** O objetivo do presente trabalho foi o de comparar os concentrados protéicos e compostos fenólicos de mandioca da variedade branca proveniente de duas regiões diferentes, Paraguai (P1) e Vila Nova (P2).

**MATERIAIS E MÉTODOS:** O concentrado protéico das folhas de mandioca foi obtido de acordo com o método de Castellano *et al.*, (1994). Para determinação do índice de polifenóis totais, utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu determinando a absorvância em comprimento de onda de 750nm, sob 1 cm de percurso óptico, frente à testemunha. Para determinação da porcentagem de polifenóis totais utilizou-se a equação:  $IPT = LA * 100$  (IPT- Índice de polifenóis totais; LA- Leitura da absorvância).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A porcentagem de proteína da variedade branca P1, foi de 6,35 já para P2 foi de 7,32, as quais apresentaram no índice de polifenóis totais (IPT) uma porcentagem de  $IPT_1=24,3$  e  $IPT_2=27,2$ . As folhas verdes dos vegetais têm mostrado características favoráveis como fonte de proteínas, sendo uma alternativa alimentar no combate à desnutrição, tanto de maneira indireta, sob a forma de rações animais, que servirão de alimento para o homem, quanto diretamente na dieta humana. Os polifenóis, por exemplo, são compostos essenciais para o crescimento, reprodução e pigmentação da planta, sendo associados com a qualidade sensorial e nutricional. Segundo Boa Ventura (2000), esses compostos em baixa concentração protegem a planta contra a deterioração oxidativa.

**CONCLUSÃO:** Com os resultados obtidos pode-se concluir que o fator ambiental não interferiu no índice de concentrado protéico e compostos fenólicos da variedade estudada.

### REFERÊNCIAS:

- CEREDA, M. P.; VILPOX, O. P. **Potencialidade de tuberosas amiláceas latino-americanas**. Serie: Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino-americanas. Fundação Cargil. V.3, 2001.
- MODESTI, C.F. **Obtenção e caracterização de concentrado protéico de folhas de mandioca submetidos a diferentes tratamentos**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2007.
- RAVINDRAN, V. Cassava leaves as animal feed: potential and limitations. **Journal of the Science of Food and Agricultural, London, v. 61, n. 2, p. 141-150, 1993.**
- SAGRILO, E. **Produtividade de três cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em diferentes épocas de colheita no segundo ciclo vegetativo**. Dissertação de mestrado (Universidade Estadual de Maringá/UEM), 136p,2001.
- CASTELLANOS, R. *et al.* Nutritional characteristics of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf protein obtained by ultrafiltration and acidic thermocoagulation. **Plant food for human nutrition**. 45: 357-363, 1994.

<sup>1</sup>Dicente do Curso de Ciências Biológicas - PIBIC - UNIPAR, Campus Toledo.

<sup>2</sup>Dicente do Curso de Ciências Biológicas - PIC - UNIPAR, Campus Toledo.

<sup>3</sup>Dicente voluntário de Iniciação Científica, Curso de Ciências Biológicas - UNIPAR, Campus Toledo.

<sup>4</sup>Docente do Curso de Ciências Biológicas – Unipar Toledo e Mestrado em Biotecnologia Aplicada a Agricultura - Umuarama - UNIPAR

## DETERMINAÇÃO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO E A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* EM PROGÊNIES DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St.Hil.)

Keiko Leonice Nakamura<sup>1</sup>, Ariane C. Horn<sup>2</sup>, Jakeline Hoscheid<sup>2</sup>, Ana M. Pugen<sup>3</sup>, Orlando Takemura<sup>4</sup>, Euclides L. Cardozo Jr.<sup>5</sup>, Ivan Schuster<sup>6</sup>

**INTRODUÇÃO:** *Ilex paraguariensis* St. Hil, espécie sul-americana utilizada no chimarrão, bebida apreciada na América do Sul. Apesar da diversidade, a *Ilex paraguariensis* é a que apresenta maior concentração de compostos fenólicos, responsável pela atividade antioxidante da erva-mate (FILIP et al., 2001). A oxidação do sistema biológico provoca e agrava o quadro clínico em mais de 100 doenças, incluindo síndrome da imunodeficiência adquirida, doenças cardiovasculares e o câncer (MARVIN et al., 2004). As evidências que antioxidantes sintéticos têm efeito tóxico e mutagênico e o interesse das indústrias tem-se voltado à atenção para os antioxidantes naturais (BOTTERWECK et al, 2000).

**OBJETIVO:** Analisar o teor do ácido clorogênico por CLAE e a atividade antioxidante por DPPH em progênies de erva-mate.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** As amostras foram selecionadas através de dados fitoquímicos prévios de metilxantinas e compostos fenólicos. Através do programa GENES se obteve oito progênies com maior grau de dissimilaridade. O extrato metanólico foi obtido por remaceração (5x10 mL) e analisado em CLAE. Adaptado (CARDOZO JUNIOR et al., 2007) a atividade antioxidante foi avaliada pelo método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) em dois sistemas. A análise qualitativa em cromatografia em camada delgada foi realizada em concentrações de 2,0; 1,0 e 0,5 mg/mL e nebulizada com DPPH. A análise quantitativa foi realizada as concentrações de 2,0; 1,0; 0,5; 0,250; 0,125, 0,0612 mg/mL por espectrofotômetro tendo a quercetina como padrão de referência (SOUZA et al., 2007)

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A análise de DPPH em placas cromatográficas de gel de sílica revelou atividade de captura de radicais livres em todas as progênies na diluição de 2,0 mg/mL com a presença do halo branco positivo para reação e somente as progênies P8 e P121 apresentaram atividade na concentração de 0,5 mg/mL. Na análise espectrofotométrica mensurada a absorvância de 515 nm foi observada que a P25 apresentou significativa atividade antioxidante com porcentagem de inibição= 51,40 (%). A curva de calibração para o ácido clorogênico foi linear na escala de 0,025 a 0,4 mg/mL. A equação linear foi representativa em  $Y=6E+07x\_362988$  ( $n=5$ ;  $r^2= 0,9995$ ) onde o Y representa o pico da área (mV s<sup>-1</sup>) e o X a concentração do padrão de ácido clorogênico (mg/mL<sup>-1</sup>). O teor do ácido clorogênico a variou entre 1.3437-2.0313%. Ressaltamos que a progênie P25 apresentou o maior teor de ácido clorogênico e a P10 o menor, em relação às demais progênies.

**CONCLUSÃO:** Houve uma variabilidade os teores de ácido clorogênico entre as progênies e uma correlação positiva entre o teor de ácido clorogênico e a atividade antioxidante.

### REFERÊNCIAS:

- BOTTERWECK, A. A. M.; VERHAGEN, H. GOLDBOHN, R. A., KLEINJANS, J., BRANDT vanden, P. A. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study . **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, nº 7, p.599-605, July, 2000.
- CARDOZO JUNIOR. E. L. C., FERRARESE FILHO, O., CARDOZO FILHO. L., FERRARESE, M . L. L., DONADUZZI, C. M., STURION, J. A. Methylanthines and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil. ) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**. V.20, p. 553-558, 2007.
- FILIP, R.; LOPEZ, P.; GILBERT, G. COUSSIO J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v.72, nº7 p. 774-778, November, 2001.
- MAVI, A., TERZI, Z. OZGEN, U., YILDIRIM, A., COSKUN, M. Antioxidant Properties of Some Medicinal Plants. **Pharmaceutical Society of Japan**, v. 27, nº5, p.702-705, 2004.
- SOUZA, T. J., APEL, M. A., BORDIGNON, S., MATZENBACHER, N. I., ZUANAZZI, A. S., HENRIQUES, A. T. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 3, Jul./set., 2007.

<sup>1</sup>Mestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura –Unipar –Umuarama–PR

<sup>2</sup>Acadêmicas do Curso de Farmácia – Unipar – Toledo - Pr

<sup>3</sup>Biocinense-Centro de Estudos Farmacêuticos Ltda.

<sup>4</sup>Docente do Curso de Farmácia – Unipar – Umuarama - Pr

<sup>5</sup>Docente do Curso de Farmácia – Unipar –Toledo – PR

<sup>6</sup>Docente do Curso de Ciências Biológicas – Unipar Cascavel e Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura.

## PARÂMETRO GENÉTICO DO TEOR DE ÁCIDO URSÓLICO EM PROGÊNIES DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)

Keiko Leonice Nakamura<sup>1</sup>, Ana M. Pugens<sup>2</sup>, Euclides L. Cardozo Jr.<sup>3</sup>, Ivan Schuster<sup>4</sup>

**INTRODUÇÃO:** Erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil), nativa do Sul do Brasil, Paraguai e Argentina é utilizada no chimarrão, a bebida mais popular da América do Sul. As saponinas encontradas nas partes aéreas da planta são responsáveis pelo sabor amargo, solubilidade, espuma, ação terapêutica antiinflamatória, hipocolesterolemia, ação biológica surfactante e de lise de membranas. As saponinas que contêm um esqueleto triterpênico como o ácido ursólico se encontram em grande quantidade nas folhas o que justifica o interesse em analisar o teor de ácido ursólico em diferentes progênies (GNOATTO et al, 2005)

**OBJETIVO:** Analisar o teor de ácido ursólico em progênies de erva-mate por CLAE.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** As amostras coletadas no centro de melhoramento vegetal da Embrapa foram selecionadas através de dados fitoquímicos prévios de metilxantinas e compostos fenólicos (CARDOZO, 2006). Com o auxílio do programa GENES se obteve oito progênies com maior grau de dissimilaridade. O extrato aquoso foi obtido por decocção de 15 g de amostra em 130 mL de água por 15 min. A hidrólise foi realizada com 33 mL de HCl (3 M/L) e refluxo por 1 h. A separação do ácido ursólico foi feita com 50 mL de clorofórmio (4x50 mL). A fração clorofórmica foi evaporada e o resíduo reconstituído com 50 mL de acetonitrila. Esta fração saponídica (FS) foi analisada em CLAE com fase móvel de acetonitrila: água (70:30 v/v) adaptada de Gnoatto et al. (2005).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A determinação cromatográfica das saponinas é um desafio para fitoquímica, a ausência de cromóforos na estrutura química não permite sua detecção por UV, sendo a CLAE a melhor e amplamente utilizada. A curva de calibração linear para o ácido ursólico foi de 8,75 a 175,0  $\mu\text{g/mL}^{-1}$ . A equação linear foi representativa em  $y=9597.9x+846.88$  ( $n=5$ ;  $r^2=0,9998$ ) onde Y representa o pico da área ( $\text{mV}^{-1}$ ) e o X a concentração de ácido ursólico ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). A variação no teor de saponinas triterpênicas entre as progênies foi de 0,0027 a 0,0800%. A progênie P152 se destaca pela baixa concentração, sendo a P84 a que apresenta o maior teor. Os resultados demonstraram uma diferença entre as progênies ( $P=0,012$ ). O valor de herdabilidade de 75,09% indica que o componente genético é bastante significativo em relação aos fatores ambientais.

**CONCLUSÃO:** Houve diferença significativa nos teores de ácido ursólico nas progênies analisadas e o elevado valor de herdabilidade comprova que a seleção de progênies é essencial em pesquisas com melhoramento vegetal.

### REFERÊNCIAS:

- CARDOZO JUNIOR, E. L. C., FERRARESE FILHO, O., CARDOZO FILHO, L., FERRARESE, M. L. L., DONADUZZI, C. M., STURION, J. A. Methylanthines and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil. ) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**. V. 20, p. 553-558, 2007.
- GNOATTO, S. C. B., SCHENKEL, E. P., BASSANI, V. L., HPLC Method to assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 4, p. 723-726, 2005.

<sup>1</sup> Mestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura –Unipar –Umuarama–PR

<sup>2</sup> Biocinese-Centro de Estudos Farmacêuticos Ltda.

<sup>3</sup> Docente do Curso de Farmácia – Unipar –Toledo – PR

<sup>4</sup> Docente do Curso de Ciências Biológicas – Unipar Cascavel e Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura.

## VERIFICAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DAS FOLHAS DE *Psidium guajava* Linn. (MYRTACEAE).

Joseslange Silveira<sup>1,2</sup>, Miria Benetati Delgado Bertéli<sup>1,3</sup>, Karina Clavisso Fonseca<sup>4</sup>, Gustavo Fratucheli Aguiar<sup>4</sup>, Antonio Laverde Jr.<sup>1,4</sup>

**INTRODUÇÃO:** A goiabeira (*Psidium guajava* L.) pertence à família Myrtaceae e é originária das regiões tropicais americanas. O fruto da goiabeira é considerado nutricionalmente valioso devido sua alta fonte de vitamina C, além de vitaminas A e do complexo B (EL-BULK, 1997). Na medicina popular é utilizada para cólicas, colite, diarreia e disenteria. Estudos com extratos de *P. guajava* revelaram atividade antimicótica e antifúngica (ALVES et al., 2006). Suas folhas apresentam a seguinte composição química: taninos (9-10%); óleo essencial (90,3%) rico em cariofileno, nerolidiol,  $\beta$ -bisaboleno, aromadendreno, p-selineno,  $\alpha$ -pineno e 1,8-cineol; triterpenóides. No intuito de levantar informações sobre potenciais atividades de espécies nativas brasileiras, apresentamos nossos primeiros resultados sobre a avaliação das propriedades antioxidantes das folhas da goiabeira.

**OBJETIVO:** Avaliar a atividade antioxidante de extratos alcoólicos das folhas de *P. guajava*.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** As folhas de *P. guajava* foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da UNIPAR (junho/2008), cortadas e submetidas à maceração em etanol para a obtenção do extrato bruto. Este extrato foi avaliado quanto às suas propriedades antioxidantes por método espectrofotométrico (MOLYNEUX, 2004) utilizando o radical 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH•). Foram testadas frações nas concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62,5 e 31,25  $\mu$ g/ml. Uma solução de BHA (100  $\mu$ g/ml) foi utilizada como padrão positivo. Todas as análises foram realizadas em triplicata e apresentadas em porcentagem de inibição (%).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A avaliação preliminar da capacidade de seqüestro de radicais livres de DPPH• pelo extrato bruto das folhas de *P. guajava* revelou um percentual de inibição elevado para a maior concentração testada (~ 85 %). A concentração responsável pela inibição de 50% do radical estável de DPPH• foi calculada com base na série de experimentos espectrofotométricos com diferentes concentrações de extrato. O valor de IC<sub>50</sub> obtido foi de aproximadamente 430  $\mu$ g/mL, o qual pode ser considerado moderado.

**CONCLUSÃO:** Resultados preliminares revelaram que o extrato bruto alcoólico das folhas de goiabeira apresenta propriedades antioxidante moderadas. Porém, estudos adicionais se fazem necessários para confirmação destes resultados.

## REFERÊNCIAS

- Alves, P. M. et al. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação *in vitro*. **Rev. Bras. Farmac.**, vol. 16, p 192-196, 2006.
- El-Bulk, R. E.; El-Babiker, F. E.; El-Tinai, A. H. Changes in chemical composition of fruits during development and ripening. **Food Chemistry**, v.59, n.3, p.395-399, 1997.
- MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin J. Sci. Technol.**, vol. 26, p. 211-219, 2004.

<sup>1</sup>Programa de Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Universidade Paranaense, Umuarama – PR..

<sup>2</sup>Farmácia, Instituto de Ciências Biológicas, Médicas e da Saúde, Universidade Paranaense, Campus de Paranavaí – PR.

<sup>3</sup>Laboratório Análises Clínicas., Universidade Estadual de Maringá, Campus de Umuarama – PR.

<sup>4</sup>Farmácia, Instituto de Ciências Biológicas, Médicas e da Saúde, Universidade Paranaense, Campus de Umuarama – PR.