

04 A 06 DE FEVEREIRO DE 2014



CIÊNCIA NO ESPELHO

Organização: Comitê Setorial de Pesquisa, SCB.



Lista de Trabalhos

Adolescentes obesos submetidos a tratamento físico multidisciplinar: avaliações físicas multidisciplinares e estudo de associação com variante do gene <i>adipoq</i>	1
Bassani, L.L.; Milano, G.E.; Cieslak, F.; Leite, N.; Souza, R.L.R.; Furtado-Alle, L.	1
Análise da Expressão do Gene <i>chk1</i> em Carcinomas Mamários	2
Serino, L.T.R.; Oliveira, S. F. V.; Cavalli, I. J.; Urban, C. A.; Lima, R. S.; Ramos, F. S.; Ribeiro, E. M. S. F.	2
Análise da expressão dos genes <i>pdia3</i> e <i>pdia6</i> em carcinomas primários de mama	3
Ramos, F.S.; Serino, L.T.R.; Carvalho, C.M.S.; Lima, R.S.; Urban, C.A.; Cavalli, I.J.; Ribeiro, E.M.F.R	3
Análise de um clone metagenômico produtor de compostos potencialmente bioativos	4
Seccon, D. M.; Pedrosa, F. O.; Fadel-Picheth, C. M. T.; Faoro, H.; Santos, M. M.; Souza, E. M.; Wassem, R.	4
Análise dos polimorfismos dos genes da via das lectinas do complemento em pacientes com hanseníase e hepatite B	5
Boldt, A.; Ueda, D.; Leitão, C.; Braga, A.; Stahlke, E.; Reason, I.	5
Análise proteômica em tecido mamário não tumoral contralateral	6
Gomig, T. H. B.; Costa, G. G.; Souza, K. S.; Lima, R. S.; Urban, C. A.; Ribeiro, E. M. S. F.; Cavalli, I. J.	6
Análise química e antioxidante do suco verde funcional	7
Monteiro, M. C.	7
Anatomia e teores nutricionais do xilema secundário de <i>Citharexylum myrianthum</i> cham (verbenaceae) em duas condições de solo	8
Carvalho, P. G. S.; Baptista de Alvarenga, A. M. S.; Soffiatti, P.	8
Aplicação de DNA Barcoding em espécies madeiras da Floresta com Araucária	9
Bolson, M.; Smidt, E.C.; Brotto, M.L.; Silva-Pereira, V.	9
Aspectos da biologia do guará, <i>Eudocimus ruber</i> (Linnaeus, 1758), relacionados à atividade diária no litoral do Estado do Paraná	10
Vigário, D. C.; Spach, H. L.; Krul, R.	10
Associação entre polimorfismos do gene <i>MASP1</i> localizados na região não traduzida a 3' e níveis séricos reduzidos de <i>Masp-3</i>	11
Mendes, H.C.W.; Boldt, A.B.W.; Messias-Reason, I.J.T.	11
Association study between the <i>SLITRK3</i> gene and Alzheimer's Disease	12
Lopes-Silva, S.S.; Simão-Silva, D.P.; Souza, R.L.R.	12
Atividade bioestimulante vegetal de extrato obtido a partir da microalga dulciaquícola <i>Scenedesmus subspicatus</i> (Chodat)	13
Mazepa, E.; Mógor, G.; Mógor, A.F.; Ducatti, D.R.B.; Nosedá, M.E.D.; Nosedá, M.D.	13
Atividade fotossintética de <i>Laguncularia racemosa</i> (L.) Gaertn e <i>Rhizophora mangle</i> (L.) em um gradiente de salinidade	14
Nogueira, G.S.; Boeger, M.R.T.; Larcher, L.	14
Avaliação da ativação de macrófagos de galinha através da interação CD28-CD80/CD86	15
Ribeiro, C.F.; Cavarsan, C.; Ingberman, M.; Zanata, S. M.	15
Avaliação da captação de toxinas urêmicas (<i>p-cresol</i> e <i>p-cresil sulfato</i>) mediada por OAT 1 e OAT 3 e expressão de MCP-1 em HUVEC	16
Reis, M.B.; Souza, W. M.; Finco, A.B.; Bosquetti, B ; Pecoits-Filho, R.; Stinghen, A.E.S.	16
Avaliação da Genotoxicidade do Sulfato de Cobre no Bioindicador <i>Ctenopharyngodon idella</i> (CYPRINIDAE)	17
Pesenti, E. C.; Marques, A. E. M. L.; Cestari, M. M.	17
Avaliação dos efeitos genotóxicos em eritrócitos e tecido cerebral após exposição aguda à Nanopartículas de Dióxido de Titânio (TiO ₂) e Chumbo Inorgânico Pb(II) em <i>Rhamdia quelen</i> (Siluriformes, Heptapteridae)	18
Silva, L.F.O.; Klingelfus, T.; Galvan, G.L.; Vicari, T.; Santos, G.S.; Cestari, M.M.	18
Avaliação dos Mecanismos de Toxicidade da <i>Cilindrospermopsis</i> em Hepatócitos	19
Liebel, S.; Oliveira Ribeiro, C.A.; Randi, M.A.R.; Magalhães, V.; Oliveira, H.H.P.; Rossi, S.C.; Pessotto, A.G.; Silva, L.C.; Filipak Neto, F.	19
Bactérias endofíticas e rizobactérias como promotoras de crescimento em plantas de milho	20
Ikeda, A.C.; Hungria, M.; Kava-Cordeiro, V.; Glienke, C.; Galli-Terasawa, L.V.	20
Beneficial effect of the antioxidant vitamin E on behaviors related to anxiety in normoglycemic and diabetic rats	21
Andrade, E.G.; Souza, C.P.; Rodrigues, A.B.; Zanoveli J.M.	21
Biodegradação de corantes têxteis: triagem de um novo isolado fúngico com atividade descolorante e biossorbitiva	22
Cambri, G.E.; Paba, J.	22
Biomarcadores indicando diferentes fontes de poluição em um estuário brasileiro utilizando duas espécies de peixe como biomonitores	23
Santos, G.S.; Piancini, L.D.S.; Vicari, T.; Limberger, G.G.; Yamamoto, F.Y.; Guiloski, I.C.; Oliveira Ribeiro, C.A.; Silva de Assis, H.C.; Cestari, M.M.	23
Caracterização de um modelo de esteatose hepática alcoólica induzida por etanol e dieta hiperlipídica em ratos	24
Alves de Souza, C.E.; Stolf, A.M.; Dreifuss, A.A.; Lívero, F.R.; Gomes, L.O.; Cadena, S.M.S.C.; Acco, A.	24
Caracterização Qualitativa e Quantitativa de Metabólitos Secundários das Inflorescências de <i>Musa paradisiaca</i> L.	25
Oliveira, V.S.; Bovo, F.; Campestrini, L.H.; Baggio, S.F.Z.; Maurer, J.B.B.	25
Caracterização ultraestrutural de hemócitos e análise proteômica e lipidômica da hemolinfa de aranha-marrom (<i>Loxosceles intermedia</i>)	26

Bednaski, A.V.; Chaim, O.M.; Senff-Ribeiro, A.	26
<i>Ceratium furcoides</i> (Dinophyceae): colonização da espécie no reservatório de Capivari, Estado do Paraná	27
Cavalcante, K.P.; Ludwig, T.A.V.; Cardoso, L.S.	27
<i>Chalcone promotes enzymatic inhibitions and mitochondrial oxidative stress</i>	28
Escobar, S.J.M.; Brandt, A.P.; Petiz, L.L.; Cadena, S.M.S.C.; Martinez, G.R.; Oliveira, A. R. M.; Rocha, M.E.M.;	28
<i>Citogenética em citótipos de Scapteromys, família Cricetidae (Rodentia), ocorrentes nos estados do Paraná e Rio Grande de sul</i>	29
Santos Morais, G.; Hass, I.	29
<i>Clonagem e expressão heteróloga em Pichia pastoris de um peptídeo pertencente à família das notinas presente no veneno da aranha-marrom Loxosceles intermedia</i>	30
Matsubara, F.H.; Meissner, G.O., Morgon, A.M.; De Mari, T.L.; Chaim, O.M.; Veiga, S.S.	30
<i>Clonagem, expressão heteróloga e análise estrutural e funcional de uma metaloprotease do tipo astacina presente no veneno de aranha-marrom (Loxosceles intermedia)</i>	31
Morgon, A. M., Meissner, G. O., De-Mari, T. L., Matsubara, F. H., Trevisan-Silva, D., Gremski, L. H., Senff-Ribeiro, A., Veiga, S. S., Chaim, O. M.	31
<i>Clonagem, expressão heteróloga e purificação do alérgeno Loxi1 identificado na biblioteca de cDNA da glândula produtora de veneno da aranha marrom (Loxosceles intermedia)</i>	32
Dias, B. C. L.; De-Mari, T. L.; Ferrer, V. P.; Meissner, G. O.; Morgon, A.; Matsubara, F. H.; Chaim, O. M.; Veiga, S. S.	32
<i>Cold Stress Alters the Activity of Antioxidant Enzymes of Embryogenic Cells of Araucaria angustifolia</i>	33
Furlanetto, A.L.D.M.; Gozzi, G.J.; Zarpelão, C.A.; Martinez, G.R.; Rocha, M.E.M.; Maurer, J.B.B.; Cadena, S.M.S.C.	33
<i>Comparação das atividades anticoagulante e antitrombótica de frações de heparinas suína e bovina</i>	34
Drehmer, D. L.; Nogueira, A. V.; Gracher, A. H. P.; Sassaki, G. L.; Iacomini, M.; Cipriani, T. R.	34
<i>Complexo Principal de Histocompatibilidade: implicações para o pêfigo foliáceo endêmico e para a genética de populações humanas</i>	35
Paulini, E; Kuniwake, S.M; Oliveira, L.A; Petzl-Erler, M.L	35
<i>Conservação e taxonomia de linhagens fúngicas da Rede Paranaense de Coleções Microbiológicas - Rede TAXON line</i>	36
Furuie, J. L.; Gomes, R. R.; Nascimento, M. M. F.; Santos, G. D.; Ribas, D.; Santos, F. B.; Glienke, C.; Kava-Cordeiro, V.; Marinoni, L.; Vicente, V. A.	36
<i>Construção de vetores plasmidiais para comprovação de interações encontradas para o domínio citoplasmático de semaforina 5B</i>	37
Polak, I. P.; Favaro, C.; Mercadante, A. F.	37
<i>Controle biológico do fungo fitopatogênico Phyllosticta citricarpa</i>	38
Amorim, R.; Silva, A. O.; Glienke, C.	38
<i>Cytotoxicity of SYD-1 on Human Hepatocellular Carcinoma Cells (HepG2) and Primary Rat Hepatocytes</i>	39
Brandt, A.P.; Gozzi, G.J.; Martinez, G.R.; Acco, A.; Souza, C.E.A.; Echevarria, A.; Canuto, V.C.; Cadena, S.M.S.C	39
<i>Danos ao DNA nas células do tecido renal da espécie de peixe Rhamdia quelen após contaminação trófica com sulfato de alumínio</i>	40
Klingelfus, T.; Da Costa, P. M.; Scherer, M.; Cestari, M. M.	40
<i>Danos em tecido hepático de Rhamdia quelen (Pisces, Heptapteridae) causados por nanopartículas de dióxido de titânio</i>	41
Klingelfus, T.; Vicari, T.; Oya Silva, L.; Galvan, G.L.; Santos, G.S.; Pereira, L.S.; Assis, H.C.S.; Cestari, M.M.	41
<i>Descrição Morfo-Anatômica de Muehlenbeckia Sagittifolia Meisn. (Polygonaceae)</i>	42
Erbano, M.; Bohn, A.; Perico, C.P.; Santos, E.P.	42
<i>Desenvolvimento de banco de dados para coleções microbiológicas do estado do Paraná</i>	43
Santos, F. B.; Glienke, C.; Marinoni, L.; Kava-Cordeiro, V.; Vicente, V. A.	43
<i>Desenvolvimento Embrionário de Gallus gallus domesticus</i>	44
Sbardella, A.; Duarte, I.; Ferreira, L.; Camargo, S.; Guilhen, V.	44
<i>Desenvolvimento embrionário e metamorfose da díptera Sarconesia chlorogaster</i>	45
Mota, F.J.T.; Gonçalves, L.B.; Michalak, M.C.; Baladelli, M.S.	45
<i>Diatomáceas perifíticas em Ludwigia sp L. (Onagraceae): I. Pinnularia Ehrenberg (Bacillariophyceae)</i>	46
Monteiro, A.; Tremarin, P.; Ludwig, T.	46
<i>Diatomáceas perifíticas em substrato artificial da Represa Alagados, Ponta Grossa, Paraná</i>	47
Straube, A.; Bertolli, L.M.; Tremarin, P.I.; Ludwig, T.A.V.	47
<i>Diferenciação dos instares larvais de Paraulucilia xanthogeneiates (Dear, 1985): uma abordagem morfológica</i>	48
da Silva, S.M; Vairo, K.P; Moura, M.O	48
<i>Diversidade e potencial antimicrobiano de fungos endofíticos isolados de Schinus terebinthifolius</i>	49
Santos, G. D.; Gomes, R.; Barbieri, D.; Glienke, C.; Maia, B.; Degenhardt, J.; Vicente, V.	49
<i>Efeito da debicagem em três diferentes densidades populacionais sobre a área de fibras musculares (Mm. Pectoralis major) em Codornas (Coturnix c. japonica).</i>	50
Bertholo, H.C.	50
<i>Efeito da vitamina E sobre o estresse oxidativo e comportamentos relacionados à ansiedade e depressão em animais diabéticos induzido por estreptozotocina</i>	51
Morais, H.; Pasquini, C.S.; Cunha, J.M.; Zanoveli, J.M	51
<i>Efeito do grau hierárquico de dominância na memória associativa de Lambaris (Astyanax altiparanae)</i>	52

Lugo, F.; Scherer, M.; Castilho, M.F.; Lima, M.; Santos, M.	52
<i>Efeitos da contaminação por petróleo na raiz e folha de <i>Canavalia ensiformis</i> (Fabaceae)</i>	53
Balliana, A.G.; Moura, B.B.; Santos, G.O.; Bona, C.	53
<i>Efeitos da hispídulina sobre o metabolismo oxidativo e a viabilidade de células de hepatoma humano (HepG2)</i>	54
Worfel, P. R.; Barbosa, F. A. L.; Winnischofer, S. M. B.; Rocha, M. E. M.	54
<i>Efeitos da temperatura de aclimação nas enzimas do metabolismo energético e do estresse oxidativo no rim dos teleosteos antárticos: <i>Notothenia coriiceps</i> e <i>Notothenia rossii</i></i>	55
Krebsbach, P.; Zaleski, T.; Machado, C.; Pedreiro, M.R.D.; Silva, F.B.V.; Cettina, L.B.; Forgati, M.; Rodrigues, E.; Donatti, L.	55
<i>Efeitos de nanopartículas de prata e pesticidas organoclorados em macrófagos peritoneais de camundongo</i>	56
Glinski, A.; Liebel, S.; Oliveira Ribeiro, C.A.; Randi, M.A.F.; Voigt, C.L.; Campos, S.X.; Filipak Neto, F.	56
<i>Efeitos ecotoxicológicos da Fração Solúvel da Gasolina em peixes</i>	57
Galvan, G.L.; Tincani Osório, F.H.; Yamamoto, C.I.; Cestari, M.M.	57
<i>Embriogênese somática em híbrido de dendê africano x caiaué</i>	58
Bonetti, P. A. K.; Nesi, J.; Martin, S. S.; Quisen, C. R.; Quoirin, M.	58
<i>Estudo comparativo do efeito do estresse térmico sobre a morfologia e o sistema de defesa antioxidante em eritrócitos dos peixes antárticos <i>Notothenia rossii</i> (Richardson, 1844) e <i>Notothenia coriiceps</i> (Richardson, 1844)</i>	59
Pedreiro, M.R.D.; Machado, C.; Zaleski, T.; Krebsbach, P.; Forgati, M.; Donatti, L.	59
<i>Estudo de biomarcadores de potencial uso diagnóstico para carcinoma de mama do tipo ductal e lobular invasivo</i>	60
Manica, G. C. M.; Klassen, L. M. B.; Pereira, I. T.; Chequin, A.; Klassen, G.	60
<i>Estudo de regeneração em <i>Diadumene</i> sp. (cnidaria, anthozoa, diadumeniidae)</i>	61
Salvalaggio, A.V.; Oliveira, A.I.; Schlösser, T.C.; Costa, T.D.P.	61
<i>Expressão heteróloga e avaliação da atividade de uma fosfolipase recombinante de lagarta <i>Lonomia obliqua</i></i>	62
Marin, B.; Meissner, G.; Morgon, A.; Chaim, O.	62
<i>Filogeografia do complexo <i>Myrcia laruotteana</i> Cambess.</i>	63
Mauad, A.V.; Smidt, E.C.; Lima, D.F.; Goldemberg, R.; Silva-Pereira, V.	63
<i>Fonte alimentar sanguínea de <i>Lutzomyia</i> (<i>Nyssomyia</i>) <i>intermedia</i>, estado do Paraná, Brasil</i>	64
Baum, M.; Costa-Ribeiro, M. C. V. da; Damasio, G. A. C.; Lorosa, E. S.; Castro, E. A. de.	64
<i>Fontes de Variação da Morfometria de Filhotes do Papagaio-de-Cara-Roxa (<i>Amazona brasiliensis</i>)</i>	65
Sipinski, E. A. B.; Abbud, M. C.; Cavalheiro, M. L.	65
<i>Fungos endofíticos com potencial de biodegradação de corantes têxteis</i>	66
Freitas, F.N.P.; Santos, F. B.; Kava-Cordeiro, V.	66
<i>Glutathione modifies the oxidation of the free nucleoside 2'-deoxyguanosine by singlet molecular oxygen</i>	67
Peres, P.S.; Scalfo, A.C.; Di Mascio, P.; Martinez, G.R.	67
<i>Haplótipos de MASP2 e Febre reumática</i>	68
Catarino, S.; Boldt, A.; Nisihara, R.; Messias Reason, I.	68
<i>Histologia e caracterização histoquímica da estrutura estomacal do peixe antártico <i>Notothenia rossii</i> (Richardson, 1844) sob condições de estresse térmico</i>	69
Krebsbach, P.; Cofré, A.H.R.; Machado, C.; Pedreiro, M.R.D.; Silva, F. B. V.; Zaleski, T.; Cettina, L. B.; Forgati, M.; Piechnik, C.A.; Donatti, L.	69
<i>Identificação das espécies dos complexos <i>Colletotrichum acutatum</i> e <i>C. gloeosporioides</i> associadas à queda prematura dos frutos cítricos no Brasil</i>	70
Gomes, F.; Jordan, M.; Aluizio, R.; Glienke, C.	70
<i>Identificação de Ligantes de Semaforinas Classe 5</i>	71
Fávaro Jr, C.; Lima, E. C.; Polak, L. P.; Mercadante, A. F.	71
<i>Identificação de ligantes dos transcritos do cromossomo Philadelphia- Estudo e monitoramento da doença residual mínima em leucemias</i>	72
Yamanaka, I. B.; de Moura, J. F.; Alvarenga, L. M.	72
<i>Identificação e caracterização molecular de populações de <i>Monilinia</i> sp.</i>	73
Fischer, J.M.M.; Araujo, H.E.; May De Mio, L.L.; Glienke, C.	73
<i>Identification of cellular prion protein interactions in the olfactory epithelium, using yeast two-hybrid system</i>	74
Richter, L. M. L.; Gimenez, A. P. L.; Atherino, M.; Yamasaka, F. M.; Oliveira, G. F. S.; Beirão, B. C. B.; Mercadante, A. F.	74
<i>Isolamento e caracterização dos polissacarídeos das sementes de Chia (<i>Salvia hispanica</i>)</i>	75
Martins, L.; Petkowicz, C.	75
<i>Isolamento e identificação de fungos endofíticos do gênero <i>Muscodora</i>, com grande potencial para controle biológico</i>	76
Servienski, A.; Pena, L.C.; Kava-Cordeiro, V.	76
<i>Micropropagação de <i>Brasiliidium forbesii</i></i>	77
Gomes, L. R. P.; Ribas, L. L. F.	77
<i>Morfologia e composição nutricional de frutos ornitocóricos em três estádios sucessionais na floresta atlântica brasileira</i>	78
Malanotte, M.L.; Campos, R. P.; Souza, T.M.; Petkowicz, C.L.O.; Varassin, I.G.	78
<i>Muito além da consolidação: a sesta facilita a resolução de problemas</i>	79

Beijamini, F.; Pereira, S.I.R.; Cini, F.; Louzada, F.M.	79
<i>Muscodor sp</i> inibe os sintomas da MPC em frutos de laranja destacados	80
Pena, L.C.; Jung, L.F.; Goulin, E.H.; Serviensi, A.; Galli-Terasawa, L.V.; Glienke, C.; Kava-Cordeiro, V.	80
O splicing do pre-mRNA do gene <i>RECK</i> é regulado por sinalização oncogênica e modula a expressão de MMPs, e TIMPs	81
Jacomasso, T.; Trombetta-Lima, M.; Konig, M.; Martinez, G. R.; Moreno, L. F.; Sogayar, M. C.; Winnischofer, S. M. B.	81
Obtenção e Caracterização Funcional de Toxina Recombinante Pertencente à Família das Notinas Presente do Veneno de Aranha-Marrom (<i>Loxosceles intermedia</i>)	82
Meissner, G. O.; Matsubara, F. H.; Morgon, A. M.; Trevisan-Silva, D.; De Mari, T. L.; Chaim, O. M.;	82
Oogênese de <i>Loxosceles intermedia</i> : principais conclusões e perspectivas	83
Fogaça, E.; Ortolani-Machado, C.F.	83
Papel da melanogênese na indução da quiescência em células de melanoma murino B16-F10	84
Meira, W. V.; Cadena, S. M. S.; Martinez, G. R.	84
Participação da ilha de CpG localizada no corpo do gene no controle da expressão de MMP14 em linhagens tumorais de mama	85
Chequin, A.; Manica, G. C. M.; Klassen, L. M. B.; Pereira, I. T.; Klassen, G.	85
Percepção de atletas de uma equipe de basquetebol à respeito dos processos de ansiedade e imaginação positiva	86
Paula Jr., E.P.; Kuczynski, K.M.; Paes, M.J.; Almeida, S.A.; Stefanello, J.M.F.	86
Perfis bioquímicos plasmáticos em cães alimentados com dietas fibrosas	87
Scheraiber, M.; Sabchuk, T.T.; Knoph, T.A.; Silva, J.R.; Fischer da Silva, A.V.; Félix, A.P.	87
Pesquisa e produção de processos e materiais didáticos em ciências para a aplicação em escolas do PROUCA: o Sistema Digestório	88
Fratoni, R. O.; Martins, B. R.; Rios, F. S.; Bodruk, T.; Mendonça, M. H.; Schadeck, R. J. G.	88
Polimorfismos de genes do sistema imune - aspectos evolutivos e susceptibilidade ao pênfigo foliáceo	89
Camargo, C. M.; Beltrame, M. H.	89
Produção de bio-ferramentas capazes de detectar toxinas urêmicas, e seu uso na caracterização da Doença Renal Crônica	90
Becker-Finco, A.; Stinghen, A. E.; Reis, M. B.; Moura, J. F.; Alvarenga, L. M.	90
Regulação da expressão do gene <i>MMP2</i> diante da sinalização da fibronectina na linhagem tumoral de mama MCF7	91
Pereira, I. T.; Ramos, E. A. S.; Chequin, A.; Manica, G. C. M.; Klassen, L. M. B.; Klassen, G.	91
Regulação do gene <i>mmp9</i> por metilação do DNA em câncer de mama	92
Klassen, L. M. B.; Manica G. C. M.; Pereira, I. T.; Chequin, A.; Klassen, G.	92
Relação entre resistência a fungicidas benzimidazóis e mutações no gene <i>Beta-Tubulina</i> presentes em linhagens de <i>Monilinia fructicola</i>	93
Araujo, H.E.; De Mio, L. L.; Glienke, C.	93
Respostas biológicas de <i>Prochilodus lineatus</i> frente a nanopartículas agregadas de dióxido de titânio e óxido de zinco	94
Miranda, R. R.; Silveira, A. L. D.; Jesus, I. P.; Voigt, C. L.; Campos, S. X.; Esquivel, J. R.; Ribeiro, C. A. O.; Filipak Neto, F.	94
Síntese de β -C-glucosil cetonas	95
Mila, M. C. S.; Ducatti, D.R.B.	95
Spermatheca of Brown Spider <i>Loxosceles intermedia</i> Mello-Leitão (1934) (Araneae:Sicariidae): A Light and Electron Microscopical Study	96
Inokuti, R.A.; Fogaça, E.; Costa-Ayub, C.L.S.; Ortolani-Machado, C.F.	96
Terpenos cítricos influenciam o fungo <i>Phyllosticta citricarpa</i> , causador da Mancha Preta dos Citros	97
Maba, L.S.F.; Linchuca, L.C.; Rodríguez, A.; Peña, L.; Glienke, C.; Galli-Terasawa, L.V.; Kava-Cordeiro, V.	97
The Galactomannan isolated from <i>Schizolobium amazonicum</i> and its chemically sulfated derivative inhibit the respiration in hepatocarcinoma cells HepG2	98
Cunha, M.M.; Cadena, S. M. S. C.; Petkowicz, C. L.; Noletto, G. R.	98
Towards the identification of the Minimal gene set of <i>Herbaspirillum seropedicae</i> SMR1 by RNA-Seq	99
Barbosa, H.C.S.B.; Cruz, L.M.; Faoro, H.; Tadra Sfeir, M.Z.; Cardoso, R.L.A.; Pedrosa, F.O.; Souza, E.M.; Monteiro, R.A.	99
Transformação de <i>Phyllosticta citricarpa</i> e <i>Phyllosticta capitalensis</i> mediada por <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	100
Senkiv, C. C.; Wobeto, J. B.; Santos, P. J. C.; Glienke, C.	100
Ultraestrutura e distribuição geográfica de <i>Aulacoseira gessneri</i> (Diatomeae)	101
Tremarin, P. I.; Loverde-Oliveira, S. M.; Ludwig, T.V.; Torgan, L. C.	101
Uso do embrião de ave (<i>Gallus gallus</i>) como modelo aplicado à toxicidade humana	102
Borges, M. E.; Ortolani-Machado, C. F.; Ribeiro, C. A. O.	102
Variabilidade genética do gene <i>HLA-F</i> em uma amostra de afro-brasileiros do sul do Brasil	103
Alcântara, F.; Roxo, V. M. M. S.; Bezerra Neto, S. A.; Gelmini, G. F.	103
Variabilidade genética de fungos do gênero <i>Colletotrichum</i> de plantas cítricas e da vegetação espontânea	104
Andrade-Waculicz, C. E.; Bini, A. P.; Gonzales, K. P.; Galli-Terasawa, L. V.; Kava-Cordeiro, V.; Glienke, C.	104

Adolescentes obesos submetidos a tratamento físico multidisciplinar: avaliações físicas multidisciplinares e estudo de associação com variante do gene adipoq

Bassani, L.L.; Milano, G.E.; Cieslak, F.; Leite, N.; Souza, R.L.R.; Furtado-Alle, L.

Laboratório de Polimorfismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: lulangebassani@gmail.com

A obesidade é uma doença epidêmica que pode levar a sérias complicações como diabetes, doença cardiovascular, hipertensão e câncer. A adolescência é um período da vida em que ocorrem muitas mudanças corporais e o sobrepeso ou obesidade nessa fase parecem estar associados a vários efeitos adversos da saúde física. A interação de fatores genéticos e ambientais determinam a saúde humana, e regulam várias funções metabólicas que levam a deposição de gordura corpórea. Este trabalho teve como objetivo investigar a associação entre obesidade juvenil, incluindo diferenças na resposta à atividade física e SNP rs1501299 do gene ADIPOQ. Adolescentes com excesso de peso (n=117, 10-16 anos) participantes de um projeto de 3 meses de exercícios físicos e orientação nutricional tiveram o DNA genotipados para o polimorfismo rs1501299 do gene ADIPOQ, previamente já relacionado com obesidade. Após os 3 meses, ocorreu redução significativa ($p < 0,05$) para as variáveis peso, índice de massa corporal (IMC), índice de massa corporal score-Z (IMC-score Z), circunferência abdominal (CA), frequência cardíaca em repouso (FC rep), % de gordura, massa gorda (MG), triglicérides (TG), glucose após 120 min (GLU 120), insulina em jejum (INS 0), insulina após 120 min (INS 120), HOMA – IR e frequência cardíaca máxima (FC máx). As variáveis, massa magra (MM), HDL-C, QUICKI, VO2 pico e VO2 abs sofreram aumento significativo. Para o polimorfismo rs1501299 do gene ADIPOQ, foi constatada uma melhor resposta aos exercícios físicos e orientação nutricional de 3 meses por parte dos indivíduos de genótipo usual (GG) em relação aos indivíduos de genótipo mutante (GT+TT). Após análise de regressão logística ajustada para sexo e idade, foi encontrada significância para as variáveis CA, INS 0 e índice HOMA-IR. Conclui-se que 3 meses de exercícios físicos foram suficientes para melhora na adiposidade, sensibilidade à insulina, aptidão cardiorrespiratória e perfil lipídico em adolescentes caucasianos obesos, sendo que indivíduos de genótipo usual (GG) tiveram ainda mais sucesso em relação ao genótipo mutante. Além disso, o polimorfismo rs1501299 mostrou ser um fator de risco independente para as variáveis CA, INS 0 e HOMA-IR.

Palavras-chave: *rs1501299, adipoq, obesidade, adolescentes, intervenção.*

Agradecimentos: Agradecimento aos integrantes do Laboratório de Polimorfismos.

Análise da Expressão do Gene *chk1* em Carcinomas Mamários

Serino, L.T.R; Oliveira, S. F. V; Cavalli, I. J; Urban, C. A; Lima, R. S; Ramos, F. S; Ribeiro, E. M. S. F.

Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética, Departamento de Genética, UFPR.

Email: le.serino@gmail.com

Mais de um milhão de mulheres são diagnosticadas com câncer de mama por ano em todo o mundo, sendo este tipo de câncer o mais incidente entre a população feminina. Análises de expressão gênica em genes envolvidos no reparo do DNA, assim como na regulação do ciclo celular têm demonstrado que a elevada expressão dos genes envolvidos nessas vias está associado com o desenvolvimento do câncer. A fosforilação da proteína CHK1 ocorre na serina 317 e serina 345 em resposta à radiação ionizante, radiação ultravioleta e hidroxirúria, ativando o ponto de checagem do ciclo celular em S e G2. O objetivo deste estudo foi analisar a expressão do gene CHK1 em tumores primários de mama em relação com o tecido não tumoral da mama contralateral, assim como, analisar o perfil de expressão entre tumores com presença e ausência de metástase e tumores grau I e II em relação aos de grau III. A análise da expressão relativa foi determinada através da *qRT-PCR*, utilizando o método comumente chamado de Quantificação Relativa $2^{-\Delta\Delta Ct}$. A expressão relativa do CHK1 em tumores primários de mama foi de $3,52 \pm 2,52$ quando comparado com o tecido não tumoral da mama contralateral. A expressão relativa em tumores que apresentavam metástase em relação à ausência de metástase foi de $4,68 \pm 3,21$ e $2,60 \pm 1,29$ respectivamente. Tumores com grau I e II apresentaram a média de expressão relativa de $3,02 \pm 2,39$, enquanto que em tumores de grau III foi de $4,90 \pm 2,48$. Foi utilizado o método de Mann-Whitney ou o teste t para a análise estatística dos resultados, nos três casos, apresentaram-se estatisticamente significativos utilizando-se um nível de confiança de 95%. Tais dados sugerem que a alteração nos níveis de expressão do gene CHK1 esteja envolvida com a gênese e progressão tumoral, pois este gene apresenta um importante papel na regulação do ciclo celular, assim como, em processos de danos ao DNA. Estudos utilizando a técnica de *Western blot* estão sendo realizados com o intuito de observar a expressão proteica desse gene em amostras tumorais e não tumorais.

Palavras-chave: Câncer de Mama, *chk1*, Expressão gênica.

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

Análise da expressão dos genes *pdia3* e *pdia6* em carcinomas primários de mama

Ramos, F.S.; Serino, L.T.R.; Carvalho, C.M.S.; Lima, R.S.; Urban, C.A.; Cavalli, I.J.; Ribeiro, E.M.F.R

Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética, Departamento de Genética, UFPR.

Email: fabiano.oncogen@gmail.com

O câncer é uma doença genética, de caráter multifatorial, resultantes de alterações genômicas como mutações pontuais, rearranjos, deleções e ampliações que determinam modificações na expressão dos oncogenes e de genes supressores de tumor. A incidência e mortalidade por câncer vem aumentando a cada ano no mundo, tornando-se um dos maiores problemas de saúde pública. O câncer de mama é a segunda neoplasia mais comum e a principal causa de morte em mulheres em todo o mundo. A análise de expressão gênica, através de PCR em tempo real, de PDIA3 e PDIA6 foi realizada em pacientes que apresentavam câncer de mama primário. Estes genes codificam proteínas que estão envolvidas no controle do estresse celular e são abundantes no retículo endoplasmático. Além disso, quando alteradas, podem estar relacionadas a várias etapas do processo carcinogênico. O presente trabalho analisou a expressão destes genes comparado-a entre o tecido mamário tumoral e não tumoral, e no primeiro entre diferentes parâmetros clínicos, como presença ou ausência de metástase nos linfonodos, receptores hormonais, estrogênio e progesterona, positivos e negativos (ER+/PR+;ER-/PR-), e grau histológico do tumor. Foi observada diferença estatisticamente significativa ($U=57,50$, $p= 0,0009$) na expressão do gene PDIA3 entre o tecido tumoral e não tumoral, sendo maior no primeiro, na presença e ausência de metástase nos linfonodos ($t= 2.185$, $p= 0.0099$) e entre diferentes graus histológicos ($U= 68.00$, $p= 0.0244$). Para o gene PDIA6, a significância da diferença entre as médias de expressão foi verificada entre a presença e ausência de metástase ($U= 99.00$, $p = 0.0476$) e ER+/PR+//ER-/PR- ($U= 61.50$, $p= 0.0351$). Estes resultados sugerem que o gene PDIA3 influencia nos processos iniciais e de progressão do câncer de mama, e o gene PDIA6 está principalmente envolvido na progressão.

Palavras-chave: *expressão gênica, câncer de mama, dissulfeto isomerases, PDIA3, PDIA6.*

Análise de um clone metagenômico produtor de compostos potencialmente bioativos

Seccon, D. M.; Pedrosa, F. O.; Fadel-Picheth, C. M. T.; Faoro, H.; Santos, M. M.; Souza, E. M.; Wassem, R.

Laboratório de Biologia Molecular, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFPR.

Email: seccon@gmail.com

Durante a prospecção de lipases em uma biblioteca metagenômica no fosmídeo pCC2FOS, foram obtidos clones produtores de substância de cor marrom. Um destes clones, denominado M01, se destacou pela alta quantidade produzida e foi selecionado para ser melhor investigado. O inserto de DNA do clone M01 foi quase totalmente sequenciado, e análise bioinformática revelou uma ORF com alta homologia a 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase (4-HPPD), que é a segunda enzima da via catabólica da tirosina, convertendo hidroxifenilpiruvato (HPP) a homogentisato (HGA). Mutagênese com transposon Tn5 confirmou que essa ORF é responsável pela produção do composto marrom. HGA produzido em alta quantidade é excretado pela célula e sofre auto-oxidação e polimerização gerando piomelanina, que tem coloração marrom. Na presença de indol, HGA também forma, através de um mecanismo ainda desconhecido, duas moléculas coloridas com atividade antibiótica e citotóxica, turbomicina A e turbomicina B. O composto marrom produzido pelo clone M01 foi extraído e fracionado até a obtenção de formas purificadas das duas turbomicinas. A pureza relativa e a identidade das moléculas foram confirmadas por TLC e espectrometria de massas MALDI-TOF e Q-TOF. A turbomicina A purificada foi capaz de inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas. As turbomicinas foram obtidas através de abordagem metagenômica apenas recentemente e são ainda muito pouco estudadas. Os resultados indicam que elas podem apresentar importantes atividades biológicas ainda não caracterizadas.

Palavras-chave: *turbomicina, HPPD, metagenômica.*

Análise dos polimorfismos dos genes da via das lectinas do complemento em pacientes com hanseníase e hepatite B

Boldt, A.; Ueda, D.; Leitão, C.; Braga, A.; Stahlke, E.; Reason, I.

Laboratório de Genética Molecular Humana, Departamento de Genética, UFPR.

Email: angelicaboldt@gmail.com

A coinfeção pelo vírus da hepatite B (HBV) tem sido descrita em países endêmicos para a hanseníase. O nosso grupo observou que esta ocorre em até 60% dos pacientes paranaenses, especialmente quando institucionalizados e com a forma mais grave (lepromatosa) da hanseníase. Além disso, observou-se que a susceptibilidade à hanseníase é modulada por polimorfismos de genes da via das lectinas do complemento, tais como a lectina ligante de manose (MBL2), a serina protease 2 associada a MBL (MASP2), e as ficolinas M e L (FCN1 e FCN2). Para avaliar a susceptibilidade genética à coinfeção hanseníase-HBV a qual ainda é totalmente desconhecida, sequenciou-se os promotores e exons 1 e 8 dos genes MBL2 e FCN2, respectivamente, e genotipou-se 11 alelos de MASP2 e 7 de FCN1 por PCR sequência-específica multiplex em até 190 pacientes, sendo 74 (39%) coinfectados (positivos para HBSAg e a-HBc) e 116, lepromatosos (61%). As concentrações séricas de MBL e MASP-2 e a capacidade de ativação do complemento também foram medidos por ELISA, em até 167 pacientes. Os dados foram avaliados por regressão logística binária no programa Stata 9.2. Independentemente da idade (único fator demográfico associado), genótipos contendo haplótipos associados a baixas concentrações de MBL e ficolina-L apresentaram-se associados à coinfeção: MBL2*LYQC (OR=3,44 [IC95%=1,89-9,94], p=0,023) e FCN2*GGGCAC (OR=3,04 [IC95%=1,09-8,46], p=0,034). O haplótipo MASP2*CRDPCYVRT, produtor de concentrações intermediárias de MASP-2, apresentou forte associação independentemente dos dois primeiros genes, da idade e gravidade da hanseníase (OR=10,5 [IC95%=1,8-61,3], p=0,009). Concentrações elevadas de MASP-2 apresentaram associação protetora com a condição lepromatosa (OR=0,018 [IC95%=0,0004-0,779], p=0,04). Estes resultados levam-nos a sugerir, pela primeira vez, que os polimorfismos de genes da via das lectinas conferem susceptibilidade à coinfeção hanseníase-HBV.

Palavras-chave: *Hanseníase, Hepatite B, Lectinas, Complemento.*

Análise proteômica em tecido mamário não tumoral contralateral

Gomig, T. H. B.; Costa, G. G.; Souza, K. S.; Lima, R. S.; Urban, C. A.; Ribeiro, E. M. S. F.; Cavalli, I. J.

Laboratório de Citogenética Humana e Oncogenética, Departamento de Genética, UFPR.

Email: talitahbg@gmail.com

O tecido mamário é composto por diversos tipos celulares que formam complexas redes de interações, essenciais para o seu desenvolvimento e funções fisiológicas normais. As constantes alterações na estrutura e nos níveis de fatores reguladores do desenvolvimento podem predispor o tecido a doenças mamárias, incluindo o câncer. O carcinoma mamário é o segundo tipo de neoplasia mais frequente no mundo, representando 22% dos casos novos a cada ano. A tumorigênese mamária é de etiologia complexa, com diversos fatores contribuindo para conferir malignidade. Diferentes proteínas podem estar envolvidas neste processo, resultando em funções celulares distintas devido a sua expressão diferencial. O estabelecimento do perfil proteico para o tecido mamário não tumoral é fundamental para caracterizar a mama em estado saudável e possibilitar a inferência de alterações envolvidas na transformação e progressão neoplásica. Nesse contexto, a abordagem proteômica permite a identificação e a caracterização de potenciais biomarcadores que possam ser úteis para diagnóstico, terapêutica e prognóstico. No presente estudo, foram utilizadas as metodologias de eletroforese em gel bidimensional e espectrometria de massa para analisar o perfil de expressão proteica de quatro amostras de tecido mamário não tumoral da mama oposta àquela acometida pela neoplasia. A análise dos géis bidimensionais, realizada através do programa ImageMaster™ 2D Platinum v6.0, indicou 80 spots de interesse para a identificação por peptide mass fingerprint (PMF) na plataforma MASCOT. Destes, 48 spots foram identificados e corresponderam a 36 proteínas diferentes, distribuídas em nove categorias funcionais: Citoesqueleto e proteínas associadas (25%); enzimas metabólicas (13,9%); chaperonas moleculares (2,8%); proteínas associadas à membrana, com múltiplas atividades (2,8%); proteínas com funções de ligação/ transporte (38,9%); reguladores do crescimento e proliferação celular (2,8%); detoxificação e proteínas redox (2,8%); biossíntese de proteínas (2,8%); e outras funções (8,3%). Estes dados fornecem informações adicionais para a caracterização do tecido mamário não tumoral. O emprego de metodologias adicionais é relevante para ampliar o conhecimento acerca da mama saudável e possibilitar a elaboração de um mapa proteico desse tecido. Estudos incluindo amostras de tecido tumoral e não tumoral da mama oposta da mesma paciente estão em andamento para avaliação comparativa das proteínas observadas em ambos os tecidos.

Palavras-chave: *proteômica, tecido mamário não tumoral contralateral, câncer de mama.*

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

Análise química e antioxidante do suco verde funcional

Monteiro, M. C.

Laboratório NUPPLAMED, Departamento de bioquímica, UFPR.

Email: consmatteu@hotmail.com

Alimento funcional pode ser definido como qualquer tipo de alimento ou bebida consumido na dieta cotidiana que além do valor nutricional básico traga benefícios fisiológicos específicos como prevenção e/ou redução de doenças crônicas, devido à presença de compostos bioativos. Estudos dos metabólitos secundários como constituintes de uma dieta saudável revelam o seu importante papel na pesquisa em Nutrição. Classificados conforme sua rota biossintética, os metabólitos secundários apresentam efeitos biológicos significativos sobre a saúde humana, como por exemplo, o potencial antioxidante de certos compostos. Podem ser divididos em três principais grupos: compostos fenólicos, terpenoides e alcaloides. Os dois objetivos deste trabalho são: a) avaliar os metabólitos secundários presentes no suco verde funcional - composto por abacaxi, laranja, limão, couve, gengibre e linhaça – através da marcha fitoquímica; b) analisar a atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos e metanol/HCl obtidos. Os ensaios realizados até a presente data foram analisados com sucos devidamente liofilizados e preparados em junho de 2012 e dezembro de 2013. O teste de fenólicos totais efetuado com o suco fresco resultou em aproximadamente 115 µg fenólicos/mL de suco puro; 50 µg fenólicos/mL de suco diluído 1:1 em água; e 31,5 µg fenólicos/mL de suco diluído 1:4 em água. Esses valores podem ser considerados satisfatórios para a dita função do suco. Na marcha fitoquímica não foi possível detectar presença de triterpenóides, esteroides livres, quinonas, antranóis, taninos, antocianinas e antocianidinas, chaconas e auronas. Entretanto foi possível detectar presença de cumarinas em ambas as amostras (2012 e 2013). O teste para quantificação de flavonoides demonstrou que a amostra metanol/HCl do 3º dia de extração obteve a maior absorvância e portanto indicou quantitativamente maior presença de flavonoides chegando a aproximadamente 40 µg/mL, enquanto as outras amostras (extração hidroalcoólica; 1º e 2º extração metanol /HCl) em aproximadamente 10 µg/mL. Os próximos passos para continuação da pesquisa prevista para término no segundo semestre de 2014 são: terminar análise da marcha fitoquímica com base nos resultados de fenólicos totais e flavonoides (grupo de compostos fenólicos) e avaliar a atividade antioxidante do suco através do método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) e poder redutivo para melhor entendimento da ação antioxidativa deste suco funcional.

Palavras-chave: *Alimentos funcionais. Metabólitos secundários. Atividade Antioxidante.*

Agradecimentos: Agradeço o auxílio da minha orientadora e co-orientadora; Selma Faria Zawadzki Baggio e Juliana Bello Baron Maurer. Aos meus colegas da NUPPLAMED: Luciano Campestrini; Andressa Soldara da Silva; Melina Seyfried; Vanessa Staltoni; Fabio Yamassaki; Fabiola Stevan; Fernanda Bovo.

Anatomia e teores nutricionais do xilema secundário de *Citharexylum myrianthum* cham (verbenaceae) em duas condições de solo

Carvalho, P. G. S.; Baptista de Alvarenga, A. M. S.; Soffiatti, P.

Laboratório de botânica estrutural, Departamento de Botânica, UFPR

Email: paulogabrielbio@yahoo.com.br

As características físico-químicas dos solos podem afetar o xilema secundário, ocasionando modificações na estrutura anatômica. Estes fatores abióticos afetam a atividade cambial gerando alterações no tamanho e na organização dos elementos celulares que compõem o lenho, que podem ser interpretados como respostas ao ambiente. O objetivo deste estudo foi o de comparar a estrutura anatômica do xilema secundário em duas populações de *Citharexylum myrianthum* Cham. (Verbenaceae) que ocorrem em dois tipos de solo, Cambissolo e Gleissolo, em uma área de Mata Atlântica. As amostras de xilema secundário foram coletadas na altura do DAP (diâmetro a altura do peito), em 15 indivíduos de cada população. Para o estudo anatômico, as amostras foram fixadas em FAA50, seccionadas nos planos transversal, longitudinal tangencial e radial, coradas com safranina e montadas em lâminas permanentes, seguindo as técnicas usuais utilizadas em anatomia da madeira. As características quantitativas analisadas foram comprimento e diâmetro dos elementos de vaso, comprimento e espessura da parede das fibras, altura e largura dos raios, frequência dos vasos e raios. As características qualitativas gerais do xilema secundário de *C. myrianthum* em ambas as populações foram semelhantes ao descrito na literatura, entretanto foram observadas diferenças quanto à porosidade. Os dados anatômicos quantitativos foram diferentes entre as populações, onde no Gleissolo mostraram os maiores valores de frequência de vaso, espessura da parede dos elementos de vaso e comprimento das fibras e no Cambissolo apresentaram os maiores valores de comprimento dos vasos e espessura da parede das fibras.

Palavras-chave: *Alagamento, madeira, anel de crescimento.*

Aplicação de DNA Barcoding em espécies madeireiras da Floresta com Araucária

Bolson, M.; Smidt, E.C.; Brotto, M.L.; Silva-Pereira, V.

Laboratório de Sistemática e Ecologia Molecular de Plantas, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: monicabolson@gmail.com

A Floresta Ombrófila Mista (FOM), popularmente conhecida como Floresta com Araucária, tem hoje sua cobertura vegetal reduzida, pois foi durante muitos anos considerada uma das principais fontes de matéria-prima para a indústria madeireira nos estados da região do Sul do Brasil. Visando a padronização da técnica de DNA barcoding como uma alternativa de identificação rápida de espécies vegetais arbóreas exploradas como fonte de madeira na FOM testou-se a aplicabilidade de três regiões do DNA plastidial (matK, trnH-psbA, rbcL) e o nrITS com base nos critérios determinados pelo Consortium for the Barcode of Life (CBOL). Foram obtidas 367 sequências de 115 indivíduos pertencentes a 33 espécies madeireiras, com alta pressão de extração. As quatro regiões testadas mostraram diferentes desempenhos no sequenciamento, variando de 100% a 77%. Entre todas as regiões e as diferentes combinações, ITS (86%) foi a mais eficiente para a identificação das espécies conforme o teste 'best close match', tendo a combinação trnH-psbA+ITS também desempenho semelhante e satisfatório (81%). As quatro regiões individuais apresentaram maior porcentagem de espécies monofiléticas nas árvores de Neighbor-Joining (NJ), já as combinadas em Máxima Verossimilhança (ML), no entanto a combinação das quatro regiões foi melhor apoiada em Máxima Parcimônia (MP). A maioria das espécies se agruparam em suas respectivas famílias, e baseando-se na média da porcentagem de espécies monofiléticas nos três métodos, as regiões que apresentaram melhor desempenho no reconhecimento de espécies monofiléticas foram ITS (75%), trnH-psbA+ITS (77%) e matK+ trnH-psbA+rbcL (76%), com variação de 75% a 77%. O DNA Barcoding demonstrou ser uma alternativa prática e rápida na identificação das principais espécies madeireiras da Floresta com Araucária. Analisando a praticidade da técnica, indicamos ITS como barcode dessas espécies, por se tratar de uma única região com o melhor sucesso de identificação no TaxonDNA e a melhor resolução de espécies monofiléticas na árvore gerada pelo método mais prático (NJ). Para as espécies não discriminadas, o uso do barcode pode indicar problemas de taxonomia do grupo, dúvidas na delimitação de espécies ou mesmo a presença de linhagens parafiléticas, gerando a necessidade de estudos biosistemáticos específicos para estes complexos.

Palavras-chave: *Mata Atlântica, conservação, exploração ilegal, identificação de espécies.*

Agradecimentos: Este estudo foi financiado pela Fundação Araucária, pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Mônica Bolson recebeu bolsa REUNI/ CAPES. Agradecemos a Secretaria Municipal do Meio Ambiente de Curitiba, ao Jardim Botânico Municipal de Curitiba e ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela concessão das licenças de coleta; e aos funcionários do MBM e especialistas pelas identificações das espécies.

Aspectos da biologia do guará, Eudocimus ruber (Linnaeus, 1758), relacionados à atividade diária no litoral do Estado do Paraná

Vigário, D. C.; Spach, H. L.; Krul, R.

Pós-graduação em Ecologia e Conservação, UFPR.

Email: ricardokrul@gmail.com

O guará (*Eudocimus ruber*), é uma ave ciconiiforme pertencente à família Threskiornithidae, facilmente identificada por meio da vistosa plumagem vermelha e pelas pontas negras das asas. De hábitos gregários, *E. ruber* tem sua distribuição original desde o Equador e Colômbia (incluindo Trinidad e parte das Antilhas), até a costa brasileira. No Brasil, sua distribuição original se estendia desde o Amapá até Santa Catarina, acompanhando a formação manguezal. Atualmente o guará é considerado criticamente ameaçado nos estados do sul e sudeste. Dentre os objetivos deste estudo estão: associar aspectos comportamentais de *E. ruber* à fatores físicos e temporais, determinar a estrutura populacional do guará em relação à juvenis e adultos e Identificar ambientes específicos e setores preferenciais para alimentação e repouso/manutenção da plumagem no Complexo Estuarino de Paranaguá. Foram realizadas 16 campanhas amostrais embarcadas, no período de outubro/2012 a julho/2013, conduzindo-se, no mínimo, uma campanha amostral por mês, alternando condições de marés alta e baixa, em uma região da Baía de Pinheiros, no Complexo Estuarino de Paranaguá. As aves foram classificadas quanto à idade (juvenis e adultos), tipo de comportamento (alimentação e repouso/manutenção de plumagem) e ambiente ocupado (baixio, interface baixio-bosque de manguezal e bosque de manguezal), bem como foram obtidos os dados referentes às condições ambientais. Durante cada saída, foram realizados 20 censos de 3 minutos, com intervalos de 10 minutos entre os mesmos. Foram observados 1444 indivíduos de *Eudocimus ruber*, com predominância de aves adultas (93,63%). O maior número de registros foi no período de outono (44,81%), com predomínio de indivíduos adultos (89,95%). Cerca de 70% destes registros foram obtidos durante a estação menos chuvosa no litoral do Paraná. Não houve predominância de um comportamento específico, com alimentação e repouso/manutenção de plumagem correspondendo, respectivamente, a 50,93% e 49,06% dos contatos com *E. ruber*.

Palavras-chave: *alimentação, repouso, Baía de Paranaguá, comportamento, aves, Threskiornithidae.*

Associação entre polimorfismos do gene MASP1 localizados na região não traduzida a 3' e níveis séricos reduzidos de Masp-3

Mendes, H.C.W.; Boldt, A.B.W.; Messias-Reason, I.J.T.

Laboratório de Imunopatologia Molecular e Laboratório de Genética, Departamento de Genética, UFPR.

Email: hellen.chrisw@gmail.com

A protease 1 associada a lectina ligadora de manose 1 (Masp-1), codificada pelo gene MASP1, ativa a via das lectinas do sistema complemento e tem um papel importante na cascata de coagulação. O gene MASP1 também codifica Masp-3, associada com desenvolvimento embrionário na Síndrome 3MC, e MAp44, a qual não possui o domínio serina-protease. Nós recentemente encontramos uma associação entre polimorfismos no gene relacionado MASP2 e a modulação dos níveis das isoformas Masp-2 e MAp19 em soro. Neste estudo, nós procuramos por polimorfismos de MASP1 possivelmente associados com a modulação dos níveis séricos de MASP-3 e MAp44. Comitês de Ética locais aprovaram este estudo. Foram genotipados dois polimorfismos de MASP1, rs72549262 e rs1109452 (ambos localizados na região 3' UTR no Exon 12) em 117 doadores de sangue dinamarqueses com níveis séricos de MASP-3 e MAp44 previamente quantificados (em colaboração com o Prof. Jensenius e Prof. Thiel da Universidade de Aarhus, Dinamarca) assim como em 72 controles brasileiros usando PCR de sequência específica, PCR-SSP. Três haplótipos em dinamarqueses e brasileiros foram encontrados, respectivamente: 68-71% CC, 22-19% CT e 9-10% GT, e uma associação entre a variante MASP1*58267T (rs1109452) com níveis séricos reduzidos de MASP-3 (medianas: 3546 ng/ml em indivíduos com MASP1*58267T versus 4569 ng/ml em homozigotos MASP1*58267C/C, Mann-Whitney $P < 0.0001$) nos dinamarqueses. Não foram encontrados no entanto, associações entre níveis séricos de MAp44 com o polimorfismo rs7254262. A variante MASP1*58267T, encontrada na região não traduzida a RNAm de MASP-3, ocorre com uma frequência de cerca de 30% tanto em dinamarqueses como em brasileiros, e está associada com níveis reduzidos de MASP-3, mas não de MAp44. A variante pode estar aumentando o bloqueio da tradução ou a destruição do RNAm para Masp-3 por meio de micro-RNAs. Estes dados serão verificados com ensaios funcionais de modo a fundamentar estudos futuros relacionando o gene MASP1 a doenças.

Palavras-chave: *Masp-3, sistema complemento, MASP1, SNP.*

Association study between the *SLITRK3* gene and Alzheimer's Disease

Lopes-Silva, S.S.; Simão-Silva, D.P.; Souza, R.L.R.

Laboratório de Polimorfismo e Ligação, Departamento de Genética, UFPR.

Email: sarylopes@gmail.com

The Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative dementia which is more frequent in older people. Cognitive and neuropsychiatric functions decline occurs in a progressive manner, with formation of dystrophic neurites associated with neurofibrillary tangles and neuritic plaques. The *SLITRK3* gene (SLIT and NTRK-Like Family, Member 3), is predominantly expressed in neural tissue and it acts in the modulation of neuritic outgrowth. Is located on chromosome 3q26.1. The *Slitrk3* is an integral membrane protein with 2 N-terminal leucine-rich repeat (LRR). The aim of this work was to analyze the relationship between the Alzheimer's Disease and one of the variants (rs3828419; A/G. exon 2) of the *SLITRK3* gene. A case-control association study was performed, using DNA from 47 patients with Alzheimer's Disease (average age of 77 ± 8.69) from Hospital das Clínicas - UFPR (Curitiba) and 43 healthy elderly (average age of 71 ± 7.91). Case and controls were genotyped by TaqMan genotyping assays. The genotypic frequencies were in Hardy-Weinberg equilibrium. There were no significant differences of the allelic ($G = 0.0319$ and 0.0116 in cases and controls, respectively; $p = 0.36$) and genotypic ($AA = 0.9362$, $AG = 0.0638$, $GG = 0.0000$ and $AA = 0.9767$, $AG = 0.0233$, $GG = 0.0000$ in cases and controls, respectively; $p = 0.35$) frequencies between the assessed groups. The allele and genotypic frequencies did not differ ($p = 0.49$) from other studies in Caucasian population (HapMap-CEU). The *SLITRK3* gene shows a wide expression in the CA3 region of the hippocampus, which is one of the major regions affected in the Alzheimer's disease, acting to inhibit the growth of dystrophic neuritis. Consider this important function of the *Slitrk3*, this was the first study of association of this gene with AD. It was concluded that in this population, the SNP rs3838419, does not act as a risk factor, but it does not exclude that *SLITRK3* is involved in the pathogenesis of AD.

Palavras-chave: *Alzheimer's disease, SLITRK3 gene, dystrophic neurites.*

Atividade bioestimulante vegetal de extrato obtido a partir da microalga dulciaquícola *Scenedesmus subspicatus* (Chodat)

Mazepa, E.; Mógor, G.; Mógor, A.F.; Ducatti, D.R.B.; Nosedá, M.E.D.; Nosedá, M.D.

Laboratório de Química de Carboidratos, Departamento de Bioquímica, UFPR.

Email: mdn@ufpr.br

Microalgas são organismos microscópicos, unicelulares, fotossintéticos, de vida predominantemente aquática. Possuem grande variabilidade de composição bioquímica, tornando-as uma fonte promissora para uso nas indústrias química, farmacêutica, cosmética e de alimentos. Uma das áreas pouco exploradas é a aplicação de extratos de algas na agricultura e horticultura, atuando como bioestimulantes do crescimento vegetal. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade bioestimulante vegetal de um extrato obtido a partir da microalga verde de água doce *Scenedesmus subspicatus* Chodat (Sphaeropleales). A microalga foi cultivada em meio Guillard f/2 por 14 dias, e a biomassa foi isolada por centrifugação e liofilização. O material seco foi submetido a três extrações aquosas sequenciais (10%, 25 °C, 1 h) com agitação constante. O extrato obtido foi dialisado em sistema fechado contra água MilliQ (membrana cut off de 1 kDa), gerando a fração E (eluída da membrana), utilizada nos ensaios de atividade bioestimulante. Sementes de tomate (*Solanum lycopersicum*) foram distribuídas em caixas GERBOX, forradas com papel filtro previamente embebidos em soluções aquosas de E nas concentrações 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 g/L e do produto comercial Acadian™ Seaweed Extract na concentração de 1 mL/L (controle positivo), até alcançarem 2,5 vezes o seu peso. Este procedimento foi realizado em quadruplicata. Após 15 dias em câmara vertical B.O.D., com temperatura média de 25°C e desprovidos de luz, foram avaliados o número (porcentagem) de sementes germinadas, o comprimento (cm) e o volume (cm³) dos hipocótilos. Não houve diferença estatística entre o controle (apenas água), as amostras e o controle positivo, em relação ao número de sementes germinadas. Já em relação ao comprimento dos hipocótilos, as concentrações 0,5, 1,0 e 2,0 g/L apresentaram-se estatisticamente iguais ao controle positivo. Em relação ao volume, as concentrações 0,5 e 1,0 g/L apresentaram-se estatisticamente iguais ao controle positivo, enquanto 1,5 e 2,0 g/L mostraram-se ainda mais ativas. A partir destes resultados, a fração E pode ser considerada um potencial bioestimulante vegetal, com atividade equivalente ao produto comercial da alga *A. nodosum*, e deve ser pesquisada mais profundamente a fim de determinar o seu modo de ação, e os compostos responsáveis pelo efeito bioestimulante.

Palavras-chave: *microalgas, bioestimulante vegetal, agricultura.*

Atividade fotossintética de Laguncularia racemosa (L.) Gaertn e Rhizophora mangle (L.) em um gradiente de salinidade

Nogueira, G.S.; Boeger, M.R.T.; Larcher, L.

Laboratório de Morfologia e Ecologia Funcional, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: gui_nogueira11@hotmail.com

Manguezais são ecossistemas costeiros localizados em regiões tropicais e subtropicais, ocupando áreas de entremarés nas quais se observa uma exigência estrutural e fisiológica dos organismos. A vegetação é caracterizada por uma baixa diversidade de espécies arbóreas. No sul do Brasil, ocorrem as espécies: *Avicennia schaueriana* (Acanthaceae), *Laguncularia racemosa* (Combretaceae) e *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae). Dentre as limitações para o crescimento de plantas em solos alagados estão a redução na disponibilidade de oxigênio no solo e a salinidade, fatores que podem reduzir as taxas fotossintéticas. Os manguezais apresentam diferentes mecanismos adaptativos para ajustar sua fisiologia às condições ambientais extremas nas quais estão inseridos. Variações estruturais nas comunidades de manguezais podem ser atribuídas a diferenças na tolerância fisiológica destas espécies, incluindo respostas fotossintéticas a variações ambientais. O objetivo deste estudo foi caracterizar os padrões fotossintéticos de *L. racemosa* e *R. mangle* em duas áreas de manguezais (Antonina/PR e Guaratuba/PR) com diferentes condições de salinidade. Quinze indivíduos, por espécie, por área, foram selecionados, totalizando 30 indivíduos analisados em cada estuário. Folhas mais expostas dos ramos foram analisadas quanto às trocas gasosas com um sistema aberto portátil de fotossíntese. As variáveis analisadas foram: Radiação Fotossinteticamente Ativa (PAR), Taxa fotossintética (A), Eficiência do Uso da Água (EUA), Eficiência Intrínseca do Uso da Água (EiUA), Taxa de Transpiração (E) e Condutância Estomática (Gs). Para comparar os valores médios dos parâmetros entre as espécies, foi realizada análise de variância (ANOVA). Comparando-se as duas espécies presentes na mesma área, observou-se que, em Antonina, as espécies apresentaram valores semelhantes de A e EiUA. Em Guaratuba, não houve diferenças significativas entre as variáveis estudadas. Quando comparou-se a mesma espécie entre as duas áreas de estudo, *L. racemosa* apresentou apenas diferença para A. Para *R. mangle*, foram observadas diferenças para os valores médios de A, E e Gs. Os resultados indicaram que as espécies apresentaram diferentes padrões fotossintéticos, sendo que essas diferenças são mais marcantes em *R. mangle*. Essas diferenças ocorreram em função da salinidade e mecanismos de exclusão e compartimentalização de sais.

Palavras-chave: manguezais, trocas gasosas, salinidade.

Avaliação da ativação de macrófagos de galinha através da interação CD28-CD80/CD86

Ribeiro, C.F.; Cavarsan, C.; Ingberman, M.; Zanata, S. M.

Laboratório de Neurobiologia, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: carolfidalgo3@gmail.com

A ativação de células T envolve um modelo que propõe duas sinalizações. O primeiro sinal é gerado pela ligação do TCR com o complexo CD3 e o antígeno associado a moléculas MHC. O segundo sinal é gerado através da interação de CD28, expresso em linfócitos T, com moléculas co-estimulatórias, CD80 e CD86, presentes nas células apresentadoras de antígenos profissionais (APCs). Essa interação induz a produção de citocinas específicas, principalmente IL-2, que modulam a ativação do linfócito T. Recentemente, foi descrito que, em mamíferos, CD28 também é capaz de gerar um sinal imunoestimulatório para APCs, mais especificamente células dendríticas, via CD80 e CD86. Essa interação induz um aumento de expressão de IL-6 e IFN- γ , tornando essa interação uma via de duas mãos, na qual ambas as células são estimuladas (ORABONA *et al.*, 2004). Entretanto, não se sabe se esse mecanismo também ocorre em células de aves. Desse modo a porção extracelular de CD28 de galinha foi clonada e expressa em sistema heterólogo bacteriano. Após purificação por IMAC, a proteína recombinante foi usada em ensaios de pull-down com extrato de células HD11 (linhagem de macrófagos de galinha), ligando-se a uma proteína de superfície com perfil eletroforético similar ao CD86. As células HD11 também foram tratadas com CD28 recombinante por 2h, 6h e 24h. Diferentes citocinas foram analisadas por qPCR (IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, IL-13 e IFN- γ), e observou-se uma tendência ao aumento de IFN- γ de 8 h, até pelo menos 24 h depois do início do tratamento com CD28, além de uma tendência de aumento nos níveis de IL-13 e IL-2 em 24 h de tratamento com CD28. Os resultados preliminares sugerem que a imunoestimulação de APCs também ocorre em aves, e não apenas em células dendríticas, mas também em macrófagos.

Palavras-chave: CD28, macrófago, galinha, imunoestimulação.

Avaliação da captação de toxinas urêmicas (p-cresol e p-cresil sulfato) mediada por OAT 1 e OAT 3 e expressão de MCP-1 em HUVEC

Reis, M.B.; Souza, W. M.; Finco, A.B.; Bosquetti, B ; Pecoits-Filho, R.; Stinghen, A.E.S.

Laboratório de Nefrologia Experimental, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: mairabr@ufpr.br

A doença renal crônica (DRC) é uma doença em crescimento exponencial tendo como principal causa de morte nestes pacientes a doença cardiovascular (DCV), sendo cinco vezes maior para esta população do que na população em geral. Com a progressão da doença, os rins perdem a capacidade de remover as toxinas urêmicas da circulação, o que desencadeia uma condição denominada uremia, levando a resposta inflamatória do organismo. Várias células estão envolvidas na resposta celular relacionada à uremia, dentre elas as células endoteliais. A ação das toxinas urêmicas nestas células pode levar ao aumento da produção de moléculas pró-inflamatórias tais como a quimiocina monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), responsável pela quimioatração de monócitos para a camada íntima do vaso durante os eventos que precedem a aterosclerose. Desta forma o objetivo do presente trabalho é analisar a captação de duas importantes toxinas urêmicas, o p-cresol (PC) e seu conjugado sulfatado, o p-cresilsulfato (PCS), via seus transportadores de ânions orgânicos (OAT) 1 e 3 e expressão de MCP-1 *in vitro*. As toxinas serão preparadas em concentrações seguindo as determinações do European Uremic Toxin Work Group (EUTox). O PCS será sintetizado através da reação de sulfatação com ácido cloro sulfônico em dimetilamina. Serão utilizadas linhagens primárias de células endoteliais extraídas de veia de cordão umbilical (HUVEC). A viabilidade celular será avaliada através do método de formazan (MTT), após 24h de tratamento com as toxinas. Após tratamento, lavagem e lise celular, a quantificação destas toxinas nos extratos celulares será determinado por HPLC. A expressão dos OAT's será realizada por imunocitoquímica e o bloqueio seletivo destes será feito com Probenicid e peróxido de hidrogênio. A expressão de MCP-1 será avaliada por ELISA após cinética de 0, 3 e 6h. Hipoteticamente, esperamos que o bloqueio dos transportadores diminua a captação de PC e PCS, o que poderia levar a uma diminuição da expressão de MCP-1 pelas HUVEC. Os OAT's são ainda pouco explorados, em relação às toxinas em estudo e, desta forma, seu estudo e relação com a toxicidade urêmica poderia contribuir para um melhor entendimento dos mecanismos celulares envolvidos no acúmulo de toxinas urêmicas.

Palavras-chave: *doença renal crônica, toxicidade urêmica, p-cresol, p-cresilsulfato, OAT e MCP-1.*

Avaliação da Genotoxicidade do Sulfato de Cobre no Bioindicador *Ctenopharyngodon idella* (CYPRINIDAE)

Pesenti, E. C.; Marques, A. E. M. L.; Cestari, M. M.

Laboratório de Citogenética Animal e Mutagênese Ambiental, Departamento de Genética, UFPR.

Email: emanuelepesenti@gmail.com

A introdução do cobre em ambientes aquáticos deve-se a contaminação por pesticidas utilizados em terrenos agrícolas e à aplicação de compostos de cobre como algicidas, diretamente nos corpos de água. O cobre é um metal de transição essencial para a manutenção de vários processos biológicos. Contudo, também participa de reações oxidativas que promovem a liberação de radicais livres, podendo prejudicar a função celular dos organismos. O conhecimento da especiação química de metais é um aspecto determinante na avaliação de seu verdadeiro impacto ambiental, haja vista que a disponibilidade é geralmente pequena para as concentrações totais de metais em água. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos genotóxico e citotóxico do sulfato de cobre em *Ctenopharyngodon idella* (carpa-capim) exposto a concentração de 0,013 mg/L de cobre ao longo de 168 horas, com amostragens a cada 24 horas e a dois períodos de descontaminação, 15 e 30 dias. As técnicas empregadas foram o ensaio cometa com eritrócitos e células do fígado e o teste do micronúcleo písceo (MNP) em eritrócitos. Os resultados demonstraram que os dois tecidos foram sensíveis a exposição ao cobre, considerando que tanto o ensaio cometa com eritrócitos quanto com células do fígado foi capaz de evidenciar danos ao DNA, quando comparados ao controle negativo e entre os grupos nos diferentes tempos de exposição. O teste do MNP revelou diferenças apenas na alteração nuclear do tipo notched, mas não na frequência de MNP. As células do tecido hepático demonstraram menos danos no DNA, em comparação ao controle, depois de 48 horas de tratamento. Logo, pode-se inferir a atuação do mecanismo de reparo no fígado destes animais. Na comparação da resposta de cada tecido à exposição, o sangue apresentou mais danos, mostrando ser de resposta mais rápida por possivelmente ter um sistema de reparo mais lento. A concentração de cobre lábil nos aquários, detectada por IPC-OES, diminuiu ao longo dos 7 dias de experimento, ao passo que a quantidade de sólidos totais em suspensão aumentou. Os resultados permitem inferir que, mesmo em níveis traço, o cobre é capaz de causar danos ao material genético de *Ctenopharyngodon idella*.

Palavras-chave: *Ensaio Cometa, Micronúcleo Písceo, Peixe.*

Agradecimentos: Reuni, CAPES, CNPq.

Avaliação dos efeitos genotóxicos em eritrócitos e tecido cerebral após exposição aguda à Nanopartículas de Dióxido de Titânio (TiO₂) e Chumbo Inorgânico Pb(II) em *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae)

Silva, L.F.O.; Klingelfus, T.; Galvan, G.L.; Vicari, T.; Santos, G.S.; Cestari, M.M.

Laboratório de Citogenética Animal e Mutagênese Ambiental, Departamento de Genética, UFPR.

Email: laisfoya@gmail.com

Nanopartículas são potencialmente atrativas às indústrias devido às suas propriedades físico-químicas, porém as consequências da sua presença no ambiente aquático ainda são desconhecidas. O chumbo, outro elemento muito utilizado por indústrias, é tóxico e pode causar danos aos organismos em níveis histológicos, genéticos e bioquímicos. O trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos genotóxicos de Nanopartículas de Dióxido de Titânio (NPTiO₂), do Chumbo Inorgânico (PbII) e da associação destes xenobióticos, em sangue e tecido cerebral na espécie *Rhamdia quelen*. Esta espécie é nativa, onívora, reproduzida em pisciculturas e de fácil manutenção em laboratório. Foram realizados bioensaios agudos (96 horas) via injeção intraperitoneal, no qual os espécimes foram divididos em 10 grupos: 2 controles negativos, 5ng/g NPTiO₂, 50ng/g NPTiO₂, 500ng/g NPTiO₂, 21µg/g PbII, 5ng/g NPTiO₂ + 21µg/g PbII, 50ng/g NPTiO₂ +21µg/g PbII, 500ng/g NPTiO₂ +21µg/g PbII, Controle Positivo (Metil Metano Sulfonato na dose 0,5µg/g). Sangue e cérebro foram coletados para a realização do teste do micronúcleo pisco e alterações morfológicas nucleares e do ensaio cometa, respectivamente. Foi observado que grupo exposto ao PbII não apresentou toxicidade em tecido cerebral ou em eritrócitos quando comparado ao grupo controle negativo. Sabe-se que o chumbo é neurotóxico, e provavelmente não foi observada genotoxicidade em tecido cerebral devido ao curto tempo de exposição. O grupo contaminado com 5ng/g NPTiO₂ apresentou maiores danos tanto em cérebro quanto em eritrócito. Entre as alterações morfológicas nucleares mais observadas no grupo de 5ng/g NPTiO₂ destacou-se o tipo *vacuolated*. Todos os grupos de associação entre NPTiO₂ e PbII não apresentaram diferenças significativas quando comparados entre si, tanto no ensaio cometa em tecido cerebral, quanto na análise de alterações morfológicas totais em eritrócitos. A utilização de doses baixas de nanopartículas demonstrou que, provavelmente, sua capacidade de agregação pode ter sido reduzida, facilitando a distribuição no organismo e a entrada nas células, proporcionando assim a observação da genotoxicidade de NPTiO₂ em tecido cerebral e eritrócitos de *Rhamdia quelen*.

Palavras-chave: ensaio cometa, alterações morfológicas nucleares, nanopartículas, chumbo, peixe.

Avaliação dos Mecanismos de Toxicidade da Cilindrospermopsina em Hepatócitos

Liebel, S.; Oliveira Ribeiro, C.A.; Randi, M.A.R.; Magalhães, V.; Oliveira, H.H.P.; Rossi, S.C.; Pessotto, A.G.; Silva, L.C.; Filipak Neto, F.

Laboratório de Toxicologia Celular, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: samliebel@yahoo.com.br

O aumento das atividades antrópicas vem causando uma crescente eutrofização dos ambientes aquáticos, levando à floração de algas e, dentre elas, as cianobactérias. Este fato é muito comum em reservatórios que abastecem grandes centros urbanos. Muitas espécies de algas são produtoras de um tipo de toxina denominada cilindrospermopsina, a qual é potencialmente tóxica para células eucariotas, incorrendo em risco para a saúde humana. Células de hepatoma humano (HepG2) foram cultivadas e expostas à cilindrospermopsina (CYN) em diferentes concentrações. A CYN não foi tóxica nas concentrações até $10 \mu\text{g l}^{-1}$, conduzindo a um aumento da viabilidade e do metabolismo em células cultivadas com 10% de soro fetal bovino (SBF). No entanto, a redução da concentração de SBF para 2% e a indução do citocromo P450 (CYP) parecem ser necessárias para o aumento da capacidade de metabolização de xenobióticos pelas células HepG2 de forma similar a células normais. Desta forma, a indução das CYPs tornaram as células HepG2 mais sensíveis aos efeitos tóxicos da CYN, como observado através de reduções de viabilidade e proliferação celular, bem como do aumento de espécies reativas de oxigênio e peroxidação lipídica na concentração de $10 \mu\text{g l}^{-1}$ de CYN. Acima de tudo, baixas concentrações de CYN ($\leq 10 \mu\text{g l}^{-1}$) induziram a proliferação e o aumento de metabolismo das células HepG2, o que pode ter consequências importantes para células cancerosas que expressam baixos níveis de enzimas de biotransformação.

Palavras-chave: *HepG2, Cilindrospermopsina, metabolismo celular.*

Agradecimentos: à CAPES pela bolsa de pós-graduação.

Bactérias endofíticas e rizobactérias como promotoras de crescimento em plantas de milho

Ikeda, A.C.; Hungria, M.; Kava-Cordeiro, V.; Glienke, C.; Galli-Terasawa, L.V.

Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: angela.ikeda@gmail.com

A cultura de milho se destaca no cenário mundial e o Paraná é o maior produtor nacional dessa cultura. O uso de inoculantes a partir de bactérias que interagem com a planta de forma direta ou indireta, é uma alternativa de redução de custos e impacto ambiental. Na interação planta e bactéria, são encontradas rizobactérias e bactérias endofíticas, diazotróficas e/ou promotoras de crescimento vegetal. A promoção de crescimento pode ser direta pela produção de fitormônios, como auxinas; disponibilidade de nutrientes por meio de solubilização de fosfato e produção de sideróforos; ou no caso das diazotróficas, por fixação biológica de nitrogênio. Também, a promoção de crescimento vegetal pode ser de forma indireta por meio de produção de substâncias inibidoras do crescimento de fitopatógenos ou por competição por espaço e/ou nutrientes. A identificação genética de cepas bacterianas contribui para a seleção de estirpes com melhor desempenho para atividade promotora de crescimento vegetal e, portanto, promissoras para produção de inoculantes. O sequenciamento do gene 16S rRNA é uma ferramenta molecular importante para determinar a posição taxonômica de estirpes de bactérias. Assim, o presente trabalho tem por objetivo selecionar bactérias com atividade promotora de crescimento vegetal e caracterizá-las geneticamente. Para isso, foram isoladas cepas bacterianas de raízes de milho para estabelecer uma coleção. As cepas foram submetidas aos testes *in vitro* para promoção de crescimento vegetal e sequenciamento do gene ribossomal 16S para identificação molecular. As bactérias com melhor desempenho nos testes *in vitro* são selecionadas para experimentação em casa de vegetação.

Palavras-chave: *milho, bactérias, promoção crescimento vegetal, 16S rRNA.*

Agradecimentos: Ao Dr. Francisco Terasawa Junior, da Semília-Genética e Melhoramento, pelo fornecimento dos materiais vegetais. O trabalho foi parcialmente apoiado pelo CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), CNPq-Microrganismos Facilitadores (557746/2009-4) e CNPq-Repensa (562008/2010-1).

Beneficial effect of the antioxidant vitamin e on behaviors related to anxiety in normoglycemic and diabetic rats

Andrade, E.G.; Souza, C.P.; Rodrigues, A.B.; Zanolini J.M.

Laboratório do Sistema Nervoso Central, Departamento de Farmacologia, UFPR.

Email: eder.gambeta@gmail.com

O diabetes é uma doença metabólica crônica cuja prevalência varia entre diferentes países correspondendo à 8 a 10% da população mundial. Comparado à população em geral, estudos mostram que pacientes diabéticos possuem maior prevalência quanto ao desenvolvimento de transtornos do humor e transtornos de ansiedade. As causas dessas comorbidades permanecem ainda para serem elucidadas, embora estudos apontem essas complicações como consequência direta da hiperglicemia crônica ou alterações bioquímicas decorrentes da mesma, como o aumento do estresse oxidativo. Mais ainda, alterações hormonais, como do eixo HPA, e neuroquímicas, como de neurotransmissores como a serotonina, também parecem contribuir com a alta prevalência de diabetes e transtornos psiquiátricos. Tendo em vista que animais diabéticos apresentam uma alta concentração do hormônio corticosterona, assim como é observado em situações de estresse, primeiramente avaliaremos se o comportamento do animal diabético assemelha-se ao comportamento de animais estressados que quando avaliados em modelos animais de ansiedade apresentam respostas do tipo ansiogênica. Para tal, os animais com diabetes induzido pela estreptozotocina serão avaliados em modelos animais capazes de avaliar respostas defensivas relacionadas com alguns tipos de transtornos de ansiedade, o teste no labirinto em T elevado (resposta de esquiva e fuga) e o teste de condicionamento de medo contextual (resposta de congelamento). A fim de entender uma possível relação da desregulação da glicemia, de parâmetros relacionados ao estresse oxidativo e do sistema serotoninérgico nos comportamentos defensivos emitidos pelos animais diabéticos, estudaremos ainda em animais diabéticos ou não o efeito de drogas que atuam na melhora da condição diabética e de condições psiquiátricas relacionadas com transtornos de ansiedade.

Palavras-chave: *Diabetes, Ansiedade, Vitamina E, Labirinto em T Elevado.*

Biodegradação de corantes têxteis: triagem de um novo isolado fúngico com atividade descorante e biossorbitiva

Cambri, G.E.; Paba, J.

Laboratório de Biodegradação, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFPR.

Email: jaimepaba@gmail.com

Corantes têxteis são complexos químicos aromáticos de estrutura altamente variável, classificados como tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos. Estima-se que durante o processamento têxtil, 15% de corante utilizado seja despejado no efluente industrial. Uma vez que os tratamentos de água convencionais não são capazes de retirá-los, a biodegradação pode ser utilizada como estratégia para o tratamento de efluentes industriais contaminados com corantes. Embora a literatura descreva um número vasto de organismos, principalmente fungos lignolíticos, e enzimas utilizadas para biodegradação de corantes têxteis, eles apresentam limitação quanto ao seu uso, pois há uma infinidade destes compostos, dificultando a ação de uma única enzima ou organismo capaz de biorremediar completamente um efluente têxtil. Neste trabalho objetiva-se verificar a capacidade de degradação de corantes por um novo isolado fúngico, nomeado 01-011. O fungo foi cultivado em meio batata dextrose líquido (BDL) ou batata dextrose ágar (BDA), por 15 dias, a 28°C, sob abrigo da luz. Para triagem inicial, foi adicionado ao meio 0,1 g/L de 3 corantes reativos, independentemente. A atividade de descoloração em cultura, em BDL, foi de 93%; 65% e 26% para azul, vermelho e amarelo respectivamente. Enquanto que em BDA há atividade apenas frente ao corante amarelo, com descoloração de 35%. Para caracterização e otimização da degradação de corantes, realizou-se cultivo em BDL, separando-se micélio e sobrenadante por centrifugação após cultivo. A atividade descorante em 90 minutos de cada amostra foi realizada com corante azul V2B. Variando-se o cultivo com 7 diferentes fontes de carbono em 4 concentrações distintas houve variação na produção de atividade descorante, onde a condição glucose 15 g/L demonstrou maior atividade. Variando-se a fonte de nitrogênio e suas concentrações em culturas contendo glucose 15 g/L, não há diferença significativa na produção de atividade descorante, e o mesmo efeito é verificado quando há suplementação do cultivo com cobre e manganês em 3 concentrações distintas. Para todas as condições testadas, 01-011 apresentou atividade descorante associada ao micélio. Em testes com o micélio fresco, micélio autoclavado e micélio na presença de azida de sódio 20 mM, o fungo apresenta atividade para todas as situações, demonstrando assim capacidade de biodegradação e biossorção.

Palavras-chave: *biodegradação, biorremediação, biossorção, fungos lignolíticos, corantes têxteis.*

Agradecimentos: International Foundation for Science (IFS, Sweden) e REUNI-CAPES.

Biomarcadores indicando diferentes fontes de poluição em um estuário brasileiro utilizando duas espécies de peixe como biomonitores

Santos, G.S.; Piancini, L.D.S.; Vicari, T.; Limberger, G.G.; Yamamoto, F.Y.; Guiloski, I.C.; Oliveira Ribeiro, C.A.; Silva de Assis, H.C.; Cestari, M.M.

Laboratório de Citogenética Animal e Mutagênese Ambiental, Departamento de Genética, UFPR.

Email: gustavossnt@gmail.com

Estuários são frequentemente referidos como o tipo de habitat mais impactado no mundo. Eles são afetados por vários tipos de atividades humanas, incluindo a agricultura, indústrias, assentamentos, pesca e atividades portuárias. O estuário de Guaratuba é considerado moderadamente impactado e é afetado principalmente pelo desenvolvimento da agricultura, esgoto doméstico e modificações hidrológicas provenientes da construção de barragens. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade da água neste estuário e os efeitos sazonais na disponibilidade de xenobióticos. Foram utilizados os seguintes biomarcadores: Etoxiresorufina-o-deetilase (EROD), Glutathione S-transferase (GST), Peroxidação lipídica (LPO), Acetilcolinesterase (AChE), Metalotioneínas (MT), Teste do micronúcleo pisco, Ensaio cometa, Ensaio de difusão do DNA, histopatologia do fígado além da quantificação de metais (As, Pb, Sn e Hg) no fígado e no músculo das espécies *Cathorops spixii* (bagre-amarelo) e *Atherinella brasiliensis* (peixe-rei). Foram realizadas duas coletas (verão e inverno) em dois pontos do estuário. Vinte peixes foram coletados em cada ponto por estação. Dados demonstraram que o estuário de Guaratuba é afetado pela presença de xenobióticos, causando efeitos adversos a saúde das espécies estudadas. Biomarcadores também sugeriram que a entrada de xenobióticos nestes pontos apresentam diferentes fontes, possivelmente sendo relacionadas a plantações e a ocupação humana ao redor do estuário. A relação entre a sazonalidade e as respostas dos biomarcadores também foi avaliada, com os pontos mais internos da baía apresentando maiores variações para o bagre amarelo. *C. spixii* é uma espécie de peixe demersal que se alimenta principalmente da fração benthica (detritos orgânicos) onde a concentração de contaminantes tende a ser maior, fazendo esta espécie ser mais sensível as respostas dos biomarcadores do que *A. brasiliensis*. A contaminação por metais também foi evidente, sendo o Arsênio o mais importante (relacionado a utilização de fertilizantes). A presença destes metais pode estar relacionada aos efeitos adversos a saúde dos peixes. As espécies utilizadas neste trabalho podem ser consideradas bioindicadores adequados quando utilizamos a abordagem de biomarcadores e são indicadas para futuros programas de monitoramentos.

Palavras-chave: biomarcador, estuário, *Cathorops spixii*, *Atherinella brasiliensis*, Guaratuba.

Caracterização de um modelo de esteatose hepática alcoólica induzida por etanol e dieta hiperlipídica em ratos

Alves de Souza, C.E.; Stolf, A.M.; Dreifuss, A.A.; Lívero, F.R.; Gomes, L.O.; Cadena, S.M.S.C.; Acco, A.

Laboratório de Farmacologia e Metabolismo, Departamento de Farmacologia, UFPR.

Email: alvesdesouza@yahoo.com.br

O consumo abusivo de álcool é umas das principais causas das doenças hepáticas, como a esteatose hepática alcóolica (EHA), a qual pode evoluir clinicamente para cirrose e hepatocarcinoma. O comprometimento hepático ocorre porque o álcool é metabolizado no fígado, preferencialmente pela enzima álcool desidrogenase, ou pela citocromo P450 2E1. com formação de acetaldeído, um produto menos tóxico. O metabolismo do etanol altera vias bioquímicas hepáticas, o que leva a uma alteração nos lipídeos hepáticos, carboidratos, proteínas, lactato e ácido úrico. Concomitantemente, o metabolismo do etanol favorece o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, que contribuem, por sua vez, para o aumento de espécies pró-oxidantes, que têm grande potencial lesivo para os hepatócitos, favorecendo, assim, a instalação de doenças hepáticas como a EHA. Este trabalho objetivou estabelecer um modelo de estudo de EHA de baixo custo, através da associação de etanol com sementes de girassol (*Helianthus annuus*) na dieta de ratos. Ratos machos (Wistar) (*Rattus norvegicus*) foram separados em gaiolas individuais com água e ração ad libitum. Os animais receberam água ou etanol 10%, e como dieta sólida receberam: ração regular; dieta rica em lipídeos (DRL), representada unicamente por sementes de girassol; ou estes dois alimentos combinados. Durante 30 dias de dieta, o consumo de líquido, de alimento e o peso corporal foram monitorizados. Ao final deste período, os animais foram anestesiados e amostras de fígado e sangue foram colhidas para análise histológica hepática, estresse oxidativo hepático, atividade enzimática mitocondrial e para bioquímica plasmática. A associação de etanol 10% e DRL induziu ao acúmulo de lipídeos hepáticos (macroesteatose e microesteatose), tumefação de hepatócitos, redução do nível de glutathiona e a atividade glutathiona-S-transferase, e ao aumento da taxa de peroxidação lipídica e da atividade da enzima superóxido dismutase. Ainda, a oxidação mitocondrial do NADH e do succinato foi parcialmente inibida. A combinação de etanol 10% e sementes de girassol na dieta de ratos produziu um modelo de estudo de EHA interessante e de baixo custo, culminando com a instalação desta doença com sucesso após quatro semanas da dieta. A função hepática foi alterada, sendo detectada através de análises morfológicas, nos biomarcadores de estresse oxidativo e no transporte de elétrons mitocondriais (complexos I e II).

Palavras-chave: *esteatose hepática alcoólica, dieta hiperlipídica, estresse oxidativo, cadeia mitocondrial.*

Agradecimentos: Agradeço a ajuda de Isabella Aviles Fabosi nos experimentos executados neste trabalho.

Caracterização Qualitativa e Quantitativa de Metabólitos Secundários das Inflorescências de Musa paradisiaca L.

Oliveira, V.S.; Bovo, F.; Campestrini, L.H.; Baggio, S.F.Z.; Maurer, J.B.B.

NUPPLAMED, Departamento de Bioquímica, UFPR.

Email: vanessa.staldoni@hotmail.com

Musa paradisiaca L., planta herbácea popularmente conhecida como bananeira, é amplamente cultivada nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Sua inflorescência, conhecida como “coração de banana”, é utilizada popularmente para tratamento de doenças respiratórias como asma, tosse e bronquite. Entretanto, poucos estudos enfocam a caracterização fitoquímica, em especial das inflorescências desta espécie. Assim, o presente trabalho tem como objetivo identificar e quantificar as classes de metabólitos secundários presentes nas inflorescências de *M. paradisiaca*. O extrato aquoso das inflorescências (EHW-I) foi obtido através de extração a quente (70°C por 1 hora), liofilizado e posteriormente submetido às reações da marcha fitoquímica (MATOS, 2009) e àquelas referentes às análises quantitativas. As análises qualitativas incluíram as reações para pesquisas de presença de aminogrupos (reação com ninhidrina), cumarinas (reação com hidróxido de sódio e UV), flavonoides (reação de Shinoda), heterosídeos cianogênicos (reação de Guignard), quinonas (reação de Borntræeger), taninos (reação com acetato de chumbo), triterpenos e esteroides (reação de Lieberman-Burchard) e alcaloides (reativo de Dragendorff). Para as análises quantitativas foram utilizados os métodos de dosagem de fenólicos totais (com reagente de Folin-Ciocalteu; MORAIS *et al.*, 2009), dosagem de flavonoides totais (com cloreto de alumínio; RIO, 1996) e dosagem de taninos condensados (método da vanilina; QUEIROZ *et al.*, 2002). O EHW-I apresentou reação positiva para aminogrupos, cumarinas, flavonoides e taninos, que são substâncias com já relatada atividade terapêutica; e reação negativa para os demais testes. Quanto às análises quantitativas, em relação à massa do extrato liofilizado, o EHW-I apresentou 0,82% de fenólicos, 0,33% de flavonoides e 0,08% de taninos condensados, que são níveis consideráveis desses compostos e seguem valores encontrados em demais trabalhos sobre a espécie. A presença de compostos fenólicos no EHW-I pode estar relacionada com suas propriedades biológicas relatadas. Desta forma, adicionais análises são relevantes para ter um melhor conhecimento sobre os componentes químicos.

Palavras-chave: *Musa paradisiaca*, *Musaceae*, *banana*, *marcha fitoquímica*, *inflorescências*, *fenólicos*.

Caracterização ultraestrutural de hemócitos e análise proteômica e lipidômica da hemolinfa de aranha-marrom (*Loxosceles intermedia*)

Bednaski, A.V.; Chaim, O.M.; Senff-Ribeiro, A.

Laboratório de Matriz extracelular e biotecnologia de venenos, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: linevb@gmail.com

As aranhas-marrons pertencentes ao gênero *Loxosceles* são responsáveis pela maioria dos acidentes com humanos principalmente em Curitiba e Região Metropolitana. O veneno dessas aranhas é foco de diversos grupos de pesquisa para o estudo de suas toxinas. O conteúdo total da hemolinfa das aranhas-marrons permanece ainda desconhecido, entretanto, estudos têm mostrado que a hemolinfa de outros artrópodes é constituída de uma mistura de compostos biologicamente ativos, como peptídeos antimicrobianos e proteases. O objetivo do presente trabalho é caracterizar a fração celular e os componentes da hemolinfa de *L. intermedia*, investigando o seu conteúdo lipídico e a sua atividade proteolítica. A fim de identificar as populações de hemócitos presentes, submetemos a hemolinfa à citometria de fluxo. Detectamos quatro populações distintas, confirmando o que já havia sido observado em microscopia óptica (M.O.), porém o percentual de cada população não corroborou com os dados citológicos. Para avaliar o perfil lipídico utilizamos dois métodos de extração: o de Folch *et al.*, (1957) que utiliza como solvente o clorofórmio e o de Matyash *et al.*, (2008) que sugere o MTBE (Methyl Tert Butyl Ether) para extração dos lipídios. A eficiência da extração foi avaliada por cromatografia em camada delgada de alta performance (HPTLC). O perfil lipídico foi o mesmo para ambos os métodos. Identificamos três fosfolipídios na hemolinfa: a fosfatidilcolina (PC), o fosfatidilinositol (PI) e a fosfatidiletanolamina (PE). Além disso, quando avaliamos os lipídios por espectrometria de massas (MS) identificamos também a fosfatidilserina (PS) e alguns tipos de triacilgliceróis foram encontrados na hemolinfa. Buscamos identificar os glicolipídios da hemolinfa, porém a baixa concentração desse tipo lipídico não favoreceu as análises em HPTLC e o sinal de MS não foi eficiente para identificá-los. Por fim, utilizamos o zimograma de gelatina para detectar a atividade proteolítica da hemolinfa, no qual notamos a presença de duas bandas com atividade gelatinolítica, uma com aproximadamente 30 kDa e outra de mais alta massa. Como perspectiva, complementaremos as análises, citológicas, lipidômicas e realizaremos a proteômica da hemolinfa total com o intuito de identificar as proteínas que apresentaram atividade gelatinolítica, entre outras que tenham potencial biotecnológico.

Palavras-chave: *hemolinfa, Loxosceles, lipidômica, zimograma, hemócitos.*

Ceratium furcoides (Dinophyceae): colonização da espécie no reservatório de Capivari, Estado do Paraná

Cavalcante, K.P.; Ludwig, T.A.V.; Cardoso, L.S.

Laboratório de Ficologia, DEpartamento de Botânica, UFPR

Email: kaolicavalcante@gmail.com

Ceratium furcoides é uma espécie de dinoflagelado reportada recentemente como invasora de ambientes tropicais e subtropicais sul-americanos. Formadora de blooms, esta espécie tem expandido a sua distribuição rapidamente em sistemas continentais brasileiros. O reservatório de Capivari (usina hidrelétrica Parigot de Souza, Antonina, PR) é monitorado trimestralmente desde 2005, com dados de densidade fitoplânctônica, clorofila-a e dados físicos e químicos da água. Em janeiro de 2012, foi registrada pela primeira vez a ocorrência de *C. furcoides* neste ambiente. Desde então, esta espécie tem ocorrido durante todo o ano, com picos de densidade em julho de 2012 (219×10^3 cél.L⁻¹, biomassa 12×10^8 µg.L⁻¹) e janeiro de 2013 (145×10^3 cél.L⁻¹, biomassa de $12,5 \times 10^8$ µg.L⁻¹). Estes picos de biomassa dos dinoflagelados coincidiram com as maiores concentrações de clorofila a registradas neste reservatório desde 2005 (19,55 µg.L⁻¹ em julho 2012; 16,48 µg.L⁻¹ em janeiro 2013), sugerindo que o aumento de biomassa fotoautotrófica esteja diretamente relacionada ao estabelecimento desta alga no reservatório. A densidade de dinoflagelados foi correlacionada positivamente a concentrações de oxigênio dissolvido ($r=0,74$, $p<0,05$), nitrogênio total ($r=0,64$, $p<0,05$) e DBO ($r=0,69$, $p<0,05$). A porção represada do reservatório de Capivari é caracterizada como lântica, com período de residência da água de 107 dias, e mesotrófica, condições ideais para o estabelecimento e crescimento de *C. furcoides*, um dinoflagelado mixotrófico formador de cistos de resistência, com ciclo de vida relativamente longo, excelente capacidade natatória e tolerância a concentrações baixas de nutrientes.

Palavras-chave: *Ceratiaceae, dinoflagelado, fitoplâncton, invasão biológica, usina hidrelétrica.*

Agradecimentos: CAPES, COPEL, LACTEC.

Chalcone promotes enzymatic inhibitions and mitochondrial oxidative stress

Escobar, S.J.M.; Brandt, A.P.; Petiz, L.L.; Cadena, S.M.S.C.; Martinez, G.R.; Oliveira, A. R. M.; Rocha, M.E.M.;

Laboratório de Oxidações Biológicas, Departamento de Bioquímica, UFPR.

Email: stephanejme@hotmail.com

Chalcones (1,3-diphenyl-2-propen-1-ones) possess many biological activities including anti-inflammatory, antioxidative and anticancer. However, studies are scarce about chalcone effects on mitochondrial respiratory chain and antioxidant enzymes. The objective of this study was to evaluate the effects of chalcone on parameters related to oxygen consumption and activities of the enzymes: NADH oxidase, catalase and superoxide dismutase. The chalcone effects on respiration of isolated rat liver mitochondria were evaluated by polarographic analysis. NADH oxidase and antioxidant enzymes activities were measured spectrophotometrically. The chalcone (20-100 μ M) promoted reduction of the respiratory rate in state 3 (~20 - 30%), and CCR ratio (~30 - 40%) when glutamate and malate were used as the oxidizable substrates. The chalcone at 20, 50 and 100 μ M inhibited NADH oxidase activity by 23%, 56% and 78%, respectively. Catalase activity was reduced around ~10% in all doses tested. However, this flavonoid did not show effects on respiratory rate in state 4, and ADP/O ratio, or in superoxide dismutase activity. These results suggest that the chalcone is able to reduce electron transfer along mitochondrial respiratory chain and its effect on catalase activity may contribute to increase reactive oxygen species levels in biological systems.

Palavras-chave: *chalcone, mitochondria, oxidative stress.*

Agradecimentos: Capes, CNPq, Fundação Araucária, Redoxoma.

Citogenética em citótipos de *Scapteromys*, família *Cricetidae* (Rodentia), ocorrentes nos estados do Paraná e Rio Grande de sul

Santos Morais, G.; Hass, I.

Laboratório de Citogenética animal, Departamento de Genética, UFPR.

Email: gracyelle_22@yahoo.com.br

Pertencentes à ordem Mammalia, os roedores destacam-se como maiores representantes da ordem dos placentários, o gênero *Scapteromys* possui adaptações como cauda comprida e garras longas, que permitem o hábito fossorial e natatório. Estes roedores são importantes reguladores da biodiversidade, e relevantes no aspecto sanitário por serem hospedeiros de nematóides, pulga, carrapato e hantavírus, o qual pode causar infecção como febre hemorrágica nos seres humanos. O objetivo deste estudo foi avaliar alterações cromossômicas em espécimes de *Scapteromys*. Foram estudados três exemplares coletados do Rio Grande do Sul no Município de Bujuru e quatro no Paraná na localidade de Barro Preto, Município de São José dos Pinhais. As metáfases foram analisadas em microscopia óptica com posterior montagem do cariótipo com auxílio e um microscópio Zeiss acoplado a uma câmera CCD e software BandView, para a avaliação de possíveis alterações cromossômicas, como translocação, duplicação, deleção, inversão e fusão cêntrica. Os resultados preliminares mostraram que os quatro indivíduos do Estado do Paraná apresentaram $2n=36$ e que os três exemplares do Estado do Rio Grande do Sul possuem $2n= 32$. Para cada técnica de bandeamento foram analisadas 20 células por indivíduo. Com o emprego da banda C foi verificado a marcação em todos os centrômeros dos cromossomos autossômicos, e nos machos o cromossomo Y apresentou-se heterocromático, como descrito na literatura. Em bandeamento G foi possível parear corretamente os cromossomos dos dois citótipos de *Scapteromys*. Até o momento a técnica de bandeamento Ag-NOR não apresentou resultados suficientes para a análise dos exemplares de ambas as localidades. A caracterização cromossômica desta espécie, juntamente com a filogenia comparativa com o gênero *Akodon*, auxiliará em projetos que visem à conservação das espécies e das áreas ocupadas por eles.

Palavras-chave: *Scapteromys*, *Akodontini*, *Citogenética Animal*.

Agradecimentos: UFPR, Fundação Araucária, Íris Hass.

Clonagem e expressão heteróloga em *Pichia pastoris* de um peptídeo pertencente à família das notinas presente no veneno da aranha-marrom *Loxosceles intermedia*

Matsubara, F.H.; Meissner, G.O., Morgon, A.M.; De Mari, T.L.; Chaim, O.M.; Veiga, S.S.

Laboratório de Matriz Extracelular e Biotecnologia de Venenos, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: fernando_matsubara@hotmail.com

O conteúdo total do veneno das aranhas do gênero *Loxosceles* permanece ainda desconhecido, entretanto, estudos têm mostrado que se constitui em uma mistura de toxinas, com predominância de moléculas de baixa massa (3-45 kDa). Entre as toxinas já caracterizadas do ponto de vista bioquímico e biológico estão as fosfolipases-D, as metaloproteases e hialuronidase. Também já foram identificados peptídeos com atividade inseticida, os quais foram descritos como LiTx. Comumente, tais peptídeos consistem em moléculas de cadeia única com massa molecular variando de 5 a 8 kDa, ricos em resíduos de cisteína, os quais estabelecem pontes dissulfeto intramoleculares. Essas pontes se organizam em um motivo estrutural denominado “nó de cistina inibidor” ou ICK (Inhibitor Cystine Knot) e, por isso, os peptídeos que o contém são denominados notinas (“knottins”) ou peptídeos ICK. Análises do transcriptoma da glândula de veneno de *Loxosceles intermedia* revelaram sequências com similaridade aos peptídeos LiTx, sendo essas sequências as mais abundantes. Os objetivos desse estudo foram a obtenção de um peptídeo ICK recombinante (peptídeo U2-SCTX-Li1b) presente na glândula de veneno de *L. intermedia* e a caracterização de sua atividade biológica por meio das técnicas clonagem, expressão em leveduras *Pichia pastoris* e teste inseticida em grilos adultos. As sequências codificantes da proforma do peptídeo e do peptídeo maduro U2-SCTX-Li1b foram amplificadas por PCR, clonadas em vetor pPICZα C e transformadas em cepas de *P. pastoris* X33, GS115 e KM71H. Após testes de otimização das expressões, os peptídeos foram expressos em *P. pastoris* cultivadas em meio BMMY, à temperatura de 15°C, com 0,5% de metanol para a indução. Análises de SDS-PAGE e Western blotting revelaram que a proforma do peptídeo expresso na cepa X33 foi bem-sucedida, resultando na obtenção do peptídeo em sua forma monomérica; entretanto, testes de microinjeção em grilos adultos revelaram que essa forma não apresentou atividade tóxica para os insetos. Já o peptídeo U2-SCTX-Li1b maduro expresso nas três cepas de *P. pastoris* foi obtido de forma agregada e não-ativa nos testes biológicos. Diante dos resultados obtidos, novos testes serão realizados com o intuito de se obter o peptídeo U2-SCTX-Li1b em sua forma monomérica e biologicamente ativa.

Palavras-chave: *Loxosceles intermedia*, veneno, peptídeo ICK, notinas.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, Fundação Araucária, SETI/PR.

Clonagem, expressão heteróloga e análise estrutural e funcional de uma metaloprotease do tipo astacina presente no veneno de aranha-marrom (Loxosceles intermedia)

Morgon, A. M., Meissner, G. O., De-Mari, T. L., Matsubara, F. H., Trevisan-Silva, D., Gremski, L. H., Senff-Ribeiro, A., Veiga, S. S., Chaim, O. M.

Laboratório de Matriz Extracelular e Biotecnologia de Venenos, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: adriano_morgon@hotmail.com

O veneno das aranhas do gênero *Loxosceles* é composto por várias classes de moléculas biologicamente ativas com ação tóxica e/ou enzimática. Dentre estas toxinas, destacam-se serinoproteases, fosfolipases, hialuronidases, peptídeos inseticidas e metaloproteases do tipo astacinas. As metaloproteases do tipo astacina estão presentes em diversos organismos. São enzimas secretadas e estão relacionadas a eventos envolvendo ovulação e fertilização, embriogênese (como na morfogênese de tecidos), proliferação e migração celular, progressão do ciclo celular e apoptose, entre outros. Durante o envenenamento induzido por aranhas-marrons, o papel das metaloproteases no local da picada deve estar relacionado com a degradação de componentes da Matriz Extracelular, sendo então consideradas possíveis fatores de espalhamento. Por meio de estudos envolvendo biologia molecular foram caracterizadas três isoformas de metaloproteases do tipo astacina no veneno de *Loxosceles intermedia*, denominadas LALP1, LALP2 e LALP3. Destas, apenas a LALP1 e LALP3 foram clonadas, obtidas através de expressão heteróloga em sistema procariótico e avaliadas frente à atividade biológica. Contudo, estas toxinas foram obtidas com baixo rendimento e majoritariamente na condição insolúvel, sendo necessária a utilização de um sistema de expressão eucariótico que possibilite a caracterização mais aprofundada das LALPs do ponto de vista estrutural e funcional. Por conseguinte os objetivos deste trabalho compreendem: a expressão heteróloga da LALP3 em *Pichia pastoris*; a avaliação da atividade enzimática e citotóxica da toxina recombinante obtida por meio de testes *in vitro* e *in vivo*; a produção de anticorpos policlonais e sua utilização como bioferramentas; e a caracterização estrutural da toxina por cristalografia. Estudos estruturais e funcionais com LALP3 podem gerar suporte para elucidar os mecanismos de ação das metaloproteases do tipo astacina como componentes do veneno de aranhas do gênero *Loxosceles*. Além disso, estas toxinas apresentam amplo potencial biotecnológico, podendo ser utilizadas no desenvolvimento de co-adjuvantes para a administração de fármacos, em terapias como agentes trombolíticos e em estudos para o desenvolvimento de inibidores de metaloproteases da família das astacinas.

Palavras-chave: *metaloprotease recombinante, astacina, veneno, Loxosceles.*

Clonagem, expressão heteróloga e purificação do alérgeno Loxi1 identificado na biblioteca de cDNA da glândula produtora de veneno da aranha marrom (Loxosceles intermedia)

Dias, B. C. L.; De-Mari, T. L.; Ferrer, V. P.; Meissner, G. O.; Morgon, A.; Matsubara, F. H.; Chaim, O. M.; Veiga, S. S.

Laboratório de Matriz Extracelular, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: bruna.farmaciaufr@gmail.com

Os sintomas clínicos decorrentes de acidentes com aranhas do gênero *Loxosceles* são denominados loxoscelismo e no Estado do Paraná, principalmente em Curitiba e Região Metropolitana, se tornaram um problema de saúde pública. O veneno das aranhas *Loxosceles* é uma mistura de toxinas, essencialmente proteínas, com diversas atividades bioquímicas e biológicas, mas ainda não há total compreensão sobre seus mecanismos fisiopatológicos. Toxinas como fosfolipases-D, serinoproteases, metaloproteases e hialuronidases já foram descritas nesse veneno. As características do loxoscelismo envolvem lesões dermonecroticas com espalhamento gravitacional e manifestações sistêmicas como agregação plaquetária, anemia hemolítica, falência renal aguda e rash cutâneo. Já foi relatada a degranulação de mastócitos e um massivo infiltrado inflamatório associados à presença de histamina e outros componentes do veneno. Devido ao pequeno volume produzido e a baixa representatividade dessas toxinas no veneno, técnicas de biologia molecular permitem a identificação e expressão de várias dessas toxinas. Em trabalhos realizados anteriormente pelo grupo foi identificado a partir de uma biblioteca de cDNA de *Loxosceles intermedia* um alérgeno que apresenta identidade com alérgenos presentes em algumas espécies de vespas e formigas. Com o intuito de expandir o conhecimento sobre o loxoscelismo, o objetivo deste trabalho foi a clonagem, expressão e avaliação da atividade biológica de um alérgeno presente no veneno de *Loxosceles intermedia* (Loxi1). Para tanto foram utilizados sistemas heterólogos de expressão sendo escolhido um modelo eucariótico, a *Pichia pastoris* X-33. A ligação da sequência nucleotídica do alérgeno Loxi1 foi obtida em vetor de expressão pPICZαC, assim como, a transformação desta construção em *E. coli* TOP10F'. O vetor de expressão pPICZαC fusiona uma cauda de seis Histidinas à proteína recombinante, o que permite sua purificação e detecção. Após o sequenciamento da sequência nucleotídica referente à Loxi1 a construção obtida foi transformada em *P. pastoris*. A expressão do alérgeno foi realizada em *Pichia pastoris* X33, com 0,5% de metanol como indutor a 30°C, durante 5 dias e a purificação por cromatografia de afinidade Ni-NTA. Desse modo, os dados obtidos permitiram a expressão e purificação do alérgeno em maior quantidade para futuros estudos estruturais e funcionais.

Palavras-chave: *Loxosceles intermedia*, veneno, alérgeno, *Pichia pastoris*.

Cold Stress Alters the Activity of Antioxidant Enzymes of Embryogenic Cells of Araucaria angustifolia

Furlanetto, A.L.D.M.; Gozzi, G.J.; Zarpelão, C.A.; Martinez, G.R; Rocha, M.E.M; Maurer, J.B.B.; Cadena, S.M.S.C.

Laboratório de Oxidações, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFPR.

Email: ana.furlanetto@hotmail.com

The Paraná pine (*Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze) is one of the most important species of Araucaria forest. Nowadays, this conifer species is listed as critically endangered by IUCN. The development and propagation of Araucaria is strongly affected by abiotic stress. In this work, we evaluated the effects of stress by low temperature on *A. angustifolia* embryogenic cell (callus) culture with the aim to contribute with the development of more efficient propagation methods for this species. *A. angustifolia* embryogenic cells were grown at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ on semi-solid BM culture medium in the dark and submitted to cold stress of $4 \pm 1^\circ\text{C}$ for 24h or 48h. Morphological evaluation was performed using double staining with acetic carmine (2%) and Evan's blue (0.1%) and the cell viability was quantified by MTT assay. The CAT activity was determined following the consumption of H₂O₂ at 240 nm. SOD activity was assessed by monitoring the auto-oxidation of adrenalin to adrenochrome at 480nm. *A. angustifolia* cell cultures presented the morphological characteristics previously described. Two cells types were identified: i) embryogenic cells, which are smaller, but grouped in cells aggregates and reactive to acetocarmine and ii) suspensor cells, which are elongated, vacuolated and reactive to Evan's blue. Cold stress treatment ($4 \pm 1^\circ\text{C}$ for 24h or 48h) did not alter the morphology or viability of the cultures. The CAT activity did not change after 24h of cold treatment; however, an inhibition of ~22% was observed at 48h of cold stress. SOD activity showed an increase of ~30% at 24h of cold treatment, although 48h did not change it. These results suggest that cold stress modifies the antioxidant response of *A. angustifolia*. However, this effect was not able to promote changes in cell morphology and viability.

Palavras-chave: *antioxidant enzymes, callus culture, Araucaria angustifolia, cold stress.*

Agradecimentos: CAPES and CNPq. MARTINEZ, G.R. also received financial support from INCT de Processos Redox em Biomedicina—Redoxoma.

Comparação das atividades anticoagulante e antitrombótica de frações de heparinas suína e bovina

Drehmer, D. L.; Nogueira, A. V.; Gracher, A. H. P.; Sasaki, G. L.; Iacomini, M.; Cipriani, T. R.

Laboratório de Química de Carboidratos, Departamento de Bioquímica, UFPR.

Email: dldrehmer@gmail.com

A heparina tem ampla utilização clínica na prevenção e tratamento de problemas tromboembólicos. Ela atua como um anticoagulante por se ligar à antitrombina (AT) e ao cofator II da heparina (HCII), permitindo que estes inibidores de proteases formem complexos com enzimas da coagulação, inativando-as. Sua aplicação, entretanto, leva a efeitos colaterais, que podem ser diminuídos com o fracionamento. Heparinas não fracionadas (1g), bovina (UB) e suína (US), cedidas pela empresa Extrasul, foram solubilizadas em 10mL água e tratadas com 7,5mL de etanol saturado com acetato de sódio. Este tratamento levou à formação de duas frações para cada tipo de heparina: sobrenadante (SS para suína e SB para bovina) e precipitado (PS e PB), com rendimentos de aproximadamente 90% para as frações precipitadas e 10% para as sobrenadantes em ambas as amostras. O tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT) foi utilizado para determinar a potência das heparinas em unidades internacionais (UI/mg), obtendo-se os seguintes resultados: US=171,78UI/mg; PS=209,82UI/mg; SS=100,54UI/mg; UB=142,25UI/mg; PB=160,43UI/mg; SB=64,09UI/mg. Foram testados os efeitos das heparinas sobre a atividade da α -trombina e do fator Xa nas combinações trombina+AT (T1), trombina+HCII (T2) e fator Xa+AT (T3). Todas as frações testadas inibiram as enzimas em T1, T2 e T3. Para T1 as heparinas suínas e bovinas apresentaram resultados estatisticamente semelhantes. Em T2, as heparinas suínas tiveram diferenças significativas entre PS (IC₅₀=0,00735UI/mL) e SS (IC₅₀=0,03035UI/mL) e, nas amostras bovinas, entre PB (IC₅₀=0,00662UI/mL) e SB (IC₅₀=0,04128UI/mL). Esses resultados permitiram concluir que o fracionamento resultou em heparinas com comportamentos distintos quanto à inibição da α -trombina via HCII. Para T3, foi observada diferença estatística apenas entre os resultados obtidos com as heparinas bovinas PB (IC₅₀=0,00461UI/mL) e SB (IC₅₀=0,00064UI/mL). Também foram realizados testes *in vivo* de inibição de trombose venosa em ratos. Na dose de 0,1UI/kg, verificou-se que os trombos para as heparinas US, PS, SS, UB, PB e SB corresponderam, respectivamente, a aproximadamente 30%, 30%, 48%, 78%, 27% e 22% do peso do trombo do grupo controle (sem administração de heparina), que foi igual a 5,03mg. Estes resultados indicam que o fracionamento das heparinas adotado neste trabalho gera frações com diferentes potências de efeito antitrombótico.

Palavras-chave: *heparina, atividade anticoagulante, atividade antitrombótica, α -trombina, fator Xa.*

Complexo Principal de Histocompatibilidade: implicações para o pênfigo foliáceo endêmico e para a genética de populações humanas

Paulini, E; Kuniwake, S.M; Oliveira, L.A; Petzl-Erlar, M.L

Laboratório de Genética Molecular Humana, Departamento de Genética, UFPR.

Email: eleonorap2003@hotmail.com

O MHC (*Major Histocompatibility Complex*) humano é um complexo gênico localizado na região 6p21.31 que contém diversos genes, entre eles os HLA (*Human Leukocyte Antigens*), cujas moléculas desempenham uma importante função na formação da resposta imune. As moléculas HLA ditas clássicas, por exemplo, ligam peptídeos antigênicos e os apresentam as células do sistema imune. Dada a relevância imunológica destas moléculas, os genes que as codificam foram investigados como possíveis fatores de susceptibilidade e/ou proteção a uma doença autoimune de pele, o pênfigo foliáceo endêmico (PFE). Inicialmente por tipagem sorológica verificou-se a existência de associações positivas e negativas, respectivamente, entre antígenos de HLA-DR e -DQ e o PFE. Posteriormente, através de uma genotipagem de alta resolução constatou-se que numerosos alelos de HLA-DRB1 estão tanto positivamente quanto negativamente associados ao PFE. Uma variante de CIITA (rs3087456), que regula a expressão de moléculas HLA de classe II, também foi encontrada associada positivamente com o PFE. Por outro lado, estudos com os genes não clássicos HLA-E e HLA-G, os quais ligam receptores inibidores de células do sistema imune, indicam, a priori, que estes não contribuem para a susceptibilidade interindividual ao PFE. Ressalta-se, no entanto, que pesquisas recentes conduzidos por nosso grupo com marcadores STR (short tandem repeats) indicam a existência de variantes adicionais de susceptibilidade ao pênfigo foliáceo no MHC humano. No que se refere aos estudos populacionais envolvendo as tribos indígenas Guarani e Kaingang da América do Sul, dados da genotipagem de HLA-A, -B e -C indicam a presença de diversos alelos HLA novos oriundos da substituição de alelos asiáticos pelo efeito conjunto da seleção balanceadora e deriva genética. Interessantemente, estudos com uma outra população indígena sul-americana, os indígenas Aché, indicaram o compartilhamento de alelos de HLA-DRB1 entre estes e os indígenas Guarani M'Byá, tendo os Aché, portanto, uma relação com o grupo Tupi-Guarani. Corrobora-se, conseqüentemente, que os genes HLA são importantes fatores de susceptibilidade a autoimunidade e também auxiliam a melhor compreender a relações evolutivas entre populações humanas.

Palavras-chave: *MHC, HLA, populações ameríndias.*

Conservação e taxonomia de linhagens fúngicas da Rede Paranaense de Coleções Microbiológicas - Rede TAXON line

Furuie, J. L.; Gomes, R. R.; Nascimento, M. M. F.; Santos, G. D.; Ribas, D.; Santos, F. B.; Glienke, C.; Kava-Cordeiro, V.; Marinoni, L.; Vicente, V. A.

Laboratório de Microbiologia, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: vaniava63@gmail.com

As coleções microbiológicas são formadas por diferentes conjuntos de micro-organismos, organizados de modo a fornecer informações sobre coleta, procedência e identificação morfológica e molecular de cada um dos espécimes. Tendo sua importância ligada a áreas como biotecnologia, saúde e agricultura, são essenciais para conservação e disponibilização de micro-organismos para fins experimentais, didáticos e industriais. A consolidação da rede paranaense de coleções microbianas do estado do Paraná como referência na conservação de micro-organismos junto à rede TAXON line, representa uma iniciativa de amplitude nacional e internacional. Dessa forma, esse trabalho envolve desde a digitalização dos dados integrados à plataforma da rede TAXON line até a identificação morfológica e molecular das linhagens dos diferentes laboratórios associados à rede.

Palavras-chave: *Coleções, fungos, taxon line.*

Construção de vetores plasmidiais para comprovação de interações encontradas para o domínio citoplasmático de semaforina 5B

Polak, I. P.; Favaro, C.; Mercadante, A. F.

Laboratório de Neurobiologia, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: leonardopolak@hotmail.com

As semaforinas são uma família de proteínas envolvidas na regulação de diversas atividades celulares. Dentre elas, semaforina 5B é uma proteína pouco estudada e que já foi vinculada a inibição do cone de crescimento em neurônios. Em trabalhos anteriores, foram encontradas interações entre o domínio citoplasmático de semaforina 5B e as proteínas Uba2, Stub1 e Cript. O presente trabalho buscou clonar a porção citoplasmática de semaforina 5B e seus possíveis ligantes, conjugados a etiquetas que permitam a realização de outros testes de interação. Para isso, utilizou-se digestão com enzimas de restrição, ligação por enzima T4 ligase e eletroporação de bactérias, seguida de PCR de colônia para encontrar clones positivos. Foram então feitos sequenciamentos que permitiram visualizar o êxito do processo. Foram clonados com sucesso todos os plasmídeos propostos, sendo que esses já se encontram disponíveis para uso no Laboratório de Neurobiologia (LNB) da UFPR.

Palavras-chave: *semaforina 5B, cone de crescimento, clonagem, interação proteica.*

Controle biológico do fungo fitopatogênico *Phyllosticta citricarpa*

Amorim, R.; Silva, A. O.; Glienke, C.

Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: renata.amrm@gmail.com

A citricultura é um dos mais importantes setores do agronegócio brasileiro e o país é o maior produtor mundial de laranja e produtor do suco desta fruta. A maior parte desta produção destina-se à exportação, por isso é importante que o fruto in natura apresente-se saudável. Pragas e doenças causam ameaças à citricultura, trazendo prejuízos à produção e levando a erradicação de milhões de plantas nos parques citrícolas do país. O fungo *Phyllosticta citricarpa* é o fitopatógeno responsável pela Mancha Preta dos Citros (MPC) que afeta vários citros de importância econômica. Causa lesões no fruto que o depreciam comercialmente e diminuem sua aceitação pelo mercado consumidor e afetam a produção. Para o seu controle, são usados agentes químicos, que trazem prejuízos ambientais e à saúde humana. Nesse contexto, visa-se o controle biológico. Entretanto, para que o potencial de fungos endofíticos neste controle seja avaliado, necessita-se de protocolos de indução de sintomas de MPC em frutos e em ramos em condições de laboratório. Assim, no presente projeto objetivou-se tal desenvolvimento. As atividades desenvolvidas envolveram manutenção de linhagens de microrganismos endofíticos a serem utilizados no controle biológico, manutenção das linhagens de *P. citricarpa* selvagem e transformantes e realização de testes de indução de sintomas de MPC em ramos. Estes testes foram realizados utilizando-se metodologias com e sem injúria em ramos destacados, inoculando o fungo *P. citricarpa* e buscando por lesões checando e sobrevivência do fungo nos ramos. Áreas delimitadas no ramo foram fotografadas em diferentes intervalos de tempo, de 7 a 45 dias, em busca da presença de sintomas de MPC. Apesar de não terem sido obtidas lesões características da doença, a sobrevivência do fungo foi verificada. Para tais experimentos utilizou-se o transformante LGMF06-2 de *P. citricarpa* que expressa um gene repórter que codifica uma proteína verde fluorescente. Assim, após realização dos inóculos, é possível garantir que as lesões formadas e/ou o fungo sobrevivente provém dos esporos inoculados nos experimentos. Isso é garantido pela visualização em microscopia de fluorescência e PCR.

Palavras-chave: *Controle biológico, citricultura, Phyllosticta citricarpa.*

Cytotoxicity of SYD-1 on Human Hepatocellular Carcinoma Cells (HepG2) and Primary Rat Hepatocytes

Brandt, A.P.; Gozzi, G.J.; Martinez, G.R.; Acco, A.; Souza, C.E.A.; Echevarria, A.; Canuto, V.C.; Cadena, S.M.S.C

Laboratório de Oxidações Biológicas, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFPR.

Email: silvia.cadena@ufpr.br

We have previously shown that the mesoionic compound SYD-1 (3-[4-chloro-3-nitrophenyl]-1,2,3-oxadiazolium-5-olate) impairs metabolic functions of hepatocellular carcinoma Cells (HepG2 cells) and primary rat hepatocytes. Now, our aim was to investigate the effects of SYD-1 on these cells and to evaluate its possible selectivity for primary rat hepatocytes (non-tumor cells). Cytotoxicity was determined using the lactate dehydrogenase (LDH) leakage assay. Cell death was evaluated in rat hepatocytes by fluorescence microscopy after staining with FITC-annexin V and propidium iodide. A commercial Kit was used to measure ATP levels by bioluminescence. SYD-1 decreased HepG2 cells viability by ~22% and ~18% at 25 uM and 50 uM, respectively. However, the viability of rat hepatocytes was decreased (~19%) only at the highest concentration of the mesoionic (50 uM). This result was confirmed by the discreet staining with FITC - annexin V and propidium iodide, which was only detected in cells treated with 50uM of SYD-1. The mesoionic decreased ATP levels in rat hepatocytes only at the higher (50 uM) concentration (~45%) but did not affect the nucleotide levels in HepG2 cells. These results show that SYD-1 at lowest concentration (25 uM) is more cytotoxic for HepG2 cells; however, it promotes a decrease in ATP levels which may limit its further use as antitumor drug at higher concentration (above of 50uM).

Palavras-chave: *Mesoionic compound, SYD-1, rat hepatocytes, HepG2 cells, cytotoxicity.*

Danos ao DNA nas células do tecido renal da espécie de peixe *Rhamdia quelen* após contaminação trófica com sulfato de alumínio

Klingelfus, T.; Da Costa, P. M.; Scherer, M.; Cestari, M. M.

Laboratório de Citogenética Animal e Mutagênese Ambiental, Departamento de Genética, UFPR.

Email: tati.klingel@gmail.com

Apesar de o alumínio ser o terceiro elemento mais comum na crosta terrestre, as informações sobre sua toxicidade ainda são escassas. Sabe-se que em alguns casos é neurotóxico, mas não se conhece seu efeito em outros tecidos. Este trabalho teve por objetivo avaliar o potencial genotóxico do sulfato de alumínio em tecido renal do peixe *Rhamdia quelen*, após contaminação trófica durante 60 dias. Um total de 44 peixes foi subdividido nos grupos: controle negativo, 5mg/kg, 50mg/kg e 500mg/kg de sulfato de alumínio. Amostras do rim posterior foram retiradas e submetidas às técnicas de obtenção de metáfases mitóticas e do ensaio cometa. Foram encontrados três tipos de aberrações cromossômicas, caracterizadas como quebras de cromátide, descondensação da região telomérica e separação precoce de cromátides-irmãs. O teste de aberrações cromossômicas indicou um potencial genotóxico do sulfato de alumínio nas doses de 5mg/kg e 50mg/kg, nas quais foram observadas maior frequência de separação precoce de cromátides irmãs e uma tendência no aumento da frequência de descondensação da região telomérica. Sugerimos neste trabalho, que a descondensação da região telomérica dos cromossomos pode ter ocorrido devido a modificações em estruturas de proteínas responsáveis pela compactação do DNA, que tornou o DNA mais susceptível a quebras, e a separação precoce de cromátides irmãs pode ter ocorrido devido a mudanças de mobilidade dos cromossomos ou de proteínas que mantêm as cromátides irmãs em coesão. O ensaio cometa confirmou a genotoxicidade do sulfato de alumínio, no tecido renal de *Rhamdia quelen*, nas três doses testadas. Possivelmente a dose de 500mg/kg de sulfato de alumínio causou maiores danos aos organismos, dificultando a obtenção de metáfases mitóticas suficientes para demonstrar aberrações cromossômicas, assim como para observar uma relação dose-resposta no ensaio cometa. Este trabalho demonstra o risco à exposição ao alumínio, devido seu potencial genotóxico.

Palavras-chave: *alumínio, aberrações cromossômicas, ensaio cometa, peixe, genotoxicidade.*

Danos em tecido hepático de *Rhamdia quelen* (Pisces, Heptapteridae) causados por nanopartículas de dióxido de titânio

Klingelfus, T.; Vicari, T.; Oya Silva, L.; Galvan, G.L.; Santos, G.S.; Pereira, L.S.; Assis, H.C.S.; Cestari, M.M.

Laboratório de Citogenética Animal e Mutagênese Ambiental, Departamento de Genética, UFPR.

Email: taynahvicari@gmail.com

Nanopartículas são potencialmente atrativas em tecnologias industriais e medicinais, pois apresentam singularidades físico-químicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial tóxico de nanopartículas de dióxido de titânio na espécie de peixe *Rhamdia quelen*, após uma única injeção intraperitoneal, em ensaio agudo de 96 horas. Utilizamos biomarcadores genéticos, de citotoxicidade e biomarcadores bioquímicos em tecido hepático. As nanopartículas de dióxido de titânio (NPTiO₂) foram aplicadas nas doses de 5ng/g, 50ng/g e 500ng/g. Verificamos que NPTiO₂ em baixas concentrações apresentam a capacidade de alterar a atividade enzimática, causar danos ao DNA, promover o mecanismo de apoptose em tecido hepático de *Rhamdia quelen*. Na dose de 5ng/g, as nanopartículas podem ter sido absorvidas pelo fígado, corroborada pela alta concentração de metalotioneínas e inibição das enzimas CAT e GST, mostrando que houve estresse oxidativo, mas que provavelmente houve resposta celular a este dano, uma vez que não foram observados efeitos genotóxicos e indução de apoptose. Em contraste, a dose de 50ng/g que também demonstrou aumento da concentração de metalotioneínas, houve aumento na atividade da enzima SOD e inibição da enzima CAT, demonstrando possível estresse oxidativo excessivo, que por consequência causou danos ao DNA e induziu o mecanismo de apoptose. Já a dose de 500ng/g, apresentou concentração normal de metalotioneínas, mas apresentou aumento de atividade da enzima SOD e inibição da enzima GST, mostrando também que pode ter ocorrido estresse oxidativo, mas que esses danos não foram excessivos, pois não causaram danos ao DNA e nem induziram ao mecanismo de apoptose. Neste caso, a força iônica da solução pode favorecer a agregação das nanopartículas, quanto mais concentrada a solução, maior será a força iônica entre as partículas e, conseqüentemente, seus agregados serão maiores, dificultando a entrada nas células. A espécie *Rhamdia quelen* frente às baixas doses de contaminantes, demonstrou que é um bom organismo teste.

Palavras-chave: peixes, ensaio Cometa, teste do micronúcleo píceo, enzimas, bioquímica.

Agradecimentos: CAPES e CNPq.

Descrição Morfo-Anatômica de *Muehlenbeckia Sagittifolia* Meisn. (*Polygonaceae*)

Erbano, M.; Bohn, A.; Perico, C.P.; Santos, E.P.

Laboratório de Identificação de Plantas Mediciniais, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: mariannaer@yahoo.com; bohn.mabyh@gmail.com; camilapp94@gmail.com; elide@ufpr.br

Muehlenbeckia Sagittifolia (Ortega) Meisn. ocorre na América Austral e no Sul do Brasil. Possui propriedades medicinais, como antialérgico, anti-inflamatório, antidiabético, adstringente, diurético, depurativo sanguíneo. Este trabalho visa descrever a morfoanatomia desta espécie contribuindo para o seu controle de qualidade. Folhas adultas e caule foram fixados em formaldeído/ácido acético/etanol 1:1:18 (FAA), seccionados à mão livre, em micrótomo, corados, e submetidos a testes microquímicos. Descrição macroscópica. Trepadeira volúvel, ramificada. Caule estolonífero, sublenhoso, anguloso, articulado. Folhas simples, alternas, com ócrea, pecioladas; lâmina membranácea, glabra, lanceolada, base sagitada, ápice agudo, margem inteira. Inflorescências (racemo de cimeiras) axilares com 1–2 racemos; 12–20 cimeiras alternadas com 1–3(5)-flores. Flor andrógina, monoclamídea, pedicelada; brácteas persistentes; tépalas verde-amareladas, persistentes; 8 estames, ovário súpero. Fruto aquênio, preto, trifacetado. Descrição microscópica. Caule cilíndrico anguloso, epiderme unisseriada, cutícula espessa, plissada, tricomas glandulares peltados, uma camada de endoderme. Periciclo com uma bainha esclerenquimática espessa, vários feixes vasculares colaterais, circulares, não contínuos, separados por raios parenquimáticos estreitos. Folha dorsiventral, anfiestomática, epiderme unisseriada, cutícula plissada, tricomas glandulares peltados nas duas faces, mais frequente na abaxial. Em vista frontal, células epidérmicas onduladas, estômatos anisocíticos e tetracíticos. Transversalmente, nervura central plano-convexa, dois feixes vasculares colaterais: um maior, central, outro menor, adaxial. Pecíolo com oito feixes vasculares: um maior, central, três medianos adaxiais, quatro menores (dois em cada lateral) abaxiais. Organização peciolar assemelha-se à nervura central foliar. Drusas de oxalato de cálcio ocorrem na folha e compostos fenólicos no caule e folha. Os caracteres morfoanatômicos descritos contribuem para identificar *Muehlenbeckia Sagittifolia*, espécie com potencial farmacológico.

Palavras-chave: *tricomas glandulares, tanino, ácidos oxálico, ócrea, planta medicinal.*

Desenvolvimento de banco de dados para coleções microbiológicas do estado do Paraná

Santos, F. B.; Glienke, C.; Marinoni, L.; Kava-Cordeiro, V.; Vicente, V. A.

Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: felipesantos@ufpr.br

Desde 2002 o Brasil conta com uma política de preservação e divulgação de sua biodiversidade. O Centro de Referência em Informação Ambiental (CRIA) e o Taxonline são grupos que colaboram na criação e manutenção dos Centros de Recursos Biológicos (CRBs) e também na disponibilização destes dados de forma universal, através de bancos de dados online. Desta forma, o presente projeto visa a criação de um banco de dados conjunto de diversas coleções microbiológicas do estado do Paraná, o qual será integrado ao Sistema de Informação de Coleções de Interesse Biotecnológico (SICol). O desenho da estrutura virtual do banco se deu a fim de facilitar o depósito, acesso e interpretação dos dados, baseando-se em bancos já existentes. Até o momento já foram compilados dados de mais de seis mil linhagens, utilizando-se dos dados previamente depositados, complementados com aqueles publicados em artigos, dissertações e teses referentes às linhagens depositadas. Ao término do projeto, todos os dados estarão computados e disponibilizados online através do SICol, tornando as coleções participantes um CRB oficial e reconhecido nacionalmente. A disponibilização e uso deste tipo de dado são essenciais para o melhor conhecimento da biodiversidade brasileira e seu uso científico, tecnológico e industrial para o desenvolvimento do país.

Palavras-chave: *banco de dados, coleção microbiológica, biodiversidade.*

Agradecimentos: CNPq e Fundação Araucária pelo suporte financeiro.

Desenvolvimento Embrionário de *Gallus gallus domesticus*

Sbardella, A.; Duarte, I.; Ferreira, L.; Camargo, S.; Guilhen, V.

Disciplina Biologia do Desenvolvimento, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: ariele_sbardella@hotmail.com, iduarte.bela@gmail.com, bispo.livia@gmail.com, sandydcamargo@gmail.com, vinicius.guilhen2013@hotmail.com

A presente pesquisa teve como objetivo demonstrar as etapas do desenvolvimento embrionário em aves, utilizando o animal modelo a galinha (*Gallus gallus domesticus*). Para realizar o estudo, foram utilizados 48 ovos, que foram incubados a 38 ± 1 . Os ovos foram virados e o desenvolvimento foi acompanhado diariamente até a eclosão (por um período de até 23 dias), através da utilização de um ovoscópio como ferramenta de observação. Foi possível evidenciar, através do ovoscópio, a presença de vasos sanguíneos e o crescimento do embrião dentro do ovo. Dos 48 ovos incubados, vinte e sete (56,25%) morreram antes da eclosão, sendo que dez (20,80%) não passaram do 10º dia e os outros dezessete (35,42%) morreram após o 10º dia. Daqueles que concluíram o desenvolvimento, a maioria eclodiu após 21 dias de incubação, outros indivíduos eclodiram após 22 dias e um, após 23 dias. Um ovo contendo um embrião com 6 dias de incubação, proveniente de outro experimento, foi aberto para observação do embrião vivo. Os resultados obtidos foram comparados com a literatura a fim de compreender as etapas do desenvolvimento embrionário e os processos que levam à formação completa das aves, observando principalmente os eventos responsáveis pela formação dos membros. Verificou-se que as aves se sobreviveram até a eclosão apresentaram um desenvolvimento normal.

Palavras-chave: *Estágios embrionários, eclosão, formação de membros, FGF, genes Hox, ovoscópio.*

Desenvolvimento embrionário e metamorfose da díptera *Sarconesia chlorogaster*

Mota, F.J.T.; Gonçalves, L.B.; Michalak, M.C.; Baladelli, M.S.

Disciplina Biologia do Desenvolvimento, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: may.baladelli@gmail.com

O califorídeo *Sarconesia chlorogaster* (Wiedemann, 1830), de distribuição exclusivamente sul-americana, é reconhecido como uma das espécies mais importantes na entomologia forense, propiciando a partir de seu desenvolvimento, uma estimativa do intervalo pós-morte (IPM). Portanto, a descrição e caracterização dos estádios de desenvolvimento deste díptero, que se subdividem-se em: desenvolvimento embrionário, larval, pupa e estágio adulto, foram descritos nesse estudo, com a intenção de melhor esclarecer as particularidades de cada estágio, morfológica e molecularmente, fornecendo informações de utilidade forense. Para cada estágio foram utilizadas técnicas específicas. A diafanização de córion e fotomicrografia, utilizando microscópio de luz, resumem a técnica empregada para estudos do desenvolvimento embrionário. A mesma técnica caracteriza os estudos dos estádios de larva e adulto. O estágio de larva, pupa e pré-pupa também foram através de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram verificados seis estádios de desenvolvimento embrionário: clivagem, blastulação, gastrulação, alongamento da banda germinal, retração da banda germinal, fechamento dorsal e diferenciação, assim como no organismo modelo *Drosophila melanogaster*. O estágio de larva é subdividido em três instares entre os quais ocorrem mudas, permitindo o crescimento do indivíduo. Essa fase é caracterizada pela presença de dois tipos celulares, as células larvais, responsáveis pela manutenção estrutural da larva e as células imaginais indiferenciadas, utilizadas na formação do indivíduo adulto. Após o 3º instar cessam os movimentos, a cutícula torna-se esclerotizada evidenciando o início da metamorfose e a fase de pupa, durante a qual ocorrerá apoptose dos tecidos larvais, desencadeado por hormônios em resposta a estímulos ambientais. Nesse processo os tecidos existentes são substituídos por tecidos adultos oriundos dos ninhos de células imaginais indiferenciadas e dos nichos histioblásticos que originarão o organismo adulto. A base morfológica desta espécie quando adulta é praticamente igual em ambos os gêneros, sendo o corpo dividido em cabeça, tórax e abdômen, e as principais diferenças externas notadas no tamanho – sendo que o macho possui de 9-10 mm e as fêmeas de 10-11 mm – e no abdômen ao qual estão alocadas as genitálias, ocorrendo na fêmea tergitos ovopositores e no macho um prepúcio volumoso.

Palavras-chave: *Forense, larvas, pupário, morfologia, comparação, ovos.*

Diatomáceas perifíticas em Ludwigia sp L. (Onagraceae): I. Pinnularia Ehrenberg (Bacillariophyceae)

Monteiro, A.; Tremarin, P.; Ludwig, T.

Laboratório de Ficologia, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: aline.monts@gmail.com

Reservatórios, sistemas formados pelo represamento de rios, representam importante papel nos centros urbanos, permitindo abastecimento público, geração de energia e lazer. A represa de Piraquara II está localizada em Piraquara, região Metropolitana de Curitiba, e é gerenciada pela empresa de saneamento do Estado. *Ludwigia* pertence à família Onagraceae, caracterizada por espécies herbáceas a subarborescentes, com representantes em ambientes úmidos ou completamente aquáticos. As macrófitas aquáticas constituem excelente substrato para microorganismos, permitindo o desenvolvimento das comunidades perifíticas. As diatomáceas, algas microscópicas unicelulares silíceas, são abundantes em ecossistemas aquáticos e bem adaptadas ao hábito perifítico. *Pinnularia* é um gênero de diatomáceas comum no perifíton, mas de difícil identificação. Realizou-se o estudo taxonômico das espécies de *Pinnularia* encontradas em amostras perifíticas em caules de *Ludwigia* spp. coletados na represa Piraquara II, em junho de 2012. Em laboratório, procedeu-se à raspagem do substrato, oxidação do material e preparação de lâminas permanentes para análise em microscópio óptico. Foram determinadas 20 espécies do gênero *Pinnularia*, número representativo considerando-se a análise de apenas uma amostra.

Palavras-chave: *Bacillariophyta*, *perifíton*, *Pinnulariaceae*, *Piraquara II*, *reservatório*, *taxonomia*.

Agradecimentos: Fundação Araucária, SANEPAR, CNPq.

Diatomáceas perifíticas em substrato artificial da Represa Alagados, Ponta Grossa, Paraná

Straube, A.; Bertolli, L.M.; Tremarin, P.I.; Ludwig, T.A.V.

Laboratório de Ficologia, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: akstraube@gmail.com

As represas são consideradas importantes ecossistemas artificiais por estarem envolvidos principalmente no abastecimento de água e geração de energia. A represa de Alagados localiza-se na região de Ponta Grossa, Castro e Carambeí e é formada pelos rios Jotuva e Pitangui. É responsável pelo abastecimento de água na região de Ponta Grossa, além de ser utilizada para pesca e recreação no local. Eventos de floração foram registrados no reservatório durante o ano de 2007. *Mougeotia* sp. floresceu no outono-inverno e *Cylindropermopsis raciborskii* na primavera-verão. O objetivo desse estudo foi analisar a composição e a predominância de espécies de diatomáceas em amostras perifíticas próximo à barragem da represa de Alagado, durante a floração *C. raciborskii*. Lâminas inseridas em suportes de madeira permaneceram submersas por cerca de 30 dias. Após a coleta, em dezembro de 2007, o material foi encaminhado ao laboratório para os processos de raspagem do substrato, oxidação e preparo das lâminas permanentes com o intuito de proceder a análise taxonômica em microscópio óptico. Concomitantemente, contagem de 500 valvas permitiu a constatação da predominância de espécies. Determinaram-se cerca de 50 espécies distribuídas em 20 gêneros. Os táxons com maior riqueza de espécies foram *Gomphonema* (seis) e *Navicula* (seis). As espécies predominantes foram *Achnantheidium minutissimum* (86%), *Gomphonema lagenula* (12%) e *Fragilaria familiaris* (2%). *A. minutissimum* é citado na literatura como espécie tolerante a eutrofização, portanto comum em ambiente com altas concentrações de nutrientes.

Palavras-chave: *perifíton, reservatório, Achnantheidium minutissimum.*

Diferenciação dos instares larvais de *Paralucilia xanthogeneiates* (Dear, 1985): uma abordagem morfológica

da Silva, S.M; Vairo, K.P; Moura, M.O

Laboratório de Dinâmicas Ecológicas, Departamento de Zoologia, UFPR.

Email: sabrina.machado.bio@gmail.com

A entomologia forense baseia-se no estudo de insetos e sua aplicação na medicina legal. É um campo de pesquisa que cresce no Brasil apesar da falta de dados sobre a taxonomia e biologia dos insetos. Usualmente, as primeiras espécies que chegam a um cadáver pertencem a família Calliphoridae (Diptera), o que as torna espécies chave na entomologia forense, principalmente os imaturos. Considerando que estudos morfológicos de imaturos fornecem caracteres específicos que podem facilitar a identificação das espécie e servir como base para futuros estudos taxômicos, este estudo visa a descrição morfológica do primeiro, segundo e terceiro instar larval da espécie de importância forense *P. xanthogeneiates* (Dear, 1885). As larvas utilizadas para estabelecer as colônias em laboratório foram coletadas pela Polícia Científica do Paraná em cadáveres. Para a análise as larvas foram mortas em água destilada a $\pm 95^{\circ}\text{C}$ e fixadas em AFA. Os imaturos foram diafanizados em KOH, montados em lâmina contendo Meio Hoyers e analisados em microscópio óptico. As fotos foram obtidas através de câmera digital AxioCam HR. Para a visualização em microscópio eletrônico de varredura foi utilizada a metodologia usual e a obtenção de imagens foi realizada no Natural History Museum of Denmark. O padrão de distribuição dos espinhos foi o mesmo nos instares larvais. Porém, o formato dos espinhos difere entre cada instar em segmentos específicos. O Pseudocéfalo e as estruturas sensoriais se desenvolvem durante a transição entre os instares. O esqueleto cefálico no primeiro instar é pouco esclerotizado e se torna mais robusto e com escleritos desenvolvidos e individualizados com o crescimento da larva. O espiráculo posterior passa de uma, duas a, finalmente, três fendas envoltas por peritrema incompleto, correspondendo ao primeiro, segundo e terceiro instar larval. A análise morfológica dos estágios imaturos de *P.xanthogeneiates* foi eficaz na caracterização dos instares. *P. xanthogeneiates* apresenta diferenças na forma e disposição dos escleritos no esqueleto cefálico bem como no formato dos espinhos que, se comparados a espécies da mesma família *P. paraensis* (Mello, 1972) e *Sarconesia chlorogaster* (Wiedmann, 1830) são importantes quando aplicados em estudos de caso na entomologia forense, durante a fase de identificação das espécies .

Palavras-chave: *entomologia forense, Calliphoridae, morfologia, estágios imaturos.*

Diversidade e potencial antimicrobiano de fungos endofíticos isolados de Schinus terebinthifolius

Santos, G. D.; Gomes, R.; Barbieri, D.; Glienke, C.; Maia, B.; Degenhardt, J.; Vicente, V.

Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: vaniava63@gmail.com

Os fungos endofíticos são microrganismos que habitam tecidos e raízes de plantas vivas, de forma assintomática. Devido à produção de metabolitos secundários de grande atividade biológica, existe um interesse médico, farmacêutico e agropecuário no estudo da bios prospecção destes micro-organismos. *Schinus terebinthifolius*, conhecida popularmente como aroeira, uma planta amplamente empregada dentro da medicina popular, devido a sua ação bactericida, antiviral e antitumoral, assim como as plantas em geral, apresenta colonização por micro-organismos endofíticos. Porém, estudos sobre fungos endofíticos associados a essa planta são limitados. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi isolar e identificar por meio de características morfológicas e marcadores moleculares micro-organismos endofíticos das folhas dessa planta e investigar a produção substâncias antimicrobianas pelos fungos isolados. Um total de 133 fungos foram isolados da planta e a partir de uma seleção macro e micromorfológica, os mesmos foram divididos em 21 grupos, dos quais três apresentaram atividade antimicrobiana para linhagens ATCC de bactérias e leveduras de interesse clínico, através do teste de pareamento, sendo identificados, através de sequenciamento da região ITS, como *Fusarium equiseti*, *Xylaria sp*, *Epicoccum nigrum*. Em relação aos demais fungos isolados foram identificados como pertencentes a diferentes gêneros e espécies *Diaporthe sp*, *Diaporthe terebinthifolii*, *Guignardia vaccinii*, *Anthostomella leucospermi*, *Fusarium equiseti*, *Nigrospora sp*, *Colletotrichum sp*, *Penicillium commune*. Entre os isolados o gênero *Diaporthe* foi o mais freqüente. A partir destes resultados é possível observar a importância de um estudo aprofundado sobre os fungos endofíticos de *S. terebinthifolius* tanto para conhecer a diversidade desses organismos e sua freqüência, assim como buscar novas substâncias com atividade antimicrobiana. Como perspectivas futuras serão obtidos em larga escala metabólitos ativos desses fungos para isolamento e identificação desses compostos químicos.

Palavras-chave: *endofíticos, Schinus terebinthifolius, fungos.*

Agradecimentos: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação Araucária.

Efeito da debicagem em três diferentes densidades populacionais sobre a área de fibras musculares (Mm. Pectoralis major) em Codornas (Coturnix c. japonica).

Bertholo, H.C.

Laboratório de Anatomia Animal, Departamento de Anatomia, UFPR.

Email: helderbertholo@gmail.com

Com o mercado em expansão, produtores e pesquisadores buscam novas alternativas para complementar os plantéis, e com isso, a coturnicultura vem aumentando seu espaço no cenário brasileiro. De maneira geral, as codornas apresentam grande produção de ovos, precocidade sexual, fácil manuseio e a carne é considerada exótica (USP, 2006b). A debicagem é uma prática adotada para diminuir o comportamento agressivo, automutilação, canibalismo, desperdício de alimentos e proporcionar bem estar ao animal. O objetivo do trabalho foi detectar, através de variações nas áreas das fibras musculares, a influência da debicagem, não debicagem e densidade populacional sobre a idade para estabelecer a melhor época de abate. Foram utilizados 536 machos de codornas (*Coturnix coturnix japonica*), variedade para corte comercialmente chamada de “Linhagem Italiana” adquiridos com um dia de idade da Granja Suzuki, no município de Itaquera – SP. As aves foram criadas nas instalações do Setor de Animais Alternativos da Estação Experimental do Canguiri, da Universidade Federal do Paraná. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x2, onde foram alojados em três densidades populacionais: 150, 250 e 350 cm²/ave e duas práticas de manejo; aves debicadas (AD) e aves não debicadas (AND), com um total de 6 tratamentos. Ao atingir 35 dias de idade foi sorteada semanalmente uma ave por box para avaliação da área das fibras musculares e substituída por um tijolo de argila para não haver alteração do espaço físico. Após o abate, foram retiradas amostras de 2,0 x 1,5 x 1,0 cm do lado esquerdo do músculo *Pectoralis major*, colocadas em solução fixadora de Bouin para confecção das lâminas, lidas em microscópio óptico e em seguida pelo programa de medição da área das fibras musculares. Os dados obtidos foram avaliados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Aos 35 dias, a média das áreas das fibras do músculo *Pectoralis major* das aves submetidas à debicagem foi maior (P=0,0251) que as aves não debicadas. Aos 42, 49, e 56 dias de idade não foram observadas diferenças estatísticas (P>0,05). A densidade populacional não teve influência na área de fibras no músculo. Com base nos resultados experimentais, pode-se concluir que o efeito da debicagem proporcionou uma área de fibra muscular do músculo *Pectoralis major* maior aos 35 dias, sem ter influenciado as demais idades. Portanto, o manejo de debicagem não traz prejuízos ao bem estar animal e é eficiente para maior produção de carne aos 42 dias de idade

Palavras-chave: *Codornas de corte, Debicagem, Densidade populacional.*

Efeito da vitamina E sobre o estresse oxidativo e comportamentos relacionados à ansiedade e depressão em animais diabéticos induzido por estreptozotocina

Morais, H.; Pasquini, C.S.; Cunha, J.M.; Zanoveli, J.M

Laboratório de Psicofarmacologia, Departamento de Farmacologia, UFPR.

Email: helendemorais@hotmail.com

Diabetes mellitus é uma doença crônica com pacientes que apresentam uma alta incidência de transtornos psiquiátricos, como depressão e ansiedade. Estudos têm sugerido que estas associações podem ser uma consequência direta das alterações bioquímicas induzidas pela hiperglicemia, tais como um aumento do estresse oxidativo. Avaliamos o efeito da vitamina E (vit E) o tratamento, um composto antioxidante, sobre o estresse oxidativo e as respostas comportamentais em animais submetidos a modelos experimentais de depressão e ansiedade. Ratos Wistar machos, tratados com tampão de citrato (normoglicêmico grupo-N) ou estreptozotocina (grupo-DBT) foram submetidos a um tratamento durante 28 dias com vit E (300 mg/kg,vo) ou veículo (VEH). O aumento do tempo de imobilidade (T) e diminuição do tempo de imobilidade de latência (TIL) no teste de natação forçada (FST) foram pontuadas como comportamentos do tipo depressivo. Imediatamente após os testes, os ratos ambos N e DBT foram sacrificados e o hipocampo (HIP) e córtex pré -frontal (PFC) foram dissecados para posterior quantificação dos níveis de peroxidação lipídica (LPO). Quando comparado com os ratos N, animais DBT mostraram: 1) um aumento significativo em TI e diminuem em TIL, quando avaliado no FST, 2) Não houve alteração da atividade locomotora geral, 3) uma significativa redução no ganho de peso e 4) um aumento nos níveis de LPO. Além disso, o tratamento vit E melhorou significativamente os comportamentos do tipo depressivos em ratos DBT, bem como os efeitos ansiogênico. Este tratamento também induziu um ganho de peso significativa em animais DBT, assim como causou uma redução significativa nos níveis de LPO. Curiosamente, vit E não foi capaz de alterar esses parâmetros comportamentais e bioquímicos em ratos N. Todos estes dados foram analisados por análise de uma via da variância, seguida pelo teste de Newman Keuls. Este estudo indicou que vit E exercem efeitos neuroprotetores nas áreas do cérebro extremamente relacionados à depressão e transtornos de ansiedade, como HIP e CPF. Adicionalmente, a suplementação de vit E pode ser uma alternativa, como um adjuvante, no tratamento de pacientes diabéticos que sofrem de desordens tais como a depressão e ansiedade.

Palavras-chave: *depressão, estreptozotocina, vitamina E, teste de natação forçada.*

Efeito do grau hierárquico de dominância na memória associativa de Lambaris (Astyanax altiparanae)

Lugo, F.; Scherer, M.; Castilho, M.F.; Lima, M.; Santos, M.

Laboratório de Estudo em Estresse Animal, Departamento de Fisiologia, UFPR.

Email: [markxerer@gmail](mailto:markxerer@gmail.com)

O objetivo desse estudo foi testar o papel do grau hierárquico de dominância na memória associativa em lambaris (*Astyanax altiparanae*). Alevinos adultos foram pareados por quatro dias, ao longo dos quais foram identificados o dominante e submisso na dupla. Posteriormente, os animais foram individualmente submetidos ao teste de esquiva inibitória, cujo aparato se constituiu num aquário retangular onde um estímulo aversivo (barra de ferro controlada por um sistema de roldanas) ocupava cerca de 50% da sua extensão; o estímulo era abaixado toda vez que o peixe se dirigia para esse lado. Dados referentes ao tempo que o animal demorou a se dirigir a área do estímulo, número de vezes que ele se dirigiu a essa área e tempo decorrido até o peixe não se dirigir mais a essa área foram registrados. Animais dominantes se dirigiram significativamente mais vezes a área aversiva comparativamente aos submissos ($p = 0,0195$), embora a latência inicial para se dirigir ao lado contendo o estímulo e o tempo passado até que os animais deixassem de se dirigir ao mesmo não tenham diferido significativamente. Concluímos que o grau hierárquico de dominância não modulou a

aprendizagem dos animais na tarefa proposta.

Palavras-chave: *Dominância, Esquiva, Memória associativa.*

Efeitos da contaminação por petróleo na raiz e folha de Canavalia ensiformis (Fabaceae)

Balliana, A.G.; Moura, B.B.; Santos, G.O.; Bona, C.

PPG-BOTÂNICA/UFPR, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: amandagballiana@gmail.com

Derrames de petróleo têm contaminado grandes extensões de solo, sendo que as espécies vegetais possuem diferentes graus de tolerância ao poluente. A leguminosa *Canavalia ensiformis* (L.) DC se adapta a condições adversas do solo devido à boa produção de biomassa, raízes profundas e rápido crescimento. Considerando a hipótese de que *C. ensiformis* é tolerante aos efeitos nocivos da contaminação por petróleo, o estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da contaminação do substrato por petróleo na estrutura da raiz e folha e nos teores de clorofilas e carotenóides da planta. O experimento foi conduzido por 90 dias em casa de vegetação. Mudanças com 20 dias foram transplantadas para o substrato (areia) contaminado a 4% com petróleo e não contaminado (controle). Foi mensurado o volume radicial e analisada a estrutura anatômica da raiz e folhas das plantas em ambos os tratamentos. O material foi corado com azul de toluidina e submetido a testes com sudan III, lugol, cloreto férrico, floroglucinol e azul de coomassie. Teores de clorofila e carotenóides foram mensurados e avaliados pelo teste t. As folhas das plantas em substrato contaminado apresentaram clorose, manchas acastanhadas no limbo, abscisão foliar prematura, paredes celulares sinuosas no parênquima paliçádico e menor número de cloroplastos. As raízes apresentaram maior volume, células epidérmicas colapsadas com paredes celulares rompidas, lise das células corticais e crescimento secundário avançado. Os testes com lugol e cloreto férrico foram negativos para ambos os tratamentos; o sudan III contrastou igualmente cutícula foliar e endoderme na raiz nas plantas dos dois tratamentos; o floroglucinol revelou maior quantidade de lignificação na raiz em substrato contaminado. Não houve diferença estatística nos teores de clorofilas e carotenóides entre as plantas de ambos os tratamentos ($p < 0,05$). *C. ensiformis* apresentou variações morfológicas e anatômicas quando em substrato contaminado, porém estas não comprometeram significativamente seu crescimento, indicando sua possível tolerância aos efeitos do petróleo.

Palavras-chave: *Feijão-de-porco, anatomia, poluição ambiental.*

Agradecimentos: à Fundação Araucária pelo financiamento, ao Departamento de Botânica da UFPR pelo uso dos laboratórios e ao CNPq pela concessão de bolsa da primeira autora.

Efeitos da hispidulina sobre o metabolismo oxidativo e a viabilidade de células de hepatoma humano (HepG2)

Worfel, P. R.; Barbosa, F. A. L.; Winnischofer, S. M. B.; Rocha, M. E. M.

Laboratório de Oxidações Biológicas e Cultivo Celular, Departamento de Bioquímica, UFPR.

Email: carina_ts@hotmail.com

O carcinoma hepatocelular (CHC) é a mais comum neoplasia maligna primária do fígado em todo o mundo, com opções limitadas de tratamento. Os flavonóides são um grupo de compostos polifenólicos com muitas atividades biológicas, incluindo propriedades antitumorais. Os efeitos da hispidulina (5,7,4'-tri-hidroxi-6-metoxiflavona) sobre as células de hepatoma humano HepG2 ainda não foram descritas. Em dados anteriores observamos que o tratamento de células HepG2 com hispidulina (50 e 100 $\mu\text{mol} / \text{L}$) diminui a viabilidade celular em 24 e 45% e aumenta os níveis de ERO (Espécies Reativas de Oxigênio) em 36 e 58%, respectivamente. Este efeito foi atenuado por co-tratamento com o antioxidante N-acetilcisteína. O objetivo do atual estudo foi analisar os efeitos da hispidulina sobre os níveis de glutatona reduzida (GSH), a progressão no ciclo celular e expressão de enzimas antioxidantes. Os nossos resultados sugerem que o mecanismo pelo qual a hispidulina aumenta os níveis de ERO, pode ser por meio de redução da expressão da enzima catalase e dos níveis de GSH, o que resulta em morte celular.

Palavras-chave: *hispidulina, HepG2, ERO, NAC, enzimas antioxidantes.*

Efeitos da temperatura de aclimação nas enzimas do metabolismo energético e do estresse oxidativo no rim dos teleósteos antárticos: *Notothenia coriiceps* e *Notothenia rossii*

Krebsbach, P.; Zaleski, T.; Machado, C.; Pedreiro, M.R.D.; Silva, F.B.V.; Cettina, L.B.; Forgati, M.; Rodrigues, E.; Donatti, L.

Laboratório de Biologia Adaptativa, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: pkrebsbio@gmail.com

A estabilidade térmica do ecossistema marinho Antártico tem permitido aos peixes antárticos evoluir de tal forma que seu metabolismo é mais eficiente em baixas temperaturas. Contudo, o aquecimento dos oceanos em especial em torno da Península Antártica e ilhas adjacentes levantam questões a respeito da plasticidade metabólica e da capacidade de aclimatização dos nototenídeos antárticos ao aumento da temperatura. Este trabalho investiga enzimas do metabolismo energético e do estresse oxidativo de *Notothenia coriiceps* e *Notothenia rossii* submetidos à elevação térmica. Os experimentos foram realizados na Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF) e ambas as espécies foram expostas a temperaturas de 0+0,5°C, 4+0,5°C e 8+0,5°C durante 1, 4, 15 e 30 dias. A aclimação de *N. rossii* por 1 dia a 4°C e 8°C, e 15 dias a 4°C levou à redução dos níveis da glicose-6-fosfatase (G6Pase) renal, enquanto que em 30 dias observou-se a modulação negativa em 8°C em relação a 0°C. O aquecimento em 8°C induziu a modulação positiva da citrato sintase (CS) em relação a 0°C em peixes mantidos por 15 dias. A malato desidrogenase (MDH), a lactato desidrogenase (LDH), a catalase (CAT) e a superóxido dismutase (SOD) não apresentaram modulação de seus níveis frente ao aquecimento (4°C e 8°C) em relação ao controle em *N. rossii* enquanto que a glutatona S-transferase (GST) foi modulada negativamente. Já em *N. coriiceps*, os níveis teciduais da G6Pase e SOD não variaram significativamente no tecido renal com o aumento da temperatura. Houve variação dos níveis da CS em consequência do aquecimento (4°C) e do tempo de exposição, enquanto a MDH apresentou redução da atividade em 4°C (4 dias) e em 8°C (1 e 4 dias). A temperatura de 4°C modulou negativamente a atividade da GST e da CAT de *N. coriiceps* expostos por 4 e 15 dias, respectivamente. Em 1 dia de exposição a 8°C, os níveis da GST reduziram marcadamente em relação a 0°C. Dessa forma, nota-se que *N. coriiceps* e *N. rossii* respondem distintamente ao aumento da temperatura, sendo os mecanismos de resposta metabólica diferenciados nas temperaturas de 4°C e 8°C e ao longo do tempo de exposição.

Palavras-chave: *Peixes antárticos, Estresse térmico, Estresse oxidativo, Metabolismo energético.*

Agradecimentos: Somos gratos ao Ministério do Meio Ambiente (MMA), ao Ministério de Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Secretaria da Comissão Interministerial para os Recursos do Mar (SECIRM) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Antártico de Pesquisas Ambientais (INCT-APA) pelos apoios concedidos.

Efeitos de nanopartículas de prata e pesticidas organoclorados em macrófagos peritoneais de camundongo

Glinski, A.; Liebel, S.; Oliveira Ribeiro, C.A.; Randi, M.A.F.; Voigt, C.L.; Campos, S.X.; Filipak Neto, F.

Laboratório de Toxicologia Celular, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: andressagli@yahoo.com.br

A nanotecnologia vem ocupando um lugar de destaque na economia e na ciência, devido às propriedades benéficas de nanomateriais em campos industriais, farmacêuticos e médicos. No entanto, estudos têm mostrado que as nanopartículas apresentam riscos para os organismos, devido às suas propriedades pró-oxidantes e capacidade para adsorver vários produtos químicos. Por conseguinte, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de nanopartículas de prata, pesticidas organoclorados e da associação entre ambos em macrófagos peritoneais de camundongo. Para isso, os macrófagos foram expostos às nanopartículas de prata em três concentrações (30, 300 e 3000 ng.ml⁻¹), duas concentrações de pesticidas organoclorados (30 e 300 ng.ml⁻¹) e a associação destes dois poluentes nas seis combinações possíveis por 24 h. As nanopartículas de prata foram caracterizadas quanto ao tamanho e dispersão por DLS, microscopias eletrônicas de transmissão e varredura acoplada ao sistema EDS, e se apresentaram parcialmente dispersas com mais de 55% do material com tamanho inferior a 100 nm. A maior concentração de nanopartículas de prata foi altamente citotóxica (demonstrado pelos ensaios do azul de tripan, vermelho neutro e MTT) e resultou em alterações morfológicas, aumento dos níveis de óxido nítrico, e redução das espécies reativas de oxigênio e do índice fagocítico. No entanto, a associação de maiores concentrações de nanopartículas com os pesticidas apresentou efeitos mais pronunciados ou diferentes dos observados após exposição às nanopartículas isoladas. Esses efeitos da associação ficaram claros para os níveis de óxido nítrico e atividade fagocítica (maiores na associação), bem como para viabilidade celular pelo ensaio do azul de tripan e espécies reativas de oxigênio (menor na associação). Assim, este trabalho demonstra que a associação dos dois xenobióticos conduz a efeitos que não são observados ou previsíveis pela exposição isolada.

Palavras-chave: *nanopartículas de prata, pesticidas organoclorados, macrófagos peritoneais de camundongo, estresse oxidativo.*

Agradecimentos: à CAPES pela bolsa de pós-graduação.

Efeitos ecotoxicológicos da Fração Solúvel da Gasolina em peixes

Galvan, G.L.; Tincani Osório, F.H.; Yamamoto, C.I.; Cestari, M.M.

Laboratório de Citogenética Animal e Mutagênese Ambiental, Departamento de genética, UFPR.

Email: gabrielibiologia@gmail.com, galvan@ufpr.br

A gasolina é um dos múltiplos compostos relacionados às atividades antrópicas com potencial de impacto ecológico em ambientes aquáticos, desta forma, este estudo objetiva avaliar os efeitos tóxicos e citogenotóxicos da fração solúvel da gasolina (FSG) em peixes e verificar se os efeitos são passíveis de depuração. A dinâmica de volatilização dos hidrocarbonetos foi avaliada em diferentes períodos e condições de monitoramento. A Concentração Letal Mediana (CL50) foi determinada nas espécies: *Astyanax altiparanae* e *Danio rerio*. No ensaio subletal indivíduos de *A. altiparanae* foram submetidos aos seguintes tratamentos: Controle negativo; Controle positivo; Exposição aguda (96 horas) à FSG 1,5%; Exposição subcrônica (15 dias) à FSG 1,5%; Depuração nos períodos de 15, 30 e 60 dias. Foi realizada a quantificação dos hidrocarbonetos na bile e no sangue analisada a frequência de micronúcleos (%MN), alterações morfológicas nucleares (%AMN) e frequência de eritrócitos imaturos (%EI). A análise química da FSG mostrou que a aeração promove perda significativa dos hidrocarbonetos, já a renovação da solução-teste mantém os níveis e no sistema estático sem aeração ocorre degradação gradual dos compostos. Os resultados de toxicidade para *A. altiparanae* foram (FSG-CL50 = 15% e K₂Cr₂O₇-CL50 = 75 mg.L⁻¹) e para *D. rerio* (FSG-CL50 = 20% e K₂Cr₂O₇-CL50 = 84 mg.L⁻¹). Não houve acumulação de HPAs na bile. Após exposição subcrônica à FSG houve aumento na %EI e posterior decréscimo nos períodos de depuração. Não houve diferença na %AMN entre os tratamentos. A %MN aumentou após exposição subcrônica e após 15 dias de depuração houve decréscimo significativo.

Palavras-chave: genotoxicidade, citotoxicidade, letalidade, hidrocarbonetos, peixes.

Embriogênese somática em híbrido de dendê africano x caiaué

Bonetti, P. A. K.; Nesi, J.; Martin, S. S.; Quisen, C. R.; Quoirin, M.

Laboratório de Micropropagação Vegetal, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: keilavprado@yahoo.com.br

O dendezeiro (*Elaeis guineensis*) é uma palmeira importante em virtude da excelente qualidade de seus óleos, mas apresenta dificuldades na propagação em larga escala por meio de métodos convencionais, por isso técnicas de cultura de tecidos podem potencializar a obtenção de plântulas. Assim a micropropagação via embriogênese somática (ES) surge como uma alternativa para a multiplicação vegetativa de palmeiras. Este trabalho teve por objetivo induzir a ES a partir de embriões zigóticos maduros do híbrido de dendê (*E. guineensis* x *E. oleifera*), visando criar alternativas para a propagação da espécie. As sementes foram desinfestadas por 5 min em etanol (70%), 20 min em hipoclorito de sódio (solução comercial a 10%), seguido de 3 lavagens em água destilada e autoclavada. Os embriões foram excisados e inoculados em placas de Petri contendo 20 mL de meio de cultura e cultivados no escuro a 25±2 °C. O meio de cultura utilizado foi o Y3, acrescido de 3% de sacarose. No primeiro experimento, foram comparados dois agentes gelificantes: Gelzan (2 g L⁻¹) e ágar (6 g L⁻¹) no meio contendo 2,4-D (500 µM). No segundo experimento, os calos obtidos após 5 meses no meio Y3 com 2,4-D foram repicados ao mesmo meio, substituindo 2,4-D por 1000 µM de ANA, Gelzan como agente gelificante. Após 2 meses os calos foram subcultivados no mesmo meio, diminuindo a concentração de auxina para 5 µM. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 24 repetições (placas/Petri), 8 embriões/placa. Foi realizada uma avaliação a cada mês, observando a presença de calos embriogênicos e embriões somáticos. No meio com Gelzan, 83,9% dos explantes formaram calos enquanto que, no meio com ágar, foram 79,7%. Após 3 meses no meio com ANA, 30% apresentaram massas embriogênicas e 10% embriões somáticos. Conclui-se que o meio com auxinas reduzidas promove a formação de massas embriogênicas e embriões somáticos.

Palavras-chave: *auxinas, embriões zigóticos, micropropagação.*

Agradecimentos: à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Estudo comparativo do efeito do estresse térmico sobre a morfologia e o sistema de defesa antioxidante em eritrócitos dos peixes antárticos *Notothenia rossii* (Richardson, 1844) e *Notothenia coriiceps* (Richardson, 1844)

Pedreiro, M.R.D; Machado, C.; Zaleski, T.; Krebsbach, P.; Forgati, M.; Donatti, L.

Laboratório de Biologia Adaptativa, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: mariarosadmengeon@gmail.com

Estudos recentes sobre alterações climáticas relatam que a Península Antártica apresenta aquecimento acelerado, é extremamente importante entender a plasticidade metabólica e os mecanismos bioquímicos envolvidos na aclimação a altas temperaturas de peixes antárticos para a conservação destas espécies e do ecossistema Antártico. O presente trabalho teve o objetivo de analisar o efeito do estresse térmico sobre a morfologia e o sistema de defesa antioxidante em eritrócitos de *Notothenia rossii* e *Notothenia coriiceps*, expostos durante 1, 3 e 6 dias a 8+0.5°C e a 0+0.5°C. Em *N. coriiceps* o aumento da temperatura a 8°C não modulou os níveis de SOD e GPx. Mas modulou negativamente os níveis de CAT em 1 e 3 dias. A GST foi modulada positivamente em 3 dias e negativamente em 6 dias. A GR foi modulada positivamente em 1 dia e 3 dias. Em *Notothenia rossii* o aumento da temperatura não modulou os níveis de GPx e GR. Mas, a SOD foi modulada positivamente em 6 dias e a CAT foi modulada positivamente em 3 dias e negativamente em 6 dias. A GST também foi modulada negativamente em 6 dias. Os níveis de GSH não foram modulados pela temperatura em ambas as espécies. O níveis de MDA foram modulado negativamente em 3 dias a 8°C em ambas as espécies e houve modulação positiva em 1 dia para *N. coriiceps* pelo aumento da temperatura. Análises morfológicas dos eritrócitos indicaram que em *N. coriiceps* o aquecimento a 8°C determinou o aumento da frequência de alterações no formato celular, a presença de vesículas na membrana plasmática, o núcleo em Blebbed e a fissura nuclear. Em *N. rossii* o estresse térmico influenciou o aumento da frequência de alterações no formato celular e a presença de núcleos em Blebbed. A proporção de eritrócitos maduros e imaturos, a frequência de micronúcleo, o deslocamento celular, volume celular e nuclear não foram influenciados pelo estresse térmico em ambas as espécies. Foi possível concluir que, nos nototenídeos antárticos, *N. rossii* e *N. coriiceps*, espécies filogeneticamente muito próximas, os padrões de resposta frente ao aumento da temperatura ambiental foram diferentes.

Palavras-chave: *notothenídeos, eritrócitos, temperatura, estresse oxidativo, anormalidades celulares.*

Estudo de biomarcadores de potencial uso diagnóstico para carcinoma de mama do tipo ductal e lobular invasivo

Manica, G. C. M.; Klassen, L. M. B.; Pereira, I. T.; Chequin, A.; Klassen, G.

Laboratório de Epigenética, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: giseli.ufpr@gmail.com

O câncer de mama é o cancer mais frequente entre as mulheres no mundo, no Brasil, o câncer de mama é a principal causa de morte entre todos os tipos de câncer em mulheres. O diagnóstico e o prognóstico são realizados atualmente por marcadores de proteínas em imuno-histoquímica, como receptores de estrogênio e progesterona. O carcinoma lobular invasivo (CLI) é responsável por até 15% dos casos, com morfologia atípica e de difícil classificação. Até agora não há nenhum marcador específico para CLI. O gene ADAM33 apresenta seu promotor hipermetilado nos CLIs, por isso, a expressão da proteína está ausente. Dessa forma, a proteína ADAM33 poderia ser utilizada como um novo marcador para a diferenciação entre os carcinomas lobulares e ductais. O Objetivo do trabalho é construir um novo biomarcador de câncer de mama o anticorpo-monoclonal anti-ADAM33 e validar sua utilização como uma ferramenta que auxilie na diferenciação entre os carcinomas de mama ductal e lobular invasor através da imunohistoquímica. A identificação da proteína recombinante ADAM33 foi realizado pelo método MALDI-TOF/MS. Essa proteína recombinante foi utilizada para imunizar camundongos do tipo Balb/c para produção de anticorpos monoclonais. Os hibridomas secretores foram selecionados por ELISA e a especificidade dos anticorpos monoclonais foi testada por wester blotting (WB) utilizando linhagens tumorais de mama que não expressam (MDA-MB-231) e expressam (PMC-42 e MCF-7) o gene ADAM33. A espectrometria de massa da proteína recombinante ADAM33 demonstrou que há 68 % de homologia entre a proteína recombinante e o domínio rico em cisteínas da proteína ADAM33. Após as imunizações, com a proteína recombinante, os hibridomas secretores foram selecionados por ELISA. Foram obtidos inicialmente 165 clones positivos, desses, 20 sofreram uma nova diluição limitante, e foram avaliados quanto á especificidade. O WB mostrou que o anticorpo monoclonal anti-ADAM33 (GMGK06) reconheceu uma banda de aproximadamente 37 kda nas duas linhagens que expressam a ADAM33 e não reconheceu nenhuma proteína na linhagem que não expressa ADAM33. Esse anticorpo monoclonal GMGK06 apresentou especificidade ao reconhecimento da proteína ADAM33 de extrato total de linhagens tumorais de mama, esse resultado havia sido demonstrado com o anticorpo-policlonal, agora vamos testá-lo em imunohistoquímica de tumores de mama.

Palavras-chave: *ADAM33, Câncer de mama, Carcinoma lobular invasivo, carcinoma ductal invasivo.*

Estudo de regeneração em Diadumene sp. (cnidaria, anthozoa, diadumeniidae)

Salvalaggio, A.V.; Oliveira, A.I.; Schlösser, T.C.; Costa, T.D.P.

Disciplina Biologia do Desenvolvimento, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: ayrton.ioliveira@gmail.com, asalvalaggio.o@gmail.com, tainaschlosser@gmail.com, thiagoprendi@gmail.com

Anêmonas são invertebrados marinhos sésseis com notável caráter regenerativo, podendo regenerar-se a partir de pequenos fragmentos. Durante o processo de regeneração em cnidários não há proliferação celular, mas apenas reorganização tecidual, caracterizando um processo de regeneração por morfalaxia. No presente projeto, anêmonas da família Diadumeniidae foram seccionadas longitudinalmente a fim de induzir um processo regenerativo. Macroscopicamente pôde-se observar que a regeneração das “meia-anêmonas” ocorreu dos tecidos mais internos para os mais externos, além de ocorrer do disco pedal para o disco oral. Microscopicamente, baseado na literatura, sabe-se que o corte induz a liberação de substância que participarão da indução do processo de regeneração. Nos indivíduos do gênero *Diadumene* sp. esse processo de desenvolvimento pós-embriônico ocorre por completo em aproximadamente 24 horas.

Palavras-chave: *anêmonas, morfalaxia, expressão gênica, identidade posicional, células tronco.*

Agradecimentos: Agradecemos a toda a equipe do laboratório de estudos de cnidários, coordenado pela Profª Dra. Mª Angélica Haddad, por nos ceder o local para a realização do projeto, além de suas valiosas contribuições para com este. Agradecemos também à Profª Dra. Setuko Masunari, coordenadora da sala de aquários do programa de pós graduação em Zoologia da UFPR, por nos emprestar gentilmente o espaço citado acima para a realização dos nossos experimentos. Reconhecemos também a participação da nossa orientadora, Profª Dra Flavia Rios Sant’Anna, como essencial para o bom andamento das pesquisas.

Expressão heteróloga e avaliação da atividade de uma fosfolipase recombinante de lagarta *Lonomia obliqua*

Marin, B.; Meissner, G.; Morgon, A.; Chaim, O.

Laboratório de Matriz Extracelular e Biotecnologia de Venenos, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: brendamarin@gmail.com

A lagarta *Lonomia obliqua*, é responsável por um número elevado de acidentes na Região Sul do Brasil. Erucismo lonômico é o quadro clínico decorrente ao acidente com essas lagartas, o qual varia de reações cutâneas leves a reações sistêmicas graves. O veneno dessa lagarta é composto por diversas toxinas e, dentre elas, uma fosfolipase A2 (PLA2). O objetivo do presente estudo é obter esta enzima recombinante através da clonagem e expressão heteróloga e avaliar sua atividade bioquímica e biológica. A obtenção da sequência codificante completa da PLA2 se deu por meio da reação em cadeia da polimerase acoplada à transcriptase reversa (RT-PCR), a partir do RNA total extraído das cerdas da lagarta. Para tal, foram desenhados oligonucleotídeos gene-específicos baseados na sequência de uma PLA2 putativa de *L. obliqua* depositada no GenBank. O produto desta reação foi, purificado para a ligação em vetor de clonagem pGEM-T. Esta construção foi transformada em cepa *E. coli* DH5 α e, por PCR de colônia, os clones positivos foram selecionados para minipreparação de plasmídeos e posterior sequenciamento da construção. A sequência codificante da PLA2 foi subclonada em vetor de expressão pSMT3, que fusiona uma tag de solubilidade, e esta construção foi transformada em cepa BL21 STAR (DE3) One Shot. Realizaram-se testes de mini expressão a fim de determinar a concentração ideal do indutor IPTG, que permitisse um melhor rendimento proteico. A expressão em larga escala foi realizada segundo o melhor resultado obtido na mini expressão: 0,5mM de IPTG, por 4 horas a 30°C. Após a lise das bactérias a fração solúvel foi analisada por *SDS-PAGE* e *Western blotting*. O presente estudo permitiu a obtenção da sequência completa codificante para a PLA2 de *L. obliqua* e a clonagem e expressão desta toxina, pela primeira vez, em cepa de *E. coli*. Entretanto, o resultado da expressão revelou uma baixa concentração da PLA2 solúvel, a maioria sob a forma de corpos de inclusão. Portanto, busca-se novas estratégias, que possibilitem a expressão da forma recombinante da PLA2 de *L. obliqua* solúvel, ativa e em quantidades ideais para avaliação de suas possíveis atividades biológicas e consequente prospecção de suas aplicações biotecnológicas.

Palavras-chave: fosfolipase A2, *Lonomia obliqua*, clonagem, expressão, recombinante.

Filogeografia do complexo *Myrcia laruotteana* Cambess

Mauad, A.V.; Smidt, E.C.; Lima, D.F.; Goldemberg, R.; Silva-Pereira, V.

Laboratório de Filogenia e Genética da Conservação de Plantas, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: annavmauad@gmail.com

Myrtaceae é conhecida como uma família de alta complexidade taxonômica. Devido à falta de uma revisão taxonômica completa e atualizada e ao elevado número de espécies, vários complexos de espécies mal delimitadas são encontrados em diversos gêneros da família, inclusive em *Myrcia*. Um destes complexos é denominado *M. laruotteana*, que inclui quatro espécies: *M. laruotteana*, *M. lajeana*, *M. tomentosa* e *M. selloi*, que são de grande variação morfológica, tornando difícil a separação entre os táxons. *M. laruotteana* ocorre de Santa Catarina ao Maranhão, *M. tomentosa* tem distribuição desde o Paraná até o Amazonas e Paraíba, e *M. lajeana* e *M. selloi* ocorrem do Rio Grande do Sul ao Paraná. Cento e um indivíduos provenientes de dezessete populações destas quatro espécies, foram analisados utilizando o sequenciamento de dois fragmentos nucleotídeos do DNA plastidial (cpDNA), *rpl2-psbA* e *rpL32-trnL*, para: (1) determinar a variabilidade e a estruturação genética interpopulacional histórica e (2) verificar se existem relações entre padrões genéticos e geográficos que ajudem na delimitação das espécies. Foram obtidas duas matrizes de haplótipos, uma para cada região, sendo que a correspondente à *rpl2-psbA* apresentou 23 sítios variáveis, dos quais 17 foram considerados, enquanto que a correspondente à *rpL32-trnL* apresentou 22 sítios variáveis, dos quais 14 foram considerados. Com essas matrizes foi gerada uma terceira, uma combinação das duas, de 927pb que apresentou 27 sítios variáveis e com ela foram obtidos 23 haplótipos. Todas as análises posteriores foram voltadas à matriz combinada de haplótipos. As AMOVAs indicaram que, segundo a estrutura formada pelos grupos de táxons classicamente reconhecidos, 59% de variação é representada dentro das populações, 41% por divergências entre as populações dentro dos grupos e 0% de variação entre os grupos taxonômicos. Foi montada uma rede de haplótipos que, pela sua disposição, indicou um provável haplótipo ancestral. A análise bayesiana agrupou as populações de forma que não seguiu a distribuição taxonômica atual. Segundo estes resultados, há uma alta variabilidade molecular local e uma ausência de distinção discreta entre os táxons abordados de acordo com a taxonomia atualmente aplicada a este complexo de espécies.

Palavras-chave: *Myrtaceae*, *cpDNA*, *Myrcia*, *sequenciamento*.

Fonte alimentar sanguínea de *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia*, estado do Paraná, Brasil

Baum, M.; Costa-Ribeiro, M. C. V. da; Damasio, G. A. C.; Lorosa, E. S.; Castro, E. A. de.

Laboratório de Parasitologia Molecular, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: biologomb@yahoo.com.br

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença parasitária da pele e das mucosas, e tem como agente etiológico protozoários do gênero *Leishmania*, e reservatórios mamíferos de várias espécies. No Brasil houve aumento do número de casos de LTA no período entre 1990 e 2010, e na Região Sul o estado do Paraná representa 94,9% dos casos notificados. A fonte alimentar de flebotomíneos vem há muito tempo sendo estudada através do teste de precipitina, possibilitando entender os aspectos relacionados à epidemiologia da LTA e fornecer dados sobre os possíveis reservatórios de *Leishmania*. O objetivo do presente trabalho foi identificar as fontes de alimentação sanguínea de *Lutzomyia intermedia* em área endêmica de LTA no estado do Paraná por meio da técnica de precipitina. Os flebotomíneos foram coletados na localidade rural de Epitácio Pessoa no município de Adrianópolis, estado do Paraná, no mês de janeiro de 2013. Foram realizadas três coletas consecutivas com armadilhas luminosas do tipo CDC das 18:00 as 06:00 horas e instaladas em diferentes ecótopos: intradomicílio, peridomicílio e na mata. Foram capturados 3.357 flebotomíneos, sendo 864 fêmeas, dessas 862 (99,8%) pertenciam à espécie *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia*, e dois espécimes pertencentes ao gênero *Lutzomyia* (0,2%). Do total de fêmeas, 396 apresentaram reação a algum tipo de antissoro testado, sendo a maioria do tipo simples, (67,9%) e as demais foram reações cruzadas (32,1%). Não apresentaram reação aos antissoros testados 468 fêmeas (54,2%). Das que apresentaram reações simples, se alimentaram principalmente em ave (32,9%), gambá (9,6%), roedor (7,9%), e em humano (5,6%). Nos repastos duplos, ave/roedor (5,8%), ave/gambá (4,8%) foram os mais representativos. A preferência alimentar de *Lutzomyia intermedia* verificada nesse trabalho, permite concluir que existe no peridomicílio uma condição para atração dos flebotomíneos, que é a presença de animais domésticos, sobretudo as aves (galinhas). Além disso, as casas estão construídas próximas à vegetação que constituem fragmentos de mata onde os insetos e reservatórios (roedores e gambás, principalmente) transitam. Estas condições associadas ao fato de que o homem frequenta a mata para atividades diversas favorecem a transmissão de *Leishmania* na área de estudo.

Palavras-chave: *precipitina, reservatório, Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia, leishmaniose tegumentar americana.*

Fontes de Variação da Morfometria de Filhotes do Papagaio-de-Cara-Roxa (*Amazona brasiliensis*)

Sipinski, E. A. B.; Abbud, M. C.; Cavalheiro, M. L.

Laboratório de Análise e Síntese em Biodiversidade, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: jaque_di@yahoo.com.br

O papagaio-de-cara-roxa é uma ave endêmica da Mata Atlântica, distribuindo-se na região litorânea do sul de São Paulo até o norte de Santa Catarina. Por isso, há um grande interesse na conservação dessa espécie, incluindo o acompanhamento do tamanho populacional e da qualidade de vida de filhotes e adultos. Uma das maneiras para avaliar a qualidade de vida dos filhotes é medir atributos morfométricos. Nesse trabalho, o objetivo foi avaliar que fatores contribuem para a variação morfométrica de filhotes do papagaio-de-cara-roxa na Baía das Laranjeiras, localizada na APA de Guaraqueçaba, no litoral norte do Paraná. Desde 1998, a Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental (SPVS) atua, através do Projeto de Conservação do Papagaio-de-Cara-Roxa, na área acima descrita. Esta região é uma importante área de alimentação, dormitório e reprodução da espécie. Como estratégia para conservação do papagaio-de-cara-roxa, vários ninhos artificiais foram instalados para compensar a diminuição no número de ninhos naturais (occos de árvore) devido principalmente ao extrativismo e à queda natural de árvores. A biometria dos filhotes nascidos tanto nos ninhos naturais quanto nos artificiais foi realizada em praticamente todos os períodos reprodutivos desde 1998, de modo a acompanhar o estado dessa população, assim como o sucesso reprodutivo dos casais em nidificação. Esses dados obtidos em campo foram utilizados para avaliar as fontes de variação da morfometria de filhotes de *Amazona brasiliensis*. Para isso, foram utilizadas três Análises de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA) para avaliar diferenças na morfometria dos filhotes entre i) tipos de ninho (natural, madeira e PVC), ii) períodos (1998-2001 e 2006-2013) e iii) ninho com diferentes densidades de filhotes (1, 2 ou 3 filhotes por ninho). O tipo de ninho afetou significativamente a morfometria dos filhotes (PERMANOVA: $F = 4,95$; $P = 0,006$), assim como o período (PERMANOVA: $F = 49,12$; $P < 0,001$). É possível observar que filhotes em ninhos naturais têm bicos maiores e tarsos menores do que filhotes em ninhos de PVC, enquanto que filhotes em ninhos de madeira apresentam valores intermediários. Não foi observado o efeito do número de filhotes por ninho sobre a morfometria dos mesmos (PERMANOVA: $F = 1,51$; $P = 0,223$). Ao longo do tempo, a morfometria dos filhotes foi alterada provavelmente pela mudança no recurso utilizado pelas aves. Esses resultados ressaltam a importância de se analisar dados gerados em estudos de campo, de maneira a acompanhar a efetividade do projeto de conservação e auxiliar nas ações de manejo tomadas.

Palavras-chave: *biometria, filhotes, conservação.*

Agradecimentos: Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental (SPVS) e Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Fungos endofíticos com potencial de biodegradação de corantes têxteis

Freitas, F.N.P; Santos, F. B; Kava-Cordeiro, V.

LabGeM - Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: vanessagenetica@gmail.com

Os corantes têxteis acarretam grandes problemas ambientais, que em sua maioria, afetam corpos d'água devido ao descarte incorreto dos resíduos gerados pelo processo de coloração e fixação dos tecidos. Tais resíduos podem possuir compostos tóxicos e até substâncias carcinogênicas, porém a simples presença em corpos d'água gera um aumento da turbidez da água, impedindo a penetração da luz solar, consequentemente dificultando a fotossíntese de algas e causando danos a outros organismos, principalmente os aquáticos. Existem técnicas para os tratamentos destes afluentes, como a floculação e a ozonização, porém estas técnicas não são totalmente eficientes, pois o lodo gerado ainda é tóxico e não reaproveitável. Fungos endofíticos habitam o interior de vegetais, sem causar danos aos mesmos. Desta forma apresentam a capacidade de obter nutrientes de diferentes substâncias. Por esta característica, o potencial biotecnológico destes organismos vem sendo amplamente explorado, até mesmo para a biodegradação de contaminantes e biorremediação de ambientes contaminados. Três isolados de fungos endofíticos do LabGeM, Laboratório de Genética de Microrganismos, foram selecionados quanto ao seu potencial de biodegradação de corantes da indústria têxtil do tipo Remazol (azul, vermelho e amarelo). Os isolados promissores I4.8, I5.8 e U2.4A foram utilizados em testes em meios líquidos, com corante, em diferentes condições de cultura, com diferentes fontes de carbono e nitrogênio. Variações nas concentrações destes nutrientes alteraram a capacidade de descolorar os corantes, demonstrando que condições de cultura podem melhorar a capacidade de descoloração dos corantes testados. O isolado I4.8 foi o que apresentou os melhores resultados, com todos os corantes. Este isolado, e também o I5.8 e U2.4A serão identificados em nível de espécie por caracterização morfológica e por sequenciamento de região ITS ("Internal Transcribed Spacer") do DNA ribossômico. O DNA destes fungos já foi extraído e o sequenciamento e a análise das sequências deverão ocorrer ainda neste semestre.

Palavras-chave: *Corantes têxteis, biodegradação, fungos endofíticos, Remazol.*

Glutathione modifies the oxidation of the free nucleoside 2'-deoxyguanosine by singlet molecular oxygen

Peres, P.S.; Scalfo, A.C.; Di Mascio, P.; Martinez, G.R.

Laboratório de Oxidações Biológicas, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFPR.

Email: grmartinez@ufpr.br

Singlet molecular oxygen ($1O_2$) is the most reactive form of molecular oxygen and can be generated by the thermal decomposition of the endoperoxide DHPNO₂. Although other ROS can react in different ways with the four DNA bases, $1O_2$ interacts specifically with guanine. The mechanisms of oxidation of the free nucleoside 2'-deoxyguanosine (dGuo) by $1O_2$ have been widely studied and it has been showed that its main products are the diastereoisomers of spiroiminodihydroantoin (dSp) and the 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodGuo). This product, after new $1O_2$ addition, generates a 5-hidroperoxide able to form imidazolone (dlz). Reduced glutathione (GSH) is a thiol that has acknowledged antioxidant ability. It acts mainly as a co-factor for peroxides reduction, shifting to its disulfide form GSSG. This work had as main goal to study the dGuo oxidation reaction by $1O_2$ and the role of GSH or GSSG in the system. GSH and GSSG levels and dGuo and all its oxidation products were detected by high performance liquid chromatography (HPLC). The oxidizing products detected were dSp and 8-oxodGuo. Imidazolone was not found in any tested incubations. Adding GSH to the system seemed to protect, at first sight, dGuo oxidation. Later, it was very efficient in protecting 8-oxodGuo oxidation to dSp, causing 8-oxodGuo accumulation. GSSG had little or no effect on dGuo consumption and 8-oxodGuo formation, but interfered with dSp generation, mostly preventing it. Even though, GSSG seems to play a role in the GSH effect, as it was converted to its oxidized form in some extension during the process. Taken together, these results indicate that GSH amplifies the harmful effects of the interaction between dGuo e $1O_2$ by provoking 8-oxodGuo accumulation. It also may indicate that GSH protects against 8-oxodGuo oxidation to dSp instead of protecting the oxidation of dGuo to 8-oxodGuo.

Palavras-chave: *molecular singlet oxygen, dGuo, GSH, GSSG.*

Agradecimentos: CNPq, CAPES, INCT Redoxoma.

Haplótipos de MASP2 e Febre reumática

Catarino, S.; Boldt, A.; Nisihara, R.; Messias Reason, I.

Laboratório de Imunopatologia Molecular, Departamento de Genética, UFPR.

Email: sandracatarino@yahoo.com.br

Febre Reumática (FR) é uma doença autoimune desencadeada após uma infecção de orofaringe pelo *Streptococo* β -hemolítico do grupo A, em indivíduos geneticamente predispostos. Cardiopatia Reumática Crônica (CRC) é definida pela cardite subsequente, uma das manifestações clínicas mais sérias de FR. FR e CRC apresentam aumento dos níveis séricos de complexos imunes e ativação do complemento. MASP-2 (serina protease 2 associada com lectina ligante de manana) gera C3 convertase na via das lectinas do complemento. Diversos polimorfismos no gene MASP2 estão associados com níveis séricos e deficiência funcional de MASP-2. Neste estudo, investigamos uma possível associação de FR e CRC com polimorfismos em MASP2 e níveis da proteína em pacientes do sul do Brasil. Identificamos nove polimorfismos de nucleotídeo único e dez haplótipos correspondentes em 145 amostras de pacientes e 290 amostras de controles saudáveis, com o método de amplificação sequência específica multiplex (PCR-SSP multiplex). A concentração sérica de MASP-2 foi avaliada por ELISA. Os SNPs rs2273344 e rs9430347 foram associados com a variação de níveis de MASP-2 em todos os grupos, mas os níveis de MASP-2 em indivíduos GA/GA foram menores no grupo pacientes (mediana 303,6 vs. 504 ng/ml, $P=0,049$). Os haplótipos CRDPAGCDART e CRDLAGCDVHC (normalmente associados com baixas concentrações de MASP-2) foram mais frequentes nos controles, e entre os pacientes, naqueles com FR. Estes haplótipos foram associados com proteção contra a FR ($P=0,02$, $OR=0,36$ [IC95%=0,15-0,88]) e contra CRC ($P=0,017$, $OR=0,25$ [IC95%=0,08-0,84]). Genótipos com estes haplótipos também estão associados com proteção contra a FR ($P=0,027$, $OR=0,36$ [IC95%=0,15-0,89]). Dentro do grupo pacientes, haplótipos CDV aumentam a susceptibilidade a CRC ($P=0,018$, $OR=4,9$ [IC95%=1,13-21,34]). Nossos achados sugerem um importante papel da MASP-2 na manifestação e gravidade da febre reumática.

Palavras-chave: *MASP2, febre reumática, haplótipos.*

Histologia e caracterização histoquímica da estrutura estomacal do peixe antártico *Notothenia rossii* (Richardson, 1844) sob condições de estresse térmico

Krebsbach, P.; Cofré, A.H.R.; Machado, C.; Pedreiro, M.R.D; Silva, F. B. V.; Zaleski, T.; Cettina, L. B.; Forgati, M.; Piechnik, C.A.; Donatti, L.

Laboratório de Biologia Adaptativa, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: pkrebsbio@gmail.com

Nos ambientes polares a sobrevivência a baixas temperaturas foi garantida por adaptações evolutivas nas propriedades fisiológicas, bioquímicas e comportamentais dos indivíduos. Os impactos ecológicos das mudanças climáticas, no ambiente marinho, são significantes na Península Antártica. Dessa forma, o nosso objetivo foi analisar os aspectos histológicos e histoquímicos das três porções do estômago do peixe antártico *Notothenia rossii* submetido ao estresse térmico através da microscopia de luz. Os peixes foram coletados na Baía do Almirantado, Península Antártica e acondicionados na Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF). Os peixes (n=5/bioensaio) foram aclimatados em tanques com água do mar (0°C/35‰) e expostos a temperaturas de 0°C+0,5°C (controle), 4°C+0,5°C e 8°C+0,5°C durante 1, 4, 15 e 30 dias. Histologicamente o tecido estomacal foi dividido em região cárdica, fúndica e pilórica e as respectivas amostras foram fixadas em Bouin durante 24 horas visando o processamento em microscopia de luz. As amostras foram processadas e então coradas com hematoxilina e eosina para a determinação da morfologia padrão da estrutura estomacal. Os glicoconjugados neutros foram detectados através da técnica histoquímica do Ácido Periódico de Schiff (PAS). Alcian Blue (AB) pH 2,5 foi utilizado para evidenciar os carboidratos ácidos carboxilados e sulfatados, e o AB pH 1,0 para os carboidratos sulfatados. Análises morfométricas foram realizadas utilizando o software Image Pro Plus 6.0. Para cada situação mensurou-se a camada mucosa, submucosa e muscular, bem como, quantificou-se a intensidade das reações histoquímicas. A camada muscular de *N. rossii* é significativamente maior, na região pilórica em comparação as regiões cárdica e fúndica, nos animais mantidos a 0°C durante 1 dia e 15 dias. O estresse térmico causou a redução na expressão de glicosaminoglicanos neutros na região cárdica entre o grupo controle e experimental, mantidos por 1 dia (8°C) e 15 dias (4 e 8°C). Qualitativamente, houve um aumento na expressão de glicosaminoglicanos em animais experimentais mantidos a 4°C por 1, 4 e 15 dias. A expressão de glicosaminoglicanos carboxilados e sulfatados foi significativamente menor nas amostras mantidas a 8°C durante 1, 4 e 15 dias.

Palavras-chave: *Peixes antárticos, histologia, histoquímica, estômago, elevação térmica.*

Agradecimentos: Somos gratos ao Ministério do Meio Ambiente (MMA), ao Ministério de Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Secretaria da Comissão Interministerial para os Recursos do Mar (SECIRM) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Antártico de Pesquisas Ambientais (INCT-APA) pelos apoios concedidos.

Identificação das espécies dos complexos *Colletotrichum acutatum* e *C. gloeosporioides* associadas à queda prematura dos frutos cítricos no Brasil

Gomes, F.; Jordan, M.; Aluizio, R.; Glienke, C.

Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: rodrigo.aluizio@ufpr.br

A importância da produção brasileira de cítricos é indiscutível, representando cerca de um terço da produção mundial, o que releva o assunto nas discussões que envolvam proteger a plantação de susceptíveis perdas, como a causada pela queda prematura dos frutos cítricos ou podridão total ocasionada pela infecção de flores por fungos do complexo *Colletotrichum acutatum*. Quando descrita a patologia foi atribuída ao fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, fato reafirmado em estudos realizados em 2011 e 2012, quando se apontou o fungo como agente etiológico no Brasil e em Bermudas. Entretanto, a literatura aponta a existência de diferentes espécies dentro dos complexos conhecidos como *Colletotrichum acutatum* e *C. gloeosporioides*. A dificuldade na identificação de espécies fúngicas, em especial aquelas associadas a doenças vegetais, gera confusão taxonômica. Em 2012, 4 publicações elucidaram a taxonomia de espécies destes complexos, e reorganizando-os em 31 e 23 espécies, respectivamente, sendo que nenhum isolado oriundo do Brasil inseriu-se nestes estudos, logo nenhum apontamento das espécies realmente associadas à doença no Brasil está disponível. Assim, o projeto objetiva a identificação em nível de espécie utilizando sequenciamento multigênico de 300 isolados de *Colletotrichum* associados à doença da queda prematura de frutos cítricos no Brasil e presentes nas coleções de cultura das instituições partícipes deste projeto. Em função da grande diversidade de nomes associados às sequências de DNA destas espécies encontrada na literatura e a grande quantidade de sequências erroneamente depositadas nos bancos de dados, atualmente é impossível a correta identificação, a qual se baseia em características morfológicas e sequenciamento de ITS do rDNA. Assim, aponta-se como necessária a identificação por análise multigênica via sequenciamento de, pelo menos, cinco genes, o que consiste em estratégia cara, laboriosa e dependente de análise filogenética criteriosa, diminuindo a confiança em bancos de dados para tal. Com base nisso, o projeto visa, além da correta identificação das espécies associadas a queda prematura dos frutos cítricos brasileiros, o desenvolvimento de ferramentas moleculares de diagnóstico precisas, baseadas em PCR, sendo rápidas e acessíveis para pesquisadores da área. Até o momento, das 300 linhagens, foram recebidas 160 e, destas, 80 tiveram seu processamento iniciado.

Palavras-chave: *Podridão Floral do Citrus, Diagnóstico Molecular, PCR, Análise Multigênica.*

Identificação de Ligantes de Semaforinas Classe 5

Fávaro Jr, C.; Lima, E. C.; Polak, L. P.; Mercadante, A. F.

Laboratório de Neurobiologia, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: afmercadante@ufpr.br

Durante o desenvolvimento do sistema nervoso, os neurônios devem fazer contato correto com alvos específicos que normalmente estão muito afastados. Para isso são necessárias vias sinalizadoras que funcionam como guias no correto direcionamento do cone de crescimento do axônio. Tais vias sinalizadoras são constituídas por moléculas que atraem o axônio para o seu alvo e ao mesmo tempo o repele de vias inapropriadas. Dentre estas moléculas, as semaforinas (Semas) pertencem a uma grande família de proteínas secretadas ou associadas à membrana, envolvidas na navegação axonal, fasciculação, ramificação e formação de sinapses, além da participação na progressão tumoral, angiogênese e diferenciação de linfócitos B. As semaforinas de classe 5 são proteínas transmembrânicas, que contém sete repetições trombospondinas. Dois membros dessa família foram identificados em vertebrados, Sema5A e Sema5B. Na literatura há poucos estudos sobre essa classe específica, especialmente sobre Sema5B. Muitas questões sobre esta molécula permanecem em aberto, tais como sua modulação, expressão celular e papéis específicos. O projeto em questão identificou através do sistema de duplo-híbrido em leveduras e irá validar por outros métodos os ligantes do domínio citoplasmático da Semaforina 5B (Sema_5B). A metodologia por duplo-híbrido é amplamente utilizada para detectar interações protéicas *in vivo* identificando uma grande quantidade de possíveis ligantes. A isca Sema_5B foi utilizada para varredura de uma biblioteca de cDNA de epitélio olfatório (disponível em nosso laboratório). A varredura por Duplo-híbrido identificou 27 proteínas diferentes. A proteína STI1 será validada em um ensaio de Pull-Down, devido a sua semelhança com Stub1, encontrada na varredura. Ferramentas de estudo para ensaios de atividade biológica estão sendo construídos. Plasmídeos contendo a Sema_5B e seus principais parceiros, estabelecidos via DH, estão sendo montados.

Palavras-chave: *Semaforina, Sema5B, neurobiologia.*

Identificação de ligantes dos transcritos do cromossomo Philadelphia- Estudo e monitoramento da doença residual mínima em leucemias

Yamanaka, I. B.; de Moura, J. F.; Alvarenga, L. M.

Laboratório de Imunoquímica, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: bel.yamanaka@gmail.com

A leucemia mielóide crônica é uma doença mieloproliferativa crônica segundo a classificação para neoplasias dos tecidos linfoides e hematopoiéticos da OMS (PAES *et al.*, 2002). É a primeira doença maligna claramente relacionada a uma anormalidade genética no qual está relacionada com uma translocação cromossômica, denominado de cromossomo Philadelphia. O cromossomo Philadelphia (Ph), resultante da translocação t(9; 22) (q34; q11), devido a justaposição do gene ABL de cromossomo 9 e o gene BCR do cromossomo 22, gera um gene de fusão BCR-ABL, que codifica os transcritos BCR-ABL e suas proteínas (HEHLMANN *et al.*, 2007). O cromossomo Ph não é restrito à LMC e pode ser também encontrado na leucemia linfoblástica aguda; sendo 5% dos pacientes infantis, (RUSSO *et al.*, 1991) e 25% em adultos (SANDBERG, 1986). O gene resultante, BCR-ABL, é transcrito em um RNA mensageiro (mRNA) quimérico e então traduzido em proteínas de tamanhos variados, frequentemente BCR-ABL p190 e BCR-ABL p210, dependendo da localização dos pontos de quebra dos genes envolvidos (FADERL *et al.*, 1999). Essas proteínas quiméricas têm localização citoplasmática e atividade aumentada de tirosina-quinase, correlacionada com diferentes resultados clínicos (HOLLAND, 2003). A proteína BCR-ABL está presente em todos os pacientes com LMC, sendo responsável pela oncogênese inicial devido sua hiperatividade desencadeando a liberação de efetores da proliferação celular e inibidores da apoptose. A descoberta dessa alteração molecular aprimorou o diagnóstico, possibilitou o desenvolvimento de terapia dirigida e métodos de monitoramento da doença residual mínima (TEFFERI *et al.*, 2005). Atualmente, a LMC é uma das poucas doenças em que o tratamento direcionado contra a anomalia cromossômica e devido ao uso da terapia dirigida é de suma importância que monitoração destes pacientes seja otimizada. Ainda no que se refere a monitoração da DRM em pacientes leucêmicos existe uma dependência tecnológica nacional devido a necessidade de importação de sondas e anticorpos utilizados. Portanto, verifica-se a necessidade do desenvolvimento de insumos nacionais que facilitem o diagnóstico e monitoramento destes pacientes. Desta forma, este trabalho possui como objetivo identificar ligantes peptídicos para as três sequências referentes aos transcritos expressos na leucemia mielóide crônica através da técnica de Phage Display que possam ser aplicados em técnicas diagnósticas.

Palavras-chave: *leucemia mielóide crônica, ligantes peptídicos, Phage Display.*

Identificação e caracterização molecular de populações de *Monilinia* sp.

Fischer, J.M.M.; Araujo, H.E.; May De Mio, L.L.; Glienke, C.

Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: juli.martam@gmail.com

Diversas frutas produzidas no Brasil, como o pêssego e a nectarina são muito apreciadas em todo o mundo. Apesar da expressividade da produção destas frutas de caroço, estas culturas são afetadas por diversas fitopatologias. Dentre estas, destaca-se a podridão parda, que tem como agente causal o fungo *Monilinia* sp, em especial as espécies *Monilinia laxa* (Aderh. & Ruhland) Honey (1945), *M. fructigena* Honey (1945) e *M. fructicola* (G. Winter) Honey (1928). A correta identificação dos isolados é importante para a adoção de estratégias de controle e prevenção da doença e também para minimizar prejuízos no período pré ou pós-colheita. Assim, cada vez mais vêm sendo utilizadas ferramentas moleculares para identificação e estudo da variabilidade destes isolados. Estes estudos ainda são bastante escassos em isolados brasileiros. Desta forma, isolados de *Monilinia* sp., da coleção do Laboratório de Epidemiologia para Manejo Integrado de Doenças (LEMID), do Setor de Ciências Agrárias da UFPR, coletados entre 2003 e 2010, das principais regiões produtoras do Brasil (estados do Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo) provenientes de pêssegos e nectarina, isolados a partir de flor, folha e frutos mumificados foram submetidos a identificação molecular. Os procedimentos para esta identificação foram realizados no Laboratório de Genética de Microrganismos (LABGEM), do Departamento de Genética da UFPR por meio do sequenciamento das regiões ITS-1, 5.8S e ITS2 do rDNA e Fator de Elongação (EF). De acordo com a obtenção de árvores filogenéticas baseadas nas sequências das regiões acima citadas e com sequências já disponíveis em bancos de dados, os isolados foram identificados como *Monilinia fructicola*. Observou-se pouca variabilidade genética entre os isolados brasileiros, sendo necessária a utilização de análise multigênica mais completa. A obtenção de sequências de *Monilinia fructicola* de origem brasileira também foi importante, pois servirá para estudos posteriores, enriquecendo as análises e conclusões a respeito deste fungo.

Palavras-chave: *Monilinia* sp., sequenciamento, variabilidade.

Agradecimentos: CNPq, CAPES, LABGEM, LEMID.

Identification of cellular prion protein interactions in the olfactory epithelium, using yeast two-hybrid system

Richter, L. M. L.; Gimenez, A. P. L.; Atherino, M.; Yamasaka, F. M.; Oliveira, G. F. S.; Beirão, B. C. B.; Mercadante, A. F.

Laboratório de Neurobiologia, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: lari.morato@gmail.com

Transmissible spongiform encephalopathies (TSEs), also known as prion diseases, are fatal neurodegenerative disorders that include Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) in humans, scrapie in sheep and bovine spongiform encephalopathy (BSE) in cattle. These diseases involve the conversion of the endogenous cellular prion protein, PrPC, into a misfolded and infectious isoform named PrP^{Sc} (from prion scrapie). Despite intensive research and the fact that PrPC is conserved across different species, a consensus about its physiological function has not yet been reached. Several functions have been attributed to PrPC, including stress and behavior, sleep-wake cycle, memory, neuritogenesis, neuroprotection and cellular adhesion. The physiological role of PrPC has also been investigated in the olfactory system. It has been reported that PrPC is expressed in different areas of the olfactory system, including olfactory epithelium (OE) and olfactory bulb (OB). Moreover, Prnp^{-/-} mice show retarded behavior in olfactory tests. In an effort to address the physiological roles of PrPC in the OE, a yeast two-hybrid screen was performed in a mouse OE cDNA library, using PrPc as bait. Ten putative PrPC binding proteins were identified and could provide insights into the physiological / pathological functions of PrP. These potential interactions are consistent with the proposal that PrPC is part of a multiprotein complex that modulates several cellular functions. Interactions with β -catenin (Ctnnb1) and STIP1 homology and U-Box containing protein 1 (Stub1) were also confirmed by *in vitro* binding assays (pull-down). Our results provided the identification of novel PrPc molecular patterns, which may help in the elucidation of the PrPc role in the molecular basis of smell, as well as in cellular context as a whole, modulating biological processes.

Palavras-chave: *PrPc, Yeast two-hybrid, olfactory epithelium.*

Isolamento e caracterização dos polissacarídeos das sementes de Chia (Salvia hispanica)

Martins, L.; Petkowicz, C.

Laboratório de química de carboidratos, Departamento de Bioquímica, UFPR.

Email: luanammelo@gmail.com

As sementes de *Salvia hispanica*, conhecida como chia, são amplamente difundidas na alimentação ocidental graças as suas propriedades nutricionais. Entretanto, não foram encontrados na literatura estudos caracterizando os polissacarídeos ali presentes. Assim, este trabalho teve como objetivo o isolamento e caracterização dos polissacarídeos solúveis em água presentes nas sementes de chia. Quando as sementes de chia são embebidas em água, um gel transparente e mucilaginoso é formado, entretanto este permanece firmemente ligado à semente. Assim diferentes métodos foram testados visando o isolamento para a caracterização dos polissacarídeos desta mucilagem. Foram encontrados através da cromatografia gasosa e método colorimétrico para a estimativa dos monossacarídeos ácidos cerca de 5,3% e era formado por: 0,7% de fucose; 1,5% de rhamnose; 2,7% de manose; 7,6% de galactose; 10% de glucose; 17,3% de arabinose; 42,5% de xylose e 18,4% de ácidos urônicos. As análises reológicas foram realizadas a 25°C em reômetro Haake Mars utilizando sensor placa-placa. Para as análises reológicas o polissacarídeo foi solubilizado em água nas concentrações de 1, 2 e 4% (m/v). As curvas de fluxo demonstraram um comportamento pseudoplástico. As análises oscilatórias indicaram que nas concentrações testadas o polissacarídeo apresenta um comportamento de gel, com predomínio do módulo elástico sobre o módulo viscoso em toda a faixa de frequência analisada. Os resultados demonstram que a mucilagem formada quando as sementes de chia são embebidas em água contém polissacarídeos com propriedades espessantes e gelificantes.

Palavras-chave: *Caracterização de carboidratos, sementes, Salvia hispanica.*

Isolamento e identificação de fungos endofíticos do gênero *Muscodor*, com grande potencial para controle biológico

Serviensi, A.; Pena, L.C.; Kava-Cordeiro, V.

LabGeM – Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: vanessagenetica@gmail.com

Fungos endofíticos do gênero *Muscodor* foram descritos no início do século XXI e têm sido estudado pelo de seu uso no controle biológico de microrganismos fitopatogênicos. Sua ação se dá pela produção de compostos voláteis que diminuem ou até inibem crescimentos fúngicos e bacterianos. Recentemente foi isolado o primeiro fungo do gênero *Muscodor* no Brasil, obtido de plantas cítricas pelo nosso grupo de pesquisa e catalogado como LGMF1254. Na busca de novos isolados de *Muscodor*, folhas de Aroeira foram superficialmente desinfestadas para a realização de isolamento indireto de fungos endofíticos. Fragmentos das folhas foram transferidos para placas de Petri com BDA e um inóculo de *Muscodor* LGMF1254 do outro lado da placa, já que esse fungo não consegue inibir o crescimento do próprio gênero. Nos controles, as placas não possuíam o inóculo do fungo. O número de colônias crescidas das placas com o inóculo de *Muscodor* foi muito menor do que nas placas controle. Nestas placas foram encontrados dois isolados com morfologia semelhante ao isolado LGMF1254. Para avaliar a possível produção de voláteis inibidores de crescimento fúngico, foi realizada cultura pareada destes isolados com o fungo fitopatogênico *Phyllosticta citricarpa*, causador da Mancha Petra dos Citros (MPC). Os dois isolados obtidos de aroeira inibiram o crescimento do fitopatógeno. Para confirmar a identidade destes isolados está sendo feito o sequenciamento parcial da região ITS (“Internal Transcribed Spacer”) do DNA ribossômico (DNAr) de ambos os isolados obtidos. Resultados preliminares indicam que os dois isolados fúngicos pertencem ao gênero *Muscodor* e provavelmente a espécies diferentes, porém novas análises ainda precisam ser realizadas para a identificação das espécies destes isolados. Os resultados promissores na inibição do crescimento do fitopatógeno causador da MPC demonstram que estes isolados apresentam grande potencial no controle biológico de microrganismos fitopatogênicos, especialmente para utilização contra doenças de pós-colheita.

Palavras-chave: *Controle biológico, fungo endofítico, compostos voláteis, sequenciamento de DNAr, Muscodor.*

Micropropagação de *Brasilidium forbesii*

Gomes, L. R. P.; Ribas, L. L. F.

Laboratório de Micropropagação Vegetal, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: lucaspergos@hotmail.com; llfribas@gmail.com

A família Orchidaceae possui grande importância econômica pela exuberância de suas flores. As técnicas de micropropagação possibilitam a produção de mudas em grande escala, ajudando na recuperação das espécies ameaçadas. O presente trabalho tem como objetivo otimizar a etapa de multiplicação *in vitro* utilizando o método de TCL para estabelecer um protocolo de micropropagação para *Brasilidium forbesii*. Protocormos e as duas primeiras folhas formadas da germinação *in vitro* após seis meses da inoculação em meio de cultura WPM foram utilizados como explantes. Bases foliares de 5 mm de comprimento foram cortadas transversalmente e inoculadas em meio de cultura WPM, suplementado com BAP (0,5 a 32 μ M) e mantidas por 15 ou 30 dias no escuro para indução e regeneração de PLBs. Ápice e base dos protocormos (0,5 mm de comprimento) foram testados em meios de cultura WPM e MS suplementados com BAP (0,5 a 32 μ M) e mantidos 30 dias na ausência de luz. Em seguida, os explantes foram expostos na luz por 30 dias e subcultivados para o mesmo meio e as mesmas concentrações por mais 60 dias. Os PLBs foram individualizados e inoculados em meio WPM, na ausência ou presença de carvão ativado (1 a 3 g.L⁻¹), sem regulador vegetal, para o alongamento e enraizamento. Os resultados das bases foliares revelaram que o tempo de exposição no escuro de 30 dias foi melhor do que 15 dias para indução e regeneração de PLBs. Os protocormos foram mais responsivos do que as bases foliares. As melhores respostas foram obtidas com o ápice do protocormo, cultivado em meio de cultura WPM, acrescido de 4 μ M de BAP (82% de regeneração de PLBs e número médio de 7,9 PLBs). Mudas de maior comprimento e número de raízes ocorreram em meio com 3 g.L⁻¹ de carvão ativado. O período de exposição no escuro foi um fator importante para a indução de PLBs. Recomenda-se adicionar BAP no meio de cultura WPM para indução de PLBs de bases foliares e ápices de protocormos. O sistema TCL foi promissor para a multiplicação *in vitro* de *B. forbesii*, utilizando bases foliares e protocormos como explantes.

Palavras-chave: *Orchidaceae*, regeneração de PLBs, cultura de tecidos, "thin cell layer".

Morfologia e composição nutricional de frutos ornitocóricos em três estádios sucessionais na floresta atlântica brasileira

Malanotte, M.L.; Campos, R. P.; Souza, T.M.; Petkowicz, C.L.O.; Varassin, I.G.

Laboratório de Ecologia Vegetal, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: marcia_malanotte@hotmail.com

Os frutos ornitocóricos devido a seu conteúdo nutricional e os padrões de seus traços funcionais estão envolvidos na estruturação da comunidade. Assim, foi analisada a variação das características morfológicas, nutricionais e de cor de 15 espécies com frutos ornitocóricos mais consumidos em três estádios sucessionais. A convergência e divergência dos traços foram testadas neste gradiente sucessional. Foram utilizados métodos de correlação de matrizes, através do programa SYNCOSA, para avaliar os padrões de organização da comunidade ao longo do gradiente sucessional. Os padrões de convergência e divergência dos traços foram relacionados à idade da vegetação. O tamanho do fruto e da semente aumentaram com o gradiente sucessional, mas características químicas permaneceram similares. Frutos de cor preta predominaram ao longo do gradiente, seguidos da cor vermelha. Traços como volume da semente, lipídios, luminosidade e tonalidade apresentaram convergência em estádios jovens, ocorrendo uma filtragem ambiental destes traços. Tendências de divergência dos traços de proteína e carboidrato ocorreram em estágio imaturo, devido à competição entre as plantas por aves dispersoras. O sinal filogenético em nível de espécies indicou a associação de traços que maximizaram a convergência com a filogenia. A ausência de sinal filogenético em nível de comunidade indica que a montagem desta comunidade independe das afinidades filogenéticas entre as espécies.

Palavras-chave: *Composição nutricional, Diásporo, Frugivoria, Interação mutualística, Morfologia.*

Agradecimentos: ao Funbio que deu suporte financeiro para o projeto; à Fundação Grupo O Boticário de Preservação a Natureza (Reserva Natural Salto Morato) e à Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem (SPVS), que disponibilizaram suas áreas para desenvolvimento do estudo. E a CAPES pela bolsa concedida.

Muito além da consolidação: a sesta facilita a resolução de problemas

Beijamini, F.; Pereira, S.I.R.; Cini, F.; Louzada, F.M.

Laboratório de Cronobiologia Humana, Departamento de Fisiologia, UFPR.

Email: beijamini@gmail.com

Nos últimos anos muito tem se investigado sobre a relação entre sono e funções cognitivas. A importância do sono na consolidação de memórias já está bem estabelecida. No entanto, poucos estudos avaliaram o efeito do sono sobre a capacidade da resolução de problemas. Avaliar o efeito de uma sesta pós-almoço sobre a resolução de problemas. 33 sujeitos (25 mulheres) com idades entre 19 e 33 anos foram convidados a participar do estudo. Após preencherem questionários de hábitos de sono e cronotipo, utilizaram actímetros por 7 dias consecutivos. Ao final dos 7 dias compareceram ao laboratório onde foram preparados para a realização de uma polissonografia e aprenderam um jogo eletrônico (Speedy Eggbert Mania®) que envolve a resolução de problemas visuo-espaciais. Todos os sujeitos tiveram a oportunidade de treinar o jogo até não serem capazes de resolver um determinado problema, variando de acordo com a habilidade de cada sujeito. Após 10min de tentativa sem sucesso os sujeitos receberam almoço e foram direcionados para um dos grupos, Sesta ou Controle. Sujeitos do grupo Sesta tiveram a oportunidade de dormir por 90 minutos enquanto o grupo Controle permaneceu acordado assistindo a um programa de televisão. Após o intervalo de 90 minutos, os sujeitos tiveram mais 10 minutos para tentar resolver o mesmo problema interrompido durante a sessão de treino. As variáveis dependentes obtidas foram: solução ou não do problema e tempo necessário para solução. O teste exato de Fisher foi utilizado para avaliar o efeito do sono sobre solução de problemas e tempo para resolução, os padrões de sono da noite prévia foram comparados com teste t-Student. Todos os sujeitos assinaram termo de consentimento livre e esclarecido e esse trabalho possui aprovação no CEP sob o protocolo nº 01783212.2.0000.0102 CAAE. 25 sujeitos completaram todas as etapas do experimento, 13 no grupo Controle (10 mulheres) e 12 (11 mulheres) no grupo Sesta. No grupo Sesta 10 sujeitos (83,33%) resolveram o problema após dormir enquanto 5 sujeitos (38,46%) do grupo Controle tiveram êxito (teste exato de Fisher $p < 0,05$). Considerando apenas os sujeitos que resolveram o problema, não houve diferença no tempo necessário para a solução. Também não houve diferença entre os grupos para os padrões de sono da noite prévia ao experimento, nem para a pontuação da escala de sonolência. A duração média da sesta foi de 69,37 minutos sendo que os sujeitos passaram a maior parte em estágio Não-REM de sono (média de 65,54 min). Dos 10 sujeitos do grupo sesta que resolveram o problema, 6 dormiram sono REM, além disso 4 sujeitos lembravam de ter sonhado também resolveram. Há efeito da sesta sobre a resolução de problemas visuoespaciais, de modo que os sujeitos que dormiram a sesta

tiveram melhor desempenho na tarefa avaliada.

Palavras-chave: *sesta, resolução de problemas, sono NREM, sono REM.*

Agradecimentos: Agradecemos aos sujeitos que participaram voluntariamente do estudo e à CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

***Muscodor sp* inibe os sintomas da MPC em frutos de laranja destacados**

Pena, L.C.; Jung, L.F.; Goulin, E.H.; Serviensi, A.; Galli-Terasawa, L.V.; Glienke, C.; Kava-Cordeiro, V.

Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: lorecarol@gmail.com

A citricultura é uma das principais atividades econômicas no Brasil, porém a presença de fungos fitopatogênicos como *Phyllosticta citricarpa* causador da Mancha Preta dos Citros (MPC), ocasiona perda de produtividade e aumento do custo de produção pelo uso de fungicidas. Fungos endofíticos do gênero *Muscodor* estão sendo considerados uma promessa no controle biológico de microrganismos pela produção de compostos voláteis, tendo o seu uso comercial iniciado recentemente. Um isolado de *Muscodor sp* foi avaliado em relação à inibição do crescimento micelial e contaminação de folhas para a produção de picnídios de *P. citricarpa*. Placas de Petri com divisória foram inoculadas com *Muscodor* em BDA de um lado e do outro *P. citricarpa* em BDA para o crescimento micelial ou em ágar-água, ao redor de dois discos de folha de laranjeira para a contaminação das folhas. Controles foram preparados da mesma forma, sem *Muscodor*. Os resultados significativos obtidos motivaram experimentos com frutos maduros destacados de laranja Pêra. Estes frutos foram desinfestados superficialmente, inoculados com fragmentos de micélio de *P. citricarpa* em cinco pontos equidistantes em cada fruto e colocados ao acaso em dez potes herméticos com BDA no fundo. Em cinco potes havia cultura de *Muscodor*, identificados como tratamento, e cinco sem o fungo, como controle. A área das lesões foi mensurada com o programa Meazure, após 30 dias. Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias pelo teste de Tukey. Mesmo com a grande pressão do inóculo, as lesões formadas foram significativamente menores quando o *Muscodor* estava presente no sistema.

Palavras-chave: *Citrus sinensis*, Compostos voláteis, *Guignardia citricarpa*, *Phyllosticta citricarpa*, Mancha preta.

Agradecimentos: Prof^a Dr^a Beatriz Noronha e Ricardo Labes.

O splicing do pre-mRNA do gene RECK é regulado por sinalização oncogênica e modula a expressão de MMPs, e TIMPs.

Jacomasso, T.; Trombetta-Lima, M.; Konig, M.; Martinez, G. R.; Moreno, L. F.; Sogayar, M. C.; Winnischofer, S. M. B.

Laboratório de Oxidações Biológicas e Fármacos Xenobióticos, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFPR.

Email: sheilambw@ufpr.br

RECK (*Reversion-Inducing Cysteine-rich protein with Kazal motifs*) é um supressor tumoral que regula a degradação da matriz extracelular ao inibir membros-chave da família das metaloproteases de matriz (MMPs). Nosso grupo já demonstrou que o gene RECK pode dar origem a vários transcritos alternativos de função desconhecida. Neste estudo foi realizada a transcrição reversa dos mRNAs, seguida pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), para demonstrar que linhagens derivadas de melanomas metastáticos expressam níveis mais elevados do transcrito alternativo recém identificado, RECKB, em relação ao transcrito canônico (RECKA) do que linhagens derivadas de tumores primários. Para investigar este dado mais a fundo, foi utilizado um painel de inibidores farmacológicos de vias de sinalização oncogênicas possivelmente envolvidas na seleção das isoformas de splicing alternativo. Foi observado que a proteína quinase C (PKC), a fosfoinositídeo-3-quinase (PI3K) e a via das quinases ativadas por mitógenos (MAPK) estão envolvidas na regulação da razão RECKB/RECKA. Para investigar as consequências desta regulação, RECKB foi superexpresso em uma linhagem de melanoma humano (1205Lu) utilizando um vetor lentiviral. As células que superexpressam RECKB mostraram maiores níveis de mRNA de MMP9, MT1MMP, TIMP1 e TIMP2. A zimografia em gelatina não revelou alterações significantes na ativação de MMPs entre as células RECKB+ e as células controle. Em conjunto, nossos dados mostram que o splicing alternativo de RECK é regulado por vias frequentemente mutadas em melanoma, e que o transcrito alternativo RECKB pode participar em processos diferentes daqueles descritos para a forma canônica.

Palavras-chave: *Splicing Alternativo, melanoma, RECK, matriz extracelular, expressão gênica.*

Obtenção e Caracterização Funcional de Toxina Recombinante Pertencente à Família das Notinas Presente do Veneno de Aranha-Marrom (*Loxosceles intermedia*)

Meissner, G. O.; Matsubara, F. H.; Morgon, A. M.; Trevisan-Silva, D.; De Mari, T. L.; Chaim, O. M.;

Laboratório de Matriz Extracelular e Biotecnologia de Venenos, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: gabrielottom@yahoo.com.br

O veneno das aranhas-marrons é uma mistura complexa de proteínas e enzimas de baixa massa molecular (5-40 kDa), das quais as mais estudadas são as fosfolipases-D, metaloproteases e hialuronidases (Chaim et al, 2011). Quanto às toxinas inseticidas no veneno de *L. intermedia*, as primeiras foram descritas por (De Castro *et al.*, 2004) que através de uma série de cromatografias conseguiu isolar três isoformas de uma toxina com atividade inseticida. Essas toxinas inseticidas foram chamadas de LiTx 1, LiTx 2 e LiTx3 (5,6–7,9 kDa), por apresentarem atividade biológica e homologia na sequência aminoacídica foram relacionadas com peptídeos com ação sobre canais de íons sódio e cálcio, bem como foram classificadas como pertencentes à família das notinas. O transcriptoma da glândula produtora de veneno realizado por (Gremski *et al.*, 2010) mostrou a existência de mais classes de toxinas com potencial inseticida além das descritas por de Castro, et al (2004). O transcriptoma sugeriu a existência de uma classe de toxinas semelhante a uma neurotoxina encontrada na aranha *Macrothele gigas*, chamada Magi3, a qual foi descrita por (Corzo *et al.*, 2003). Neurotoxina essa que possui ação sobre canais de sódio de insetos, causando paralise reversível, mas não apresentou toxicidade para mamíferos. Essa sequência semelhante à Magi3 obtida no transcriptoma de *L. intermedia* foi denominada de NTX (U2-sicaritoxin-Lit2 segundo a nova nomenclatura), cuja clonagem e expressão heteróloga foi foco de estudo da minha dissertação de mestrado. Também foi realizada uma caracterização por ferramentas de bioinformática, na qual foi revelada, em consequência dos dez resíduos de cisteína, a possível presença de cinco pontes dissulfeto, as quais classificam a U2-sicaritoxin-Lit2 como pertencente à família das notinas, mais especificamente da família dos Nós Inibidores de Cistina (ICK) (Meissner, 2012). Nesse ano relatamos as tentativas de expressão da toxina em *Pichia pastoris*.

Palavras-chave: Aranha-marrom, Veneno, peptídeos inseticidas, Biologia Molecular.

Oogênese de *Loxosceles intermedia*: principais conclusões e perspectivas

Fogaça, E.; Ortolani-Machado, C.F.

Laboratório de Biologia do Desenvolvimento, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: cfom@ufpr.br

A biologia reprodutiva de aracnídeos é complexa. A aranha marrom é venenosa e proliferativa, com distribuição no Sul do país. O objetivo deste trabalho foi analisar aspectos anátomo-morfológicos do ovário de virgens adultas, logo, 1 semana e 1 mês após a 1ª cópula para entender o processo de oogênese nesta espécie. Os ovários foram fixados em paraformaldeído 4%, incluídos em Historesina e os cortes seriados corados com HE. Outros foram processados para microscopia eletrônica de varredura. Com as diferentes técnicas pôde-se constatar que o ovário é uma estrutura alongada e dupla, com ovócitos distribuídos dorsalmente e presos à parede ovariana por um pedúnculo. Uma fina membrana separa os ovócitos do hepatopâncreas. Os ovócitos são classificados segundo suas dimensões, volume citoplasmático e presença de grânulos vitelogênicos (I ao VI, em degeneração). A oogênese é um processo contínuo, pois é possível identificar as diferentes fases de desenvolvimento do ovócito ocorrendo simultaneamente. Além disto, se observou a predominância de determinados tipos de ovócitos de acordo com o estado reprodutivo da fêmea. Na virgem e logo após a 1ª cópula se encontram todos os tipos de ovócitos, exceto o VI. Este foi observado somente na fêmea após 1 semana da cópula, havendo, também, grande quantidade de ovócitos em degeneração. Os ovócitos III e IV predominaram no ovário 1 mês após a cópula. As perspectivas futuras incluem a observação do ovário pouco antes, durante e após a oviposição para elucidar todo o processo de oogênese e o exato local de fecundação na aranha marrom.

Palavras-chave: *Aranha-marrom, Oogênese, Morfologia.*

Papel da melanogênese na indução da quiescência em células de melanoma murino B16-F10

Meira, W. V.; Cadena, S. M. S.; Martinez, G. R.

Laboratório de Oxidações Biológicas e Cultivo Celular, Departamento de Bioquímica, UFPR.

Email: willian.vmeira@gmail.com

O melanoma está entre os mais raros e agressivos tumores que atingem a pele, devido a sua alta agressividade e seu grande poder de metástase a sobrevivência de pacientes diagnosticados tardiamente é bastante baixa. Um dos principais motivos para a dificuldade no tratamento desse tipo de tumor é a presença da melanina, um pigmento que confere cor à pele, olhos e pelos. A principal função da melanina é proteger as células epiteliais de danos provocados pela radiação solar, mas estudos com linhagens de melanoma vêm mostrando que esse pigmento apresenta outras funções na célula, alguns controversos, como a de proteção atuando como captador de EROS produzidos a partir da irradiação UV e como produtor de EROS quando células são submetidas ao estímulo melanogênico. Estudos recentes mostraram ainda, que o estímulo da produção de melanina foi capaz de induzir a parada do ciclo celular em G₀, alterar o perfil de expressão de diversas proteínas e os níveis de ATP/ADP na célula. Visando melhor entender o papel da melanogênese induzida sobre as alterações metabólicas, esse trabalho tem como principal objetivo elucidar o mecanismo de entrada em quiescência mediada pelo estímulo melanogênico em células de melanoma murino B16-F10. Para isso as células da linhagem B16F10 de melanoma murino foram cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com 7,5% de SFB e gentamicina e o estímulo melanogênico foi realizado através do tratamento dessas células com L-Tirosina e NH₄Cl. Resultados iniciais dos ensaios de viabilidade utilizando o método do MTT nos tempos de 12, 24, 36 e 48 horas de estímulo melanogênico mostraram uma queda gradual na viabilidade dessas células, de aproximadamente 16% em 24 horas chegando a uma perda de 62% de viabilidade em 48 horas de estímulo. Esses resultados preliminares indicam o importante efeito que esse estímulo desempenha sobre células B16F10, apontando a necessidade de mais estudos a fim de esclarecer esse papel.

Palavras-chave: *melanoma, melanogênese, quiescência.*

Agradecimentos: Ao Programa de Pós- Graduação em Ciências- Bioquímica e aos órgãos de fomento CAPES, CNPq, Fundação Araucária e INCT- Processos Redox em Biomedicina – REDOXOMA.

Participação da ilha de CpG localizada no corpo do gene no controle da expressão de MMP14 em linhagens tumorais de mama

Chequin, A.; Manica, G. C. M.; Klassen, L. M. B.; Pereira, I. T.; Klassen, G.

Laboratório de Epigenética, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: chequinandressa@gmail.com

As metástases são a causa de 90% casos de morte no câncer de mama. A proteína matriz metaloprotease 14 (MMP-14) têm uma importante contribuição no desencadeamento migração celular nos carcinomas mamários, a partir da ativação de outras metaloproteases solúveis capazes de degradar componentes da matriz extracelular. Sabe-se que a regulação do gene MMP14 está intimamente relacionada com aspectos epigenéticos, como a metilação de uma ilha de CpG localizada na região promotora do DNA. Estudos tem demonstrado que os padrões de metilação ao longo do corpo do gene podem apresentar um importante papel na regulação da transcrição gênica e, para tanto, o objetivo deste estudo foi verificar o papel da metilação do corpo do gene MMP14 na regulação da expressão de diferentes linhagens tumorais de mama. As linhagens HB4aC3.6, HB4aC5.2, PMC42 e MCF-7 foram avaliadas quanto a expressão do gene estudado por RT-PCR. A região de DNA do primeiro íntron (+476 a +1103),foi amplificada e sequenciada após o tratamento com bissulfito de sódio. Os resultados obtidos mostraram que as linhagens HB4aC3.6, HB4aC5.2, PMC42 expressam o gene MMP14 e que a ilha de CpG localizada no primeiro íntron esta metilada em taxas de 2%, 7% e 10% respectivamente. Esses dados estão positivamente correlacionados com a expressão do gene nessas linhagens. Por outro lado, a linhagem MCF7 foi à única que não expressou o gene MMP14. Dados da literatura mostram que a região promotora nessa linhagem encontra-se metilada, e nossos resultados mostraram que a ilha de CpG localizada no íntron do gene também esta altamente metilada (95%). Assim, mostrou-se uma correlação entre a ausência de expressão e alta metilação da ilha de CpG não só da região promotora, mas também da localizada no corpo do gene. Estudos de metilação no corpo do gene são recentes e, portanto, novos dados podem contribuir para entender a importância da metilação dessas regiões de DNA nos mecanismos de tumorigênese.

Palavras-chave: *MMP14, Ilha CpG, metilação, câncer de mama.*

Agradecimentos: Fundação Araucária (PPSUS-), CNPq e CAPES.

Percepção de atletas de uma equipe de basquetebol à respeito dos processos de ansiedade e imaginação positiva

Paula Jr., E.P.; Kuczynski, K.M.; Paes, M.J.; Almeida, S.A.; Stefanello, J.M.F.

Laboratório de Pesquisa em Psicofisiologia do Exercício e Esporte, Departamento de Educação Física, UFPR.

Email: eugenio.junior@ufpr.br

Controlar a ansiedade é um dos desafios para que atletas tenham bom desempenho. A imaginação (guided imagery) é técnica de treinamento que pode ajudar atletas no controle da ansiedade (caracterizada pela ativação do SNA, ramo simpático), visando uma boa performance. Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar a percepção de atletas de basquete a respeito dos processos de ansiedade (imaginação negativa) e a contribuição da imaginação (positiva) no seu controle. A pesquisa, de caráter exploratório, e instrumentalizada pela “Epistemologia Qualitativa” (Rey Gonzalez, 2005), investigou junto a atletas (N = 28) de uma equipe juvenil de basquete (99/00 - □ = 14 anos) a percepção destes sobre a relação entre ansiedade e imaginação (negativa e positiva). Individualmente, foi perguntado aos sujeitos: a definição de ansiedade, seu processo (como acontecia) e se a consideravam positiva ou negativa. Depois, foi perguntado a definição de imaginação, seu processo (como acontecia) e como o atleta explicava imaginação positiva e imaginação negativa. Posteriormente, aplicou-se o Inventário Beck de Ansiedade (BAI). As respostas foram classificadas e tabuladas. Embora os atletas tenham mostrado dificuldade em definir ansiedade foram capazes de descrever seu processo. Para 8 (29%) atletas ela foi considerada positiva, negativa para 13 (46%) ou ambas (dependendo da situação) para 5 (18%) atletas, 2 (7%) não souberam responder. O mesmo não aconteceu com a imaginação, tanto na definição como nos processos, os atletas não apresentaram respostas consistentes ou claras. No BAI houve predomínio de baixa ansiedade (n=18 - 64%), um segundo grupo com leve (n=08 - 29%) e moderada (n=2 - 7%) não houve scores acima de 31 (elevada). Apesar do baixo escore de ansiedade, os atletas disseram percebê-la como negativa, além de mostrar desconhecimento da definição de ansiedade (psicofísica, emocional e cognitiva) e do uso da imaginação no seu enfrentamento. A partir dos resultados, além de sugerir mais pesquisas sobre a percepção de atletas sobre os processos fisiológicos, emocionais e cognitivos da ansiedade, conclui-se que os profissionais do esporte devem buscar desenvolver estratégias de treinamento mental com o uso da imaginação positiva para o controle e potencializando da ativação (ansiedade positiva) e manejo da ansiedade (negativa).

Palavras-chave: *Neurociências, percepção, ansiedade, Imaginação.*

Perfis bioquímicos plasmáticos em cães alimentados com dietas fibrosas

Scheraiber, M.; Sabchuk, T.T.; Knoph, T.A.; Silva, J.R.; Fischer da Silva, A.V.; Félix, A.P.

Laboratório de Estudos de Nutrição Canina, Departamento de Zootecnia e Fisiologia, UFPR.

Email: marianascheraiber@gmail.com

Devido ao estreitamento da relação das pessoas com animais de companhia ocorre maior preocupação com a longevidade e melhora da qualidade de vida destes animais. Em vista disso, houve um avanço na indústria de alimentação de cães e gatos e a utilização de dietas fibrosas se tornou uma importante ferramenta para a saúde dos animais que pode contribuir para a manutenção da saúde intestinal e corporal. Diversas fontes de fibra são estudadas com o objetivo de aprimorar a dieta recebida pelo animal, dentre elas a casca de soja, pois contribui com efeitos benéficos na saúde. Estes efeitos são resultantes das frações insolúveis (que atua através de meios físicos, acelerando a passagem da digesta e alivia a constipação) e frações solúveis, que atua através de meios químicos, melhorando a tolerância à glicose e a digestibilidade dos nutrientes. Os conceitos de nutrição estão se expandindo para além da fronteira de sobrevivência e satisfação da fome, atualmente são utilizados alimentos que promovam bem-estar, melhora de saúde e redução do risco de doenças. Portanto, a composição da dieta consumida pode ter um impacto profundo sobre a resposta fisiológica de cães, e com isso, o alimento funcional, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e fisiológicos benéficos à saúde. Este trabalho teve como objetivo avaliar os perfis bioquímicos de cães alimentados com dietas fibrosas durante 28 dias. Foram utilizados 12 cães da raça Beagle, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado divididos em dois grupos: o grupo controle, recebendo a dieta com 0% de casca de soja (CS) e o grupo teste, recebendo a dieta com 16% de CS. Foram analisados os níveis de glicose, colesterol total, HDL, LDL, VLDL e Triglicerídeos nos períodos 1 e 28 dias separadamente, comparando-se as dietas. Foi utilizado o teste t de Student e não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos níveis séricos dos parâmetros avaliados nos animais, tanto na comparação entre as dietas, como na diferença dos valores final - inicial. Assim, a fonte de fibra utilizada para pesquisas na modulação da glicose, colesterol e triglicerídeos séricos, deve ser amplamente estudada e cuidadosamente escolhida de acordo com as suas características físico-químicas de solubilidade e fermentação, pois podem causar efeitos fisiológicos diferenciados no organismo animal.

Palavras-chave: *animais de companhia, casca de soja, fibras, fisiologia, obesidade.*

Agradecimentos: VB rações pelo fornecimento das dietas.

Pesquisa e produção de processos e materiais didáticos em ciências para a aplicação em escolas do PROUCA: o Sistema Digestório

Fratoni, R. O.; Martins, B. R.; Rios, F. S.; Bodruk, T.; Mendonça, M. H.; Schadeck, R. J. G.

Laboratório de Pesquisa e Aprendizagem em Biologia Celular, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: rafa.fratoni@gmail.com

A cada dia novos produtos tecnológicos passam a fazer parte de quase todos os momentos de nossas vidas. Chegamos ao ponto em que se tornou quase impossível nos imaginar em um mundo desprovido de objetos eletrônicos. Dentre estes Gadgets, como são conhecidos, surgem as novas tecnologias de informação e comunicação (TIC), que são meios que nos permitem maior acesso à informação e também uma melhor comunicação. Com a educação não é diferente. Cada vez mais vem se tornando evidente a necessidade da utilização de diferentes mídias no processo de ensino-aprendizagem e as novas TIC configuram fortes ferramentas para tal. Projetos como o Programa Um Computador por Aluno (PROUCA), que disponibiliza computadores portáteis para estudantes de escolas públicas, são iniciativas governamentais que visam possibilitar a todos os alunos a inclusão digital e melhoria do ensino/aprendizagem. Estas tecnologias proporcionam aos educandos novas linguagens no que se refere ao contato com o conteúdo a ser estudado, tendo a interatividade e o apelo dos diferentes sentidos como pontos fortes. Neste trabalho, o objetivo é a construção de um artefato virtual sobre o corpo humano, com ênfase no Sistema Digestório, tendo como finalidade da melhoria do aprendizado em Ciências e Biologia através da interatividade e estímulo da curiosidade. Na construção do artefato, os programas Adobe Illustrator CS5.1 e Adobe Flash CS5.5 foram utilizados para confecção das imagens e das animações, respectivamente. O Sistema Digestório (escolhido em uma tela inicial com alguns dos sistemas do corpo humano) inicia com uma tela em que mostra a localização dos órgãos no corpo. Estes órgãos funcionam como botões, que conduzem a conjuntos de telas sobre cada um deles. Entre os atrativos nestas telas, estão outros botões que permitem ao usuário a interatividade com imagens, animações e textos sobre os diversos componentes do Sistema Digestório. É preciso entender, contudo, que este tipo de artefato virtual não deve ser visto como algo para substituir o material didático tradicional, como os livros, e muito menos a figura do professor. Programas como o aqui apresentado configuram-se como novas ferramentas para a complementação das já existentes.

Palavras-chave: *Ciências, material didático virtual, interatividade, ensino.*

Polimorfismos de genes do sistema imune - aspectos evolutivos e susceptibilidade ao pênfigo foliáceo

Camargo, C. M.; Beltrame, M. H.

Laboratório de Genética Molecular Humana, Departamento de Genética, UFPR.

Email: carolmcamargo@ufpr.br

Diversas moléculas desencadeiam sinais inter- e intracelulares coestimuladores ou inibidores para células de função imunológica relevante. O sinal antígeno-específico é fornecido pela interação entre o receptor da célula T (TCR) com o peptídeo antigênico associado à molécula MHC(HLA) de classe I (para T CD8+) ou de classe II (T CD4+). As interações entre os correceptores CD28, CTLA-4 e PD-1 com os ligantes da família B7 (CD80, CD86 e PD-Ls) nas células apresentadoras de antígeno (APCs), assim como das moléculas BLYS e CD40L com seus receptores, fornecem sinais secundários essenciais para a modulação da resposta imunológica. As citocinas são moléculas sinalizadoras igualmente críticas na manutenção da homeostase e indução da resposta imunológica. Os genes que codificam essas moléculas podem, portanto, influenciar a patogênese de doenças autoimunes. Vários estudos de associação caso-controle realizados no LGMH demonstraram que polimorfismos dos genes que codificam essas moléculas podem afetar a susceptibilidade/resistência ao pênfigo foliáceo. Os mesmos polimorfismos foram também extensamente analisados em investigações de diversidade genética em populações, microevolução e de sua relevância funcional.

Palavras-chave: *pênfigo foliáceo, estudo de associação, expressão gênica, diversidade genética.*

Produção de bio-ferramentas capazes de detectar toxinas urêmicas, e seu uso na caracterização da Doença Renal Crônica

Becker-Finco, A.; Stinghen, A. E.; Reis, M. B.; Moura, J. F.; Alvarenga, L. M.

Laboratório de Imunoquímica, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: Imalvarenga@ufpr.br

A Doença Renal Crônica (DRC) é definida pela lesão do parênquima renal (com função renal normal) e/ou pela diminuição funcional renal presentes por um período igual ou superior a três meses. Com a progressão da doença ocorre retenção progressiva de solutos que exercem efeitos tóxicos em vários órgãos e sistemas, esses solutos são denominados toxinas urêmicas. Estudos têm sido realizados objetivando identificar e caracterizar essas toxinas, com intuito de melhor entender os mecanismos envolvidos na DRC, seu papel em outras doenças crônicas, e com isso, permitir que intervenções mais específicas e efetivas possam ser realizadas. No entanto, ainda é insuficiente o desenvolvimento de insumos nacionais para a detecção e caracterização dessas toxinas, considerando que a maior parte dos kits imunoquímicos usados, pelos grupos de pesquisa aqui no Brasil, são importados. Assim, o objetivo desse projeto é a produção de anticorpos capazes de identificar especificamente toxinas urêmicas, e posteriormente, a confecção de um kit para quantificação dessas moléculas em fluídos biológicos de pacientes com doença renal crônica. Como moléculas alvo foram escolhidos os compostos ligados a proteína, tendo como representante o AGES (produto de glicação avançada). Para sintetizar AGES, albumina bovina (BSA) Ovalbumina (OVA) ou Hemolinfa de molusco (KLH) foi incubado a 37°C durante 24 h com ácido glioxílico e cianoborohidreto de sódio (NaCNBH₃). As moléculas de AGES foram utilizadas para determinação do perfil protéico por eletroforese e na produção e caracterização de soros policlonais hiperimunes de camundongos por ELISA. Os perfis de migração das amostras sintetizadas apresentaram alteração significativa na mobilidade eletroforética quando comparadas aos seus padrões, tendo em vista o aumento da massa molecular, sugerindo a formação das moléculas de AGES. Altos títulos de anticorpos foram obtidos com a imunização, os resultados com os anticorpos policlonais apresentaram o reconhecimento específico para cada uma das amostras estudadas de AGES. A caracterização mais detalhada desses anticorpos permitirá a obtenção de informações importantes que poderão ser utilizadas na identificação de toxinas urêmicas como possíveis marcadores da DRC. O diagnóstico e quantificação desses componentes representam um ponto importante tanto no entendimento do avanço da doença renal crônica, como também no prognóstico do paciente.

Palavras-chave: *anticorpo, policlonal, ELISA, uremia, toxinas.*

Regulação da expressão do gene MMP2 diante da sinalização da fibronectina na linhagem tumoral de mama MCF7

Pereira, I. T.; Ramos, E. A. S.; Chequin, A.; Manica, G. C. M.; Klassen, L. M. B.; Klassen, G.

Laboratório de Epigenética, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: isaabelaa@gmail.com

O câncer de mama é o segundo tipo de câncer mais frequente no mundo e a principal causa de morte entre as mulheres. MMP-2 é uma enzima pertencente ao grupo das metaloproteases, capaz de degradar o colágeno tipo IV. Sua função é amplamente descrita por atuar no mecanismo de metástases em diversos tipos de câncer. Neste trabalho estudamos o efeito da fibronectina, uma proteína de matriz extracelular, na regulação da expressão do gene MMP2. A linhagem tumoral de mama MCF7 foi cultivada na presença de fibronectina (30 µg/mL) por 8 e 12 horas e a expressão gênica foi avaliada através de RT-PCR. Esta linhagem não expressa o gene MMP2 em condições normais de cultivo, entretanto após o cultivo na presença de fibronectina por 8 ou 12 horas a expressão foi detectada. As células cultivadas com fibronectina por 12 h foram então incubadas por 48 horas sem a proteína e mantiveram a expressão de MMP2 positiva. Esses dados são recentes quanto à influência da fibronectina na regulação da expressão de MMP2. Pretende-se dar continuidade ao estudo a fim de investigar as possíveis alterações epigenéticas responsáveis pela regulação da expressão desse gene na presença da proteína fibronectina.

Palavras-chave: *Câncer de mama, metaloprotease, epigenética.*

Regulação do gene *mmp9* por metilação do DNA em câncer de mama

Klassen, L. M. B.; Manica G. C. M.; Pereira, I. T.; Chequin, A.; Klassen, G.

Laboratório de Epigenética, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

Email: lilianeklassen@gmail.com

O câncer de mama é o tipo mais comum e a principal causa de morte por câncer no mundo entre as mulheres. As metástases causam 90% das mortes a partir de tumores sólidos. No processo de metástase é necessário para o deslocamento das células tumorais malignas a destruição ou degradação da matriz extracelular (MEC). Este processo é mediado por diversas enzimas. Entre elas destacam-se as metaloproteases de matriz (MMPs). As MMPs são constituídas por 23 membros, que são divididas em seis subgrupos, Um desses grupos é o das gelatinases constituído pela gelatinase A (MMP-2) e pela gelatinase B (MMP-9), sendo essa última foco deste estudo. Tumores malignos de mama com altos níveis de expressão da proteína MMP-9 possuem alto risco de metástases elevando o risco de morte desses pacientes. Ambas as enzimas MMP-2 e MMP-9 tem sido associadas a um pior prognóstico em câncer de mama destacando-se o potencial dessas duas moléculas como marcadores clínicos da doença. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da regulação epigenética do gene MMP9 em câncer de mama. Para isso foi avaliada a expressão do gene MMP9 por RT-PCR com as linhagens HB4a, HB4aC3.6, HB4aC5.2, MCF7, PMC-42, MDA-MB-231, MDA-MB-435 e MDA-MB-436, as linhagens com diferença de expressão foram submetidas a análise por qPCR foram utilizadas as linhagens tumorais de mama HB4a, MCF7, PMC-42, e MDA-MB-436. Os resultados mostraram que a linhagem HB4a expressa o gene MMP9 pelo menos 3 vezes mais do que as linhagens tumorais MCF7, PMC-42, e MDA-MB-436 em relação ao gene constitutivo GAPDH. A partir destes resultados as linhagens MCF7, PMC42 e MDA-MB-436, que apresentaram uma significativa diminuição do nível de expressão do gene MMP9, foram submetidas a tratamento em cultivo com agente desmetilante 5-aza-2'-deoxicitidina ou tricostatin e ambos. Foi observado um aumento significativo de expressão de MMP9 diante dos tratamentos quando comparado aos cultivos das linhagens sem tratamento. Com os resultados obtidos podemos afirmar que o gene MMP9 sofre regulação por metilação do DNA e modificações de histonas em câncer de mama.

Palavras-chave: *Câncer de Mama, epigenética, metastases, metilação do DNA.*

Relação entre resistência a fungicidas benzimidazóis e mutações no gene *Beta-Tubulina* presentes em linhagens de *Monilinia fructicola*

Araujo, H.E.; De Mio, L. L.; Glienke, C.

Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: ch.glienke@gmail.com

Frutos de caroço (nectarina, pêsego e ameixa) são cultivados em aproximadamente 22.000 hectares no Brasil, principalmente nos estados do sul como o Paraná (PR), Santa Catarina (SC) e Rio Grande do Sul (RS), mas também em parte sudeste do estado de São Paulo (MAY DE-MIO, LOU, MICHAILIDES, 2011). A produção de frutos de caroço no Brasil é ameaçada pela doença podridão parda causada pelo fungo ascomiceto *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey (18,20). No Brasil a doença é normalmente controlada por meio de aplicação de fungicida em pomares comerciais de pêsego e um produtor pode chegar a pulverizar fungicida até três vezes durante o florescimento e mais três antes da colheita. Acredita-se que o uso contínuo de fungicidas de sítio específico possibilitou o desenvolvimento de resistência por algumas populações de *Monilinia fructicola*. Investigou-se a sensibilidade de isolados de *Monilinia fructicola* coletados de quatro estados diferentes aos fungicidas Tebuconazole, Azoxistrobin e Tiofanato Metílico, sendo este um fungicida do grupo benzimidazol. Para o tiofanato metílico foram encontrados isolados sensíveis (S), de baixa resistência (LR) e alta resistência (HR) (MAY DE-MIO, LOU, MICHAILIDES, 2011). Nestes fungos, a presença de mutação no códon 198 (E198A) do gene beta-tubulina, confere resistência a benzimidazóis. Além disto, outras substituições de nucleotídeos parecem ser responsáveis por padrões de resistência distintos, possibilitando classificar os isolados em sensíveis (S), baixa resistência (LR) e alta resistência (HR). De acordo com a literatura, em *M. fructicola*, uma substituição no códon 6, (de CAT para TAT) é responsável pelo padrão LR. A mutação no códon 198 é observada nos isolados com alta resistência (GAA para GCA). O objetivo deste trabalho foi verificar os padrões de resistência de *Monilinia fructicola* e sua relação com sequências do gene beta-tubulina. Para tanto, foram realizadas avaliações de resistência utilizando o fungicida da família dos benzimidazóis tiofanato metílico e o sequenciamento do gene beta-tubulina dos isolados. O teste discriminatório com fungicida separou os isolados de *Monilinia fructicola* em sensíveis (S), baixa resistência (LR) e alta resistência (HR). O sequenciamento do gene beta-tubulina tem demonstrado a existência das substituições descritas na literatura. Contudo, como ocorrem em fungos, novas mutações podem vir a ser encontradas e modificar alguns aminoácidos do sítio de ligação do fungicida à proteína beta-tubulina, influenciando assim a susceptibilidade do fungo ao fungicida. Para melhor entendimento deste fungo, pretende-se conduzir outros testes como o de agressividade.

Palavras-chave: Podridão Parda, Resistência, sequenciamento.

Agradecimentos: Professora Chirlei Glienke e Juliana Marta Fischer.

Respostas biológicas de *Prochilodus lineatus* frente a nanopartículas agregadas de dióxido de titânio e óxido de zinco

Miranda, R. R.; Silveira, A. L. D.; Jesus, I. P.; Voigt, C. L.; Campos, S. X.; Esquivel, J. R.; Ribeiro, C. A. O.; Filipak Neto, F.

Laboratório de Toxicologia Celular, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: renatam.bio@gmail.com

A produção e consumo crescentes de produtos que contêm nanopartículas (NPs) resultam na liberação desses materiais nos ambientes naturais, sobretudo os aquáticos. Nanometais, como de zinco, titânio e seus óxidos, estão entre as NPs mais utilizadas. No entanto, pouco se sabe sobre de seus efeitos em animais aquáticos. Assim, este trabalho visa investigar os efeitos de TiO_2 e ZnO no teleósteo *Prochilodus lineatus*. Para tanto, os peixes foram expostos por via hídrica durante 5 e 30 dias a 0,1, 1 e 10 $\mu\text{g/L}$ de TiO_2 ; 7, 70 e 700 $\mu\text{g/L}$ de ZnO ; e à associação de 70 $\mu\text{g/L}$ de ZnO e 1 $\mu\text{g/L}$ de TiO_2 . Após 5 e 30 dias, fígado, cérebro, músculo e brânquias foram coletados e submetidos a análises histopatológicas e bioquímicas. A caracterização das suspensões estoque indicou que as NPs são instáveis e tendem a formar agregados em meio aquoso, porém nocivos para *P. lineatus*. O estresse oxidativo foi observado devido ao aumento nos níveis de PCO após a exposição aguda ao ZnO no cérebro e após ambas nas brânquias. No fígado, o sistema antioxidante, representado pela glutatona, foi eficiente em eliminar as espécies reativas de oxigênio produzidas por TiO_2 ; no entanto, as concentrações dessa molécula mantiveram-se inalteradas após as exposições ao ZnO . A AchE apresentou redução de atividade após exposição aguda no cérebro, nos grupos 7 e 700 $\mu\text{g/L}$ de ZnO , e aumento da atividade no grupo exposto a mistura após 30 dias. Enquanto no músculo após exposição aguda a 10 $\mu\text{g/L}$ de TiO_2 observou-se uma redução da atividade. A histopatologia do fígado mostrou diferença significativa entre o grupo 70 $\mu\text{g/L}$ de ZnO e o controle após 30 dias, enquanto a exposição aguda afetou animais expostos a 0,1 $\mu\text{g/L}$ de TiO_2 e 700 $\mu\text{g/L}$ de ZnO . Quanto às misturas, observaram-se efeitos contrários daqueles induzidos pelas partículas isoladas, no fígado e cérebro. A partir desses dados supõe-se que as NPs podem ter sido absorvidas pelos animais. Nas brânquias, o contato direto com os agregados pode ter sido responsável pelas lesões encontradas. Essas respostas permitem assumir que NPs de TiO_2 e ZnO não são inócuas para *P. lineatus*.

Palavras-chave: nanopartículas, ZnO , TiO_2 , peixes, ERO.

Agradecimentos: à CAPES pela bolsa de pós-graduação e à Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

Síntese de β -C-glicosil cetonas

Mila, M. C. S.; Ducatti, D.R.B.

Laboratório de Carboidratos, Departamento de Bioquímica, UFPR.

Email: michelimila@ufpr.br

C-glicosídeos vem adquirindo grande importância, pois além de serem utilizados como building blocks na síntese de vários produtos naturais eles possuem também uma grande estabilidade química e enzimática pelo fato da ligação carbono-carbono conferir resistência em relação às hidrólises ácida e básica. Essas propriedades fazem com que os C-glicosídeos sejam miméticos estáveis dos O-glicosídeos. Esse projeto tem por objetivo sintetizar e caracterizar derivados C-glicosídeos. Desta forma foi delineada uma estratégia sintética para síntese da 1-C-(β -D-glucopiranosil)-propan-2-ona utilizando D-glucose, bicarbonato de sódio, pentano-2,4-diona e água. A reação permaneceu sob agitação constante a 90 °C durante 4 horas, onde a formação do produto foi monitorada por cromatografia de camada delgada. Após extração com diclorometano, tratamento com resina catiônica ácida, concentração e purificação em coluna cromatografia em sílica gel o produto foi isolado com 50,1% de rendimento. Para que o mesmo pudesse ser caracterizado mais facilmente realizou-se uma acetilação utilizando anidrido acético e piridina. A reação permaneceu sob constante agitação durante 24 horas à temperatura ambiente, foi então feita uma extração com diclorometano, solução 5% de CuSO_4 e solução saturada de NaHCO_3 . O produto acetilado foi purificado em coluna de cromatografia em sílica gel, com rendimento de 25,7%. Tal composto acetilado 1-propanoil-2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -C-glucopiranosídeo foi caracterizado por espectro de RMN 1H. Como conclusão a rota sintética estabelecida foi eficiente para a síntese da β -D-C-glucopiranosil cetona. Este glicosídeo será utilizado na síntese de dissacarídeos.

Palavras-chave: *C-glicosídeos, carboidratos, cetona.*

Agradecimentos: Fundação Araucária, Pronex-Carboidratos, CNPq e UFPR-TN.

Spermatheca of Brown Spider *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão (1934) (Araneae:Sicariidae): A Light and Electron Microscopical Study.

Inokuti, R.A.; Fogaça, E.; Costa-Ayub, C.L.S.; Ortolani-Machado, C.F.

Laboratório de Biologia do Desenvolvimento, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: cfom@ufpr.br

The genital morphological investigations and the mating behavior studies help to understand the complex reproductive systems of spiders, but in general the genital structures of them are poorly investigated in respect of their functional morphology. *Loxosceles intermedia* is a poisonous haplogyne spider, and the predominant species of the genus in southern Brazil. Sperm cells are transferred to the female body and stored inside the structure called spermatheca for weeks or months. The aim of this work was study the anatomy and morphological aspects of spermatheca of virgin female and just after first copulation female to better understand the survival of spermatozoa in the spermatheca environment and their preparation for the fertilization process. The genitalia was dissected and fixed in 4% PAF in 0.1 M phosphate buffer, pH7.4, for 2 h, and mounted with Permout resin. Other samples were embedded in Historesin, and serial sections stained with hematoxylin-eosin (HE) or treated by periodic acid-Schiff (PAS) and nynthidrin-Schiff methods. Alternatively, others were dissected, kept in KOH until the internal soft tissue were dissolved, fixed, washed in 0.1M phosphate buffer, dehydrated in ethanol, and processed for scanning electron microscopy (SEM). Using whole mounting method, we observed that the female has a pair of spatially separated spermatheca at the ventral surface of the abdomen in the sclerotized slit-like genital opening, and that arise from the wall of the uterus externus where the seminal fluid is deposited. Each spermatheca is formed by a long, thin and sclerotized duct that finish in a dilated portion (bulb). This method was important because it showed that the portion of the bulb is not sclerotized and that some females have more than one pair of spermatheca. The epithelium is pseudostratified and secretory. The glandular tissue is formed by glandular units separated by intercalary cells. The glandular cells are large, with nucleous and many secretory granules found in basal region. The secretion product is carried by thin canaliculi to pores on the internal surface of spermathecal lumen. Various muscles surround the spermatheca. No differences in the histological characteristics and type of secretion (positive PAS and nynthidrin-Schiff) were found between virgin and recently copulated females. The exception is the great number of synspermia (four sperm cells share a common cytoplasm delimited by plasma membrane) embedded in a secretion found in duct and bulb of copulated female. A small amount of synspermia is seen inside uterus externum. Moreover, it is necessary a better investigation of the spermathecal secretory tissue at transmission electron microscopy level, and the complete study of spermatheca in other situations (collected 7 days after copulation, during oviposition, and months before copulation).

Palavras-chave: *espermateca, sistema reprodutor, microscopia.*

Terpenos cítricos influenciam o fungo *Phyllosticta citricarpa*, causador da Mancha Preta dos Citros

Maba, L.S.F.; Linchuca, L.C.; Rodríguez, A.; Peña, L.; Glienke, C.; Galli-Terasawa, L.V.; Kava-Cordeiro, V.

Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: lisandragenetica@gmail.com

Compostos voláteis da casca da laranja desempenham diversas funções como a interação com dispersores de sementes. Estudos recentes mostraram que cascas de laranjas modificadas geneticamente, com redução do limoneno e conseqüente aumento de outros terpenos, afetam a ação de *Phyllosticta citricarpa*, causador da Mancha Preta dos Citros (MPC). Com o objetivo de avaliar a relação de *P. citricarpa* com os terpenos limoneno, citronelol e nerol, cinco microlitros de cada um destes compostos de origem comercial foram colocados em um dos lados de placas de Petri com divisória. No controle foi utilizada água destilada. Do outro lado, o fungo foi inoculado em BDA para a avaliação do crescimento micelial e em ágar-água, entre dois discos de folha de laranjeira, para avaliação da contaminação das folhas para produção de picnídios. Não houve diferença significativa do crescimento micelial entre o controle e o limoneno, porém com o nerol e o citronelol foi 50% menor. A contaminação das folhas foi de 100% com limoneno, 85% no controle, 19% com nerol e 16,5% com citronelol. O crescimento fúngico também foi avaliado com estes terpenos adicionados ao meio MEA, em proporções equivalentes à casca da laranja doce (L) e à casca da laranja modificada geneticamente (LGM). O fungo foi inoculado em MEA no controle. O tratamento L apresentou colônias duas vezes maiores em relação ao controle e ao LGM. A resposta deste fitopatógeno a estes terpenos é mais passo no estudo da interação deste com seu hospedeiro e poderá contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias para o controle da MPC.

Palavras-chave: *terpenos, Phyllosticta citricarpa, Mancha Preta dos Citros.*

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

The Galactomannan isolated from Schizolobium amazonicum and its chemically sulfated derivative inhibit the respiration in hepatocarcinoma cells HepG2

Cunha, M.M.; Cadena, S. M. S. C.; Petkowicz, C. L.; Noleto, G. R.

Laboratório de Oxidações Biológicas e Cultivo Celular, Departamento de Bioquímica, UFPR

Email: moni.mcunha@hotmail.com

Due to their low toxicity, polysaccharides from different sources have been studied for their potential biological applications. Galactomannans can be obtained with high purity and yield from seeds of some leguminous species, such as *Schizolobium amazonicum*, a Brazilian native tree. The aim of this study was to evaluate the effects of the native galactomannan from *S. amazonicum* seeds (SN) and its sulfated derivative (S1) in human hepatocarcinoma cells (HepG2) metabolism. Oxygen consumption was monitored by high-resolution respirometry (Oxygraph-2k, Oroboros Instruments, Innsbruck, Austria). The determination of lactate and pyruvate in cell supernatant was determined by formation and oxidation of NADH by measuring the absorbance at 340 nm after 20 and 90 minutes of incubation at 37°C. Native and sulfated galactomannans led to a decrease in oxygen consumption in non-permeabilized HepG2 cells after 72 hours of treatment. At the basal state, the highest dose evaluated (250 µg.mL⁻¹) of native and sulfated galactomannan promoted an inhibition of ~80% compared to control. At the leak state, the two polymers decreased the O₂ consumption in ~ 50% at the two concentrations evaluated (100 and 250 µg.mL⁻¹). In the uncoupled state, the O₂ consumption was inhibited by ~90% for both concentrations evaluated. The native and sulfated galactomannan caused a decrease in the levels of pyruvate and an increase in lactate production by approximately 15%. The results suggest that SN and S1 impair the oxidative phosphorylation process in HepG2 cells and suggest that the glycolytic pathway may be activated in response to this effect.

Palavras-chave: *HepG2 cells, oxygen consumption, galactomannan.*

Towards the identification of the Minimal gene set of *Herbaspirillum seropedicae* SMR1 by RNA-Seq

Barbosa, H.C.S.B.; Cruz, L.M.; Faoro, H.; Tadra Sfeir, M.Z.; Cardoso, R.L.A.; Pedrosa, F.O.; Souza, E.M.; Monteiro, R.A.

Laboratório de Bioinformática, Departamento de Bioquímica, UFPR.

Email: helbacsb@gmail.com

Herbaspirillum seropedicae is an endophytic α -Proteobacterium that fix nitrogen in association with plants of economic interest, such as maize, rice, wheat, and sugar cane. *H. seropedicae* SMR1 genome contains a total of 4804 genes. Genome analysis showed that *H. seropedicae* is capable to metabolize a variety of carbon and nitrogen sources and it has many genes that could be involved in plant bacteria interaction. Bacteria can sense their environment and tightly regulate gene expression in response to environmental cues. The expression pattern of *H. seropedicae* genes in different conditions has been studied to identify the minimal gene set necessary for survival. We analyzed data from *H. seropedicae* transcriptome in ten conditions: 1) minimal medium, 2) minimal medium and the presence of flavonoid naringenin, 3) low oxygen, 4) minimal medium and presence of nitrate, 5) co-cultivated with maize root, 1 day after inoculation, 6) co-cultivated with maize root 3 days after inoculation, 7) adhered to maize root 1 day after inoculation, 8) adhered to maize root 3 days after inoculation, 9) co-cultivated with wheat root; and 10) adhered to wheat root. A set of 554 genes with RPKM (Reads per kilo base per million – RPKM) greater than 100 and with 2fold or higher coverage were selected. These genes coded for enzymes of tricarboxylic cycle, electron transport chain and other metabolic pathways. Approximately 13% of these genes coded for proteins with unknown functions, which may be involved in essential metabolic pathways.

Palavras-chave: *transcriptoma, RNA-Seq, Herbaspirillum seropedicae.*

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

Transformação de *Phyllosticta citricarpa* e *Phyllosticta capitalensis* mediada por *Agrobacterium tumefaciens*

Senkiv, C. C.; Wobeto, J. B.; Santos, P. J. C.; Glienke, C.

Laboratório de Genética de Microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: camilacsgt@gmail.com

O Brasil destaca-se mundialmente na produção agrícola, e dentre suas atividades mais representativas está a Citricultura. Mesmo sendo o segundo maior produtor mundial de laranja, e o maior exportador do produto, a produtividade brasileira é afetada por problemas de ordem fitossanitária, destacando-se dentre seus patógenos o fungo *Phyllosticta citricarpa*, responsável pela doença conhecida como Mancha Preta dos Citros (MPC). A doença causa perda de produção, baixa do preço da fruta no mercado interno e impossibilita a exportação do fruto para União Europeia. Atualmente a MPC é tratada com diversas aplicações de agrotóxicos e fungicidas nos pomares ao longo do ano, o que eleva o custo para o produtor e encarece o produto. Faz-se necessário que alternativas eficientes de controle mais baratas e menos prejudiciais sejam desenvolvidas. Uma estratégia é a compreensão do comportamento de colonização de fungos endofíticos, que atuem como antagonistas frente ao patógeno. O fungo endofítico *Phyllosticta capitalensis* é capaz de colonizar plantas de citros de forma assintomática. Com o objetivo de se comparar os processos de infecção e colonização de *P. capitalensis* e *P. citricarpa*, nesse trabalho foi desenvolvido um protocolo de transformação via *Agrobacterium tumefaciens*, que produziu linhagens de ambos os fungos expressando a proteína vermelha DsRed, através da introdução do plasmídeo PCAMDsRed, que também confere resistência ao antibiótico Higromicina B. As linhagens obtidas poderão ser utilizadas em estudos posteriores em conjunto com linhagens de transformantes obtidas anteriormente pelo grupo, capazes de expressar a proteína verde GFP. Assim, o acompanhamento in planta do desenvolvimento de patógeno e endofítico tornará possível uma maior compreensão sobre a epidemiologia da MPC e suas possíveis formas de controle.

Palavras-chave: Mancha Preta dos Citros, Agrotransformação, *Phyllosticta citricarpa*.

Ultraestrutura e distribuição geográfica de *Aulacoseira gessneri* (Diatomeae)

Tremarin, P. I.; Loverde-Oliveira, S. M.; Ludwig, T.V.; Torgan, L. C.

Laboratório de Ficologia, Departamento de Botânica, UFPR.

Email: ptremarin@gmail.com

Aulacoseira gessneri foi descrita para um rio Amazônico e sua ocorrência até o momento é restrita a ambientes brasileiros. Raramente citada na literatura, sua ultraestrutura nunca foi observada. Desta forma, este trabalho tem por objetivo descrever e ilustrar a espécie em microscopia óptica e eletrônica de varredura a partir de exemplares encontrados em duas lagoas eutróficas do Pantanal Matogrossense, e comparar sua morfologia com espécies próximas. Amostras de plâncton foram coletadas na lagoa Sinhá Mariana no período de setembro/1997 a agosto/1998 e na lagoa Coqueiro de abril/2002 a maio/2003, fixadas com solução de Transeau. Posteriormente, o material foi oxidado para preparação de lâminas permanentes e de suportes para microscopia eletrônica de varredura. A análise do material permitiu constatar que *A. gessneri* apresenta longos filamentos retos unidos por pequenos espinhos de conexão, além de espinhos de separação alongados, manto ornamentado por estrias retas compostas por aréolas geralmente arredondadas, ringleist pouco desenvolvido e uma fileira de rimopórtulas sésseis próximas ao colo. A ausência de heterovalvaridade e a localização das rimopórtulas no manto em *A. islandica* (Muller) Simonsen a distinguem de *A. gessneri*. Já *A. distans* (Ehrenberg) Simonsen apresenta frústulas com menor variação métrica e ringleist mais desenvolvido. *Aulacoseira gessneri* foi dominante nas amostras analisadas, correspondendo a quase 76% e 64% da biomassa da lagoa Sinhá Mariana em período de enchente e águas baixas, respectivamente. Apesar da espécie ter sido registrada apenas no rio Tapajós (Amazonas), no rio Gurupá (Pará) e no Pantanal de Poconé (Mato Grosso), acredita-se que amostragem mais abrangente possa revelar uma distribuição mais ampla da espécie nas regiões tropicais brasileiras.

Palavras-chave: *diatomácea cêntrica, plâncton, taxonomia.*

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

Uso do embrião de ave (*Gallus gallus*) como modelo aplicado à toxicidade humana

Borges, M. E.; Ortolani-Machado, C. F.; Ribeiro, C. A. O.

Laboratório de Embriotoxicologia, Departamento de Biologia Celular, UFPR.

Email: marisaeb@hotmail.com

Diversas substâncias químicas, como poluentes orgânicos e inorgânicos, são liberadas continuamente no ambiente devido a fontes naturais ou antropogênicas. Estes poluentes podem ser encontrados e transportados na água ou na atmosfera. Alguns são fracamente biodegradáveis, podendo apresentar efeitos tóxicos mesmo em baixas doses e são capazes de se concentrar nos indivíduos ao longo da cadeia alimentar. Nos últimos anos tem havido uma crescente preocupação com a exposição a poluentes do ambiente e sua influência na saúde da gestante e do embrião, uma vez que essas substâncias químicas já foram descritas como causadoras de diversos tipos de malformações durante o desenvolvimento embrionário, principalmente do sistema nervoso central. As fases iniciais do desenvolvimento dos embriões de galinha são muito parecidas com as dos mamíferos e a membrana corioalantóica tem a capacidade de filtração equivalente a da placenta humana, por isso, os embriões de ave são um excelente modelo para o estudo de toxicologia humana, incluindo sua fácil obtenção, baixo custo financeiro e do tempo mais curto do seu desenvolvimento quando comparados aos mamíferos. Devido à dificuldade de se trabalhar com embriões humanos, este trabalho utiliza o embrião de galinha (*Gallus gallus*) como modelo para avaliar os efeitos tóxicos do metil mercúrio, chumbo, arsênio e nanopartículas de prata sobre o desenvolvimento, em exposições isoladas e combinadas. Neste trabalho analisaremos as malformações anatômicas encontradas, o possível estresse oxidativo desencadeado por estas substâncias e as moléculas chaves envolvidas com a formação das estruturas malformadas. Os primeiros experimentos foram realizados utilizando o chumbo como contaminante. Foram utilizadas três concentrações diferentes: 0,025 µg/ml, 0,25 µg/ml e 2,5 µg/ml; e foram analisados embriões no estágio de 3 dias. O contaminante foi injetado na câmara de ar do ovo e os embriões controle foram injetados com PBS. Após incubação na vertical, os embriões foram coletados, fixados com Carnoy e corados com Carmalúmen de Mayer. O tempo de coloração foi excessivo, não permitindo uma análise morfológica completa. Mesmo assim, foi possível observar algumas alterações encefálicas e caudais nos embriões injetados com chumbo, demonstrando que possivelmente existe influência deste metal no desenvolvimento embrionário, mas ainda não foram realizadas análises estatísticas destes resultados.

Palavras-chave: *embriotoxicologia, Gallus gallus, metais tóxicos.*

Variabilidade genética do gene HLA-F em uma amostra de afro-brasileiros do sul do Brasil

Alcântara, F.; Roxo, V. M. M. S.; Bezerra Neto, S. A.; Gelmini, G. F.

Laboratório de Imunogenética e Histocompatibilidade (LIGH), Departamento de Genética, UFPR.

Email: f.alcantara91@gmail.com

O MHC (Major Histocompatibility Complex ou Complexo Principal de Histocompatibilidade) é constituído por um grupo de genes que codificam a síntese de glicoproteínas de superfície celular expressas por diferentes tipos de células que participam de diversos processos da resposta imune. Nos seres humanos, este complexo se localiza no braço curto do cromossomo 6, próximo ao centrômero, e se chama complexo HLA (Human Leukocyte Antigen ou Antígeno Leucocitário Humano). Seus loci são divididos nas classes I, II e III, de forma que os alelos que compõem estes loci da classe I são divididos nas subclasses A, B, C, E, F, G, H, J e X e os da classe II, correspondem à subclasse D. Estes genes apresentam relação de codominância e codificam proteínas responsáveis por exibir antígenos diversos para o reconhecimento pelos linfócitos T. Eles diferem entre si pelas células às quais apresentam estes antígenos: as moléculas codificadas pelos genes MHC de classe I apresentam antígenos às células T CD8⁺ e as de classe II, às células T CD4⁺. Eles estão frequentemente em desequilíbrio de ligação, o que pode refletir uma vantagem seletiva para certas combinações alélicas ou uma mistura recente de populações; além disso, certos alelos HLA são mais frequentes em determinadas etnias ou doenças, o que pode indicar uma associação positiva (de susceptibilidade às doenças) ou negativa (de resistência às mesmas) com estes alelos em se tratando de patologias. A fim de avaliar a variabilidade genética apresentada por éxons do gene HLA-F em uma amostra composta por 159 indivíduos saudáveis, doadores voluntários de medula óssea que se auto-denominam afro-brasileiros pelo conhecimento de sua origem, empregou-se a metodologia descrita por MANVAILER (2012) no tratamento das amostras. Observou-se a predominância do grupo HLA-F*01:01A que incluiu os alelos HLA-F*01:01:01 e HLA-F* 01:01:03, que foram agrupados devido a análise de polimorfismos deste estudo não abranger o éxon 7, responsável pela diferenciação entre estes.

Palavras-chave: *Afro-brasileiros, HLA-F, Polimorfismo.*

Variabilidade genética de fungos do gênero *Colletotrichum* de plantas cítricas e da vegetação espontânea

Andrade-Waculicz, C. E.; Bini, A. P.; Gonzales, K. P.; Galli-Terasawa, L. V.; Kava-Cordeiro, V.; Glienke, C.

Laboratório de microrganismos, Departamento de Genética, UFPR.

Email: carolicz@gmail.com

A Podridão Floral dos Citros (PFC) é causada pela infecção de flores por fungos da espécie *Colletotrichum acutatum* os quais produzem lesões marrom-alaranjadas nas pétalas de flores, acarretando a abscisão de frutos jovens e retenção de cálice. Recentemente alguns relatos demonstram que pelo menos algumas linhagens de *C. gloeosporioides* lato sensu também causam manchas marrons em pétalas. Este complexo, após análise multigênica foi dividido em 22 espécies e uma subespécie, sendo um pequeno grupo de isolados realmente pertencente à espécie *C. gloeosporioides* stricto sensu. Como este trabalho filogenético publicado em 2012 não incluía isolados provenientes de citros do Brasil, a real identidade dos isolados denominados de *C. gloeosporioides* que colonizam plantas cítricas no Brasil, de forma endofítica ou patogênica, não é conhecida. Ainda, na literatura não há relatos da presença de linhagens patogênicas de *Colletotrichum* de forma endofítica e também é desconhecido se está presente como patógeno latente em plantas cítricas ou em plantas da vegetação espontânea entre as floradas contribuindo como reservatório de inóculo para a disseminação da doença. Assim, o objetivo deste trabalho foi isolar e identificar as espécies de *Colletotrichum* endofíticas de plantas cítricas e plantas da vegetação espontânea e isolados previamente identificados como patogênicos em citros. A identificação foi realizada por meio de características morfológicas e moleculares por PCR, sequenciamento da região ITS1-5,8S-ITS2 do rDNA e parcial do genes 18S do rDNA; GPDH (glicerol 3-fosfato desidrogenase); actina(ACT), calmodulina (CAL) e quitina (CHS-1). Foram obtidos 189 isolados endofíticos, 120 de plantas cítricas e 69 de plantas da vegetação espontânea, identificados por PCR como pertencentes ao complexo de espécies *C. gloeosporioides* e por análise multigênica identificados como sendo da espécie *C. gloeosporioides* stricto sensu. Os isolados previamente descritos como patogênicos em citros foram também identificados como *C. gloeosporioides* stricto sensu. Desta forma, a espécie *Colletotrichum gloeosporioides* stricto sensu coloniza de forma endofítica plantas cítricas e também contribui para a epidemiologia da podridão floral em citros no Brasil. Por outro lado, a espécie *C. acutatum* parece não colonizar de forma endofítica as plantas cítricas ou da vegetação espontânea investigadas.

Palavras-chave: *Colletotrichum gloeosporioides*, endofítico, citrus, vegetação espontânea.

04 A 06 DE FEVEREIRO DE 2014



CIÊNCIA NO ESPELHO

Organização do evento: Comitê Setorial de Pesquisa, SCB.

Edição do livro de resumos: Francisco Filipak Neto

