

ATIVIDADE ACARICIDA DO OLÉO ESSENCIAL DE *Eugenia pyriformis* CONTRA LARVAS DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* EM CONDIÇÕES SEMINATURAIS

^aEloísa Schneider Silva, ^bWanessa de Campos Bortolucci, ^bSephora Serrano Balsera, ^cJaqueline Pavelegini de Medeiros, ^cKeila Fernanda Raimundo, ^dJessica Souza, ^eSimone de Melo Santana, ^eZilda Cristiani Gazim

^aDiscente do curso de Farmácia (PEBIC/PIBITI – CNPq) – UNIPAR – Umuarama-PR, elo_ss_@hotmail.com; ^bMestranda do Programa de Biotecnologia aplicada a agricultura – UNIPAR – Umuarama-PR; ^cDoutoranda do Programa de Biotecnologia aplicada a agricultura – UNIPAR – Umuarama-PR; ^dDiscente do curso de Química Industrial (PIC); ^eDocente do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Aplicada a Agricultura – UNIPAR - Umuarama

Originário da Ásia, o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tem como principal hospedeiro o bovino, causando grandes perdas econômicas, devido a lesões no couro, queda de produção e transmissão de doenças, além do custo e aplicação de acaricidas¹. Portanto é um dos mais importantes agentes de entrave na pecuária bovina². Pesquisas demonstram que extratos ou óleos essenciais (OE) de plantas possuem potencial para o controle do parasita, além da redução do uso de produtos químicos³. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade acaricida do OE das folhas de *Eugenia pyriformis* frente a larvas de *R. (B.) microplus*. Para o experimento foram utilizados 9 vasos contendo *Brachiaria decumbens*, que foram mantidos em ambiente controlado sendo regados diariamente durante 3 meses, as plantas foram podadas com a altura de 40 cm⁴. No primeiro dia do experimento colou-se fita adesiva ao redor dos vasos para impedir que as larvas escapassem e infestou-se com 27,5mg de larvas de *R. (B.) microplus*. Após 24 horas foi verificada a migração das larvas para o ápice da planta, seguido da aplicação de 3 tratamentos: controle positivo constando de uma solução comercial a 0,125% contendo: 15% de cipermetrina, 25% de clorpirifós e 1% de citronelal; controle negativo uma solução aquosa de polisorbato 80 a 2% (v/v); e OE de *E. pyriformis* na concentração de 25mg/mL, pré-estabelecida em testes *in vitro* pela determinação da dose letal que matou 99,9% das larvas (DL_{99,9}). Para cada tratamento foi escolhido aleatoriamente 3 vasos e pulverizado manualmente cerca de 5 mL de cada solução sobre as plantas, principalmente em seu ápice. A contagem das larvas foi realizada após 24 horas da aplicação. Cada vaso foi analisado individualmente, as lâminas das plantas infestadas foram cortadas e levadas em placa de petri para contagem com auxílio de lupa entomológica. O percentual de eficácia foi calculado a partir da diferença entre a média das larvas vivas no grupo controle negativo e a média das larvas vivas no grupo tratado, em relação ao total das larvas vivas no controle positivo⁵. Desta forma, a eficácia encontrada na concentração de OE foi de 26,75%. O resultado encontrado deve-se provavelmente ao fato dos OE serem extremamente voláteis além de facilmente oxidáveis pela exposição direta da luz, calor, umidade ou oxigênio⁶. Devido a tais limitações torna-se necessário o estudo para a estabilização do OE dentro da formulação, de forma a elevar seu potencial biológico.

Referências:

¹SILVA, W. W. et al. Resistência de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (ACARI: IXODIDAE) a carrapaticidas no semi-árido paraibano: efeito da cipermetrina e do amitraz. **Agropecuária Científica no Semi-árido**, v. 1, n. 1, p. 59-62, 2005.

²CAMPOS JÚNIOR, D.A.; OLIVEIRA, P.R. Avaliação *in vitro* da eficácia de acaricidas sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) de bovinos no município de Ilhéus, Bahia, Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1386-1392. 2005.

³CHAGAS, A. C. S. Metodologias *in vitro* para avaliação de fitoterápicos sobre parasitas e resultados de testes a campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 2008, Curitiba. **Anais do Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**. Curitiba: CBPV, v. 15, p. 8-12.

⁴Araújo, L. X. et al. Acaricidal activity of thymol against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) under semi-natural conditions. **Parasitology Research**, v. 114, n. 9, p. 3271-3276, jun. 2015.

⁵BITTENCOURT V. R. E. P. et al. Avaliação da ação *in vivo* de *Metarhiziumanisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 aplicado sobre *Brachiaria decumbens* infestada com larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 38-42. 2003.

⁶BILIA, A. R. et al. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014 (2014).

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM PLANTAS DAS FAMÍLIAS *Asteraceae*, *Euphorbiaceae* E *Lamiaceae*: UMA META-ANÁLISE

Sonivaldo Ruzzene Beltrame^a, Rayane Monique Sete da Cruz^b, Stéfany Meneguetti^c, Jean Silva de Souza^b, Bianca de Almeida Marchi^c, Bruna Caroline de Souza^b, Carlos Henrique de Souza Gonçalves^b, Odair Alberton^d

^aMestrando em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, sbelt78@hotmail.com; ^bDiscente do Curso de Química Industrial, Unipar, Umuarama-PR; ^cDiscente do Curso de Agronomia, Unipar, Umuarama-PR; ^dDocente do Programa de pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR.

As plantas das famílias *Asteraceae*, *Lamiaceae* e *Euphorbiaceae* estão entre as mais importantes do planeta, dada sua vasta ocorrência em praticamente todos os continentes, especialmente em áreas tropicais e subtropicais^{1, 2, 3, 4}. As *Asteraceae* e as *Lamiaceae* são as plantas mais comuns entre as espécies medicinais do sul do Brasil¹. Economicamente, estas famílias de plantas são de extrema relevância, com espécies exploradas pelas indústrias automobilística, alimentícia, farmacológica, medicinal, de produtos de beleza e paisagismo. O aumento no consumo de fitoterápicos, especialmente a partir da década de 80 do século XX, fez crescer no Brasil um mercado específico para esse tipo de plantas, o que desencadeou o surgimento de novas metodologias de produção, na busca de atender a uma demanda cada vez maior e mais exigente. As características desse tipo de produto exigem formas de cultivo que não sejam agressivas para as plantas. As técnicas de produção devem primar por manter a qualidade e as propriedades das plantas ao mesmo tempo em que se busca obter a maior quantidade possível de fitomassa ou de substâncias responsáveis pelos princípios ativos característicos de cada planta. O uso de micro-organismos, aliado a processos benéficos ao solo, são uma das formas de buscar ampliar a produtividade, com sustentabilidade. Nesse sentido, o emprego de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) inoculados nos cultivos, pode ser uma ótima alternativa, pois, além de tornar as plantas mais competitivas e tolerantes a condições ambientais adversas, as mesmas tendem a apresentar maior produção de biomassa e, no caso de plantas medicinais, maior teor de princípio ativo^{3, 5}. No âmbito local, essas três famílias de plantas são as que possuem o maior número de espécies no horto medicinal do campus 2 da Universidade Paranaense - UNIPAR, município de Umuarama/PR, com 11,3%, 6,2% e 5,3% do total de plantas, respectivamente¹. Deste modo, o presente estudo (meta-análise) tem por objetivo analisar os efeitos da inoculação dos FMAs em plantas das famílias *Asteraceae*, *Lamiaceae* e *Euphorbiaceae*, verificando o nível de crescimento e teor de fósforo (P) e nitrogênio (N) na planta. A metodologia a ser empregada na coleta, processamento e análise dos dados, segue a descrição proposta por Alberton et al.⁶, com algumas modificações. Os dados serão coletados nas bases: Web Of Science, Scopus, Scielo, Google Scholar e PUBMED, buscando as palavras chaves "mycorrhiza*" and "Asteraceae", "mycorrhiza*" and "Euphorbiaceae" e "mycorrhiza*" and "Lamiaceae". Uma busca preliminar no Scopus indicou que há 117 artigos com as palavras chaves "mycorrhiza*" and "Asteraceae", 19 artigos com "mycorrhiza*" and "Euphorbiaceae" e 28 artigos com "mycorrhiza*" and "Lamiaceae". Serão coletados dados referentes à massa seca da parte aérea, massa seca total, altura da planta e o conteúdo de P e N na parte aérea da planta. Espera-se que a inoculação de FMAs aumente os teores de N e P na parte aérea das plantas, bem como contribua para maior produção de biomassa e de princípios ativos.

REFERÊNCIAS

- ¹CANZI, K. N.; BYCZKOVSKI, C.; GRIGOL, D. E. B.; CANEZIN, M.; LIMA, L. T. de; CORRÊA, E. J. T.; OKAMOTO, J.; BÁCARO, P. P.; PRANDO, T. B. L.; JAQUINTA, S. C.; TAKEMURA, O. S.; JACOMASSI, E. Levantamento florístico do horto medicinal do campus 2 da Universidade Paranaense (UNIPAR) – Umuarama/PR. **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, v. 16, p. 123–137, 2012.
- ²SÁTIRO, L. N.; ROQUE, N. A família *Euphorbiaceae* nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, p. 99–118, 2008.
- ³URCOVICHE, R. C., GAZIM, Z. C., DRAGUNSKI, D. C., BARCELLOS, F. G., ALBERTON, O. Plant growth and essential oil content of *Mentha crispata* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi under different levels of phosphorus. **Industrial Crops Products**, v. 67, p. 103–107, 2015.
- ⁴NIKOLIĆ, M.; STEVOVIĆ, S. Family *Asteraceae* as a sustainable planning tool in phytoremediation and its relevance in urban areas. **Urban Forestry and Urban Greening**, v. 14, p. 782–789, 2015.
- ⁵LERMEN, C.; MOHR, F. B. M.; ALBERTON, O. Growth of *Cymbopogon citratus* inoculated with mycorrhizal fungi under different levels of lead. **Scientia Horticulturae**, v. 186, p. 239–246, 2015.
- ⁶ALBERTON, O.; AGUIAR, D.; GIMENES, R. M. T.; CARRENHO, R. Meta-analysis for responses of eucalyptus and pine inoculated with ectomycorrhizal fungi in Brazil. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 12, p. 1159–1163, 2014.

O CRESCIMENTO DA *Ruta graveolens* L. É AFETADO PELA INOCULAÇÃO MICORRÍZICA

Elisangela Melato^a, Everton Merlin^b, Rayane Monique Sete da Cruz^b, Stéfany Meneguetti^c, Jean Silva de Souza^b, Bianca de Almeida Marchi^c, Bruna Caroline de Souza^b, Carlos Henrique de Souza Gonçalves^b, Odair Alberton^d

^aMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, elisangelamelato@hotmail.com; ^bDiscente do Curso de Química Industrial, Unipar, Umuarama-PR; ^cDiscente do Curso de Agronomia, Unipar, Umuarama-PR; ^dDocente do Programa de pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR.

A espécie *Ruta graveolens* L. é uma planta de origem francesa, pertencente à família das *Rutaceas*, conhecida popularmente como arruda, pode apresentar diversas atividades, entre elas: analgésica, anti-hemorrágica, anti-inflamatória, calmante, estimulante, repelente, vermífida, entre outras. Estas propriedades medicinais atraem a atenção dos pesquisadores e esta espécie vem sendo estudada nos últimos anos¹. Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são micro-organismos que fazem simbiose com raízes das plantas^{2, 3}. Sendo a arruda largamente utilizada como recurso medicinal, vem sendo utilizadas técnicas como a introdução de populações de FMAs para um aumento de produtividade, onde a efetividade micorrízica é geralmente estudada em termos de crescimento e absorção de nutrientes, em relação à planta não micorrizada, com variações de acordo com a espécie hospedeira e o FMA utilizado^{2, 3}. O objetivo deste estudo foi estudar o crescimento e a absorção de fósforo (P) da *Ruta graveolens* L. inoculada com os FMAs *Claroideoglossum etunicatum* e/ou *Rhizophagus clarus* sob baixa (20 mg dm⁻³ de solo) e ou alta (200 mg dm⁻³ de solo) adição de P no solo. As plantas foram crescidas em vasos com 3,5 kg de solo fumigado com um delineamento experimental inteiramente casualizado em fatorial 2 x 3: 2 níveis de P e 3 FMAs (2 FMAs inoculados ou não), no total 6 tratamentos, com seis repetições conduzidos em casa de vegetação por 4 meses. Foram determinados a massa seca das plantas, o conteúdo de P na parte aérea. A produção de massa da planta foi aumentada significativamente com a inoculação dos FMAs. A maior produção de massa foi encontrada com a inoculação com o FMA *C. etunicatum*, aumentando em quase 3 vezes mais a produção de biomassa em relação ao controle não inoculado. Não observou-se diferenças significativas no conteúdo de P na parte aérea com a inoculação dos FMAs, porém, a adição de P ao solo aumentou significativamente o conteúdo de P na planta. Recentemente, Urcoviche et al.² estudando *Mentha crispa* inoculada com FMA, apresentou maior produção de biomassa, principalmente com alta adição de P ao solo. Lermen et al.³ estudaram o crescimento de *Cymbopogon citratus* inoculado com o FMA *R. clarus* sob diferentes níveis de chumbo (Pb) e observaram que a inoculação do FMA aumentou a produção vegetal, o conteúdo de P e N na parte aérea, além de reduzir o acúmulo de Pb na planta. Conclui-se que a inoculação dos FMAs, estimulou o crescimento da arruda e que a inoculação com FMA *C. etunicatum* foi mais eficiente. A adição de P ao solo aumentou o conteúdo de P na planta.

REFERÊNCIAS

- ¹FRANÇA ORLANDA, J. F.; NASCIMENTO, A. R. Chemical composition and antibacterial activity of *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) volatile oils, from São Luís, Maranhão, Brazil. **South African Journal of Botany**, v. 99, p. 103–106, 2015.
- ²URCOVICHE, R. C., GAZIM, Z. C., DRAGUNSKI, D. C., BARCELLOS, F. G., ALBERTON, O. Plant growth and essential oil content of *Mentha crispa* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi under different levels of phosphorus. **Industrial Crops Products**, v. 67, p. 103–107, 2015.
- ³LERMEN, C.; MOHR, F. B. M.; ALBERTON, O. Growth of *Cymbopogon citratus* inoculated with mycorrhizal fungi under different levels of lead. **Scientia Horticulturae**, v. 186, p. 239–246, 2015.

EFEITO DA MICORRIZA SOB DIFERENTES DOSES DE FÓSFORO NO CRESCIMENTO, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Salvia officinalis*

Everton Merlin^a, Elisangela Melato^b, Rayane Monique Sete da Cruz^b, Stéfany Meneguetti^c, Jean Silva de Souza^b, Bianca de Almeida Marchi^c, Bruna Caroline de Souza^b, Carlos Henrique de Souza Gonçalves^b, Odair Alberton^d

^aMestrando em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, evertonmerlin@hotmail.com; ^bDiscente do Curso de Química Industrial, Unipar, Umuarama-PR; ^cDiscente do Curso de Agronomia, Unipar, Umuarama-PR; ^dDocente do Programa de pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR.

A micorrízica proporciona um aumento na absorção de água e nutrientes do solo pelas plantas, principalmente do fósforo (P), além disso, esta associação pode afetar o metabolismo das plantas^{1,2}. O objetivo deste estudo foi estudar o crescimento e rendimento do óleo essencial (OE) da *Salvia officinalis* L. inoculada ou não com o fungo micorrízico arbuscular (FMA) *Claroideoglomus etunicatum* e/ou *Rhizophagus clarus* com baixa (20 mg dm⁻³ de solo) e ou alta (200 mg dm⁻³ de solo) adição de P no solo. As plantas foram crescidas em vasos com 3,5 kg de solo fumigado em um delineamento experimental inteiramente casualizado em fatorial 2 x 3: 2 níveis de P (baixa e alta adição de P) e 3 FMAs (duas espécies de FMA inoculada ou não), no total 6 tratamentos com seis repetições conduzidos em casa de vegetação. A densidade de esporos e colonização radicular por FMAs, a massa seca das plantas, o conteúdo de P e N na parte aérea, o rendimento e a composição química do OE da *S. officinalis* foram determinados 4 meses após a implementação experimental. A densidade de esporos e a colonização radicular por FMAs foram afetados significativamente pela inoculação por FMAs e pela adição de P ao solo, sendo que ambos os parâmetros diminuíram significativamente com adição de P ao solo. A planta inoculada com *R. clarus* com baixa adição de P ao solo teve a maior colonização radicular (30,66%). A produção de massa da planta foi aumentada significativamente com alta adição de P ao solo. A menor produção de massa foi encontrada com a inoculação de *C. etunicatum* sob baixa adição de P ao solo. Observou-se um aumento significativo no conteúdo de P na parte aérea com a inoculação de *R. clarus* e alta adição de P, porém, o conteúdo de N diminuiu com alta adição de P ao solo. O conteúdo de OE aumentou significativamente com a inoculação de *R. clarus* e alta adição de P (4,2%), abaixando para 3,8% com baixa adição de P ao solo. A inoculação de *C. etunicatum* não diferiu no conteúdo de OE comparando-se com o controle (não inoculado) com 0,45%, sob baixa adição de P ao solo. A composição química do OE não foi afetada drasticamente pelos tratamentos e foram encontrados 73 componentes, sendo majoritários o α -thujone (16 a 20%), o β - thujone (4 a 10%), o camphor (11 a 17%), o viridiflorol (5 a 10%) e o epimanol (14 a 31%). Urcoviche et al.¹ estudando *Mentha crispa* inoculada com FMA, apresentou maior produção de biomassa, principalmente com alta adição de P ao solo, além disso, observaram aumento significativo no conteúdo de OE com a associação do FMA *C. etunicatum* e variou a concentração do majoritário carvone com a inoculação de diferentes FMAs. Recentemente, Lermen et al.² estudaram o crescimento de *Cymbopogon citratus* inoculado com o FMA *R. clarus* sob diferentes níveis de chumbo (Pb) e observaram que a inoculação do FMA aumentou a produção vegetal, o conteúdo de P e N na parte aérea, além de reduzir o acúmulo de Pb na planta. Conclui-se que a adição de P ao solo aumentou o crescimento da planta. O rendimento do OE foi aumentada com a inoculação do FMA *R. clarus*, principalmente com alta adição de P ao solo.

REFERÊNCIAS

- ¹URCOVICHE, R. C., GAZIM, Z. C., DRAGUNSKI, D. C., BARCELLOS, F. G., ALBERTON, O. Plant growth and essential oil content of *Mentha crispa* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi under different levels of phosphorus. **Industrial Crops Products**, v. 67, p. 103–107, 2015.
- ²LERMEN, C.; MOHR, F. B. M.; ALBERTON, O. Growth of *Cymbopogon citratus* inoculated with mycorrhizal fungi under different levels of lead. **Scientia Horticulturae**, v. 186, p. 239–246, 2015.

EFEITO ALELOPÁTICO DE DIFERENTES ÓLEOS ESSENCIAIS NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ESPÉCIES BIOINDICADORAS

Cristine Bonacina^a, Wanessa de Campos Bortolucci^a, Luciane NerisCazella^bCrislaineEmidioVieira^c, Hélida Mara Magalhães^d, Zilda CristianiGazim^d, Silvia GracieleHülse de Souza^d

^aMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, cristinebonacina@hotmail.com; wanessaBorto84@hotmail.com; ^bDoutoranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, lucianecazella@hotmail.com; ^cDiscente do Curso de Engenharia Agrônômica, Unipar, Umuarama-PR, crislaine_emidio@hotmail.com; ^dDocente da Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR;

Para proteger culturas/plantações da ação de doenças e pragas, a demanda por produtos naturais que promovam o mesmo papel que fertilizantes químicos, porém sem agredir o meio ambiente, como os biofertilizantes, têm sido cada vez mais exigidos¹. Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito alelopático de diferentes óleos essenciais sobre a germinação e desenvolvimento inicial de tomate (*Lycopersicon esculentum*) e alface (*Lactuca sativa*). Foram avaliados os óleos essenciais (OE) de pimenta-rosa (*Schinus molle*), alfavaca (*Ocimum gratissimum*), mirra (*Tetradenia riparia*) e vassourinha (*Bacharis dracunculifolia*) na concentração de 1% e mantidas em câmara de crescimento a temperatura de 25°C. Os bioensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições. A avaliação foi feita diariamente por 7 e 14 dias para o alface e tomate, respectivamente. Foram avaliados os seguintes parâmetros: germinação (%), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CRA), massa fresca (MF), massa seca (MS), número de plântulas normais e anormais e plântulas com e sem necrose. O OE de pimenta-rosa promoveu baixa atividade alelopática. O óleo essencial de alfavaca foi prejudicial à germinação das sementes de alface e tomate, onde houve uma redução de 100% da germinação das duas espécies avaliadas. Os óleos essenciais da vassourinha e mirra também se mostraram expressivos, uma vez que houve uma redução de todos os parâmetros analisados para as duas espécies bioindicadoras avaliadas, indicando o significativo efeito alelopático dessas espécies. A composição do óleo essencial utilizado e seus constituintes bioquímicos podem ter influenciado nos resultados obtidos. Diante desses resultados, sugere-se que os óleos essenciais de alfavaca, vassourinha e mirra apresentam um potencial para uso como bioherbicidas na agricultura, que poderá ajudar a minimizar os danos ao meio ambiente, à saúde humana e animal, causados pelo uso intensivo de herbicidas químicos. Entretanto novos estudos serão conduzidos com o intuito de identificar os compostos químicos dos óleos que apresentaram efeitos fitotóxicos para avaliar as concentrações mais adequadas e o efeito em sementes de plantas daninhas.

REFERÊNCIAS

¹NEPOLEAN, P.; JAYANTHI, R.; PALLAVI, R.V.; BALAMURUGAN, A.; KUBERAN, T.; BEULAH, T.; PREMKUMAR, R. Role of biofertilizers in increasing tea productivity, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, p.1443-1445, 2012.

OBTENÇÃO DE UM PROTOCOLO DE MICROPROPAGAÇÃO PARA O MANJERICÃO FOLHA DE ALFACE

Vanessa Fernandes Fonseca^a, Helida Mara Magalhães^b

^aMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, vanessaferfonseca@gmail.com; ^bDocente do Curso de Agronomia, Unipar, Umuarama-PR; Umuarama-PR

O manjericão do gênero *Ocimum basilicum* L pertencente à família Lamiaceae, muito utilizada como conservantes alimentares e na medicina popular. O objetivo deste trabalho é obter um protocolo para micropropagação dessa espécie utilizando diferentes meios de cultura, temperaturas e fotoperíodos. O material utilizado será sementes comerciais da variedade folha de alface. Três ensaios serão conduzidos de forma independente. No primeiro serão avaliadas cinco formulações do meio MS, no segundo cinco concentrações do iodeto de potássio 0,0, 25, 50, 75 e 100 μ M, e o terceiro serão avaliadas duas temperaturas (15 e 25° C) sob três fotoperíodos 24 horas, 12 horas claro e 12 escuro, 16 horas claro e 8 horas escuro. Para todos os ensaios serão utilizados 30 frascos e 5 repetições. As seguintes características serão avaliadas: porcentagem de contaminação, oxidação e plântulas anormais, número de folhas e brotações, comprimento da parte aérea e da radícula e massa seca e fresca da parte aérea e da radícula. Para análise estatística as médias serão submetidas ao teste de normalidade conforme Shapiro Wilk. Se não normais os dados serão submetidos ao Teste de Kruskal Wallis a $p \leq (0,05)$, se normais a análise de variância (ANOVA) a $p \leq (0,05)$ e as médias comparadas por meio do teste Tukey a $p \leq (0,05)$ utilizando o *software* Saeg 9,0. Os resultados obtidos a partir desses ensaios possuem caráter inédito. Espera-se ao final do ensaio obter mudas de qualidade, em grandes quantidades otimizando custo e tempo em relação aos métodos convencionais.

Palavras-chave: *Ocimum basilicum* L., iodeto de potássio, sacarose, temperatura, cultura de tecidos.

REFERÊNCIAS

- Arrigoni-blank, F., Silva-mann, R., & Mendonça, M. C. (2004). Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjericão e alfavaca, 113–116.
- Arrigoni-blank, M. D. F., Santos, A., & De, A. M. S. (2004). Interação de reguladores de crescimento e explantes na micropropagação de manjericão ' Maria Bonita ', 3–6.
- Article, O., Daniel, a, Kalidass, C., Mohan, V. R., Breeding, T., & Nadu, T. (2010). In vitro multiple shoot induction through axillary bud of *Ocimum basilicum* L . an important medicinal plant. *In Vitro*, 1(June 2016), 24–28.
- Bandinelli, M., & Bisognin, D. (2013). Concentração dos sais e da sacarose do meio MS na multiplicação in vitro e na aclimatização de batata. *Horticultura Brasileira*, (June 2013), 242–247. <http://doi.org/10.1590/S0102-05362013000200011>
- Costa, A. S., Silva, J. H. S., & Torres, M. F. (2015). Multiplicação in vitro e indução de calos embriogênicos em híbrido de manjericão ., 11, 1–12.

PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICELIAL DE *Lentinus crinitus* EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUMINOSIDADE

Renan Alberto Marim^a, Bruna Karen Cardoso^a, Katielle Vieira Avelino^a, Ana Caroline Coronato de Oliveira^b, Juliana Silveira do Valle^c

^aAcadêmicos da Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, UNIPAR, Umuarama-PR renan.marim@hotmail.com; ^bAcadêmica do Curso de Farmácia, UNIPAR, Umuarama-PR; ^cDocente da Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, UNIPAR, Umuarama-PR

Fungos são sensíveis a luz e a usam como sinal para respostas fisiológicas e morfológicas como para produção de metabólitos secundários, morfogênese, esporulação, crescimento, entre outras¹. Acredita-se que todos os fungos possuam sistemas de resposta à luz, onde atuam receptores específicos sensíveis a diferentes comprimentos de onda². Com o objetivo de identificar possíveis respostas fototrópicas do micélio de *Lentinus crinitus* avaliou-se o efeito de diferentes tipos de diodos emissores de luz (LED) sobre a produção de biomassa micelial de três linhagens (U9-1, U13-5 e U15-9) pertencentes à Coleção de Culturas da Universidade Paranaense. As linhagens de *L. crinitus* foram cultivadas em 100 mL de extrato de malte (2% m/v) a 25 °C por 15 dias e em três repetições. Os ensaios foram mantidos no escuro (controle) e em diferentes cores de LED (branca, azul, verde, vermelho e amarelo). O micélio foi recuperado no 15º dia de cultivo por centrifugação (8000 rpm por 10 min) e a biomassa seca determinada por termogravimetria. A produção de biomassa micelial variou de acordo com a linhagem e as condições de luminosidade. A produção de biomassa de *L. crinitus* U9-1 em condições de luz foi maior ($p \leq 0,05$) do que no escuro, variando de $1,6 \pm 0,2$ mg/mL (branca) a $2,2 \pm 0,4$ mg/mL (verde), aumento de 14% e 57%, respectivamente. A única exceção foi o LED amarelo, que reduziu ($p \leq 0,05$) a produção de biomassa desta linhagem em 36%. A única cor de LED que afetou a biomassa ($p \leq 0,05$) de *L. crinitus* U13-5 foi a verde, onde a biomassa micelial foi 230% maior que no escuro. Para *L. crinitus* U15-9 a biomassa produzida em luz branca não diferiu do controle ($p \leq 0,05$), mas as diferentes cores aumentaram a biomassa dessa linhagem variando de $1,6 \pm 0,08$ mg/mL (azul) a $1,8 \pm 0,07$ mg/mL (verde), embora sem diferença significativa entre elas. A luz LED verde parece ter exercido os efeitos mais significativos. O mesmo foi observado para *Lentinula edodes* quando cultivado no escuro, porém, submetido à exposição intermitente (1 min/dia) a luz LED verde². Entretanto, a resposta à luz de diferentes espécies de fungos isolados de solo, mostrou que todas as diferentes cores de LED reduziram a produção de biomassa em comparação ao escuro³. Os resultados são preliminares, mas sugerem a existência de um sistema de fotosensores em *L. crinitus*. Desta forma, a produção de micélio fúngico em resposta a luz pode ser de grande interesse biotecnológico.

REFERÊNCIAS

- ¹RODRIGUEZ-ROMERO, J.; HEDTKE, M.; KASTNER, C.; MÜLLER, S.; FISCHER, R. Fungi, hidden in hoil or up in the air: light makes a difference. **Annual Review of Microbiology**, v. 64, p. 585-610, 2010.
- ²GLUKHOVA, L.B.; SOKOLYANSKAYA, L.O.; PLOTNIKOV, E.V.; GERASIMCHUK, A.L.; KARNACHUK, O.V.; SOLIOZ, M.; KARNACHUK, R.A. Increased mycelial biomass production by *Lentinula edodes* intermittently illuminated by green light emitting diodes. **Biotechnology Letters**, v. 36, p. 2283-2289, 2014.
- ³VELMURUGAN, P.; LEE, Y.H.; VENIL, C.K.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P.; CHAE, J-C.; OH, B-T. Effect of light on growth, intracellular and extracellular pigment production by five pigment-producing filamentous fungi in synthetic medium. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 109, p. 346-350, 2010.

AValiação DO DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS DE PEPINO INOCULADAS COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL (BPCVs)

Cristine Bonacina^a, Dayane Maldonado Garcia^a, Adriana Pereira da Silva^b, Silvia GracieleHülse de Souza^b

^aMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, cristinebonacina@hotmail.com; dayagarcia1990@gmail.com; ^bDocente da Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR;

As bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCV) são não patogênicas e atuam promovendo o crescimento ou como agentes de controle biológico de doenças de plantas¹. O objetivo do trabalho foi avaliar o desenvolvimento de plantas de pepino em associação com BPCVs. O estudo foi realizado na casa de vegetação (35±5°C) da Universidade Paranaense – UNIPAR, Campus III – Umuarama/PR, sendo os isolados bacterianos cedidos pelo Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL). O efeito da inoculação das bactérias, nas plantas de pepino foi avaliado através de delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 20 repetições, constando de dois isolados bacterianos e o controle, sem a presença de bactérias. Em bandejas de poliestireno foram colocados uma mistura de solo:vermiculita (1:1) autoclavado, e semeado em cada cédula da bandeja duas sementes de pepino *Eureka*. Após foram irrigadas com suspensão bacteriana contendo 10⁸ UFC/mL⁻¹ de cada isolado, sendo que após 10 dias da semeadura, as plântulas foram transplantadas para vasos plásticos (1,5 L), com a mesma mistura da bandeja. Dez dias após o transplante as plantas foram novamente irrigadas com as suspensões bacterianas e irrigadas uma vez por semana com solução nutritiva de Hoagland e Arnon², sem adição de N, até atingirem 40 dias. Foram avaliados parâmetros como altura da parte aérea (APA), comprimento da raiz (CR), peso fresco da parte aérea (PFPA), peso fresco da raiz (PFR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), índice de clorofila, florescimento e atividade enzimática da nitrato redutase *in vivo*. Os isolados de BPCVs inoculados nas plantas de pepino mostraram atividade pouco efetiva. O isolado bacteriano (4.3.1.2) apresentou diferença significativa na APA e MSPA quando comparado às plantas controle e ao isolado 8.1.2.1. Não houve diferença no CR, PFPA, PFR, MSR, teor de clorofila, na enzima nitrato redutase (NRPA/NRR) e na floração entre os tratamentos. O clima pode ter sido o fator determinante diante dos resultados observados, uma vez que a temperatura oscilou de 10-40°C, sendo a ideal de 20-30°C³. Temperaturas muito abaixo ou acima da ideal para o cultivo do pepino afetam o desempenho e produtividade das plantas, porém sob condições de estresse as BPCVs podem contribuir para um melhor desempenho destas⁴. Entretanto, o estresse ambiental ocorrido nesse estudo, parece não ter proporcionado um aprimoramento do sinergismo entre as plantas de pepino e os inoculados bacterianos.

REFERÊNCIAS

- ¹SANTOS, A.B.; FAGERIA, N.K.; SILVA, O.F.; MELO, M.L.B. Resposta do feijoeiro ao manejo de nitrogênio em várzeas tropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, p.1265-1271, 2003.
- ²HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, p.347, 1950.
- ³CARVALHO, A.D.F.; AMARO, G.B.; LOPES, J.F.; VILELA, N.J.; FILHO, M.M.; ANDRADE, R. **A cultura do pepino**. Embrapa, Circular Técnica 113, Brasília, 2013.
- ⁴YANG, J., KLOEPPER, J.W., RYU, C. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science**, v.14, p.1-4, 2009.

UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAIS PARA CULTIVO *IN VITRO* DE *Ocimum basilicum*

Jéssica Rezende Trettel^a, Flávio Julian da Silva^a, Héliida Mara Magalhães^b

^aMestranda(o) em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, jrtrettel@gmail.com; ^bDocente do Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

O manjeriço (*Ocimum basilicum*) é uma planta aromática pertencente à família *Lamiaceae*¹. Além do uso para fins farmacêuticos e medicinais esta planta é muito empregada como condimento culinário². A cultura de tecidos vegetais, mostra-se promissora na produção em larga escala de mudas de alto padrão de qualidade, com a produção de plântulas livres de contaminação e interferentes sazonais³. O meio mais comumente utilizado para cultivo *in vitro* é o meio Murashige e Skoog MS que deve ser adaptado a cada cultura vegetal⁴. Objetivou-se com o trabalho avaliar o uso de concentrações de meio MS, com finalidade de estabelecer protocolo de micropropagação para a espécie manjeriço folha de alface. Para este ensaio foram utilizados cinco tratamentos com as seguintes concentrações de sais: 100%, 70%, 50%, 25% e 0%. O meio foi suplementado por 30 g.L⁻¹ de sacarose, 0,2 mg.L⁻¹ de ácido naftalenoacético, 0,1 mg.L⁻¹ de 6-benzilaminopurina, 1 mg.L⁻¹ de giberelina e acrescentou-se 6,5 g.L⁻¹ de ágar bacteriológico. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem em 121 °C durante 20 minutos. Cada tratamento foi composto por cinco repetições e 5 frascos por repetição. Em cada frasco foram inoculadas 4 sementes. A inoculação ocorreu em câmara de fluxo laminar onde as sementes selecionadas passaram por processo de assepsia por 2 minutos em álcool etílico 70% sob agitação. Posteriormente as sementes foram imersas em hipoclorito de sódio a 2% durante 15 minutos sob agitação. Em seguida foram realizadas 4 lavagens sucessivas utilizando água deionizada e autoclavada. Para a inoculação foram utilizados 50 mL do meio em cada frasco. Os frascos foram vedados e permaneceram por 85 dias em câmara de crescimento, sob fotoperíodo de 24 horas e temperatura de 25 °C. Foram realizadas análises em 3 períodos distintos (38, 59 e 85 dias) os dados desta análise passaram por teste de variância ($p \leq 0,05$) e Tukey ($p \leq 0,05$). E também foi realizada uma avaliação final no 85º dia, onde os dados foram submetidos a análise de variância ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas por regressão polinomial ($p \leq 0,05$) utilizando o software SISVAR versão 5.6 em todas as análises. As análises de épocas demonstram que os dias decorridos interferiram nos fatores de plântulas anormais, demonstrando 39,59; 39,33; 36,02% respectivamente. E na oxidação (22,23; 52,03 e 38,89%) onde as duas últimas épocas não apresentaram diferenças estatísticas significativas. Nas análises realizadas no período final pode-se observar que as plantas do tratamento contendo 100% de sais demonstraram maior formação de brotos. Os tratamentos com 70 e 100% demonstraram maior número de folhas e maior comprimento de raízes. E o tratamento contendo 70% de sais obteve o maior comprimento de parte aérea. Já a formação de calos foi equivalente em todos os tratamentos. Conclui-se que as melhores doses, nessas condições, foram as doses de 100 e 70% de sais. E que os dias decorridos provocam aumento na oxidação das plântulas.

REFERÊNCIAS

- ¹ BERTOLI, A. et al. Aroma characterisation and UV elicitation of purple basil from different plant tissue cultures. **Food Chemistry** v.141 p.776–787, 2013.
- ² BAIS, H. P. et al. Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. **Plant Physiology And Biochemistry**, v. 40, p.983-995, 2002.
- ³ AHMADIAN, Elham et al., Investigation of Importance parameters of Plant Tissue (review) **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**. v. 5, p. 900-905, 2013.
- ⁴ ARIGITA et al. CO₂-enriched microenvironment affects sucrose and macronutrients absorption and promotes autotrophy in the *in vitro* culture of kiwi (*Actinidia deliciosa* Chev. Liang and Ferguson) **In Vitro Cellular & Developmental Biology** . v. 46, p. 312-322, 2010.

ANÁLISE DOS COMPOSTOS QUÍMICOS E AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DA JABUTICABA [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]

Luana Tedesco^a, Zilda Cristiani Gazim^b, Neslon Barros Colauto^b, Giani Andrea Linde^b

^aMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, luanatedesco08@gmail.com; ^bDocente do Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

A Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg), é uma planta frutífera nativamente Brasileira, fortemente cultivada nos estados do Pará, Rio Grande do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo. Esta planta apresenta flores brancas e frutos do tipo baga de coloração que varia do vermelho ao preto¹. As propriedades terapêuticas e a identificação de seus compostos químicos e bioativos vêm sendo minuciosamente estudada, a fim de propagar a sua comercialização^{2,3}, sendo o seu óleo essencial um grande promissor para a atividade antioxidante⁴. Os antioxidantes atuam impedindo o ataque dos radicais livres sobre moléculas do nosso organismo em especial a pele através da doação de elétrons, prevenindo de forma expressiva o envelhecimento precoce⁵. Desta forma, o objetivo deste trabalho é identificar os compostos químicos presentes no óleo essencial da jabuticaba obtida no período de dormência, floração e frutificação pelo método de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), bem como determinar a ação antioxidante, através dos métodos de sequestro de radicais livres (DPPH), β -caroteno/ácido linoléico e redução do ferro (FRAP). A obtenção do óleo essencial se dará por hidrodestilação utilizando o equipamento Clevenger modificado, por 4 horas, as folhas serão dessecadas a temperatura ambiente ($\pm 30^\circ\text{C}$) por 10 dias. O rendimento do óleo será determinado através da razão da massa das folhas secas pela massa do óleo essencial obtido (%). Dados das condições climáticas em que a planta vive como temperatura, índice pluviométrico e umidade relativa do ar serão obtidos junto à secretaria de Estado da Agricultura e Abastecimento da cidade de Francisco Beltrão, Paraná, Brasil e as análises do solo e folhas serão encaminhados para a empresa SOLANALISE Centro de Análise Ltda da cidade de Cascavel, Paraná, Brasil. A comprovação de seu potencial antioxidante contribuirá para o desenvolvimento de produtos cosméticos de função reparadora e antienvhecimento, servindo também como um coadjuvante na preservação de formulações com possível aumento no prazo de validade. Além disso, este trabalho servirá como estímulo ao cultivo desta planta em larga escala ou ainda na disponibilização de opções comerciais além dos frutos para os cultivos já existentes.

REFERÊNCIAS

- ¹ ASCHERI, D. P.R.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. Caracterização da farinha de bagaço de jabuticaba e propriedades funcionais dos extrusados. **Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment.** 26(4): 897-905, Campinas, 2006.
- ² LIMA, A. de J. B. et al. Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]. **Rev. Bras. Frutic.** Vol.33 Nº.3. Jaboticabal. 2011.
- ³SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C. MEIRELES, A. A. Extraction of antioxidant compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering.** Volume 101, Issue 1, p. 23–31. 2010.
- ⁴DUARTE, A. R. et al. Influence of spatial, edaphic and genetic factors on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* fruits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 4, p. 737–746, 2012.
- ⁵ HALLIWELL, B., & GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine.** 5ª Ed. Oxford University Press. 2015. p. 823.

DESCOLORAÇÃO DE CORANTES INDUSTRIAIS POR DIFERENTES LINHAGENS DE *Lentinus crinitus* DO NOROESTE DO PARANÁ

Pâmela Marangon Rapachi^a, Juliana Silveira do Valle^b

^aMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, UNIPAR, Umuarama-PR, pamela_marangon@hotmail.com;

^bDocente da Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, UNIPAR, Umuarama-PR.

Fungos basidiomicetos conhecidos como fungos da podridão branca da madeira possuem um sistema ligninolítico eficiente que conta com a secreção de oxidases extracelulares como as lacases, que atuam em cooperação para a degradação da lignina¹. Lacases possuem ampla variedade de substratos, são estáveis e requerem condições simples para catálise, aspectos que a tornam atrativa para aplicações biotecnológicas como em biorremediação². *Lentinus crinitus* é um fungo da podridão branca da madeira comum em todo o Brasil e produtor de lacase e com habilidade para degradação de corantes³. Corantes têxteis são considerados compostos recalcitrantes com potencial para causar danos ao ambiente⁴. Neste estudo avaliou-se a produção de lacase de três linhagens de *L. crinitus* (U9/1, U13/5 e U15/9) da coleção de culturas da Universidade Paranaense. As linhagens foram cultivadas em solução mineral contendo glicose (10 g/L), ureia (6 g/L) e indutor enzimático CuSO₄ (200 µM)³ para determinação da atividade de lacase. Em seguida, os fungos foram cultivados no mesmo meio, porém suplementado com 0,1% (m/v) dos corantes remazol azul brilhante R (RBBR), preto 5 (P5) e verde malaquita (VM), para avaliação do potencial de descoloração durante o cultivo. Todos os cultivos foram realizados em triplicata e mantidos a 28 °C, no escuro, por 15 dias e a atividade de lacase e a descoloração determinadas a cada 3 dias. As três linhagens produziram atividade máxima de lacase ($p \leq 0,05$) no 6º dia de cultivo: *L. crinitus* U13/5 (8926 U/L), *L. crinitus* U9/1 (3310 U/L) e *L. crinitus* U15/9 (2137 U/L). *L. crinitus* U9/1 foi a linhagem que mais descoloriu o corante azo P5 com 14% de degradação no 4º dia de cultivo (lacase 3526 U/L) e U15/9 descoloriu 11% de P5 também no 4º dia (lacase 2939.5 U/L). O corante antraquinônico RBBR foi descolorido com mais eficiência por *L. crinitus* U13/5, 32% no 2º dia de cultivo (lacase 2006 U/L) e *L. crinitus* U9/1 promoveu máximo de 12% de descoloração do RBBR no 3º dia de cultivo (lacase 2152.5 U/L). O corante triarilmetano VM foi o que sofreu maior degradação pelas linhagens de *L. crinitus*. *L. crinitus* U13/5 promoveu 95% no 4º dia de cultivo (lacase 447.5 U/L) e U9/1 degradou 17% no 3º dia de cultivo com atividade (lacase 3032 U/L). Os resultados obtidos permitem concluir que *L. crinitus* possuem potencial para degradação de corantes têxteis e que a capacidade de descoloração depende da linhagem avaliada.

REFERÊNCIAS

- ¹LEONOWICZ, A. et al. Review: **Biodegradation of lignin by white rot fungi**. Fungal Genetics and Biology, 27: 175-185, 1990.
- ²MAJEAU, J. et al. **Laccases for removal of recalcitrant and emerging pollutants**. Bioresource Technology, v. 101, p. 2331-2350, 2010.
- ³VALLE, J.S. et al. **Optimum conditions for inducing laccase production in *Lentinus crinitus***. Genetics and Molecular Research, v. 13, p. 8544-8551, 2014. B.
- ⁴MOTA, T.R. et al. **Decolourization of congo red by *Ganoderma lucidum* laccase: evaluation of degradation products and toxicity**. Water Air and Soil Pollution, v. 226, p. 1-11, 2014.
- ⁵NIEBISCH, C. H. et al. **Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus* extracellular extract**. Journal of Hazardous Materials, v. 5, p. 316-322, 2010.

ATIVIDADE NEMATICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Achillea millefolium*

Sephora Serrano Baldisera^a, Wanessa de Campos Bortolucci^a, Raiane Pereira Schwengber^b, Victor César Sartori André^b, Simone de Melo Santana-Gomes^c, Zilda CristianiGazin^d

^aMestranda do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, sephorabald@hotmail.com; ^bGraduando do curso de Engenharia Agrônômica; Unipar, Umuarama-PR; ^cDocente do curso de Agronomia, Medicina Veterinária e do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR; ^dDocente do curso de Farmácia, Estética e Cosmética e do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

Nematoides são fitopatógenos que parasitam plantas, se alimentando, na maioria das vezes, das partes subterrâneas, de onde extraem os nutrientes, causando danos mecânicos ao hospedeiro ao se movimentarem e penetrarem nos tecidos, reduzindo a produtividade e a qualidade do produto¹. A alface é muito susceptível a este agente patogênico, demonstrando quando afetada, sintomas de nanismo e outras irregularidades que dificultam sua comercialização² resultando em perdas de produção que são estimadas entre 10 e 20%³. Em função dessas perdas, a utilização de óleos essenciais pode vir a ser uma alternativa sustentável para o controle destes fitopatógenos, visto que as plantas medicinais são ricas em compostos biologicamente ativos que podem servir como fonte de estudo para o desenvolvimento de produtos naturais⁴. A planta *Achillea millefolium* (Pollard) D.D. Keck, pertence à família *Asteraceae*, é originária da Europa e cultivada em hortas domésticas em quase todo o Brasil, demonstrando capacidade de adaptação a diferentes condições climáticas⁵. Seu óleo essencial apresenta uma coloração azul intensa⁶ e tem despertado interesses em pesquisadores de diversas áreas, com comprovada ação de atividade antiinflamatória⁷ à inseticida contra a lagarta-do-cartucho-do-milho⁸. Como parte da pesquisa, testes *in vitro* e *in situ* serão realizados. Para o teste *in vitro*, serão preparadas onze diluições do OE e dois tratamentos controle (positivo e negativo), onde será inserido em cada unidade experimental, aproximadamente, 200 espécimes do nematoide *Pratylenchus brachyurus*, devendo ser armazenadas em estufa bacteriológica por 24 e 48 h, a 26°C. Decorridos esses períodos, as amostras serão lavadas e contadas (espécimes mortos) em câmara de Peters, sob microscópio ótico. Para o teste *in situ*, mudas de alface serão transplantadas para vasos (3L) com solo autoclavado, após 15 dias serão inoculadas com suspensão de nematoides de, aproximadamente, 2000 espécimes *P. brachyurus* vaso⁻¹. Em seguida, 15 dias após a inoculação, será aplicado quatro melhores concentrações do óleo essencial, pré-selecionadas *in vitro*, e dois tratamentos testemunha (controle positivo e negativo), aplicado em dois momentos diferentes durante o ciclo da cultura. Decorridos os 35 dias da aplicação, serão avaliados os parâmetros vegetativos, altura da planta, índice de clorofila, massa de raiz, massa da parte aérea fresca e seca, sendo esta última obtida por secagem em estufa de circulação forçada, a 65°C, a massa constante. Quanto aos parâmetros nematológicos, será determinado

o número de nematoides por sistema radicular, por grama de raiz, nematoides no solo, população total e fator de reprodução.

REFERÊNCIAS

⁴ANDRADE, S. F.; CARDOSO, L. G.; BASTOS, J. K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacoly**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.

⁸CASTRO, D. P.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; SANTOS, N. M.; BALIZA, D. P. Não preferência de *Spodopterafrugiperda* (Lepedoptera: Noctuidae) por óleo essencial de *Achilleamillefolium* e *Thymusvulgaris* L.**Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 8, n. 4, p. 27-32, 2006.

⁷CHOU, S. I.; PENG, H. Y.; HSU, J. C.; LIN, C. C.; SHIH, Y. *Achilleamillefolium* L. essentialoilinhibits LPS-inducedoxidative stress andnitric oxide production in RAW 264.7 macrophages. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 14, n. 7, p. 12978-12993, 2013.

⁶FERRAZ, E. O.; BERTOLCCI, A. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; BRAGA, A. F.; COSTA, A. G. Organic systems in thegrowthandessentialoilproductionoftheyarrow. **Rev. Ciênc. Agron.** Fortaleza, v. 45, n. 1, 2014.

¹FREITAS, L. G.; LIMA, R. D.; FERRAZ, S. **Introdução a nematologia**. Viçosa: UFV, 2001. 4-5 p.

⁵LORENZI, H. E.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil/ Nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2002. 129 p.

³PINHEIRO, J. B.; AMARO, G. B.; PEREIRA, R. B. Ocorrência e controle de nematóides em hortaliças folhosas. Brasília: **Embrapa hortaliças**, p. 10, 2010.

²ZHANG, L. Y.; ZHANG, Y. Y.; CHEN, R. G.; ZHANG, J. H.; WANG, T. T.; LI, H. X.; YE, Z. B. Ectopicexpressionofthetomato*Mi-1* gene confersresistanceto root knotnematodes in lettuce. **Plant. Mol. Biol. Rep.**, v. 28, p. 204-211, 2010.

PRODUÇÃO DE LIGNINASES POR BASIDIOMICETOS EM CO-CULTIVO

Katielle Vieira Avelino^a, Juliana Silveira do Valle^b

^aMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, UNIPAR, Umuarama-PR, katielleavelino@hotmail.com; ^bDocente do Mestrado e Doutorado em Biotecnologia Aplicada a agricultura, UNIPAR, Umuarama-PR

A indústria têxtil é um dos setores industriais mais poluidores em virtude do volume e da composição do efluente gerado¹. Estes efluentes têm misturas complexas de compostos coloridos e recalcitrantes que, ao serem liberados na natureza, contaminam o solo e águas naturais, prejudicando os processos de fotossíntese e bioacumulando substâncias tóxicas em organismos aquáticos¹. Tratamentos convencionais para detoxificação de efluentes não são totalmente eficazes e exigem tecnologias adicionais que visam minimizar impactos ambientais. Os fungos basidiomicetos produzem um conjunto de enzimas ligninolíticas extracelulares capazes de oxidar componentes fenólicos e que apresentam baixa especificidade aos seus substratos². Por isso, podem ser empregadas em vários processos industriais, incluindo em biorremediação e no tratamento de efluentes coloridos. Entretanto, a produção de enzimas é um processo caro que pode limitar cadeias produtivas o que demanda o desenvolvimento de processos de produção viáveis com estratégias para aumentar a produtividade com redução dos custos de produção. O co-cultivo de microrganismos em bioprocessos é usado com pouca frequência, porém, as interações metabólicas durante o co-cultivo de fungos desempenham papel importante no aumento da produção enzimática³, o que representa uma alternativa interessante para produção de enzimas. O objetivo desse trabalho é avaliar a capacidade de espécies de basidiomicetos produzirem ligninases em co-cultivo e o potencial dessas enzimas em descolorir corantes sintéticos. Serão avaliados os fungos *Lentinus crinitus* U9-1, *Pycnoporus sanguineus* U13-4, isolado U16-5 e *Pleurotus ostreatus* U12-3, pertencentes à coleção de culturas do Laboratório de Biologia Molecular da UNIPAR. Os fungos serão cultivados isoladamente e em co-cultivo (dois a dois em todas as combinações possíveis) em meio ágar extrato de malte (AEM) 2% suplementado com guaiacol 0,01% para análise qualitativa da produção de ligninases e em AEM 2% suplementado com corante Remazol azul brilhante R (RBBR) a 0,01% para análise qualitativa do potencial de descoloração. Serão realizados ensaios para a análise quantitativa de produção de ligninases em co-cultivo submerso. Os fungos serão inoculados isoladamente e em co-cultivo (dois a dois em todas as combinações possíveis) em meio definido contendo glicose (10g/L) e ureia (6g/L) e mantidos a 28°C, no escuro por 15 dias. No último dia de cultivo as atividades de lacase, manganês peroxidase e lignina peroxidase serão determinadas. Os extratos enzimáticos produzidos também serão utilizados em testes de descoloração de diferentes corantes sintéticos. Adicionalmente, as combinações de co-cultivo que produzirem as maiores atividades enzimáticas, serão avaliadas quanto ao potencial de descoloração *in cultura*. Será utilizado o mesmo meio com glicose e ureia, porém, suplementado com diferentes corantes em diferentes concentrações. A atividade enzimática das ligninases e a descoloração serão acompanhadas a cada 5 dias por 15 dias. Ao final, o micélio será analisado para verificação da ocorrência de adsorção do corante.

REFERÊNCIAS

¹KUNZ, A. et al. Novas Tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, p. 78-82, 2002.

²ELISASHVILI, V. et al. Effect of aromatic compounds on the production of laccase and manganese peroxidase by white-rot basidiomycetes. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 37, p. 1091-1096, 2010.

³BADER, J. et al. Relevance of microbial co-culture fermentations in biotechnology. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, p. 371-387, 2010.

FLUXO DE PRODUÇÃO DO *Lentinus crinitus* CULTIVADO EM BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E CASCA DE ARROZ

Itaruã Machri Colla^a, Míria Benetati Delgado Bertéli^a, Janyeli Dorini de Freitas^b, Ana Daniela Lopes^a, Giani Andrea Linde^a, Nelson Barros Colauto^a

^a Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Universidade Paranaense.

^b Graduação em Química Industrial da Universidade Paranaense.

A maioria dos basidiomicetos produtores de cogumelos comestíveis tem capacidade de crescer em diversos substratos lignocelulósicos¹. Subprodutos agrícolas ou agroindustriais são potenciais substratos que em geral são dispostos no ambiente sem um uso que agregue valor². Na safra de 2015/2016, região Centro-Sul do Brasil, estima uma colheita de 617,65 milhões de toneladas de cana-de-açúcar³. O bagaço de cana-de-açúcar resultante da produção de álcool é utilizado na geração de energia pela queima em caldeiras, porém ainda há um excedente sem um destino mais nobre para esse subproduto⁴. O Brasil está entre os 10 maiores produtores mundiais de arroz⁵, com uma produção de 11 milhões de toneladas na safra de 2014/2015⁶, proporcionando um resíduo de 20% de casca de arroz⁷. A produção de cogumelos comestíveis a partir de subprodutos agrícolas e/ou agroindustriais é uma alternativa de produção e agregação de valor aos subprodutos de forma sustentável e econômica. Cogumelos comestíveis são fontes nutricionais com propriedades terapêuticas e capazes de produzir enzimas para degradar compostos xenobióticos⁸. *Lentinus crinitus* tem aplicações biotecnológicas na biorremediação, porém é pouco explorado para produção de cogumelos, sendo capaz de utilizar substratos lignocelulósicos⁹. O objetivo deste estudo será avaliar o fluxo de produção do *L. crinitus* cultivado em bagaço de cana-de-açúcar e casca de arroz. A linhagem U9-1 de *L. crinitus* será utilizada. Para a produção do inóculo serão utilizados grãos de trigos cozidos e autoclavados a 121 °C por 40 min, inoculado com o fungo e incubado até completa colonização no escuro. O substrato de produção serão misturas de bagaço de cana-de-açúcar (BC) e a casca de arroz (CA) dividida em quatro tratamentos, com 10 repetições cada, nas seguintes proporções: 100% BC (T1, controle), 87,5% de BC e 12,5% de CA (T2), 75% de BC e 25% de CA (T3) e 50% de BC e 50% de AC (T4). Os sacos com o substrato serão autoclavados a 121°C durante 2 h e após o resfriamento serão adicionados de 2% do inóculo, mantidos em sala de cultivo a 27 °C ± 1 °C com umidade relativa do ar entre 80-90% até completa colonização do substrato. Os cogumelos produzidos serão colhidos diariamente e a massa, número, tamanho de estipe e píleo serão mensurados. Uma amostra do substrato de cada tratamento será retirada para análises físico-químicas. A eficiência biológica será calculada ao término do cultivo. Um delineamento inteiramente casualizado, utilizando o teste de Tukey a 5%, será utilizado.

Referências

¹BERNARDI, E.; DONINI, L. P.; MINOTTO, E.; NASCIMENTO, J. S. Utilização de diferentes substratos para a produção de inóculo de *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. **Revista Ciência Agronômica**, v.38, p.84-89, 2007.

²PELIZER H. L.; PONTIERI H. M.; MORAES O. I. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v. 2, p. 118- 127, 2007.

³CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento, 2015. Disponível em <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_13_08_49_33_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_15-16.pdf> Acesso em 26/06/2016.

⁴PANDEY, A.; SOCCOL, C. R; MITCHELL, D. New developments in solid state fermentation: lbioprocesses and products. *Process Biochemistry*. v. 35, p. 1153–1169. 2000.

⁵MINISTERIO DA AGRICULTURA, 2010. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>> Acesso em 28/06/2016.

⁷AGUIAR, C. L.; MENEZES, T. J. B. Conversão enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 5, p. 52-55, 2002.

⁸BONONI, V. L.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R. Cultivo de cogumelos comestíveis. São Paulo: Ícone, 1995. 206 p.

⁹NIEBISCH, C. H.; MALINOWSKI, A. K.; SCHADECK, R.; MITCHELL, D. A.; CORDEIRO, V. K.; PABA, J. Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus* extracellular extract. **Journal of Hazardous Materials**. v. 180, p. 316–322, 2010.

Curcuma zedoaria* no controle de *Aedes aegypti

Herika Line Marko de Oliveira^a, Jessica Souza de Oliveira^b, Larissa Dantas Gasques^b, Jessica de Souza Alves^c, Wanessa de Campos Bortolucci^d Zilda Cristiani Gazim^e

^aDiscente do Curso de Farmácia – PEBIC-CNPq Unipar, Umuarama– PR, herika_line@hotmail.com, ^b Discente do Curso de Farmácia – PIC Unipar, ^cDiscente do Curso de Química Industrial– PIC Unipar, ^dMestranda do Programa de Biotecnologia aplicada à agricultura– Unipar,Umuarama, ^eDocente do curso de Farmácia e do Programa de Biotecnologia aplicada a agricultura – UNIPAR

A *Curcuma zedoaria* (Berg). Rosc pertencente à família Zingiberaceae, é uma planta herbácea aromática provida de rizoma rico em óleo essencial (OE), com atividade antimicrobiana, inseticida e citotóxica¹. É uma planta exótica, oriunda do sul e sudeste da Ásia, mas que está bem aclimatada na região sul do Brasil, especialmente na região noroeste do estado do Paraná. Apresenta um ciclo vegetativo bem definido, onde ocorre a brotação das gemas no verão; o cessar do crescimento, a formação de gemas e a senescência e abscisão foliar no outono e a dormência no inverno^{2,3}. Seu cultivo é fácil e seu óleo essencial é pouco estudado quanto à composição química e atividades biológicas. O rizoma é constituído principalmente por pineno, canfeno, cineol, cânfora e borneol¹. O objetivo do presente experimento consistiu na avaliação da atividade do OE de *C. zedoaria* obtido no período de dormência sobre larvas e pupas do *Aedes aegypti*. O OE foi obtido pelo processo de hidrodestilação por duas horas⁴, e foi diluído nas concentrações de (25,00; 12,5; 6,20; 3,10; 1,5; 0,7; 0,39; 0,19; 0,09; 0,04; 0,02 mg/ml). O experimento foi conduzido em triplicata utilizando cinco larvas no terceiro estágio de *A. Aegypti* e cinco pupas as quais foram adicionadas em 10 mL das diferentes concentrações do OE, pelo teste de imersão larval^{5,6}. Para o controle negativo foi utilizado uma solução com polissorbato 80 a 2% e no controle positivo um organofosforado a base de Temephós® na concentração de 400 mg/mL⁷. Larvas e pupas ficaram expostas ao OE nas diferentes concentrações por 24 horas⁸ e foram consideradas mortas, aquelas que apresentou ausência de movimentos e não responderam aos estímulos⁶. As doses letais (DLs) foram determinadas através da análise de Probitos, encontrando para as larvas a DL₅₀ 0,169 ± 0,001 mg/ml e a DL_{99,9} 1,155 ± 0,001 mg/ml. Para as pupas foram encontradas DL₅₀ 1,03 ± 0,04 mg/ml e a DL_{99,9} 19,28 ± 0,259 mg/ml, evidenciando que OE de *C. zedoaria* apresenta potencial sobre o *Aedes aegypti*, podendo vir a ser utilizado como alternativa no controle deste mosquito.

REFERÊNCIAS

- ¹GUENTHER, E. **The essential oils**. Toronto D. Van Nostrand, p. 342, 1952.
- ²RINNE, P.L.H.; WELLING, A.; VAN DER SCHOOT. C. 2010. Perennial Life Style of Populus: Dormancy Cycling and Overwintering. In: Jasson S, Bhalerao R, Groover A. eds. Genetics and Genomics of Populus. Ed. Springer, New York, 171-200.
- ³DING, J.; NILSSON, O. Molecular regulation of phenology in trees — because the seasons they are a-changin'. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 29, p. 73–79, 2016.
- ⁴LAI, E. Y. C. et al. Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of the Essential Oil of *Curcuma zedoaria* **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 32, N. 2, p. 281– 290 2004
- ⁵COSTA, J. G. M. et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v.15, n. 4. p. 304–309, 2005.
- ⁶BONATO, C. M.; CAVALCA, P. A. M.; LOLIS, M. R. B. Homeopathic and Larvicide Effect of *Eucalyptus cinerea* Essential Oil against *Aedes aegypti*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 53, p. 835–843, 2010.
- ⁷CAMARGO, M.F. et al. Avaliação da ação residual do larvicida temephós sobre o *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) em diferentes tipos de recipientes. **Revista de Patologia Tropical**. v. 27, p. 65–70, 1998.
- ⁸CARVALHO, A. F. U. et al. Larvicidal Activity of the Essential Oil from *Lippia sidoides* cham.against *Aedes aegypti* Linn. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 98, p. 569–571, 2003.

BIODISPONIBILIDADE *IN VITRO* DE FERRO BIOACUMULADO EM MICÉLIO DE BASIDIOMICETOS

¹SIMONE SCHEID VILANDE, ²NELSON BARROS COLAUTO, ²GIANI ANDREA LINDE

¹Mestranda em Biotecnologia aplicada à agricultura – UNIPAR, simonescheid@hotmail.com

² Professor da Pós graduação em Biotecnologia aplicada à agricultura - UNIPAR

O ferro é um metal essencial para o metabolismo humano, pois participa de processos importantes como: síntese de DNA, síntese de hemoglobina, reações de óxido-redução, entre outros. Grande parte do ferro provém da fagocitose de eritrócitos velhos, mas uma pequena quantidade é perdida e deve ser reposta através da dieta humana². Nos alimentos o ferro é encontrado na forma heme, proveniente das carnes, e a forma não heme, presente nos vegetais. O ferro presente nos vegetais é pouco disponível, passando por diversas etapas de transformação para ser absorvido e utilizado pelo organismo³. Quando há mais ferro sendo eliminado e pouco absorvido, ocorre a anemia por deficiência de ferro. Esta anemia tem alta prevalência mundial, afetando, principalmente, crianças e mulheres em idade reprodutiva¹. Os fungos tem habilidade em bioacumular metais e alguns são essenciais para o seu crescimento, como ferro, zinco e cobre⁵. Resultados obtidos em nosso laboratório indicam que fungos basidiomicetos têm alta capacidade de bioacumular ferro. O melhor meio de cultivo definido para bioacumulação de ferro foi o melaço de cana de açúcar⁴. Apesar destes resultados ainda não se sabe a biodisponibilidade do ferro bioacumulado. Assim, o objetivo deste trabalho será determinar a biodisponibilidade *in vitro* no micélio de basidiomicetos bioacumulados com ferro. O meio de cultivo de melaço de cana de açúcar será utilizado para a produção de biomassa micelial e bioacumulação de ferro dos basidiomicetos. Será adicionado 90ppm de Fe e 0,9 ppm de Mn. O meio será inoculado e o crescimento do fungo será mantido por 14 dias a 25°C no escuro. Será feita a separação e secagem da biomassa para poder quantificar o ferro bioacumulado através de Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Chama (GBC 932 plus). Para a determinação de biodisponibilidade do ferro *in vitro* serão utilizadas as melhores amostras que serão moídas em gral e peneiradas. As amostras serão submetidas a digestão por enzimas gástricas, pepsina e pancreatina. Fontes convencionais de ferro serão utilizadas para o controle e serão preparadas nas mesmas condições que o micélio. Espera-se verificar qual a biodisponibilidade do ferro bioacumulado em micélio de basidiomicetos a fim de melhor entender esta possível fonte de alimento para reposição de ferro em dietas deficientes.

Referências

¹CLARK, S.F. **Iron deficiency anemia: diagnosis and management.** Current Opinion in Gastroenterology, 2009.v.25, p. 122-128.

²DUNN, L.L.; RAHMANTO, Y.S.; RICHARDSON, D.R. **Iron uptake and metabolism in the new millennium.**Trends in Cell Biology, 2007.v.17, n.2, p. 93-100.

³JOHNSON-WIMBLEY, T.D.; GRAHAM, D.Y. **Diagnosis and management of iron deficiency anemia in the 21st century.**Therapeutic advances in gastroenterology, 2011.v.4, n.3, p 177-84.

⁴MENIQUETI, A.B. et al. **Condições de cultivo na bioacumulação de ferro por diferentes espécies de fungos basidiomicetos.** Dissertação de mestrado. Universidade Paranaense. Umuarama, 2015.

⁵YOKOTA, M.E. et al. **Basidiocarps: production, bioavailability and antioxidant activity.** Genetics and Molecular Research, 2016. v. 15, n.1, p.1-10.

MODULAÇÃO DOS GENES QUE CODIFICAM ENZIMAS DE ASSIMILAÇÃO AO NITROGÊNIO EM MILHO PIPOCA SUBMETIDO À TOXICIDADE AO ALUMÍNIO

Claudia Borsari Trevizan^a, Silvia Graciele Hülse de Souza^b

^aMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, cborsaritrevizan@gmail.com; ^bDocente da Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR.

A pipoca é uma cultura comercial importante em todo o mundo. Na maioria dos solos agrícolas, o teor de alumínio (Al) livre no solo pode atingir níveis tóxicos para as plantas, sendo frequentemente, um fator limitante ao aumento da produtividade das culturas. O seu efeito tóxico pode inibir o crescimento radicular das plantas, com efeitos subsequentes na absorção de água e nutrientes, como o nitrogênio (N) essencial para o desenvolvimento das plantas, adquirido principalmente pelas raízes na forma de nitrato (NO₃⁻) através da atividade de certas enzimas. Desta forma, o objetivo deste trabalho será avaliar a influência do estresse alumínio no metabolismo do nitrogênio, na modulação dos genes Nitrato Redutase (NR) e Glutamina Sintetase (GS) e sua atividade enzimática em dois genótipos de milho pipoca. Para isso, serão utilizados dois genótipos de milho pipoca com diferentes níveis de tolerância ao alumínio. Plantas com 30 dias de idade serão submetidas ao estresse por alumínio. O delineamento experimental será inteiramente casualizado e cada tratamento terá três repetições. Folhas e raízes serão coletadas e armazenadas em freezer -80°C. Os metabólitos, proteínas e aminoácidos serão quantificados por análises bioquímicas e a atividade das enzimas NR e GS serão analisadas por ensaios enzimáticos. A análise da expressão dos genes candidatos que codificam as enzimas nitrato redutase e a glutamina sintetase será conduzida extraíndo-se o RNA total das folhas e raízes, obtendo o cDNA e posteriormente será realizada a quantificação por Real time-PCR dos genes de interesse. A quantificação da expressão será calculada pelo método $\Delta\Delta Ct$ ¹. Além disso, estudos citogenéticos serão conduzidos com o intuito de avaliar o efeito citotóxico do alumínio no crescimento do meristema radicular das plantas de milho pipoca. Sendo assim, este projeto fornecerá informações na compreensão dos mecanismos genético-fisiológicos do milho pipoca envolvidos na assimilação e nutrição do nitrogênio quando submetido à toxicidade ao alumínio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹LIVAK, K.J.; SCHMITTGEN, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻[Delta Delta C(t)] method. **Methods** 25:402-408, 2001.

RESPOSTA ANTIOXIDATIVA E PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum basilicum* L. SUBMETIDO AO DEFICIT HÍDRICO

Patrícia Fernanda Augusto da Motta Novello^a, Caroline Tait^b, Juliana Almeida^c,
Cristine Bonacina^a, Zilda Cristina Gazim^d e Silvia Graciele Hülse de Souza^d

^aMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, patriciamottanovello@yahoo.com; ^bDiscente do Curso de Farmácia, Unipar, Umuarama-PR; ^cDiscente do Curso de Engenharia Agrônômica, Unipar, Umuarama-PR ^dDocente da Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR.

A espécie de *Ocimum basilicum* pertence a família Lamiaceae e é conhecida popularmente como manjeriço. Há uma grande demanda por essa espécie, uma vez que na sua composição contem o monoterpene linalol, um importante composto empregado como matéria-prima nas indústrias: de perfumaria, cosméticos, alimentícias e de bebidas. Além disso os metabólitos secundários dessas plantas desempenham um papel importante na interação planta-ambiente. Elas são sintetizadas em vários órgãos ou tecidos em determinadas fases do ciclo de desenvolvimento e em resposta a diferentes estímulos ambientais, tanto os bióticos como os abióticos. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar plantas de manjeriço doce (*O. basilicum*) submetidas ao déficit hídrico influenciaram o desenvolvimento e rendimento do óleo essencial. Para isso, plantas com 30 dias de idade foram submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico controle (90-100% da capacidade de campo), moderado (60%-70% da capacidade de campo) e severo (30-40% da capacidade de campo). Foram utilizados 10 vasos por tratamento, mantidos em casa de vegetação por 60 dias. As plantas foram coletadas e mensuradas quanto a massa (g), desenvolvimento (cm), conteúdo de água das folhas (%), rendimento (%) e a atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) da parte aérea. O Óleo essencial foi extraído por hidrodestilação. O teor de água das folhas reduziu de 69,27%, 66,87% e 58,04% para os tratamentos controle, moderado e severo, respectivamente. Houve uma redução do rendimento de 8192,7%, 0,4638% e 0,24% para os tratamentos controle, moderado e severo, respectivamente. Um dos mecanismos que a célula dispõe para dismutar radicais livres produzidos em condição de deficiência hídrica é a ativação de enzimas antioxidantes. As enzimas APX e CAT foram analisadas. A catalase (CAT) apresentou atividade: 6,5, 8,0 e 7,0 nmol⁻¹min⁻¹gMF para os tratamentos controle, moderado e severo, respectivamente. Já a ascorbato peroxidase (APX) apresentou atividade de 17,08, 16,65 e 15,50 nmol⁻¹min⁻¹gMF, para os tratamentos controle, moderado e severo, respectivamente. As informações obtidas neste trabalho são parciais, uma vez que este estudo encontra-se em fase de execução.

REFERÊNCIAS

1. JENKS, M. A., HASEGAWA, P. A.; **Plant Abiotic Stress**. Oxford: Blackwell, 270 p., 2005.
2. MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Science**, v.7, n.9, p. 405-10. 2002.
3. SOARES, A. M. S., MACHADO, O. L. T. **Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio**. Revista Tropica – Ciências Agrárias e Biológicas. v.1, n.1, p. 9, 2007.

ANÁLISE DO PERFIL DE EXPRESSÃO DOS GENES QUE CODIFICAM ENZIMAS DE ASSIMILAÇÃO DO NITROGÊNIO EM GENÓTIPOS DE MILHO DOCE SUBMETIDOS A ESTRESSE SALINO

Ana Claudia das Graças Alves^a; Ana Daniela Lopes^b

^aMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, alves_anaclaudia@outlook.com; ^bDocente do Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR.

O cultivo do milho doce (*Zea mays* L.) tem aumentando, expandindo para áreas com alto potencial para a acumulação de sais no solo ou solos irrigados com fontes hídricas contendo alto teor de sais dissolvidos¹. A salinidade é um dos mais importantes fatores abióticos passíveis de gerar estresse em plantas na natureza², podendo alterar o crescimento e desenvolvimento, e a absorção e transporte de nutrientes, como o nitrogênio³. O objetivo deste trabalho é avaliar a influência da salinidade na assimilação de nitrogênio analisando o perfil de expressão dos genes que codificam as enzimas nitrato redutase (NR) e glutamina sintetase (GS) em plantas de milho doce submetidas a estresse salino, bem como analisar como a salinidade interfere na atividade enzimática da NR e GS e nos parâmetros indicativos de dano oxidativo. Para isto, serão avaliados dois genótipos de milho doce durante o período de germinação das sementes e nos estágios de desenvolvimento das plântulas. O estresse será realizado pela exposição das sementes e plântulas a 15 mL de solução de NaCl a 50, 75, 100, 125 e 150 mM. O controle será feito com água destilada sem NaCl. Dez dias após transferência para solução completa de Hoagland, as plântulas serão tratadas com solução de NaCl. O período de estresse salino será de 3 dias. Para a avaliação da expressão dos genes da NR e da GS, plantas de milho doce serão irrigadas, 30 dias após a semeadura, com solução de NaCl (50, 75, 100, 125 e 150mM). As análises serão feitas durante 16 dias com as seguintes amostragens: dia 0, 2, 4, 8 e 16. O grupo controle será irrigado apenas com água destilada. Ao final do experimento as folhas das plantas submetidas às mesmas condições de estresse serão coletadas e será extraído o RNA e sintetizado o cDNA utilizando kits comerciais. A expressão dos genes será avaliada semi-quantitativamente por RT-PCR. A quantificação dos transcritos dos genes analisados será padronizada usando os dados do gene constitutivo da ubiquitina (UBQ) como normalizador. O produto de PCR amplificado será submetido à eletroforese em gel de agarose, as imagens obtidas serão avaliadas densitometricamente e a quantificação da intensidade das bandas será feita por meio do software específico. Os parâmetros avaliados serão: conteúdo de prolina, conteúdo de peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica, estimada com base no conteúdo de malondialdeído (MDA), e atividade das enzimas NR e GS. Os dados obtidos serão submetidos à análise estatística.

REFERÊNCIAS

- ¹MEDEIROS, J. F.; LISBOA, R. A.; OLIVEIRA, M. SILVA JÚNIOR, M. J.; ALVES, L. P. Caracterização das águas subterrâneas usadas para irrigação na área produtora de melão da Chapada do Apodi. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.7, p.46-472, 2003.
- ²TUTEJA, N., PETER SINGH, L., GILL, S. S., GILL, R., & TUTEJA, R. Salinity stress: a major constraint in crop production. **Improving Crop Resistance to Abiotic Stress**, v. 1/2, p. 71-96, 2012.
- ³ZHU, J.K. Plant salt tolerance. **Trends in plant science**, v. 6, n. 2, p. 66-71, 2001.

CONCENTRAÇÃO DE SAIS EM MANJERICÃO ROXO (RED RUBIN) CULTIVADO *IN VITRO*

Flávio Julian da Silva^a, Jéssica Rezende Tettrel^a, Andressa Bezerra Nascimento^b, Héliida Mara Magalhães^c

^aMestrandos em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, flavio_julian@outlook.com; ^bDiscente do curso de engenharia agrônômica da, Unipar, Umuarama-PR; ^cDocente do Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

O *Ocimum basilicum* popularmente conhecido como manjeriçãõ é uma planta da família Lamiaceae de origem africana. Essa espécie se desenvolve em países tropicais e subtropicais. Tem sido utilizada na medicina tradicional e culinária e possui um óleo essencial rico em linalool e eugenol. A micropropagação é uma técnica no cultivo *in vitro* que possibilita a propagação rápida de plântulas em larga escala. Cada espécie vegetal necessita de um protocolo ideal para seu desenvolvimento. Sendo assim, objetivou-se avaliar o desenvolvimento do manjeriçãõ roxo (red rubin) em diferentes concentrações de sais do meio Murashige e Skoog (MS). Para o experimento foi utilizado sementes de *O.basilicum* obtidas comercialmente da marca ISLA®. Os ensaios foram conduzidos no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UNIPAR. As sementes foram esterilizadas sob fluxo laminar em uma solução de álcool 70% durante 2 minutos e posteriormente em uma solução de hipoclorito 2% (v v⁻¹) durante 10 min. Após, isso foram lavadas quatro vezes em água deionizada e autoclavada. Até o momento da inoculação as sementes permaneceram imersas em 5 ml de água em placas de petri. As sementes providas da fase de assepsia foram inoculadas em frascos de vidro transparente com capacidade de 350 ml, contendo 50 ml meio de cultura MS em cinco concentrações diferentes (0, 25, 50, 75 e 100%); acrescido de dois reguladores de crescimento 0,5 µM benzilaminopurina (BAP), 1,0 µM de ácido naftalenoacético (ANA), 30g/L de sacarose ,6,6g/L de ágar e pH ajustado para 5,8. As médias foram submetidas a análise de variância e posteriormente comparadas por regressão polinomial a 5%. O maior comprimento e massa da parte aérea foi obtido nas concentrações de sais a 100%. Para o desenvolvimento da raiz observou-se maior comprimento e massa na adição de 70% a 75% da concentração original de sais do meio MS. No desenvolvimento da parte aérea o manjeriçãõ apresentou melhor desenvolvimento na concentração original, entre tanto para o alongamento da raiz houve melhores resultados na concentração de 70% de sais.

Palavras-chave: *Ocimum basilicum*, micropropagação, meio MS

REFERÊNCIAS

¹SIMON, J. E. et al. Basil: A Source of Aroma Compounds and a Popular Culinary and Ornamental Herb. **American Society for Horticultural Science Press**, Alexandria, v4. p. 499–505, 1999.

²CHERUVATUR, M.K.; ABRAHAM, J.; THOMAS T. D. In vitro micropropagation and flowering in Ipohemia sepiaria Roxb. An important ethanomedicinal plant. **Asian Pacific Journal of Reproduction**. Tamil Nadu, v4. p. 49-53.2015.

ESTUDO COMPARATIVO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS E FRUTOS DA PIMENTA ROSA.

Wanessa de Campos Bortolucci^a, Sephora Serrano Baldisera^a, Natalia Raquel Abreu^b,
Eloisa SchneiderSilva^c, HerikaLineMarko de Oliveira^d, Keila
FernandaRaimundo^e, GianiAndrea Linde^f, Zilda Cristiani Gazim^f

^aMestranda do Programa de Biotecnologia aplicada à agricultura – Unipar, Umuarama-PR, wanessaborto84@hotmail.com; ^dDiscente do curso de Farmácia (PIC)– Unipar, Umuarama-PR, ^cDiscente do curso de Farmácia (PIBITI) – Unipar, Umuarama-PR, ^dDiscente do curso de Farmácia (PEBIC) – Unipar, Umuarama-PR, ^eDoutoranda do Programa de Biotecnologia aplicada à agricultura – Unipar, Umuarama-PR, ^fDocente do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – Unipar, Umuarama-PR

A pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*) é uma planta nativa da América do Sul e seus frutos possuem propriedades medicinais, cosméticas, alimentares, farmacológicas¹. Desta forma o óleo essencial (OE) da pimenta rosa desperta interesse quanto seus compostos químicos e atividades biológicas². O presente estudo teve como objetivo a obtenção dos OE das folhas e frutos e a avaliação de sua composição química. As folhas frescas e frutos maduros da pimenta rosa foram submetidos ao processo de hidrodestilação durante 2 h, seco com Na₂SO₄. Posteriormente foi realizada a identificação química por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas³, em um cromatógrafo HP 5890B Série II, acoplado a espectrometria de massas HP-5971, equipado com coluna capilar de sílica fundida J&W Scientific DB5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), modo split (1:30), sendo utilizado o gás hélio como arraste. As temperaturas do injetor e detector foi 220 e 285°C, respectivamente. A programação da temperatura da coluna foi: 60°C durante 2 min, seguida por aquecimento até 180°C com uma rampa de 2°C min⁻¹; permanecendo em 180°C por 4 min. Seguido por aquecimento até 260°C com rampa de 10°C min⁻¹, seguido de aquecimento até 300°C a 40°C min⁻¹. Os componentes foram identificados pela comparação do índice de retenção obtidos pela série homóloga de n-alcenos (C7 a C26). Os espectros de massas e foram comparados com dados da biblioteca do sistema e da literatura⁴. Nas folhas foram identificados 49 compostos, onde 16,87% são monoterpenos dentre eles o β-phellandrene (7,30%) e o α-pineno (6,30%); sesquiterpenos (82,27%), onde o bicyclogermacreno (27,57%), germacreno D (7,16%), isolongifolene (7,11%) e o β-cis-farnesene (6,38%), estão em maior concentração^{3,5,6}. No OE dos frutos foram identificados 54 compostos, nos quais 78,04% são monoterpenos, entre eles α-pineno (22,15%), Limoneno (16,98%), β-phellandrene (7,88%), o α-phellandrene (6,20%) e 20,01% são sesquiterpenos, nos quais estão o Carvone (10,16%)^{6,7,8}. Desta forma pôde-se concluir que o OE obtido das folhas é rico em sesquiterpenos e o OE dos frutos em monoterpenos. Dentre a classe dos monoterpenos destacam-se o α e β-pineno que têm sido utilizados como fragrância, aromatizante, bem como demonstram ser um inseticida natural; o Limoneno possui atividade antimicrobiana, antifúngica^{9, 10,11} e larvicida⁹. Dentro da classe dos sesquiterpenos destacam-se o bicyclogermacreno que possui atividade antifúngica¹². Desta forma este estudo abre campo para realização de pesquisas biológicas sobre o efeito do OE da pimenta rosa, como uma potencial alternativa no campo dos agronegócios.

REFERÊNCIAS

- ¹CRÖNQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**, Col. Univ. Press, USA, 519p. 1981.
- ²MENDONÇA, F.A.C.; SILVA, K. F.; SANTOS, K. K.; RIBEIRO JÚNIOR, K. A.; SANT'ANA, A. E. Activities of some Brazilian plants against larvae of the *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v.76, n.7, p.629-36, 2005.
- ³SANTANA, J. S.; SARTORELLI, P.; GUADAGNIN, R. C.; MATSUO, A.; FIGUEIREDO, C. R.; SOARES, G. M.; SILVA, A. M.; LAGO, J. H.; Essential oils from *Schinus terebinthifolius* leaves – chemical Composition and *in vitro* cytotoxicity evaluation. **Pharmaceutical Bioogy**, v.10, p.1248-1253, 2012.
- CAVALCANTI, A. S.; ALVES, M. S.; SILVA, L. C. P.; PATROCÍNIO, D. A.; SANCHES, M. N.; CHAVES, D. S. A.; SOUZA, M. A. A. Volatiles Composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.25, p.356-362, 2015.
- ⁴ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectroscopy**. Illinois: Allured Publishing Corporation, p.467, 1995.
- ⁵JERIBI, C.; KAROUNI, I. J.; HASSINE, D. B.; ABDERRABBA, M. Comparative study of bioactive compounds and antioxidant activity of *Schinus terebinthifolius* Raddi fruits and leaves essential oils. **International Journal of Science and Research**. v.3, p.453-458, 2012.

- ⁶CAVALCANTI, A. S.; ALVES, M. S.; SILVA, L. C. P.; PATROCINIO, D. A.; SANCHES, M. N.; CHAVES, D. S. A.; SOUZA, M. A. A. Volatiles Composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.25, p.356-362, 2015.
- ⁷COLE, E. R.; SANTOS, R. B.; LACERDA JUNIOR, V.; MARTINS, J. D. L.; GRECO, S. J.; CUNHA NETO, A. Chemical composition of essential oil from ripe fruit of *Schinus terebinthifolius* Raddi and evaluation of its activity against wild strains of hospital origin. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.45, n.3, p.821-828, 2014.
- ⁸SANTOS, I. T. B. F.; SANTOS, S. T.; SILVA, F. L. S.; GAGLIARDI, P. R.; OLIVEIRA JUNIOR, L. F. G.; BLANK, A. F. Óleo essencial de *S. terebinthifolius* Raddi como controle alternativo de *C. gloeosporioides* e *L. theobromae*, fungos fitopatogênicos de pós-colheita. **Revista GEINTEC**, v.4, p.1409-1417, 2014.
- ⁹MWANGI, J. W.; THOITHI, G. N.; KIBWAGE, I. O. Essential Oil Bearing Plants from Kenya: Chemistry, Biological Activity and Applications. v.1021, p.495-525, 2009.
- ¹⁰SILVA, A. C. R.; LOPES, P. M.; AZEVEDO, M. M. B.; COSTA, D. C. M.; ALVIANO, C. S.; ALVIANO, D. S. Biological activities of α -Pinene and β -Pinene enantiomers. **Molecules**, v.17, p.6305-6316, 2012.
- ¹¹AHL, H. A. H. S.; ABBAS, Z. K.; SABRA, A. S.; TKACHENKO, K. G. Essential Oil Composition of *Hyssopus officinalis* L. Cultivated in Egypt. **International Journal of Plant Science and Ecology**, v.1, p.49-53, 2015.
- ¹²SILVA, L.; ONIKI, G. H.; AGRIPINO, D. G.; MORENO, P. R. H.; YOUNG, M. C. M.; MAYWORM, M. A. S.; LADEIRA, A. M. Bicyclogermacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, p.361-367, 2007.

Readequação ambiental de propriedade rural no oeste paranaense: análise de perda de área produtiva

Cristiane Claudia Meinerz^{1*}, Deise Dalazen Castagnara², Paulo Sérgio Rabello de Oliveira³

^{1*}Bióloga, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais - PPGCA, Toledo – PR, crismeinerz@hotmail.com

²Zootecnista, Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, Uruguaiana – RS.

³ Engenheiro Agrônomo, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Agronomia – PPGA, Marechal Cândido Rondon – PR.

Resumo: O desenvolvimento social e econômico de qualquer país está relacionado à disponibilidade de água de boa qualidade e na capacidade de conservação e proteção de mananciais. O estudo teve como objetivo estimar a perda de área produtiva, decorrente do cumprimento da legislação, e conseqüente diminuição da receita anual obtida pelos produtores rurais residentes na microbacia Água Bonita que se localiza no oeste Paranaense no município de Missal. A metodologia utilizada consistiu no levantamento de informações, em campo, das condições e localização dos diferentes usos do solo e a necessidade de restauração das áreas de Área de Preservação Permanente (APP) e Reserva Legal (RL), de acordo com a legislação vigente, o que implicaria na diminuição da produção agropecuária, e conseqüente na redução das áreas de agricultura e pastagem. Com base nos resultados obtidos por meio de cálculos, pode-se verificar que as perdas de áreas agricultáveis e de pastagem acarretarão num prejuízo considerável para os produtores.

Palavras-chave: Sistema de Integração Lavoura-Pecuária, Legislação Ambiental, Agronegócio.

Environmental readjustment of rural propertie do Paraná west: area loss analysis production

Abstract: The Social and Economic Development of All is country-Related Quality of Good Water Availability and Conservation CAPACITY and Watershed Protection The study aimed to estimate the productive area loss, resulting from compliance with the legislation, and consequent reduction in annual revenue from those Rural Residents producers in the watershed Beautiful Water Which is located in the west Paranaense no municipality of Missal. The methodology used consisted of Survey Information in the field, the conditions and location of Different Soil OSU and the need to restore the areas of Permanent Preservation Areas (APP) and Legal Reserve (RL) of According to the current legislation, the that would imply the reduction of agricultural Production and the consequent reduction in the areas of agriculture and pasture. With base nsa results obtained PER calculations medium, can check as farmland losses and pasture will entail a considerable loss OS paragraph producers.

Keywords: Crop-Livestock Integration System, Environmental Law, Agribusiness.

Incidência de plantas invasoras no sistema de integração lavoura pecuária sob a aplicação de dejetos líquidos suínos na cultura de inverno

Cristiane Claudia Meinerz¹, Deise Dalazen Castagnara², Paulo Sérgio Rabello de Oliveira³

¹Bióloga, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais - PPGCA, Toledo – PR, crismeinerz@hotmail.com

²Zootecnista, Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, Uruguaiana – RS.

³ Engenheiro Agrônomo, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Agronomia – PPGA, Marechal Cândido Rondon – PR.

RESUMO: O sistema de plantio direto através da cobertura do solo proporciona a redução na população de plantas invasoras, dessa forma, o presente estudo foi conduzido com o objetivo avaliar a incidência de plantas invasoras no sistema de integração lavoura-pecuária sob a aplicação de dejetos líquidos suínos na cultura de inverno. O experimento foi instalado e conduzido em condições de campo sob delineamento estatístico em blocos ao acaso, em esquema fatorial, com sete doses de dejetos líquidos suínos (0; 10; 20; 30; 40 e 50 m³ ha⁻¹) e duas épocas de avaliação (45 e 110 dias após a semeadura das culturas). As doses de dejetos líquidos suínos foram aplicadas anteriormente à semeadura das culturas. As doses de dejetos líquidos suínos não reduziram a população de plantas invasoras, porém, a redução da mesma obtida na segunda época de avaliação demonstra a potencialidade do sistema de integração lavoura-pecuária no manejo de plantas invasoras.

Palavras-chave: consorciação, plantas daninhas, supressão.

Incidence of invasive plants in the livestock farming system integration under the application of liquid swine manure in winter crop

Abstract: The tillage system through soil cover provides a reduction in the population of weeds, thus the present study was conducted to evaluate the incidence of invasive plants in integrated crop-livestock system under the application of manure liquid pig the winter crop. The experiment was installed and conducted under field conditions on experimental design in randomized blocks in a factorial scheme, with seven doses of swine manure liquid (0, 10, 20, 30, 40 and 50 m³ ha⁻¹) and two seasons rating (45 and 110 days after sowing of crops). Doses of liquid swine manure were applied prior to sowing of crops. Doses of liquid swine manure did not reduce the population of weeds, however, the reduction of that obtained in the second period of evaluation shows the potential of integrated crop-livestock system in the management of invasive plants.

Keywords: intercropping, weed suppression.

ASSOCIAÇÃO GENÔMICA ENTRE MARCADORES SNPs E CONTEÚDO DE ÓLEO, PROTEÍNA E PESO DE GRÃOS EM SOJA

Damião do Nascimento^a, Rodrigo C. Neves^b, Leandra Texeira^c, Ivan Schuster^d

^aDoutorando em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, damdonasci@gmail.com; ^bAssistente de Pesquisa do Núcleo de Biotecnologia, COODETEC, Cascavel-PR; ^cPesquisadora COODETEC Desenvolvimento, Produção e Comercialização Agrícola Ltda., Cascavel-PR; ^dDocente do Doutorado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

A soja é a principal commodity agrícola do Brasil¹, e é utilizada na alimentação humana e animal devido aos seus conteúdos de óleo e proteína². Estes constituintes são geneticamente controlados, e a identificação de marcadores moleculares SNP associados aos QTLs controladores destes constituintes facilita a seleção para estas características, nos programas de melhoramento³. O objetivo deste trabalho foi identificar marcadores SNPs associados aos conteúdos de óleo, proteína e peso de 1000 grãos em soja. Foram utilizadas 140 cultivares brasileiras de soja, cultivadas em cinco diferentes ambientes. A determinação dos conteúdos de proteína e de óleo foi realizada pelo método NIR. O peso de 1000 sementes foi obtido em balança de precisão. Para análise de associação, foi utilizado um painel de seis mil marcadores SNPs (Illumina iScan6K), já disponíveis⁴. As análises foram realizadas pelo método de Modelos Lineares Mistos⁵. Na média dos cinco ambientes, considerando-se a matéria seca dos grãos, os conteúdos de proteína variaram de 34,8% a 43,7% e os conteúdos de óleo de 20,9% a 23,6%. O conteúdo de proteína teve maior frequência entre 40% e 41%, e os conteúdos de óleo tiveram frequência maior entre 23% e 24%. O peso médio de 1000 grãos de soja variou de 105 a 181g, com maior frequência entre 130 e 140g. A correlação entre os conteúdos de óleo e proteína foi negativa e significativa (-0,58). Isso significa de que a medida que o conteúdo de um dos constituintes aumenta, o conteúdo do outro diminui. Não houve correlação significativa entre o peso de 1000 grãos com nenhuma das duas características, indicando que não há relação entre peso dos grãos e o conteúdo de óleo ou proteína das sementes. Na análise de Associação Genômica, foi identificado um QTL para o conteúdo de proteína no cromossomo 18 do genoma da soja. Este QTL possui expressão estável, uma vez que está associado com a média do conteúdo de proteína nos cinco ambientes. As análises individuais para cada ambiente estão sendo realizadas, para a identificação de QTLs específicos para cada ambiente. O marcador associado com o QTL para o conteúdo de proteína é o SNP Gm18_60741380_G_A, e consiste em uma substituição de G por A. Este marcador explica 14% na variação do conteúdo de proteína nos grãos de soja, sendo que a substituição do alelo G pelo alelo A resulta no aumento de 0,45 pontos percentuais no conteúdo de proteína dos grãos de soja.

REFERÊNCIAS

- ¹COMPANHIA, NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos**, sétimo levantamento. Brasília, 2013.
- ²HUANG, G. Q.; SUN, Y. T.; XIAO, J. X.; YANG, J. **Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan**, *Food Chemistry*, v. 135, p. 534 – 539, 2012.
- ³MARTINS, A. B. G.; RODRIGUES, M. G. F.; PAULA, D. R.; MENDES, H. S. J.; ARANTES, F. C.; SILVA, C. L. S. P. **Caracterização molecular e diversidade genética de diferentes variedades de abacate por marcadores microssatélites**. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 1178-1184, 2011.
- ⁴OLIVEIRA, M. B. **Caracterização molecular de cultivares de soja utilizando marcadores microssatélites genotipados em sequenciador automático**. 2009. 88p. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Paraná, Umuarama, 2009.
- ⁵PEREIRA, É. M.; GRAVINA, G. A.; THIÉBAUT, J. T. L. **Aplicações dos modelos lineares mistos na pesquisa agropecuária**. *Natureza On line*, v. 10, n. 2, p. 52-58, 2012.

O EFEITO DA INOCULAÇÃO MICORRÍZA NA *Lippia alba* SOB ADIÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E FÓSFORO AO SOLO

Caroline Lermen^a, Rayane Monique Sete da Cruz^b, Stéfany Meneguetti^c, Jean Silva de Souza^b, Bianca de Almeida Marchi^c, Bruna Caroline de Souza^b, Carlos Henrique de Souza Gonçalves^b, Odair Alberton^d

^aDoutoranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, carolinelermen@hotmail.com; ^bDiscente do Curso de Química Industrial, Unipar, Umuarama-PR; ^cDiscente do Curso de Agronomia, Unipar, Umuarama-PR; ^dDocente do Programa de pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR.

A inoculação com fungo micorrízico arbuscular (FMA) e a adição de substâncias húmicas (SHs) podem contribuir com o crescimento e desenvolvimento da erva cidreira^{1, 2}. A *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown é um subarbusto aromático conhecido popularmente como erva cidreira e apresenta elevado potencial biológico. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do FMA *Rhizophagus clarum* sob baixa e alta adição de fósforo (P) e ausência e presença de SHs no solo em resposta ao desenvolvimento, absorção de P e nitrogênio (N) pela erva cidreira e a qualidade microbiana do solo. As plantas foram crescidas em vasos com 5 kg de solo fumigado em um delineamento experimental inteiramente casualizado em fatorial 2x2x2 (Com e sem FMA, baixa (20 mg dm⁻³ de solo) e alta (200 mg dm⁻³ de solo) adição P e com ou sem adição de SHs ao solo), com 6 repetições por tratamento, num total de 48 unidades experimentais. Avaliou-se o desenvolvimento da planta através das determinações da massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST), índice de clorofila (IC), conteúdo de nitrogênio (N) da parte aérea da planta e fósforo (P) na planta, além da densidade de esporos e a colonização radicular por FMA, respiração basal do solo (RBS), carbono da biomassa microbiana (CBM) do solo e quociente metabólico do solo (qCO_2) 6 meses após a implementação experimental. A MSR e MST, IC, conteúdo de N e P na planta, além, da densidade de esporos e colonização radicular por FMA, CBM e qCO_2 foram significativamente aumentadas com a inoculação do FMA. A alta adição de P ao solo aumentou significativamente a MSPA e MST. Tanto a inoculação com FMA, adição de SHs e P ao solo aumentou os conteúdos de P e N na parte aérea. O aumento da absorção de P e N sob inoculação do FMA e adição de SHs e P ao solo contribuiu para um incremento no desenvolvimento e crescimento da erva cidreira. Urcoviche et al.¹ estudando *Mentha crisper* inoculada com FMA, apresentou maior produção de biomassa, principalmente com alta adição de P ao solo, além disso, observaram aumento significativo no conteúdo de óleo essencial com a associação do FMA *Glomus etunicatum* e variou a concentração do majoritário carvone com a inoculação de diferentes FMAs. Recentemente, Lermen et al.² estudaram o crescimento de *Cymbopogon citratus* inoculado com o FMA *R. clarus* sob diferentes níveis de chumbo (Pb) e observaram que a inoculação do FMA aumentou a produção vegetal, o conteúdo de P e N na parte aérea, além de reduzir o acúmulo de Pb na planta. Conclui-se que a inoculação com FMA, sob adição de SHs e P na erva cidreira aumentou o crescimento e o conteúdo de N e P na planta.

REFERÊNCIAS

¹URCOVICHE, R. C., GAZIM, Z. C., DRAGUNSKI, D. C., BARCELLOS, F. G., ALBERTON, O. Plant growth and essential oil content of *Mentha crisper* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi under different levels of phosphorus. **Industrial Crops Products**, v. 67, p. 103–107, 2015.

²LERMEN, C.; MOHR, F. B. M.; ALBERTON, O. Growth of *Cymbopogon citratus* inoculated with mycorrhizal fungi under different levels of lead. **Scientia Horticulturae**, v. 186, p. 239–246, 2015.

ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Baccharis dracunculifolia* DC. (ASTERACEAE)

Luciane Neris Cazella^a, Elisângela Yumi Sugauara^a, Rosângela Rumi Sugauara^a,
Vanessa de Campos Bortolucci^b, Eloísa Schneider Silva^c, Herika Line Marko de
Oliveira^d, Zilda Cristiani Gazim^e

^aDoutoranda Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, lucianecazella@hotmail.com; ^bMestranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR; ^cAluna PIBIT – CNPq; ^dAluna PIBIC – CNPq; ^eDocente do Doutorado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade biológica do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) contra larvas do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae), buscando promover o desenvolvimento sustentável, com o uso de produtos naturais. O *R. (B.) microplus* é um parasita que causa grandes prejuízos na produção de bovinos¹, o qual tem apresentado resistência à maioria dos acaricidas químicos utilizados². A infestação deste ectoparasita pode afetar o bem-estar, causar redução de peso, diminuição na produção de leite e transmissão de agentes patogênicos³, especialmente *Anaplasma marginale*⁴, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*⁵. Além de despesas elevadas com equipamentos e produtos químicos para tratamentos dos animais⁶. A *B. dracunculifolia*, conhecida como alecrim-do-campo ou vassourinha, é um arbusto nativo do Brasil⁷. Essa espécie apresenta um grande potencial em metabólitos secundários⁸ e atividades biológicas acaricida, larvicida⁹, antioxidante¹⁰, antimicrobiana¹¹, fungitóxica¹², antinociceptiva e anti-inflamatória¹³. Em razão das propriedades medicinais desta planta, foi testado o óleo essencial, das partes aéreas secas, na fase de floração, coletadas em 3 de abril de 2016, em Guaraniaçu, localizado na região Oeste do Estado do Paraná. O óleo essencial de *B. dracunculifolia* foi obtido pela técnica de hidrodestilação, em aparelho Clevenger modificado¹⁴, por um período de duas horas. Vinte e duas concentrações (500 a 0,0030 mg mL⁻¹) do óleo essencial foram utilizadas para realização do *Larval Packet Test* (LPT) sobre o *R. (B.) microplus*. O LPT foi realizado de acordo com a técnica descrita pela FAO¹⁵, com adaptações¹⁶, em triplicata. As fêmeas ingurgitadas foram mantidas em ambiente controlado para a produção de larvas. Foram utilizadas larvas com 14 a 21 dias de idade após a eclosão. Aproximadamente 100 larvas foram colocadas em envelope de papel filtro (2x 2 cm). Foi utilizado polissorbato 80 (Tween 80 v/v) a 2 % (v/v) como emulsificante das soluções e água purificada como solvente¹⁷. Então, os dois lados foram impregnados homoganeamente com 100 µl das diluições do óleo essencial. O controle foi constituído por água destilada e solvente na mesma concentração. A leitura foi realizada pós 24 horas, contando-se as larvas, vivas e mortas, de cada envelope. Os concentrados emulsionáveis do óleo essencial de *B. dracunculifolia* até a concentração de 0,78 mg mL⁻¹, mataram 100% dos carrapatos. Deste modo, é possível concluir que este óleo essencial apresenta atividade biológica larvicida sobre o *R. (B.) microplus*. Os melhores resultados podem ser considerados para estudos mais aprofundados *in vivo*.

REFERÊNCIAS

- 1 RAMÍREZ, C. et al. Assessment and determination of LC50 of carvacrol and salicylic acid analogues with acaricidal activity in larvae and adult ticks of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 1, n. 2, p. 72-77, jun. 2016.
- 2 ROBBERTSE, L. et al. Genetic diversity, acaricide resistance status and evolutionary potential of a *Rhipicephalus microplus* population from a disease-controlled cattle farming area in South Africa. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 4, p. 595-603, jun. 2016.
- 3 CHAGAS, A. C. S. et al. *In vitro* efficacy of plant extracts and synthesized substances on *Rhipicephalus (boophilus) microplus* (acari: Ixodidae). **Journal of Parasitology Research**, v. 110, n. 1, p. 295-303, jan. 2012.
- 4 SILVA, J. B.; FONSECA, A. H.; BARBOSA, J. D. Molecular characterization of *Anaplasma marginale* in ticks naturally feeding on buffaloes. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 35, p. 38-41, out. 2015.

- 5 ROMERO-SALAS, D. et al. Molecular and serological detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in bovines and water buffaloes raised jointly in an endemic field. **Veterinary Parasitology**, v. 217, p. 101-107, fev. 2016.
- 6 GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 150-156, abr./jun. 2014.
- 7 HEIDEN, G.; SCHNEIDER, A. *Baccharis*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, fev. 2015.
- 8 FABIANE, K. C. et al. Physicochemical characteristics of the essential oils of *Baccharis dracunculifolia* and *Baccharis uncinea* D.C. (Asteraceae). **Revista brasileira de farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 2, p. 197-203, abr./jun. 2008.
- 9 LAGE, T. C. A. et al. Chemical composition and acaricidal activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* De Candolle (1836) and its constituents nerolidol and limonene on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 148, p. 24-29, 2015.
- 10 GUIMARÃES, N. S. S. et al. *Baccharis dracunculifolia*, the main source of green propolis, exhibits potent antioxidant activity and prevents oxidative mitochondrial damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 3-4, p. 1091-1097, mar./abr. 2012.
- 11 FERRONATTO, R. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 2, p. 224-230, abr./jun. 2007.
- 12 BONETT, L. P.; CERRI, C. S. Fungitoxicidade do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* (DC.) sobre *Colletotrichum gloeosporioides* (PENZ.). **Iniciação Científica CESUMAR**, Maringá, v. 13, n. 2, p. 151-159, jul./dez. 2011.
- 13 SANTOS, D. A. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 543-550, fev. 2010.
- 14 AKISUE, G. Aparelho extrator de óleo essencial: modificação do aparelho de Clevenger. **Revista brasileira de farmacognosia**, São Paulo, v. 1, n. 2, p. 247-252, dez. 1986.
- 15 FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Module 1. Ticks: Acaricide Resistance: Diagnosis Management and Prevention In: Guidelines Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants. Rome: **FAO** Animal Production and Health Division, Rome, p. 25-77, 2004.
- 16 CHAGAS, A. C. S. Metodologias *in vitro* para avaliação de fitoterápicos sobre parasitas e resultados de testes a campo. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2008, Curitiba. **Anais do Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, Curitiba: CBPV, v. 15, p. 8-12.
- 17 FARIAS, M. P. O. et al. Eficácia *in vitro* do óleo da *Carapaguianensis* Aubl. (andiroba) no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 4, p. 68-71, 2007.

EXTRAÇÃO DAS FLORES DE *Brunfelsia uniflora* NO CONTROLE DO CARRAPATO BOVINO

Elaine Yae Yamashita Sugauara^a, Elisângela Yumi Sugauara^a, Rosângela Rumi Sugauara^a, Herika Line Marko de Oliveira^b, Jessica Souza de Oliveira^c, Gabriela de Oliveira Basso^d, Zilda Cristiani Gazim^e, Giani Andrea Linde Colauto^e

^aDoutoranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, elaineyae@bol.com.br; ^bAluna PEBIC-CNPq; ^cAluna PIC UNIPAR; ^dAluna PEBIC Jr- CNPq; ^eDocente do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

Brunfelsia uniflora é uma planta nativa conhecida como manacá, pertence à família Solanaceae. Esta é encontrada em diversas regiões do Brasil, Bolívia, Peru, Equador, Colômbia e Venezuela. Estudos fitoquímicos das partes aéreas do manacá revelaram a presença de compostos ativos como benzenoides, terpenos, lactonas e alcalóides¹. Nas raízes do manacá encontram-se cumarinas, alcalóides, ligninas, sapogeninas são constituintes ativos incluindo manaceína, manacina, escopoletina e esculetina (cumarinas), que são conhecidas por suas propriedades fitoquímicas anti-inflamatória, analgésica, antitumoral, antibacteriana, antifúngica, miorelaxante e espasmolítica. Atualmente a demanda crescente na busca por substâncias bioativas que substituam os químicos sintéticos, tem fomentado a pesquisa sobre fontes vegetais de novas moléculas para avaliar e identificar as atividades biológicas para o desenvolvimento dos produtos para as indústrias alimentícias, farmacêuticas e químicas. Além dos escassos estudos sobre a atividade biológica do manacá, não existem relatos sobre o potencial acaricida no *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* dos extratos das flores desta planta. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação do extrato bruto das flores do manacá sobre as fêmeas ingurgitadas e as larvas do *Rhipicephalus (B.) microplus*. As flores foram coletadas no período de agosto de 2014, secas e submetidas ao processo de maceração dinâmica com esgotamento do solvente. O extrato foi concentrado em rotaevaporador, obtendo o extrato bruto das flores do manacá. O extrato foi diluído nas concentrações de 500,00; 400,00; 300,00; 200,00; 100,00; 50,00; 25,00; 12,50; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78; 0,39 e 0,19 mg/mL. Para os bioensaios carrapaticida foi utilizado a técnica de imersão de adultos² e para as larvas a técnica de imersão larval (Larval Packet Test)³. As doses letais (DL_{99,9} e DL₅₀) foram calculadas por regressão linear da curva exponencial. A mortalidade das fêmeas ingurgitadas foram DL_{99,9} = 625,44 ± 36,46 mg/mL e DL₅₀ = 351,02 ± 15,01 mg/mL e mortalidade das larvas foram DL_{99,9} = 461,28 ± 21,25 mg/mL e DL₅₀ = 160,72 ± 23,69 mg/mL. Estes resultados são promissores, indicando que as flores do manacá podem ser utilizadas para futuros estudos no controle deste ectoparasita.

REFERÊNCIAS

- ¹ VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, C. A.; BERGAMIN, A. A. C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa phytopathol.** v. 37. n.1, p. 18-23, 2011.
- ¹ SILVA, J. L.; TEIXEIRA, R. N. V.; SANTOS, D. I. P.; PESSOA, J. O. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento in vitro de fitopatógenos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável.** v.7, n.1, p.80 – 86, 2012.
- ² DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus* (Acarine: Ixodidae) in natural and experimental conditions. **Folia Parasitology.** v. 37. p. 331-336, 1973.
- ³ LEITE, R. C.; LABRUNA, M. B.; OLIVEIRA, P. R. et al. In vitro susceptibility of engorged females from diferente populations of *Boophilus microplus* to commercial acaricide. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.** v. 4. p. 283-294, 1995.

ATIVIDADES BIOLÓGICAS E FRACIONAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Ingá laurina*(*FabaceaeMimosoideae*)

¹Elisângela Yumi Sugauara, ¹Elaine Yae Yamashita Sugauara, ¹Rosângela Rumi Sugauara, ²Jéssica Souza de Oliveira, ²Larissa Dantas Gasques, ³Zilda Cristiani Gazim, ³Giani Andrea Linde

¹Doutoranda no Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama- PR, elisangelay2009@bol.com.br; ²Discentes do Curso de Farmácia e PIC- Unipar, Umuarama -PR; ³Docentes do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

A família *Fabaceae* é uma das maiores dentre as dicotiledôneas, com mais de 19.000 espécies distribuídas amplamente em todos os continentes⁴. No Brasil é uma das mais diversas e abundantes famílias de plantas superiores, presente praticamente em todos os biomas^{1,11}. O gênero *Ingá* é um dos maiores gêneros de leguminosas com cerca de 400 espécies. Destas, 140 espécies são encontradas no Brasil, sendo 93 espécies encontradas no litoral brasileiro⁷. A espécie *Ingá laurina* é representada por árvores de até 15m de altura, floresce principalmente entre os meses de setembro e novembro e frutifica entre os meses de dezembro e janeiro. É popularmente conhecida como *ingá-branco*, *ingá-de-macaco*, *ingá-de-praia*, *ingá-mirim* ou *ingáí*. Seus frutos em forma vagem são comestíveis e contêm semente envolta por uma polpa flocosa branca e adocicada⁵. Embora sejam amplamente utilizadas na medicina popular, suas folhas, cascas e sementes têm sido pouco exploradas do ponto de vista científico, com poucos estudos fitoquímicos para esta espécie na literatura⁵. Estudos conduzidos pelo Método de Kováts identificaram no óleo essencial das folhas β - Ionona (3,94%), Benzofenona (6,16%), ácido hexanoico (3,37%), ácido n- hexadecanoico (18,23%), 2,4-di- tert- butil- fenol (3,09%), 2-etil-hexil-acrilato (3,03%)⁹. Desta forma, o presente estudo tem por objetivo a obtenção do óleo essencial e extrato bruto das folhas do *ingá*, avaliar a composição química das folhas, e mensurar as prováveis atividades biológicas que estas apresentam, em função do ciclo vegetativo. Das folhas serão extraído o óleo essencial pelo método de hidrodestilação por 3 horas⁶, e também será preparado o extrato bruto pela técnica de maceração dinâmica com esgotamento do solvente. Óleo e extrato serão testados sobre o *RhipicephalusBoophilusMicroplus* e *RhipicephalusSanguineus*, pelo teste de imersão de adultos², e teste de imersão larval³. Com isso a busca por produtos naturais vem ganhando espaço em relação aos produtos químicos no controle do carrapato bovino e canino, visto que esses ectoparasitas causam muito prejuízo, tanto na pecuária como nas clínicas de pequenos animais, por esse motivo as pesquisas vem se aprimorando cada vez mais para buscar novas técnicas para o controle das atividades carrapaticidas e larvicidas.

Referências:

- 1- BROUGHTON et al. **Beans (Phaseolus spp.) – Model food legumes**. Plant and Soil. 2003. p.55-128.
- 2- DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus* (Acarine: Ixodidae) in natural and experimental conditions. **Folia Parasitology**. v.37. p. 331-336, 1973.
- 3- LEITE, R. C.; LABRUNA, P. R.; OLIVEIRA, A. M. F. *In vitro* susceptibility of engorged females from different populations of *Boophilus microplus* to commercial acaricides. **Revista Brasileira de Parasitologia**. v.4. n. 2. p. 283–284, 1995.
- 4- LEWIS et al. **Legumes of the world**. Royal Botanic Gardens. 2005. p.577.
- 5- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 384 p.
- 6- MACHEDO et al. **Characterization of a kunitz trypsin inhibitor with a single disulfide bridge from seed of *Ingá laurina* (SW.) Willd.**
- 7- MATA, M. F.; FELIX, L. P. **Flora da Paraíba, Brasil Inga Mill (Leguminosae – Mimosoideae)**. Revista Brasileira de Biociências. 2007. p. 135-137 v.5.
- 8- PIMENTA, D. S.; FIGUEIREDO, M. R.; KAPLAN, M. A. C. **Essential oil from two populations of *Echinodorus grandiflorus* (Cham & Schtdl.) Micheli (Chapéu de couro)**. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 2006. p. 623-628 v. 78.

- 9- SILVA, T. M. **Avaliação da Segurança de Plantas Medicinais Tratadas por Irradiação Gama: Contaminação Fúngica, Detecção de Produtos Radiolíticos e Integridade dos Princípios Ativos de *Echinodorus macrophyllus* Mich.**, Dissertação de Mestrado, Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.
- 10- SOUSA, J. S.; BASTOS, M. N. C.; GURGEL, E. S. C. **O gênero *Inga* (Leguminosae- Mimosoideae) na província pretolífera de Urucu, Coari, Amazonas, Brasil.** *Rodriguesia*. 2011. p. 283-297 v.62.
- 11- VITOUSEK et al. **Towards na ecological understanding of biological nitrogen fixation.** *Biogeochemistry*. 2002. p. 1-45 v.57.

ESTUDO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS FOLHAS DE *Eugenia pyriformis* Cambess (Myrtaceae) EM FUNÇÃO DO CICLO VEGETATIVO

Jaqueline Pavelegini de Medeiros^a, Wanessa Bortolocci^b, Eloisa Shneider^c, Herika Line Marko de Oliveira^d, Jéssica Ressonio Limoni^e, Carina Akemi Chimada^f, Zilda Cristiani Gazim^g

^aDoutoranda no Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR; ^bMestranda no Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR; ^cAluna PIBIT- CNPq -Unipar; ^dAluna PEBIC-CNPq- UNIPAR; ^ealuna PEBIC- UNIPAR;; ^fAluna PIC- UNIPAR; ^gDocente do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, cristianigazim@unipar, Unipar, Umuarama-PR

A espécie *Eugenia pyriformis* Cambess, pertencente à família Myrtaceae, é uma planta comum nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, conhecida pelo nome popular de uvaia, uvaieira, uvaia-do-campo ou uvalha¹ e os metabólitos secundários extraídos e ou encontrados na folha da *Eugenia pyriformis* apresentam poucos estudos. Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa será investigar as atividades citotóxicas, anticolinesterásicas, antimicrobiana e antioxidantes do óleo essencial (OE) e Extrato bruto (EB) das folhas da uvaia nos diferentes períodos vegetativos, que compreende a época em que esta encontra-se no período de dormência, floração e frutificação. As folhas serão coletadas, secas; o OE extraído pela técnica de hidrodestilação por 2 horas; o óleo será retirado com sulfato de sódio anidro² e mantido sob refrigeração a 4 °C ³. O EB será obtido pela técnica de maceração dinâmica com esgotamento do solvente. A identificação dos constituintes químicos do OE será por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) e do EB por ressonância magnética nuclear (RMN). Para atividade citotóxica será utilizado o teste de letalidade frente à Macrófagos da Linhagem J774.A1 pelo Método Colorimétrico do XTT (2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide)⁴. A atividade anticolinesterásica será avaliada por ensaio bioautográfico⁵. A atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e as propriedades antioxidantes investigadas *in vitro* pelos métodos DPPH⁶, FRAP⁷, Beta-caroteno⁸. Os bioensaios serão conduzidos *in vitro* e os melhores resultados serão direcionados para estudos *in vivo*, com o intuito de desenvolver formulações aplicadas nos diferentes setores industriais.

REFERÊNCIAS

- ¹ARMSTRONG, L.; DUARTE, M. R.; MIGUEL, O. G. Morpho-anatomy of the leaf and stem of *Eugenia pyriformis*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy, São Paulo*, v.22, n. 3, p. 475-481, Jan 2012.
- ²SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: Ed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina. p. 397-425, 2002.
- ³OMOLO, M. O. OKINYO, D.; NDIEGE, I. O.; LWANDE, W.; HASSANALI, A. Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae*. **Phytochemistry**. v. 65, p. 2797-2802, 2004.
- ⁴ MOSMANN, T. J. *Immunol. Methods* 65: 55-63, 1983.
- ⁵YANG Z. et al. Modified TLC bioautographic method for screening acetylcholinesterase inhibitors from plant extracts. **J. Separation Sci.**, v. 32, n. 18, p. 3257-3259, 2009.
- ⁶MENSOR L.L, MENEZES F.S, LEITAO G.G, REIS A.S, DOS SANTOS T.C, COUBE C.S, LEITAO S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother Res**, v.15(2):127-30, 2001.
- ⁷BENZIE, I.F.F., STRAIN, J.J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods Enzymol**. V.299, p.15-27, 1999.
- ⁸PRATT, D.E.; MILLER, E.E. A flavonoid antioxidant in spanish peanuts (*Arachia hypogoea*). **Journal of American Oil Chemical Society** V.61, p.1064-1067, 1984.

USO DE SUBPRODUTOS DA AGROINDÚSTRIA PARANAENSE NA PRODUÇÃO DE LACASE (*p*-DIPHENOL OXIDASE) DE BASIDIOMICETOS

Bruna Karen Cardoso^a, Katielle Vieira Avelino^a, Renan Alberto Marim^a, Ana Caroline Coronato de Oliveira^b, Juliana Silveira do Valle^a.

^aPós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Universidade Paranaense, UNIPAR. ^bAcadêmica de Farmácia, PEBIC-CNPq, Universidade Paranaense, UNIPAR.

A agroindústria gera milhões de toneladas de resíduos e subprodutos cuja disposição final pode representar problema ambiental. Compostos por substâncias biodegradáveis, tais materiais contêm nutrientes de alto valor que permitem sua utilização como alternativa rentável e de interesse biotecnológico para a produção de enzimas¹. Lacases são cobre polifenol oxidases produzidas por fungos basidiomicetos com várias aplicações industriais². Nesse trabalho avaliou-se a capacidade de produção de lacase de quatro linhagens de basidiomicetos isolados na região de Umuarama, PR (U16-3, U16-4, U16-5 e U16-7) pertencentes à coleção de cultura da Universidade Paranaense. A produção enzimática foi avaliada em cultivo submerso utilizando cascas de café (CC), bagaço de cana (BC), sabugo de milho (SM), polpa cítrica (PC), melaço de cana (MC) e vinhaça (VI). Os fungos foram cultivados por 12 dias a 28 °C em solução de minerais suplementada com cada subproduto sólido (50 g/L) ou líquido (10 g/L de açúcares totais). A atividade de lacase foi determinada pela oxidação do ABTS ao final do cultivo³. Todos os isolados produziram lacase com todos os subprodutos. As maiores atividades ($p \leq 0,05$) foram observadas no meio com VI onde a linhagem U16-3 ($50 \pm 0,7$ U/mL) e U16-4 ($46 \pm 3,8$ U/mL) produziram as maiores atividades. O segundo melhor meio para produção enzimática continha BC e as linhagens U16-3 e U16-4 produziram as maiores atividades (ambas $48 \pm 0,2$ U/mL). O meio com CC foi o que menos favoreceu ($p \leq 0,05$) a atividade de lacase e a linhagem U16-5 produziu 12 vezes mais lacase em VI do que em CC. O meio com PC afetou negativamente a atividade de lacase da linhagem U16-3 e a atividade foi oito vezes menor ($p \leq 0,05$) nesse meio do que com VI, porém, as demais linhagens produziram quantidade significativa de enzima nestas condições. A atividade de lacase varia muito entre espécies e linhagens da mesma espécie e depende das condições de cultivo. Subprodutos agroindustriais apresentam características interessantes para a produção dessa enzima. Contudo, características como a relação carbono/nitrogênio e a presença de compostos aromáticos e/ou fenólicos¹ afetam de forma distinta a atividade enzimática de diferentes espécies fúngicas e devem ser consideradas. Os resultados indicam que os isolados são bons produtores de lacase e os subprodutos representam uma alternativa potencial para a produção enzimática utilizando recursos abundantes e de baixo custo. Os procedimentos para identificação molecular dos isolados está em andamento.

Apoio financeiro: UNIPAR, CNPq e CAPES.

Referências:

¹VALLE, J. S.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SANTANA, T. T.; LINDE, G. A.; COLAUTO, N. B.; SOCCOL, C. R.; Optimization of *Agaricus blazei* lacase production by submerged cultivation with sugarcane molasses. **African Journal of Microbiology Research**. v. 8 p. 939-946, 2014.

²MIKOLASCH, A.; SCHAUER F. Fungal laccases as tools for the synthesis of new hybrid molecules and biomaterials. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 82, p. 605-624, 2009.

³HAN, M. J.; CHOI, H. T.; SONG, H. G. Purification and characterization of laccase from the white rot fungus *Trametes versicolor*. **Journal of Microbiology**. v. 43, p. 555–560, 2005.

PRODUÇÃO PEROXIDASES DE FUNGOS BASIDIOMICETOS POR CULTIVO SUBMERSO COM SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS

Bruna Karen Cardoso^a, Katielle Vieira Avelino^a, Renan Alberto Marim^a, Ana Caroline Coronato de Oliveira^b, Juliana Silveira do Valle^a.

^aPós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Universidade Paranaense, UNIPAR. ^bAcadêmica de Farmácia, PEBIC-CNPq, Universidade Paranaense, UNIPAR.

No Brasil são geradas anualmente grandes quantidades de subprodutos do beneficiamento ou processamento de alimentos que, se não forem destinados adequadamente, impactam negativamente o ambiente¹. O emprego de grande parte destes materiais em bioprocessos para a produção de enzimas ligninolíticas é uma alternativa de uso². Ligninases, como manganês peroxidase (MnP) e lignina peroxidase (LiP), podem ser empregadas em vários setores industriais e, por isso, são de grande interesse biotecnológico³. Nesse trabalho avaliou-se a capacidade de produção de MnP e LiP de quatro basidiomicetos isolados na região de Umuarama, PR (U16-3, U16-4, U16-5 e U16-7) em meio contendo como única fonte de carbono e nitrogênio, subprodutos agroindustriais abundantes na região: cascas de café (CC), bagaço de cana (BC), sabugo de milho (SM), polpa cítrica (PC), melaço de cana (MC) e vinhaça (VI). Os isolados foram cultivados em solução mineral suplementada com os resíduos sólidos (50 g/L) ou líquidos (10 g/L de açúcares totais). A atividade de LiP foi determinada pela oxidação do azul de metileno na presença de H₂O₂⁴ e a atividade de MnP foi determinada pela oxidação de vermelho de fenol na presença de Mn²⁺ e H₂O₂⁵. Todas as linhagens produziram MnP e LiP em pelo menos um meio de cultivo. As maiores atividades de MnP ($p \leq 0,05$) foram dos isolados U16-3 em MC ($4,2 \pm 0,6$ U/mL) e CC ($2,0 \pm 0,2$ U/mL) e U16-4 em VI ($3,8 \pm 0,6$ U/mL). O meio SM foi o único em que não se detectou atividade de MnP. O isolado U16-4 foi o único a produzir LiP em todos os meios e a maior atividade ($p \leq 0,05$) ocorreu em MC ($4,3 \pm 0,06$ U/mL). De fato, o meio MC foi o único onde se detectou atividade de LiP de todas as linhagens, mas os níveis de atividade foram bastante distintos. A atividade de LiP de U16-4 em MC foi 81 vezes maior que a de U16-5 e 129 vezes maior que a de U16-7. Os resultados indicam que as atividades de MnP e LiP em meios a base de subprodutos agroindustriais dependem da espécie analisada. Além disso, características dos diferentes meios de cultivo como a relação carbono/nitrogênio, presença de Mn²⁺ e outros indutores da atividade enzimática precisam ser avaliados. Contudo, pode-se concluir que os isolados são bons produtores de ligninases em meios de baixo custo e têm potencial para o desenvolvimento de bioprocessos. Os procedimentos para identificação molecular dos isolados está em andamento.

Apoio financeiro: UNIPAR, CNPq e CAPES

Referências:

- ¹LEITÃO, V. F.; GOTTSCHALK, L. M. F.; FERRARA, M. A.; NEPOMUCENO, A. L.; MOLINARI, H. B. C.; BON, E. P. S. Biomass residues in Brazil: Availability and potential uses. **Waste and Biomass Valorization**, v. 1, p. 65–76, 2010.
- ²SÁNCHEZ, C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v.27, p. 185–194, 2009.
- ³ZENG X.; CAI Y.; LIAO X.; ZENG X.; LI W.; ZHANG D. Decolorization of synthetic dyes by crude laccase from a newly isolated *Trametes trogii* strain cultivated on solid agro-industrial residue. **Journal of Hazardous Materials**, v. 187, p. 517–525, 2011.
- ⁴MAGALHÃES, D. B.; CARVALHO, M. E. A.; BOM, E.; NETO, J. S. A.; KLING, S. H. Colorimetric Assay for lignin peroxidase activity determination using methylene blue as substrate. **Biotechnology Techniques**, v. 10, p. 273-276, 1996.
- ⁵KUWAHARA, M.; GLENN, J. K., MORGAN, M. A.; GOLD, M. H. Separation and characterization of two extracellular H₂O₂ dependent oxidases from lignolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 169, p 247-250, 1984.

pH DO MEIO DE CULTIVO NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Lentinus crinitus* NA PRESENÇA DE CARBONATO DE LÍCIO

¹MARIA GRACIELA IECHER FARIA,²IRINÉIA PAULINA BARETTA, ³NELSON BARROS COLAUTO, ³GIANI ANDREA LINDE

¹Doutoranda em Biotecnologia aplicada à agricultura – UNIPAR,²Professora - UNIPAR/Umuarama,

³ Professor da Pós graduação em Biotecnologia aplicada à agricultura - UNIPAR

O carbonato de lítio é utilizado em tratamento de doenças psiquiátricas¹. Uma das suas limitações é sua baixa solubilidade que é altamente afetada pelo pH do meio². A bioacumulação de lítio em fungos basidiomicetos pode melhorar a biodisponibilidade e eficácia do tratamento. O gênero *Lentinus* compreende um grupo de cogumelos comestíveis com importantes aplicações medicinais e biotecnológicas. *Lentinus crinitus* é um representante deste gênero com atividades terapêuticas com alta capacidade de produção de biomassa³. Apesar do potencial do uso deste fungo na bioacumulação de lítio, já comprovado através de resultados obtidos no nosso laboratório, não existem relatos na literatura sobre o seu crescimento micelial na presença de carbonato de lítio em meio líquido avaliando-se as alterações de pH. O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos do pH do meio sobre o crescimento de *L. crinitus* na presença de carbonato de lítio. Para o experimento foi utilizado *L. crinitus*, pertencente à micoteca do laboratório de Biologia Molecular da UNIPAR, foi mantido em ágar extrato de malte a 28°C por 10 dias para a produção do inoculo. Três cilindros do meio (Ø:5 mm) contendo o micélio foram transferidos para 30 mL de extrato de malte - esterilizado a 121 °C por 30 minutos - e adicionado de carbonato de lítio –esterilizado por filtração com concentração de 50ppm e pH entre 3 e 7. A cada 3 dias uma alíquota foi retirada para a análise do pH. Este material foi mantido por 15 dias a 28°C. Após, o micélio foi separado por centrifugação, lavado e seco (60°C por 78 horas) até massa constante. Todos os erlenmeyers que apresentaram crescimento tiveram tendência ao pH 5, tanto os que inicialmente tinham pH 3 quanto os de pH 6. Já em pH 7 não ocorreu crescimento. O fungo teve maior produção de biomassa em pH 4 (9,64mg/mL). Na literatura, os dados de crescimento micelial de basidiomicetos são com cloreto de lítio^{4,5} e não com carbonato. No nosso estudo observamos que *L. crinitus* cresce na presença de carbonato de lítio, mesmo este sendo pouco solúvel em água e que tem uma preferência por pH ácido próximo de 5. Conclui-se que há possibilidade de bioacumulação de lítio em micélio de *L. crinitus*. Isto pode aumentar as possibilidades de tratamento de doenças psiquiátricas, o que facilita testes futuros de avaliação pré-clínica da biomassa enriquecida com lítio.

Referências:

¹BSCHOR T.: Lithium in the Treatment of Major Depressive Disorder. **Drugs**.v. 74(8), p. 855-62, 2014.

²ALTAMURA, A. C.; GOMENI, R.; SACCHETTI, E.; SMERALDI, E. Plasma and Intracellular Kinetics of Lithium After Oral Administration of Various Lithium Salts. **Europ.J. clin.Pharmacol**.v.12, p. 59-63, 1977.

³SILVA R.R., CORSO C.R., MATHEUS D. R. Effect of culture conditions on the biomass determination by ergosterol of *Lentinus crinitus* and *Psilocybecastanella*. **World J Microbiol Biotechnol.** v. 26, p. 841–846, 2010.

⁴ ASSUNÇÃO L. S., LUZ J. M.R., SILVA M. C. S., VIEIRA P. A. F., BAZZOLLI D. M. S., VANETTI M. C. D., KASUYA M. C. M.: Enrichment of mushrooms: An interesting strategy for the acquisition of lithium. **Food Chemistry.** v.134, p.1123–1127, 2012.

⁵ NUNES M. D., CARDOSO W. L., LUZ J. M. R., KASUYA M.C.M. Lithium chloride affects mycelial growth of White rot fungi: Fungal screening for Li-enrichment. **Afr. J. Microbiol. Res.** v.8(21), p. 2111-2123, 2014.

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL NA ASSEPSIA DE EXPLANTES DE *C. longa*

Meire Pereira de Souza Ferrari^a, Andressa Bezerra Nascimento^b, Héliida Mara Magalhães^c

^aDoutoranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, meiresouzaferri@hotmai.com; ^bAcadêmica do Curso de Engenharia Agrônômica; ^cDocente do doutorado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

Curcuma longa é uma espécie de origem asiática utilizada para fins ornamentais, medicinais e alimentícios. O método de propagação convencional é dispendioso e pouco eficiente. A assepsia dos explantes na cultura de tecidos é uma condição essencial, pois a contaminação por microrganismos é responsável por grande perda de plântulas. Sendo assim, objetivou-se com esse trabalho avaliar diferentes métodos de assepsia dos explantes de *C. longa* utilizando o óleo essencial da mesma espécie. Propágulos de 1,5 cm serão inoculados em meio Murashige e Skoog (MS) acrescido de 4,4 µM de BAP, 1,08 µM de ANA, 30 g de sacarose, 6,5 g/L de ágar e pH ajustado para 5,8. Os explantes serão submetidos aos seguintes tratamentos: 1) Imersão em solução hipoclorito de sódio 2% (v v⁻¹) por 20 minutos e lavagem em água destilada autoclavada por três vezes. 2) Imersão em óleo essencial da *Curcuma longa*: 50µl/100mL de água. As brotações serão mantidas por 10 minutos no óleo essencial da cúrcuma e mais 20 minutos no hipoclorito de sódio 2% (v v⁻¹) seguida de tríplice lavagem.) 3) Imersão em óleo essencial da *Curcuma longa* 50µl/100mL de água. As brotações serão mantidas por 20 minutos no óleo essencial da cúrcuma. 4) Imersão em óleo essencial da *Curcuma longa*: 100µl/100mL de água. As brotações serão mantidas por 10 minutos no óleo essencial da cúrcuma e mais 20 minutos no hipoclorito de sódio 2% (v v⁻¹) seguida de tríplice lavagem. 5) Imersão em Óleo essencial da *Curcuma longa*: 100µl/100mL de água. As brotações serão mantidas por 10 minutos no óleo essencial da cúrcuma. A inoculação será realizada em câmara asséptica e os brotos dispostos individualmente nos frascos contendo 50 mL do meio de cultura, fechados com tampas plásticas transparentes e vedados com filme de PVC. Após isso, o material será mantido em câmara de crescimento por 60 dias. Sendo submetidas à intensidade luminosa de 2000 lux (medida por meio do aparelho luxímetro), com fotoperíodo de 24h de luz. O experimento será então montado em delineamento inteiramente casualizado 5 tratamentos, com 20 frascos por parcelas e 5 repetições, totalizando 100 frascos. As seguintes características serão avaliadas: porcentagem de contaminação e oxidação, número de brotações, número de folhas, comprimento da parte aérea e da raiz e massa seca da raiz e parte aérea. Os dados obtidos serão submetidos à análise de variância (ANOVA) a (p≤0,05) de probabilidade e as médias comparadas pelo teste Tukey a (p≤0,05) de probabilidade utilizando o programa SISVAR⁴. Espera-se com esse experimento desenvolver técnicas apropriadas de assepsia com a utilização do óleo essencial da própria planta. Os estudos estão em fase inicial.

¹GUENTHER, E. The essential oils. **Toronto: D. Van Nostrand**, 1952.

²NAVARRO, D.D.; SOUZA, M.M.; NETO, R.A.; GOLIN, V.; NIERO, R.; YUNES, R.A.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL, V. Phytochemical analysis and analgesic properties of *Curcuma zedoaria* grown in Brazil. **Phytomedicine**, v.9, p.427-432, 2002.

³MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plant**, Minneapolis, v. 15, p. 473-497, 1962.

Atividade antimicrobiana e composição química do oleoresina das flores de *Brunfelsia uniflora* obtido por fluido supercrítico

Leticia de Cássia Tavares Thiesen^a, Glacy Jaqueline da Silva^c, Itaruã Machry Colla^b, Zilda Cirstiani Gazim^c, Giani Andrea Linde^c, Nelson Barros Colauto^c

^aDoutoranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, letithi@hotmail.com; ^bMestrando em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR ^cDocente do Doutorado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

O gênero *Brunfelsia* é utilizado tradicionalmente na medicina popular por povos americanos, especialmente da região Amazônica. Extratos de plantas deste gênero foram relatados com propriedades antibacterianas e antifúngicas¹. No entanto, não foram encontrados estudos de atividade antimicrobiana para o óleo-resina de flores de *Brunfelsia uniflora*. O objetivo deste estudo foi avaliar a composição química e a atividade antimicrobiana do óleo-resina de flores de *B. uniflora* obtido por dióxido de carbono em fluido supercrítico. O óleo-resina das flores secas da planta foi obtido por fluido supercrítico e a composição química analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa. Para a concentração inibitória mínima (MIC), concentração bactericida mínima (MBC) e a concentração fúngica mínima (MFC) do óleo-resina foram utilizadas setes bactérias e oito fungos em microplacas de 96 poços de microtitulação². A MBC do óleo-resina para *Bacillus cereus*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, e *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* variou entre 0,01 e 0,08 mg/mL, enquanto os controles streptomycina e ampicillina variaram entre 0,1 e 0,5 mg/mL. A MFC do óleo-resina para *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium ochrochloron*, *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*, and *Trichoderma viride* variou entre 0,01 e 0,08 mg/mL, enquanto os controles bifonazol e cetoconazol variam entre 0,1 e 0,5 mg/mL. O óleo-resina obtido por fluido supercrítico utilizando dióxido de carbono apresenta atividade bacteriostática, bactericida, fungistática e fungicida superior aos controles positivos streptomycina, ampicillina, bifonazol e cetoconazol. A alta atividade antimicrobiana do óleo-resina está relacionada ao alto teor de E,E-Geranyl linalool, composto majoritário com 21,0% do óleo-resina, e a uma possível ação sinérgica com ésteres de ácidos graxos que compõem 50,5% do óleo-resina³. A atividade antimicrobiana do óleo-resina contra bactérias multirresistentes e comuns em processos infecciosos graves como *P. aeruginosa* ou contra fungos produtores de toxinas como *P. ochrochloron* ou ainda de difícil controle como *T. viride* sugere o desenvolvimento de aplicações promissoras deste produto na indústria alimentícia, agropecuária e farmacêutica⁴.

REFERÊNCIAS

- ¹BEGUM, R.; RAHMAN, M.S.; CHOWDHURY, A.M.S.; RASHID, M. Preliminary antimicrobial activity and cytotoxicity of *Brunfelsia latifolia*. **Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 6, p. 65-67, 2007.
- ²HANEL, H.; RAETHER, W. (1988). A more sophisticated method for determining the fungicidal effect of water-insoluble preparations with a cell harvester, using miconazole as an example. **Mycoses**, v. 31, p. 148-154, 1988.
- ³MAGIORAKOS, A.P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R.B.; CARMELI, Y.; FALAGAS, M.E.; GISKE, C.G.; HARBATH, S.; HINDLER, J.F.; KAHLMETER, G.; OLSSON, L.B.; PETERSON, D.L.; RICE, L.B.; STELLING, J.; STRUELENSM, J.; VATOPOULOS, A.; WEBER, J.T.; MONNET, D.L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v.18, p. 268-281, 2012.
- ⁴MARTINS, M.B.G.; GRAF, R.R.; CAVALHEIRO, S.R. Anatomical, chemical and antibacterial characterization of leaves of *Brunfelsia uniflora* (manacá) in the atlantic rainforest (mata atlântica). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 106-114, 2009.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E PRODUÇÃO DE *Lentinus crinitus* UTILIZANDO RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Miria Benetati Delgado Bertéli^a, Itaruã Machri Colla^b, Janyeli Dorini Silva de Freitas^c, Franciele da Silva Quemel^d, Giani Andrea Linde^e, Nelson Barros Colauto^e

^aDoutoranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, mbdberteli@uem.br, ^b Mestrando em Biotecnologia Aplicada a Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, ^cDiscente do curso de Química e PIBIC, Unipar, Umuarama-PR, ^dDiscente do curso de Farmácia e PIBIC, Unipar, Umuarama-PR ^eDocente do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

Lentinus crinitus é um basidiomiceto comumente encontrado no Brasil, que apresenta grande versatilidade em relação à degradação de substratos e é utilizado principalmente em processos de biorremediação devido à capacidade de degradar organoclorados^{3,4}. O aproveitamento de resíduos proveniente da produção agrícola ou agroindustrial é uma alternativa para agregar valor a estes materiais, produzindo cogumelos com proteína alimentar de alto valor nutritivo^{1,2}. O objetivo deste estudo foi avaliar a produção de *L. crinitus* em formulações de substratos a partir de resíduos agrícolas e/ou agroindustriais e atividade antioxidante. Para o experimento foi utilizado o isolado de *L. crinitus* U9-1 de Umuarama-PR, proveniente da micoteca do Laboratório de Biologia Molecular da Unipar. A formulação de substratos com os resíduos agroindustriais bagaço de cana-de-açúcar (BC) e casca de arroz (CA) ocorreu na seguinte proporção: 100% BC (T1), 87,50% BC e 12,5% CA (T2), 75% BC e 25% CA (T3), e 50% BC e 50% (T4). Cada formulação (2 kg) foi acondicionada em sacos de polipropileno e autoclavados a 121 °C por 2 h e 30 min. Após resfriado em temperatura ambiente cada saco recebeu 200 g do inóculo. O inóculo consistiu de grãos de trigo colonizados com o fungo. Os sacos foram transferidos para uma sala com ausência de luz e controle de temperatura (25 °C) e umidade (90%). Após completa colonização os sacos foram abertos com furos representando 1% da área do saco de cultivo e passaram por choque térmico por um dia a 18 °C para indução de frutificação. Os basidiomicetos produzidos foram colhidos diariamente e a biomassa medida, seca em estufa a 60 °C e armazenada a -20 °C para posterior análise da atividade antioxidante. A análise da atividade antioxidante será efetuada pelos métodos DPPH (método sequestrante de radical livre), Frap (redução de ferro) e atividade pela auto-oxidação do sistema beta-caroteno/ácido linoléico. O experimento foi estabelecido em delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições por tratamento. A produção de basidiocarpos foi de 51,2% do T1, 48,3% do T2, 70,05% de T3 e 67,4% de T4. A produção de basidiocarpos na formulação de 50% de BC e 50% de CA (T3) foi a maior entre os tratamentos (resultados parciais). O experimento ainda se encontra em fase de execução.

REFERÊNCIAS

- ¹CASARIL, K. B. P.; BENTO, C. B. P.; Bioconservação de resíduos lignocelulósicos por fungos causadores da podridão branca: Uma alternativa a produção de alimentos. **Revista Unioeste**. v. 14 n. 19, 2012.
- ²DALSENTER, F. D. H. Contribuição ao estudo da proposta Zeri para um resíduo agroindustrial utilizando processo biotecnológico. **Dissertação**. FURB. Blumenau SC, 2000.
- ³NIEBISCH, C.H.; MALINOWSKI, A, K.; SCHADE, C, K, R.; MITCHELL, D, A.; KAVA-CORDEIRO, V.; PABA, J. Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus* extracellular extract. **Journal Hazard Mater**, 2010.
- ⁴PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. Os reinos dos fungos. Santa Cruz do sul: **EDUNISC**. 829 p. V. 2, 2002.

ATIVIDADES BIOLÓGICAS E FRACIONAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS DE *Campomanesia xanthocarpa*

¹ Rosângela Rumi Sugauara,¹ Elisângela Yumi Sugauara,¹ Elaine Yae Yamashita Sugauara,² Jesssica Ressonio Limone,³ Carina Akemi Chimada,⁴ Orlando Seiko Takemura,⁵ Giani Andréa Linde;⁵ Zilda Cristiani Gazim

¹Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura; Unipar, Umuarama-Pr, rosangelasvet@bol.com.br; ²Discente do curso de Farmácia e PIBIC- Unipar, Umuarama-PR; ³Discente do curso de Farmácia e PIC- Unipar, Umuarama-PR; ⁴Docente dos cursos de Farmácia e Engenharia Agrônômica; ⁵Docente do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura; Unipar, Umuarama-Pr.

A *Campomanesia xanthocarpa* conhecida popularmente como gabioba, é uma árvore nativa das regiões centro-oeste, sudeste e sul do Brasil, constituída por espécies frutíferas³. Seus frutos podem ser consumidos “*in natura*” e também utilizados na forma de doces, sorvetes, refrescos e como flavorizantes em destilados alcoólicos⁵. Floresce abundantemente durante os meses de setembro e outubro, e frutifica em novembro. Estudos fitoquímicos realizados com as folhas da gabioba indicaram a presença de flavonoides, taninos, saponinas e óleo essencial^{1,4}. Em suas folhas são encontrado um óleo essencial rico em sesquiterpenos, cujos componentes majoritários são: cryptomeridiol (19,2%); β -eudesmol (6,1%); globulol (5,2%); eudesmol (4,9%); e (E)- caryophylleno (4,2%)¹. Desta forma o presente estudo tem por objetivo avaliar as atividades biológicas do óleo essencial (OE) e extrato bruto (EB) das folhas da gabioba em função do ciclo vegetativo. As folhas serão coletadas, secas, pulverizadas, e submetidas ao processo de extração do OE por hidrodestilação por 4 horas². O EB será obtido pelo processo de maceração dinâmica com esgotamento do solvente. Óleo essencial e extrato bruto serão avaliados quando as atividades biológicas acaricida sobre os carrapatos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* utilizando o teste de imersão de adultos⁵ e teste de imersão larval⁹. A utilização de óleos essenciais no controle do carrapato bovino, têm se tornado bastante promissor no controle deste ectoparasito^{1,3,6,8,11}, uma vez que sua resistência aos acaricidas tornou-se um dos principais problemas da pecuária brasileira, por ser o responsável por grandes perdas econômicas e pela transmissão de hemoparasitos⁵. Outro fator relevante é a busca de produtos naturais com ação sobre o carrapato canino. O mercado de produto e serviços para animais de estimação vem ganhando grande destaque mundial e caracteriza-se como um novo e lucrativo segmento da economia. No Brasil, cerca de 60% dos domicílios brasileiros têm algum animal de estimação dos quais a maioria é composta por cães e gatos. O aumento da efetividade manifestado em relação aos animais justifica em parte, o crescimento do consumo de produtos e serviços pet e estimula ainda mais a sua expansão⁴. Sendo assim, diversas pesquisas vem sendo realizadas com plantas e frações voláteis com a finalidade de utilizar em produtos que não acarretem danos ao homem, animais e meio ambiente, minimizando assim as resistências e os efeitos colaterais.

REFERÊNCIAS

- 1- BORGES, L.M.F.; FERRI, P.H.; SILVA, W.C.; SILVA, W.J.; MELO, L.C.; SOUZA, L.A.D.; SOARES, S.F.; GOMES, N.A.; MORI, A.; SILVA, N.F. Ação do extrato hexânico de frutos maduros de *Melia azedarach* (Meliaceae) sobre *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em bezerros infestados artificialmente. *Revista de Patologia Tropical* v.34 p.53-59, 2005.
- 2- CARDOSO, C.A.L. et al. Fruit oil *Campomanesia xanthocarpa* O.Berg and *Campomanesia adamantium* O.Berg. *Journal of Essential Oil Research*, New York United States, v.21, n.6 p.481-483, 2009.
- 3- CHAGAS, A.C.S.; PASSOS, W.M.; PRATES, H.T.; LEITE, R.C.; FURLONG, J.F.; PEREIRA, I.C. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsificáveis de *Eucalyptus* spp. em *Boophilus microplus*. *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science* v.39(5) p. 247-253, 2002.
- 4- DINIZ, SERGIO, Petshop- **Um Negócio “bom pra cachorro”**. São Paulo: SEBRAE, 2004. 79 slides, color. Disponível em: <www.caesegatos.com.br/downloads/petshop> Palestra ppt > Acesso em: 21Mar.2007.

- 5- DRUMOND,R.O.; ERNEST,S.E.; TREVINO,J.L.; GLADNEY,W.J.; GRHAM,O.H.*Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus* (Acarine:Ixodidae) in natural and experimental conditions. **Folia Parasitology**. V.37.p.331-336,1973.
- 6- FARIAS,N.A.; RUAS,J.L.; SANTOS,T.R.B. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região sul do Rio Grande do Sul.**Ciência Rural** v.38(6)p.1700-1704,2008.
- 7- FERNANDES,F.F.; BESSA,P.A.D.; FREITAS,E.P.S. Evaluation of activity of the crude ethanol extract of *Magonia pubescens* St.Hil(Sapindaceae) against larvae of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus)microplus* (Canestrini,1887) (Acari:Ixodidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** v.51 p.1147-1152,2008.
- 8- LANGENAV,I.E.E. The examination and analysis of essential oils synthetics and isolates. In: **The Essential oil** New York: Robert E.Krieger Publishing CO Huntington 1948.
- 9- LEITE,R.C.; LABRUNA,P.R.; OLIVEIRA,A.M.F. In vitro susceptibility of engorged females from different populations of *Boophilus microplus* to commercial acaricides. **Revista Brasileira de Patologia** v.4, n. 2, p. 283-284, 1995.
- 10- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil. São Paulo, 3ªed, v.2, 2000.
- 11- MARKMAN, B. E. O. **Caracterização farmagnóstica de campomanesia xanthocarpa myrtaceae**. São Paulo, p. 169, 2002. Dissertação(Mestre em farmacognosia), Faculdade de Farmácia, Universidade de São Paulo.
- 12- VALLILO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GABERLOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia xanthocarpa* Berg- Myrtaceae, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.4, p. 805-810, 2006.

Análise Filogenética dos Fatores de Transcrição da família ERF das leguminosas *Phaseolus vulgaris* e *Glycine max*

Polyana Barros Polido^a, Tânia Mayumi Ito^a, Silvia Graciele Hülse de Souza^b

^aDoutoranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, polypolido@gmail.com; ^bDocente da Pós Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

As leguminosas são importantes fontes alimentares da dieta brasileira, por possuírem relevantes teores de cálcio, ferro e zinco, minerais essenciais ao organismo e metabolismo celular^{1,2}. No entanto, a produtividade e a qualidade dessas leguminosas são adversamente afetada por diferentes estresses. Tais estresses, são caracterizados por condições ambientais adversas que afetam o crescimento e a produtividade de leguminosas importantes para o consumo humano, com isso provocam respostas de defesa da planta baseados na ativação e regulação da expressão de vários genes³. Os fatores de transcrição *ethylene response factor* (ERF) desempenham papel crucial no desenvolvimento e na expressão dos genes que regulam as respostas a estresses bióticos e abióticos de plantas⁵. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi identificar caracterizar e comparar *in silico* os fatores de transcrição ERF presentes no Banco de dados ESTs de *Phaseolus vulgaris* (feijão-comum) e *Glycine max* (soja). Para isso, foram realizadas buscas no banco de dados Phytozome Database de *Phaseolus vulgaris* e *Glycine max*, utilizando o domínio AP2 proveniente da planta modelo *Arabidopsis thaliana*. As sequências protéicas contendo o domínio AP2 completo foram alinhadas utilizando o algoritmo ClustalW versão 2.0⁴. A árvore filogenética foi construída utilizando-se o método *Maximum Likelihood* usando a opção *pair-wise deletion* com a ajuda do programa MEGA versão 6.0⁵. Foram identificados 127 genes em *Phaseolus vulgaris* L. e 97 genes em *Glycine max* da família AP2/ERF e a reconstrução filogenética a partir do domínio conservado AP2/ERF demonstrou que a família ERF está dividida em 10 grupos principais. Além disso, a análise dos motivos resultou na identificação dos domínios conservados fora do domínio AP2 e foram distribuídas entre grupos específicos, no qual desempenham funções específicas. Com base na sequência do domínio AP2/ERF os genes atribuídos à família ERF, foram classificados em duas subfamílias, 47 e 28 ERFs foram atribuídos à subfamília DREB e os outros 80 e 69 foram identificados como membros da subfamília ERF, para feijão-comum e soja respectivamente. Foram construídas duas árvores filogenéticas a partir das 127 proteínas *P. vulgaris* e 97 proteínas *G. max* utilizando o método *Maximum Likelihood*. A partir da classificação da família ERF em *Arabidopsis*, as proteínas ERF de *P. vulgaris* e *G. max* foram identificadas como pertencentes aos 10 principais grupos, nomeados como grupos I-X. Os dados gerados nesse trabalho ajudarão na identificação de possíveis genes candidatos que auxiliarão na compreensão dos determinantes genéticos da tolerância a estresses bióticos e abióticos, que constitui um passo importante nos programas de melhoramento genético dessas espécies.

REFERÊNCIAS

- ¹PROLLA, I.R.D. **Características físico-químicas de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e efeitos biológicos da fração fibra solúvel**. Dissertação de Mestrado-Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica. Universidade Federal de Santa Catarina, RS, 2006.
- ²PEREIRA, A. C. V. Z. **Análise Funcional de transcrição DREB6A de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) pela superexpressão em *Arabidopsis thaliana***. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. F.177. 2014.
- ³NAKANO, T.; SUZUKI, K.; FUJIMURA, T.; SHINSHI, H. Genome-Wide Analysis of the ERF gene family in *Arabidopsis* and *Rice*. **Plant Physiology**, February 2006, Vol. 140, pp. 411–432,
- ⁴LARKIN, M. A. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatic**, v. 23, n. 21, p. 2947-2948, 2007.
- ⁵TAMURA, K. et al. Mega 6: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, n. 10, p. 2731-2739, 2011.

ANÁLISE *IN SILICO* DOS GENES DA FAMÍLIA DOF NO FEIJOEIRO

Tânia Mayumi Ito^a, Polyana Barros Polido^a, Silvia Graciele Hulse de Souza^b,

^aDoutorando em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, saradesf@hotmail.com; ^bDocente da Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

A família DOF (DNA binding with one finger) são fatores de transcrição que possuem o domínio zinc-finger¹, e suas funções estão associadas à regulação de processos vitais em plantas, tais como, assimilação de carbono fotossintético, acumulação de proteínas de armazenagem de sementes, germinação, dormência, resposta a fitormônios, tempo de floração e expressão de genes². Sendo assim, o objetivo do presente trabalho é identificar e caracterizar *in silico* membros da família DOF presentes no banco de dados de ESTs em *Phaseolus vulgaris*. Neste estudo, sequências proteicas da família DOF na planta modelo *Arabidopsis thaliana* provenientes do Banco de dados PlantTFDB database já identificadas foram utilizadas para identificar os fatores de transcrição DOF em feijão. Para isso, foram realizadas buscas dentro do Banco de dados Phytozome Database de *P. vulgaris* usando o algoritmo BlastP³. Para confirmar a identidade das sequências proteicas, estas foram confrontadas com aquelas depositadas no banco de dados do GenBank, usando os programas BlastP e BlastX. As sequências coletadas que apresentaram o domínio DOF incompleto, entradas redundantes ou cujos ORFs se mostraram incorreto, foram excluídas da análise. As sequências proteicas que continha o domínio DOF completo foram alinhadas através do algoritmo Clustal omega. Para análise filogenética foi realizado alinhamento do domínio DOF de *P. vulgaris* usando o algoritmo Clustal omega⁴. A árvore filogenética foi construída com a ajuda do programa Mega. Em todo o genoma do feijoeiro foram identificados 36 genes que foram nomeados *PvDof01 a PvDof36*, dos quais foram classificadas em oito subfamílias: A, B1, B2, C1, C2, C2.1, D1 e D2, baseada em análise filogenética de *A. thaliana* e *Oriza sativa*. Os dados gerados neste estudo servirão como referencia para futuras análises funcionais da família DOF em *P. vulgaris*, que poderão ser empregados nos programas genéticos do feijoeiro. As informações obtidas neste trabalho são parciais, uma vez que este estudo encontra-se em fase de execução.

REFERÊNCIAS

¹YANAGISAWA, S. A novel DNA-binding domain that may form a single zinc finger motif. **Nucleic Acids Research**, v. 23, p. 3403-3410, 1995.

²LIJAVETZKY, D.; CARBONERO, P.; VICENTE-CARBAJOSA J. Genome wide comparative phylogenetic analysis of the rice and Arabidopsis Dof gene families. **BMC Evolutionary Biology**, v. 3, p.17, 2003.

³ALTSCHUL, S. F. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 25, p. 3389-3402, 1997.

⁴LARKIN, M. A. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatic**, v. 23, n. 21, p. 2947-2948, 2007.

ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DE *Gallesia integrifolia*(SPRENG.) HARMS (PHYTOLACCACEAE)

Keila Fernanda Raimundo^a, Wanessa de Campos Bortolucci^b, Eloísa Schneider^c,
Jessica Ressonio Limone^d, Carina Akemi Chimada^e, Zilda Cristiani Gazim^f

^aDoutoranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, ke_fer25@yahoo.com.br;
^bMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR; ^cDiscente do curso de Farmácia (PIBIT), Unipar, Umuarama-PR; ^dDiscente do curso de Farmácia, Unipar, Umuarama-PR (PIBIC); ^eDiscente do curso de Farmácia, Unipar, Umuarama-PR (PIC); ^fDocente do Mestrado e Doutorado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR

Várias espécies nativas possuem grande potencial econômico devido à presença de óleos essenciais¹. Espécies aromáticas e também medicinais podem ser encontradas na Floresta Atlântica, entre elas o pau d'alho, *Gallesia integrifolia*(Spreng.) Harms. Planta nativa do sul da América, pertencente à família Phytolaccaceae². Os óleos essenciais tem mostrado atividade sobre *Rhipicephalus(Boophilus) microplus* e também sobre larvas de *Aedes aegypti*, sendo, portanto, uma alternativa biotecnológica na resistência de pesticidas e redução dos efeitos tóxicos³. Esse trabalho teve por objetivo investigar as atividades larvicidas do óleo essencial dos frutos verdes de pau d'alho obtido por hidrodestilação. A coleta dos frutos de pau d'alho foi realizada nos meses de maio e junho de 2015, período em que a planta apresentou a presença dos frutos. O óleo foi obtido pelo processo de hidrodestilação por duas horas e, então, testado em larvas e pupas do *Aedes aegypti* e larvas do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pelo teste de imersão larval⁴. As doses letais (DL) foram determinadas pela Análise de Probitos para ambos os testes; sendo que para as larvas do *A. aegypti*, a DL_{99,9} foi de 0,00133 ± 0,00094 mg/mL, enquanto que para a DL₅₀ obteve-se 0,00120 ± 0,00085 mg/mL. Já para as pupas do *A. aegypti*, a DL_{99,9} foi de 1,47 ± 0,030 mg/mL e a DL₅₀ 0,84 ± 0,050 mg/mL. Para o *R. (B.) microplus*, obteve-se DL_{99,9} de 0,23 ± 0,010 mg/mL e DL₅₀ de 0,070 ± 0,010 mg/mL. O estudo encontra-se em andamento e apresenta-se promissor nos resultados obtidos, visto que o carrapato bovino acomete grandes prejuízos à pecuária⁵ e o *A. aegypti*, uma infecção viral que é responsável por um número de mortalidade em todo o mundo^{7,8}. Poucas pesquisas existem sobre a atividade biológica do pau d'alho, fazendo com que aumente as buscas por alternativas que substituem os produtos químicos pelos naturais.

REFERÊNCIAS

- 1 MITTERMEIER, R. A.; WERNER, T. B. **Wealth of plants and animals unites "megadiversity" countries**. *Tropics*, v. 4, n.1, p. 4-5, 1990.
- 2 MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C.G., FONSECA, G. A. B. & KENT, J. **Biodiversity hotspots for conservation priorities**. *Nature* 403: 853-858, 2000.
- 3 ALBAYRAK, S.; AKSOY, A.; SAGDIC, O.; ALBAYRAK, S. Antioxidant and antimicrobial activities of different Extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in turkey. **Journal of Food Biochemistry**. v. 36, n. 5, p. 547-554, outubro, 2012.
- 4 LEITE, R. C.; LABRUNA, P. R.; OLIVEIRA, A. M. *In vitro* susceptibility of engorged females from different populations of *Boophilus microplus* to commercial acaricides. **Revista Brasileira de Parasitologia**. v.4. n. 2. p. 283-284, 1995.
- 5 ÁLVAREZ, V.; LOAIZA, J.; BONILLA, R.; BARRIOS, M. Control *in vitro* de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales. **Revista de Biología Tropical**, v. 56, n. 1, p. 291-302, 2008.
- 6 GUBLER, D. J. *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti*-borne disease-control in the 1990-top down or bottom up, *Am. Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 40, n. 6, p. 571-578, 1989.
- 7 SILVA, W. J.; DÓRIA, G. A. A.; MAIA, R. T.; NUNES, R. S.; CARVALHO, G. A.; BLANK, A. F. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3251-3255, 2008.

ATIVIDADE BIOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DO ARAÇÁ ROSA (*Psidium cattleianum*) CONTRA LARVAS DE *Aedes aegypti*

Thaís Lorana Savoldi^a; Janyeli Dorini Silva de Freitas^b; Wanessa de Campos Bortolucci^c; Giani Andrea Linde^d; Zilda Cristiane Gazim^d; Nelson Barros Colauto^d

^aDoutoranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR, thaislorana@hotmail.com; ^bBolsista PIBIC; ^cMestranda em Biotecnologia Aplicada à Agricultura; ^dDocente do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Unipar, Umuarama-PR.

Aedes aegypti é o principal vetor de doenças de grande incidência no Brasil como a Dengue, a Zika e a Chikungunya que causam prejuízos à saúde humana¹. Extratos de plantas e óleos essenciais vêm sendo utilizados como alternativas a inseticidas industriais. O araçá rosa (*Psidium cattleianum*), pertence à família Myrtaceae, é reconhecida por apresentar atividade antimicrobiana e antioxidante². Diante da importância do controle deste vetor, este estudo teve como objetivo investigar a atividade biológica do óleo essencial do araçá rosa (*Psidium cattleianum* Sabine) contra larvas de *Aedes aegypti*. O óleo essencial foi extraído a partir de folhas secas da planta, submetidas ao processo de hidrodestilação por aparelho de Clevenger modificado; a caracterização química foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa. Após a análise foram caracterizados 69 compostos, sendo os compostos majoritários o 1-8 cineol (18,92%) e o trans-cariofileno (18,64%). Para a realização da atividade inseticida foram utilizadas larvas no terceiro estágio de formação do *Aedes aegypti*². As larvas foram separadas com o auxílio de pipeta de Pasteur, posteriormente distribuídas em grupos de 10 larvas com duas repetições. Para a diluição do óleo essencial utilizou-se polissorbato 80 nas seguintes concentrações de crescentes de óleo essencial: 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, 0,039% e 0,019%. Após a inoculação das larvas nas concentrações seriadas, incubou-se em temperatura ambiente por 24 h para avaliar o efeito da concentração do óleo essencial na mortalidade das larvas e determinar a DL₅₀. O ensaio foi comparado com Temefós® como controle positivo na concentração de 1%³. O óleo essencial na concentração de 0,156% ou maior foi efetivo para matar 100% das larvas de *Aedes aegypti* sugerindo uma potencial ação inseticida a partir de doses muito menores que o inseticida comercial (controle). Os dados observados são resultados parciais; o estudo ainda está em fase de desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

- ¹LIMA, M.G.A.; MAIA, I.C.; SOUSA, B.D.; MORAIS, S.M.; FREITAS, S.M. Effect of stalk and leaf extracts from Euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.48, n.4, p. 211-214, 2006.
- ²MEDINA, A.L.; HAAS, L.I.R.; CHAVES, F.C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R.C.; SILVA, W.P.; NORA, L.; ROMBLADI, C.V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v.128, n.4, p. 916-922, 2011.
- ³CAVALCANTI, E.S.B., MORAIS, S.M.; LIMA, M.A.A.; SANTANA, E.W.P. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.98, p. 541-544, 2004.