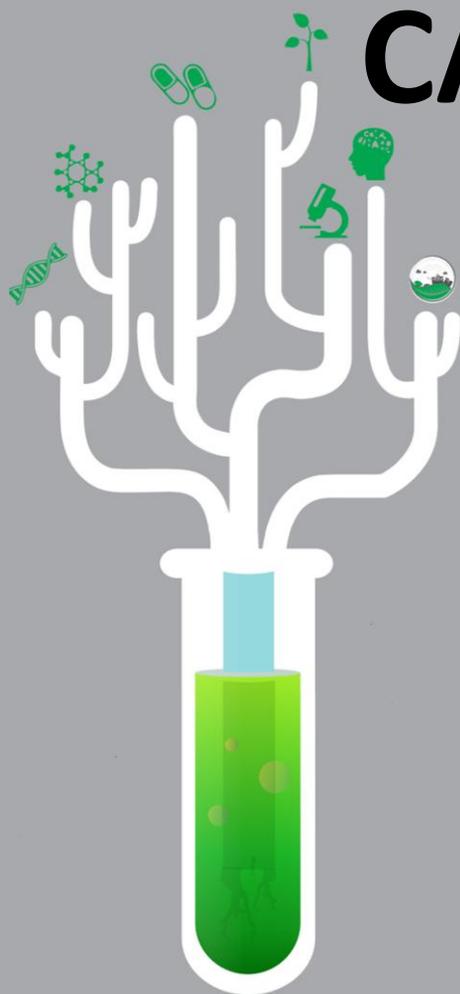


III Simpósio de Integração

das Pós-graduações do **CCB/UFSC**

Florianópolis, 17 a 20 de novembro de 2014



CADERNO DE RESUMOS

Leica

KASVI



BIO**SUL**
CIENTÍFICA

BIOGEN[®]
BIOTECNOLOGIA E QUÍMICA

 **SanBio**
CIENTÍFICA
www.sanbiocientifica.com.br

Apresentação

O Centro de Ciências Biológicas (CCB) da UFSC em 2004 era responsável por apenas quatro programas de pós-graduações e foi nessa época que se realizou pela primeira vez um simpósio de integração dos programas de PGs do CCB. Somente em 2012, quando o CCB já contava com oito programas de pós-graduação, que os alunos de diferentes PGs do CCB resolveram se reunir para organizar novamente um simpósio de integração, oficialmente intitulado **I Simpósio de Integração das Pós-graduações do CCB/UFSC (I SIP-CCB)**. Devido ao sucesso do I SIP-CCB, em 2013 foi organizado o II SIP-CCB, e no ano corrente, teremos a terceira edição do simpósio de integração.

O objetivo principal dos **Simpósios de Integração das Pós-graduações do CCB** é incentivar a integração entre os programas de pós-graduações do CCB/UFSC. O evento congrega os mestrandos, doutorandos, pós-doutorandos e docentes dos oito programas de pós-graduação existentes no CCB: Biologia Celular e do Desenvolvimento, Biologia de Fungos, Algas e Plantas, Bioquímica, Biotecnologia e Biociências, Ecologia, Farmacologia, Fisiologia e Neurociências, assim como dos cursos de Mestrado Profissionalizante em Perícias Ambientais.

Na programação do **III SIP-CCB** estão previstas apresentações orais e mesas de discussão que permitirão o intercâmbio de conhecimento entre as diferentes áreas de concentração, bem como o estabelecimento de colaborações para o desenvolvimento de projetos científicos. Além disso, professores internos e externos à UFSC serão convidados para ministrarem conferências com enfoque interdisciplinar e participarem das mesas de discussão. Cada aluno terá a oportunidade de discutir seus projetos e resultados com pesquisadores de renome na ciência do Brasil, através de palestras de elevado nível científico e mesas de discussão, podendo desenvolver parcerias dentro e fora da UFSC. Além disso, alunos de graduação terão a oportunidade de participar do evento apresentando resumos de trabalhos desenvolvidos em cooperação com alunos de pós-graduação.

A Comissão organizadora se empenhará para que o **III SIP-CCB** alcance a expectativa de todos.

Comissão Organizadora

Ma. Ana Belén Ramos Hryb
Geneticista, Mestre em Biologia Celular e do Desenvolvimento – UFSC, Doutoranda da PG em Neurociências - UFSC

Ma. Ana Paula Gruending
Fisioterapeuta, Mestre em Ciências da Saúde – UFSC, Doutoranda da PG em Biotecnologia e Biociências – UFSC

Me. Anderson Savaris Ribas
Fisioterapeuta, Mestre em Ciências Fisiológicas – UFSC, Doutorando da PG em Fisiologia - UFSC

Andréia Simões de Castro Cunha
Bióloga, Mestranda da PG em Neurociências - UFSC

Bianca Romeu
Bióloga, Mestranda da PG em Ecologia –UFSC

Christian Louis Bonatto Paese

Biólogo – UNIOESTE, Mestrando da PG em Biologia Celular e do Desenvolvimento –UFSC

Ma. Daiane Engel
Farmacêutica Bioquímica, Mestre em Neurociências – UFSC, Doutoranda da PG em Bioquímica – UFSC

Ma. Débora Lanznaster
Bióloga, Mestre em Neurociências – UFSC, Doutorado na PG em Neurociências – UFSC. Pós- doutorando da PG em farmacologia – UFSC.

Ma. Débora DenardinLückemeyer
Farmacêutica Bioquímica, Doutoranda da PG em Biotecnologia e Biociências – UFSC

Dr. Dib Ammar
Biólogo, Mestre em Neurociências, Doutor em Ciências Morfológicas, Pós-doutorando da PG em Biologia Celular e do Desenvolvimento – UFSC

Flora Lucena Santana



Farmacêutica-Bioquímica, Mestre em Farmacologia – UFSC, Doutoranda da PG em Farmacologia – UFSC

Me. Gianni Mancini

Farmacêutico, Mestre em Bioquímica – UFSC, Doutorando da PG em Neurociências - UFSC

Ma. Janaína Nones

Química, Mestre em Ciências dos Alimentos – UFSC, Doutoranda da PG em Engenharia Química - UFSC

Igor dos Santos Coelho

Educador Físico, Mestrando da PG em Neurociências – UFSC

Giulia Burle Costa

Engenheira de Aquicultura, Mestranda da PG em Biologia de Fungos, Algas e Plantas - UFSC

Julia Macedo Rosa

Farmacêutica, Mestranda da PG em Bioquímica - UFSC

Laís Eiko Yamanaka

Bióloga, Mestranda da PG em Biotecnologia e Biociências - UFSC

Michele Patrícia Rode

Farmacêutica, Mestranda da PG em Biologia Celular e do Desenvolvimento - UFSC

Ma. Renata Cristina Nunes Marchette

Farmacêutica-Bioquímica, Mestre em Farmacologia – UFSC, Doutoranda da PG em Farmacologia – UFSC

Me. Vagner Miranda Portes

Médico veterinário, Mestre em Ciências Veterinárias - UDESC, Doutorando da PG em Biotecnologia e Biociências - UFSC

Valquíria Machado Cardoso Weiss

Doutoranda da PG em Biologia Celular e do Desenvolvimento - UFSC

Ma. Vivian Binder Neis

Farmacêutica Bioquímica, Mestre em Neurociências, Doutoranda da PG em Bioquímica – UFSC



Programação resumida

SEGUNDA-FEIRA - 17/11/14

14:00 - 15:00 h Credenciamento e entrega de material

15:00 - 17:00 h EVENTO SATÉLITE: Estudos Forenses: Química, Toxicologia e Genética Forenses, e Vestígios Biológicos

Esp. Karina Nonemacher : A Rotina Laboratorial em Química Forense

Esp. Bruna de Souza Boff: A Rotina Laboratorial em Toxicologia Forense

MSc. Kelly Ribas Lobato: Metodologias aplicadas nas análises laboratoriais forenses de Vestígios Biológicos

MSc. Clineu Julien Seki Uehara: A Rotina Laboratorial em Genética Forense

17:00 h - 19:00 h Apresentação dos Programas de Pós-Graduações do CCB/UFSC

PALESTRA DE ABERTURA: A confirmar

19:00 - 22:00 h Coquetel de abertura

TERÇA-FEIRA - 18/11/14

08:30 - 09:00 h Café da manhã

09:00 - 12:00 h MESA REDONDA: Animais e métodos alternativos

-Dr. Alex Rafacho;

-Dr. Carlos Roberto Zanetti;

-Ma. Vanessa Foletto da Silva;

-Dr. Octávio Presgrave.



12:00 - 13:00 h Almoço

13:00 - 14:00 h WORKSHOP

Sala 1. LAMEB I e II: Estrutura e funcionamento

-Ma. Chirle Ferreira

-Denis DallAgnolo.

Sala 2.Entomofagia.

-Dr. Carlos Peres

Sala 3. PALESTRA SINAPSE BIOTECNOLOGIA: Tecnologias para Sequenciamento de Nova Geração.

-Nelson Alves Jr, PhD.

14:00- 15:00 h APRESENTAÇÕES ORAIS

SIMILARIDADES COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICAS NO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA CREATINA E DA CETAMINA.

A. Padilha, Dayane; L. Pazini, Francis; P. Cunha, Mauricio; Lieberknecht, Vicente; M. Rosa, Julia; Oliveira, Ágatha; Colla, André; Ribeiro, Camille;Lúcia S. Rodrigues, Ana.

EXPRESSÃO HETERÓLOGA DE UMA ISOFORMA DA FAMÍLIA DAS PROTEÍNAS LIGANTES DE ÁCIDOS GRAXOS (FABPs) DE *Crassostrea gigas*: SUBSÍDIO PARA A BUSCA DE NOVOS LIGANTES.

Soares, Fabíola Santos; Razzera, Guilherme; Bainy, Afonso C.D.

INDUÇÃO DE NADPH CITOCROMO P450 REDUTASE NA EXPOSIÇÃO DE *CRASSOSTREA BRASILIANA* À FRAÇÃO DE ÓLEO DIESEL ACOMODADA EM ÁGUA (FAD). Lüchmann,



Karim Hahn; Marques, Maria Risoleta Freire; Bainy, Afonso Celso Dias.

MICROINJEÇÃO DE AGONISTA CANABINÓIDE NO ACCUMBENS SHELL INDUZ ANSIOGÊNESE NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.

Kochenborger, Larissa; Levone, Brunno R.; Silva, Eduardo Simão; Taschetto, Ana Paula D.; Terenzi, Mariana G.; Paschoalini, Marta A.; Faria, Moacir S.

15:00 - 16:00 h MESAS DE DEBATE CIENTÍFICO

Sala 1. Metodologias de análises de dados

-Dr. Marcelo Menezes Reis.

Sala 2. Unidades de conservação: delimitação e desafios de manejo

-Dr. Rafael Trevisan;

-Dr. José Salatiel Rodrigues Pires

Sala 3. Interação patógeno-hospedeiro

-Dr. Rafael Diego da Rosa;

-Dr. André Luiz Barbosa Báfica.

16:00 - 17:00 h COFFE-BREAK E PAINÉIS

17:00 - 19:00 h MESA REDONDA: Ferramentas de identificação biológica

-Dra. Daniela Cristina de Toni;

-Dr. Paulo Antunes Horta;

-Dr. Marcelo Maraschin.

QUARTA-FEIRA - 19/11/14

08:30 - 09:00 h Café da manhã



III Simpósio de Integração das Pós-Graduações do CCB/UFSC
Florianópolis, 17 a 20 de novembro de 2014.

09:00 - 12:00 h MESA REDONDA: Empreendedorismo, Inovação Tecnológica e Patentes

- Dr. Mário Steindel;
- Dra. BetinaGiehl Zanetti Ramos;
- Dr. Ricardo Amaral Remer;
- Dr. Marcelo Maraschin;
- Dr. Fabrício Alano Pamplona.

12:00 - 13:00 h Almoço

13:00 - 14:00 h WORKSHOP

Sala 1. Análises in sílico.

- Dra. Andrea Rita Marrero

Sala 2. PALESTRA BIOGEN: PCR em Tempo Real

14:00- 15:00 h APRESENTAÇÕES ORAIS

RUTIN PROTECTS MELANOCYTES FROM DEATH CAUSED BY AFLATOXIN B1.

Nones, Jader; Nones, Janaína; Almeida, Patrícia A.;Trentin, Andrea G.

TRIAGEM CITOTÓXICA DE CARDENOLÍDEOS E AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO DO COMPOSTO MAIS ATIVO EM CÉLULAS A549. Persich, Lara; Schneider, Naira Fernanda; Silva, Izabella Thaís; Carvalho, Annelise; Pádua, Rodrigo Maia; Kreis, Wolfgang; Braga, Fernão Castro; Simões, Cláudia Maria Oliveira.

ISONIAZID INDUCES KILLING OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS THROUGH A HOST TNF/IL-1BETA-INDEPENDENT, PATHOGEN KATG-DEPENDENT PATHWAY IN A HUMAN GRANULOMA MODEL.



Lívia Harumi Yamashiro; Marina Dutra Soncini, Carolina Eto, Verônica Vargas Horewicz;
Magno Delmiro Garcia; Darcita Rovaris; André Báfica.

SEDIMENTATION AND SURVIVAL EVALUATION OF PATHOGENS IN SWINE EFFLUENT
AND SLUDGE FOR SAFE REUSE PURPOSES.

Fongaro, Gislaine; Kunz, Airton; Schissi, Camila Daminelli, Magri, Maria Elisa, Zaguini,
Joceli, Barardi, Célia Regina Monte.

15:00 - 16:00 h MESAS DE DEBATE CIENTÍFICO

Sala 1. Redação científica

-Dra. Silvana Allodi;

-Dra. Mabel Mariela Rodríguez Cordeiro

Sala 2. LAMEB II e LCME

-Ma. Chirle Ferreira

-Ma. Eliana de Medeiros

Sala 3. Intercâmbio: McGillUniversity

16:00 - 17:00 h COFFE-BREAK E PAINÉIS

17:00 - 19:00 h MESA REDONDA: Estresse e distúrbios

-Dr. Geison de Souza Izídio;

-Dr. Rui Daniel S. Prediger;

-Dra. Ana Lucia Severo Rodrigues;

-Dr. Rodrigo Bainy Leal.

QUINTA-FEIRA - 20/11/14

08:30 - 09:00 h Café da manhã



III Simpósio de Integração das Pós-Graduações do CCB/UFSC
Florianópolis, 17 a 20 de novembro de 2014.

09:00 - 12:00 h MESA REDONDA: Revistas científicas

-Dr. Hernandes Faustino de Carvalho;

-Dra. Silvana Allodi;

-Dr. Paulo Roberto Hofmann.

12:00 - 13:00 h Almoço

13:00 - 14:00 h WORKSHOP

Sala 1. PALESTRA LEICA: Microdissecção a laser

Sala 2. Biossegurança

-Dr. Edmundo Carlos Grisard

14:00 - 15:00 h APRESENTAÇÕES ORAIS:

ALTERNATIVAS SUSTENTÁVEIS NA PRODUÇÃO CIMENTÍCIA PODEM DIMINUIR O IMPACTO AMBIENTAL.

Boca Santa, Rozineide A. A.; Nones, Janaína; Riella, Humberto G.; Kuhnem, Nivaldo C.

ESTUDO DA EFICIÊNCIA DE BIODIGESTOR ANAERÓBIO NA DESINFECÇÃO DE EFLUENTES SUÍNOS E BOVINOS VISANDO REUSO AGRÍCOLA.

Zeredo, Ana Carolina Baltazar; Fongaro, Gislaiane; Barardi, Célia Regina Monte.

DETERMINAÇÃO DA MATURIDADE SEXUAL DE UMA ESPÉCIE DE HYALELLA (HYALELLIDAE) DE UM BANHADO DO MUNICÍPIO DE PALMEIRA DAS MISSÕES, RS.

Castro, Vanessa da silva de; Galiotto, Kelly; Castiglioni, Daniela da Silva.

QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE Araucaria angustifolia APÓS SECAGEM PARCIAL.



Shibata, Marília; Coelho, Cileide M. M.

15:00 - 16:00 h MESAS DE DEBATE CIENTÍFICO:

Sala 1. Bioprospecção de compostos ativos

-Dr. Paulo Antunes Horta

-Dr. Elisandro Ricardo Drechsler-Santos

Sala 2. LAMEB I

-Denis DallAgnollo

-Ma. Bibiana S. de Almeida

Sala 3. Influência genética nas alterações comportamentais

-Dr. Geison de Souza Izídio

16:00 - 17:00 h COFFE-BREAK E PAINÉIS

17:00 - 19:00 h PALESTRA DE ENCERRAMENTO: A confirmar



DIA 18/11

FARMACOLOGIA

1. O ANTAGONISMO ADENOSINÉRGICO DIMINUI O COMPORTAMENTO TIPO-ANSIEDADE INDUZIDO PELA ABSTINÊNCIA AO ETANOL

Ezequiel Rodrigues Dias¹; Vagner Fagnani Linartevichi¹; Thereza Christina Monteiro de Lima¹
linartevichi@gmail.com

¹Laboratório de Neurofarmacologia, Depto. de Farmacologia, UFSC

A dependência ao etanol constitui um grave problema de saúde pública. Um dos maiores desafios no combate à dependência são os sintomas relacionados à abstinência a droga, caracterizada por ansiedade, agressividade e prejuízo cognitivo. Atualmente o tratamento da ansiedade se dá por meio de benzodiazepínicos. No entanto, estes apresentam severos efeitos colaterais, além de também ocasionarem dependência. Nesse contexto, o estudo de novos mediadores envolvidos nos processos de dependência e abstinência ao etanol se faz necessário. A cafeína é um antagonista não seletivo dos receptores adenosinérgicos e a literatura relata sua participação na diminuição da ingestão espontânea de etanol em roedores. No entanto, o papel da cafeína na ansiedade gerada na abstinência ao etanol ainda não foi investigado. Camundongos swiss (90 dias – 50 g) receberam por via intra-gástrica solução de etanol em doses crescentes (1, 2 e 3g/kg – 2 vezes/dia – 4 dias/dose). Após 4 dias de abstinência os animais foram avaliados no labirinto em cruz elevado (LCE) por 5 min. O tratamento farmacológico se deu por via intraperitoneal 30 min antes do LCE com: Diazepam (DZP 2mg/kg – agonista GABA); Cafeína (CAF 10, 20 e 30mg/kg – agonista adenosinérgico não seletivo), DPCPX (3 mg/kg– antagonista dos receptores A1 da adenosina) e ZM241385 (1 mg/kg – Antagonista A2a). Os parâmetros avaliados foram tempo e entrada em cada braço e postura de avaliação de risco. Os procedimentos foram realizados após aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (PP798UFSC). Os grupos (n=6-7) foram independentes. A análise de variância (ANOVA) de duas vias (pré-tratamento x tratamento) não revelou diferença significativa ($F_{6,79}=0,61$ $P=0,71$) para as entradas nos braços fechados, indicando que não houve comprometimento locomotor. Quanto à exploração dos braços abertos, a ANOVA demonstrou uma interação significativa ($F_{6,79}=16,6$ $P=0,0001$). A análise de post hoc de Newman-Keuls revelou que os animais tratados com etanol exploraram menos os braços abertos quando comparados ao grupo controle ($P=0,005$). Esse efeito foi revertido pelo DZP e CAF 10 mg/kg. Além disso, o comportamento tipo-ansiedade ocasionado pela abstinência ao etanol foi revertido pelo DPCPX e não pelo ZM. Para o parâmetro posturas de avaliação de risco, a ANOVA demonstrou uma diferença significativa ($F_{6,79}=3,35$ $P=0,005$), no entanto, apenas o DZP reduziu esse parâmetro. Os dados sugerem que o comportamento tipo-ansiedade gerado pela abstinência ao etanol pode ser revertido por meio da cafeína e esse processo parece ser mediado pelos receptores adenosinérgicos A1.

Palavras-chave: cafeína, farmacodependência, ansiedade



2. INFUSÃO INTRA-HIPOCAMPAL DO NEUROPEPTÍDEO Y PREJUDICA A RECONSOLIDAÇÃO DE UMA MEMÓRIA AVERSIVA

Vagner Fagnani Linartevichi¹, Ezequiel Rodrigues Dias¹, Thereza Christina Monteiro de Lima¹
linartevichi@gmail.com

¹Laboratório de Neurofarmacologia, Depto. de Farmacologia, UFSC

A codificação de memórias emocionais pode ocorrer de maneira inapropriada, resultando em condições patológicas, tais como o Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT). A manipulada etapa de reconsolidação da memória como ferramenta para o tratamento do TEPT já é conhecida. O papel do Neuropeptídeo Y (NPY) na neurobiologia da ansiedade experimental também já foi demonstrado, mas sua função nos processos mnemônicos não é conhecida. Investigamos os efeitos da infusão de NPY no hipocampo dorsal de ratos Wistar machos (350g, 3 meses) testados em um protocolo de reconsolidação de uma memória aversiva. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFSC (PP798). Sete dias após implantação bilateral de cânulas-guia foi realizado o condicionamento de medo contextual e o parâmetro analisado foi o tempo de congelamento do animal. Cada rato foi alocado em um contexto A (caixa de choque) por 3 min, durante 5 dias consecutivos para: 1-familiarização, 2-condicionamento (3 choques de 1,0mA), 3-reativação (sem a presença do choque) seguido pela infusão intra-hipocampo dorsal dos fármacos, 4-teste A (caixa de choque – retenção da memória) e 5-teste B (caixa diferente da utilizada anteriormente – generalização do medo). Para avaliar o efeito do NPY sobre o nível de ansiedade, grupos independentes foram infundidos com os fármacos 10 min antes do teste no Labirinto em Cruz Elevado (LCE). Apenas animais com acerto cirúrgico bilateral foram considerados na análise estatística. A análise de variância (ANOVA) de uma via não mostrou diferença significativa ($F_{4,30}=0,17$ $P=0,94$ $n=7$) durante a sessão de reativação. Durante o teste A, houve uma diferença significativa ($F_{4,30}=3,54$ $P=0,017$) entre os grupos [(média±EPM) Veículo=79,7±7,8 $n=7$; NPY 1 pmol=74,2±9,1 $n=7$; NPY 3 pmol=32,6±6,5 $n=7$; LP-NPY (agonista Y1) 1 pmol=84,7±8,2 $n=7$; ANI (Anisomicina–controle positivo) 80 ug=40,1±7,5 $n=7$]. O teste *post hoc* Newman-Keuls demonstrou que os animais tratados com 3pmol de NPY e ANI expressaram menos congelamento ($P<0,05$) quando comparados com os demais grupos. Nenhuma diferença ($F_{4,30}=0,7$ $P=0,59$) foi observada quando os animais não tiveram a memória reativada, ou quando foram expostos ao contexto B ($F_{4,30}=0,05$ $P=0,99$). No LCE, a ANOVA de uma via não revelou diferença ($F_{4,30}=2,09$ $P=0,10$ $n=7$) entre os grupos para o tempo de exploração dos braços abertos (um índice de atividade tipo-ansiedade) nem para os braços fechados ($F_{4,30}=0,17$ $P=0,94$ $n=7$) (um índice locomotor). Sugerimos que a infusão de NPY parece prejudicar a reconsolidação de uma memória aversiva sem alterar, no entanto, os níveis de ansiedade ou atividade locomotora.

Palavras-chave: neurobiologia da memória, neuropeptídeos, transtorno de estresse pós-traumático.



3. UMA LECTINA MICOBACTERIANA PROMOVE ADESÃO DE BACILOS A MACRÓFAGOS E REGULA A MORTE CELULAR DURANTE A INFECÇÃO

Carolina Eto¹; Stefanny Viloche Morales¹; Nicole Menezes de Souza¹; Lucas Lima Nogueira¹; Daniel Mansur¹; Lee Riley²; André Báfica.¹

eto.carolina@gmail.com

1- Laboratório de Imunobiologia - Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia - UFSC

2 - Riley Laboratory - School of Public Health - UC Berkeley

O desenvolvimento da tuberculose depende da interação entre o hospedeiro e o patógeno, onde proteínas secretadas e de superfície do patógeno podem influenciar na interação entre célula e bactéria. Nosso grupo descreveu uma nova proteína secretada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), chamada sMTL-13 (secreted *Mycobacterium tuberculosis* 13kDa lectin). Essa proteína é codificada pelo gene Rv1419 e apesar de estudos anteriores do grupo mostrarem a importância da sMTL-13 como um antígeno importante em pacientes com tuberculose ativa, o papel dela durante a infecção ainda não foi elucidado. Uma bactéria nocaute para esse gene (Δ Rv1419) foi gerada a fim de investigar a importância desse gene durante a infecção. Análise *in silico* da proteína assim como sua detecção na parede celular da bactéria sugerem que sMTL-13 pode participar na entrada de Mtb na célula durante a interação inicial entre patógeno e hospedeiro. Isso foi confirmado através de experimentos de *binding*, realizados em macrófagos murinos e PBMC humano, nos quais foram observados que Δ Rv1419 apresentava menor *binding* quando comparado à cepa padrão de laboratório (H37Rv). Ainda, menores níveis de TNF foram detectados em sobrenadantes das culturas infectadas com Δ Rv1419, indicando que essa lectina pode ser importante para o reconhecimento de Mtb. Além disso, um maior crescimento intracelular foi observado na cepa nocaute comparado com a selvagem assim como uma maior morte celular. Em conclusão, esses dados sugerem que sMTL-13 expressa em Mtb regula a entrada da bactéria na célula e a morte celular, agindo como uma estratégia de sobrevivência desta micobactéria. Assim, permite o crescimento intracelular da mesma sem levar a células do hospedeiro à uma morte prematura.

Palavras-chave: *Mycobacterium tuberculosis*, macrófagos, lectina.



BIOQUÍMICA

4. Neopterina previne ativação do inflamossoma em cultura primária de astrócitos humanos

Roberta de Paula Martins^{1,2}, Edwin Lim², Gilles Guillemin², Alexandra Latini¹, Renata T. Nesi¹
robertamartinss@gmail.com

¹Laboratório de Bioenergética e Estresse Oxidativo, Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, Brasil

²Laboratório de Neuroinflamação, *Australian School of Advanced Medicine, Macquarie University*, Sydney – NSW, Australia

Neopterina (Neo), uma pteridina endógena, encontra-se em concentrações elevadas no fluido cerebro espinhal de pacientes com doenças neurodegenerativas. Este metabólito é comumente considerado um biomarcador sensível de ativação do sistema imune; entretanto, o papel específico de Neo no sistema nervoso central ainda é desconhecido. Tem sido demonstrado que durante processos inflamatórios ocorre a ativação do inflamossoma, um complex proteico macromolecular presente no citoplasma e responsável pela ativação das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β and IL-18, via ativação de caspase-1. Assim, nós pré-tratamos cultura primária de astrócitos humanos com Neo (0-500 nM) por 24 horas. Então, adicionamos lipopolissacarídeo (LPS; 5 μ g/mL), co-expondo as células a Neo (0-500 nM) e LPS por 24 horas para análises de qPCR e por 48 horas para ELISA e *western blot*. O RNA celular foi purificado para quantificar a expressão gênica de IL-1 β e caspase-1 por qPCR. Além disso, o sobrenadante celular foi coletado para quantificar a secreção de IL-1 β por ELISA, e o lisado celular usado para determinar o conteúdo proteico de caspase-1. Observou-se que o pré-tratamento com Neo preveniu o aumento na expressão gênica de IL-1 β e caspase-1 induzido por LPS, principalmente na concentração de 50nM. O pré-tratamento com Neo também atenuou o aumento do conteúdo proteico de caspase-1 e a secreção de IL-1 β . Assim, pode-se concluir que apesar de ser um biomarcador inflamatório, Neo deve agir na prevenção da ativação do inflamossoma e, conseqüentemente, na resposta inflamatória, sugerindo fortemente um mecanismo de proteção celular.

Palavras-chave: neopterina; inflamossoma; astrócitos.



5. SIMILARIDADES COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICAS NO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA CREATINA E DA CETAMINA.

A. Padilha, Dayane; L. Pazini, Francis; P. Cunha, Mauricio; Lieberknecht, Vicente; M. Rosa, Julia; Oliveira, Ágatha; Colla, André; Ribeiro, Camille; Lúcia S. Rodrigues, Ana.
dayufsc@gmail.com

Laboratório de neurobioquímica da depressão

A creatina desempenha um papel importante no metabolismo energético muscular e cerebral além de possuir efeito anti-excitotóxico, antioxidante, neuroprotetor e apresentar atividade antidepressiva em estudos pré-clínicos e clínicos. Uma nova estratégia para o tratamento da depressão refratária a tratamentos convencionais consiste na utilização de cetamina, um antagonista de receptores NMDA, que age de forma rápida e eficiente. Com a devida aprovação do Comitê de Ética da instituição (CEUA/UFSC - PP00795), este estudo investigou em camundongos Swiss fêmeas (30-45 g, 50-55 dias de idade), de forma comparativa, os efeitos antidepressivos da creatina (10 mg/kg, p.o.) e da cetamina (1 mg/kg, i.p.) e a participação da via PI3K/Akt/mTOR neste efeito. Para isso, utilizamos um modelo de indução de comportamento tipo-depressivo por meio da administração crônica (21 dias) de corticosterona (20 mg/kg, p.o.) nesses animais. O aumento no tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda induzido pelo modelo de depressão foi prevenido pelos tratamentos agudos com creatina ou cetamina, mas não com fluoxetina (10 mg/kg, p.o.). Adicionalmente foi demonstrado que o tratamento dos camundongos com wortmanina (um inibidor irreversível de PI3K, 0,1 µg/sítio, i.c.v.), ou rapamicina (um inibidor de mTOR, 0,2 nmol/sítio, i.c.v.) bloqueou o efeito anti-imobilidade da creatina ou cetamina, não diferindo dos animais submetidos ao modelo de depressão. Não foram observadas alterações na atividade locomotora dos animais no teste do campo aberto em nenhum dos grupos experimentais. Adicionalmente investigamos o efeito da creatina e da cetamina sobre a relação mTOR fosforilada e total no hipocampo. Comparado com o grupo controle, tanto os animais tratados com cetamina quanto os animais tratados com creatina apresentaram um aumento no imunoconteúdo de p-mTOR (Ser2481), enquanto que um aumento da relação p-mTOR/mTOR foi observada após o tratamento agudo com creatina ou cetamina, em relação aos animais tratados com corticosterona. O conjunto de resultados indica que a creatina, de forma similar à cetamina, exerce um efeito tipo-antidepressivo agudo em um modelo animal de depressão classicamente responsivo apenas à administração crônica de antidepressivos. Esse efeito parece ser mediado pela ativação da via de sinalização mediada por PI3K/Akt/mTOR.



6. ESCITALOPRAM PREVINE OS DANOS OXIDATIVOS NO CORTEX CEREBRAL DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO ESTRESSE DE CONTENÇÃO.

Engel, Daiane¹; Zomkowski, Andréa D. E.²; Budni, Josiane³; dos Santos, Danubia B⁴; Antunes, Alessandra⁵; Farina, Marcelo⁶; Gabilan, Nelson H.⁷; Rodrigues, Ana Lúcia S⁸.

daiane.engel01@gmail.com

1.Laboratório de Neuroquímica I*2.Laboratório de Neuroquímica I*3.Laboratório de Neurobiologia da Depressão*4.Laboratório de Neurobiologia da Depressão*5.Laboratório Experimental de Neuropatologias*6.Laboratório Experimental de Neuropatologias*7.Laboratório de Neuroquímica I*8.Laboratório de Neurobiologia da Depressão*;

*Dpto de Bioquímica-UFSC, Florianópolis-SC

Vários estudos apresentam evidências do envolvimento do estresse oxidativo na patogênese da depressão. O presente estudo avaliou o efeito do escitalopram, um inibidor seletivo da recaptção de serotonina usado no tratamento da depressão, nos testes comportamentais do nado forçado (TNF) e no teste do campo aberto (TCA) em camundongos submetidos ao estresse de contenção agudo (ECA). Além disso, foi investigado o possível efeito protetor do escitalopram sobre parâmetros de estresse oxidativo, como a atividade de enzimas antioxidantes e marcadores de peroxidação lipídica. Camundongos Swiss fêmeas (30-40g, n= 6-8/grupo), foram utilizados (aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais sob o protocolo PP0578). O escitalopram (3 mg/kg) ou veículo foram administrados por via oral (v.o.), 1 h antes do ECA. Após 7 h de ECA os animais foram liberados e 40 min depois foram submetidos ao TNF ou do TCA. No final dos testes comportamentais os animais foram eutanasiados e o córtex cerebral dissecado para as determinações bioquímicas. Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias, seguido pelo teste de Duncan (dados significantes quando $P < 1,5\%$), sem alterar a atividade locomotora no TCA. Além disso, o ECA aumentou significativamente a peroxidação lipídica ($163,0 \pm 21,4\%$), a atividade da catalase (CAT) ($191,4 \pm 8,1\%$), da glutathione peroxidase (GPx) ($126,1 \pm 8,3,9\%$) e da glutathione redutase (GR) ($127,8 \pm 8,2$) no córtex cerebral em relação ao grupo controle (100%). O tratamento com o escitalopram diminuiu significativamente a peroxidação lipídica ($62,9 \pm 7,7\%$), a atividade da CAT ($67,3 \pm 10,1\%$) e da GR ($71,0 \pm 7,1\%$) no córtex cerebral, induzidas pelo ECA. Contudo, o tratamento com escitalopram não alterou a atividade da GPx ($90,3 \pm 7,5\%$). Estes resultados demonstram que $\pm 2,4\%$, em relação ao grupo controle), o qual foi prevenido pelo tratamento com escitalopram ($73,2 \pm 0,05$). O ECA produziu comportamento tipo depressivo no TNF (117,5 a administração de escitalopram preveniu o comportamento tipo depressivo e os danos oxidativos induzidos pelo ECA no córtex cerebral de camundongos.



NEUROCIÊNCIAS

7. MICROINJEÇÃO DE AGONISTA CANABINÓIDE NO ACCUMBENS SHELL INDUZ ANSIOGÊNESE NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.

Ana Paula DambrosTaschetto¹; Bruno Rocha Levone¹, Larissa Kochenborger², Eduardo Simão da Silva¹, Marta Aparecida Paschoalini¹

anapaulataschetto@gmail.com

¹Laboratório de Controle Neural do Metabolismo e Comportamento Ingestivo, Depto. de Fisiologia, CCB, UFSC

²Laboratório de Sistemas Emocionais e Motivacionais Depto. Fisiologia, CCB, UFSC.

Estudos conduzidos em nosso laboratório têm sugerido que os receptores 5-HT_{1A} localizados na AHL participam dos mecanismos serotoninérgicos de controle da ingestão de alimento e, possivelmente, estes circuitos estejam sendo influenciados pelos esteroides ovarianos. Assim, o presente estudo pretendeu avaliar os efeitos ingestivos e não ingestivos ocasionados pela injeção local de 8-hidroxi-2-(di-*n*-propilamino)-tetralina (8-OH-DPAT, agonista de receptores 5-HT_{1A} e 5-HT₇, na dose de 6nmol) em animais ovariectomizados (OVX) e ovariectomizados tratados com estradiol (OVX+E). A injeção do agonista dos receptores 5HT_{1A} provocou diferentes respostas ingestivas entre os animais OVX e OVX+E. Nos animais OVX, ocorreu uma hiperfagia após injeção deste agonista. Nos animais OVX+E esta dose ocasionou um aumento na ingestão, porém ela não foi significativa em relação ao controle. Do mesmo modo, a duração e a frequência da ingestão alimentar também foram aumentadas em OVX, e inalteradas em OVX+E. A latência para iniciar a ingestão foi reduzida significativamente em OVX e, apesar de ter sido reduzida em OVX+E, esta redução não foi significativa em relação ao controle. Os demais comportamentos nãoingestivos (locomoção, imobilidade, exploração não locomotora, exploração vertical e auto limpeza), assim como, a ingestão de água não foram alterados. Estes resultados sugerem que, possivelmente, os esteroides ovarianos estariam interagindo com este sistema serotoninérgico presente na AHL, e de alguma forma atenuando a resposta ingestiva ocasionada pelo agonista dos receptores 5HT_{1A}. Estes são apenas resultados parciais, tendo em vista que tratamentos com outras doses de agonistas, e também o emprego de antagonistas estão sendo testados para, então, consolidar a influência destes hormônios neste sistema serotoninérgico envolvido com a ingestão alimentar.

Palavras-chave: ingestão de alimentos, ratas ooforectomizadas, ARC, AHL, receptores 5-HT_{1A}.



CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

8. AVALIAÇÃO DE MECANISMOS MOLECULARES EM TECIDOS PERIFÉRICOS ENVOLVIDOS NA HIPERTRICILGLICERIDEMIA NO FINAL DA GESTAÇÃO NORMAL E INFLUENCIADA PELA DEXAMETASONA.

Katia Motta, Silvana A Bordin, Alex Rafacho

katiamotoota@hotmail.com

Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas – LIDoC, CCB/UFSC, Obesity and Comorbidity Research Center – OCRC, FCM/UNICAMP

Os glicocorticoides (GCs) podem ser prescritos durante a gestação para o tratamento de inúmeras condições clínicas que visam o tratamento de doenças prévias da mãe e/ou para garantir o desenvolvimento do feto em situações previstas de nascimento prematuro. Os possíveis efeitos negativos causados pela exposição aos GCs durante a gestação no metabolismo materno são pouco conhecidos. Estudos não publicados de nosso grupo sugerem uma hipertriacilgliceridemia (HTAG) que parece ser exacerbada quando ratas são submetidas ao tratamento com dexametasona no último terço da gestação. Todavia, não se sabe por quais mecanismos essas alterações lipídicas ocorrem neste contexto. Assim, este estudo tem como objetivo avaliar a parâmetros relacionados à homeostase lipídica e glicêmica, bem como identificar possíveis alterações na expressão de alvos moleculares, como das enzimas lipase hormônio sensível (HSL), a lipase do TAG (ATGL) e a lipase lipoproteica (LPL) e das proteínas intracelulares perilipina 1, o fator de transcrição ligado ao elemento de regulação de esteroides (SREBP1c), e a proteína de transferência microsomal (MTP), o substrato do receptor de insulina 1 (IRS-1), a proteína cinase B (PKB), a FoxO1 e a fosfodiesterase 3B (PDE3B) no fígado e/ou tecido adiposo ao final da gestação. Para tal, um grupo de ratas Wistar prenhes receberão dexametasona 0,2mg/kg/dia diluída na água de beber durante o 14º ao 19º dia de gestação e serão avaliadas durante e ao final do tratamento, enquanto o grupo controle seguirá apenas com ingestão de água *ad libitum*. Num segundo momento, outro grupo de animais prenhes será suplementado com óleo de linhaça (OL) (via orogástrica) desde o início da gestação até o final do protocolo experimental para verificar sua possível eficácia hipolipemiante. Assim, esperamos verificar o status dos principais componentes moleculares envolvidos na HTG presente ao final da gestação normal e influenciada pelo presença de GCs e ainda verificar os possíveis efeitos hipolipemiantes do OL.

Palavras-chave: glicocorticoides, hipertriacilgliceridemia, gestação



9. REDUÇÃO DA FOSFORILAÇÃO DE JNK E IKK β EM TECIDO ADIPOSEO DE RATOS INSULINO-RESISTENTES.

Katia Motta, Amanda Marreiro, Franciane Bobinski, Cristiane dos Santos, Alex Rafacho.

katiamotoota@hotmail.com

Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas – LIDoC, CCB/UFSC, Laboratório de Neurobiologia da Dor e Inflamação – LANDI, CCB/UFSC

A resistência periférica à insulina (RI) está entre os efeitos metabólicos colaterais mais comuns nas terapias baseadas no uso de glicocorticoides (GC). No entanto, os mecanismos precisos pelos quais os GCs induzem RI ainda não estão completamente elucidados. Assim, este estudo teve como objetivo investigar os principais componentes das vias insulínica e inflamatória em tecido adiposo de ratos insulino-resistentes induzidos por administração de dexametasona. Para tal, ratos Wistar (protocolo nº PP00782) receberam injeção diária de dexametasona (1 mg/kg, p.c. por 5 dias consecutivos) (DEX), enquanto os animais controle receberam solução salina (1 ml/kg, p.c.) (CTL). Parâmetros metabólicos foram avaliados e fragmentos de tecido adiposo foram utilizados para a determinação do conteúdo de diversas proteínas intracelulares. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média e analisados pelo teste “t” de S de Student com nível de significância de 95% ($p < 0,05\%$). Os ratos DEX desenvolveram hiperglicemia, hiperinsulinemia, RI e intolerância à glicose, comparados aos ratos CTL ($p < 0,05\%$). A taxa de liberação basal de glicerol no tecido adiposo epididimário foi 1,5 vezes maior nos ratos DEX, comparados aos CTL ($p < 0,05\%$). A fosforilação da proteína cinase B (PKB) no resíduo serina⁴⁷³ reduziu em 44%, enquanto a fosforilação do substrato do receptor de insulina1 (IRS1) no resíduo serina³⁰⁷ aumentou em 93% no tecido adiposo de ratos DEX após administrado de um *bolus* oral de glicose ($p < 0,05\%$). As fosforilações basais da cinase c-jun N-terminal (JNK) e do inibidor da cinase do fator nuclear kappa B (IKK β) reduziram em 46% e 58%, respectivamente, no tecido adiposo de ratos DEX ($p < 0,05\%$). Em paralelo, ratos DEX apresentaram redução de 47% no conteúdo do receptor de GC (GR), comparados aos ratos CTL ($p < 0,05\%$). A RI induzida pelo tratamento com dexametasona mostrou atenuação da atividade da PKB e do IRS1 em tecido adiposo epididimário, sem aumentar a fosforilação das proteínas pró-inflamatórias JNK e IKK β . Esses dados sugerem que esta RI não é causada por uma contra-regulação negativa entre a via insulínica e a via pró-inflamatória. Estudos adicionais, funcionais e moleculares, serão necessários para complementar a elucidação desses dados.

Palavras-chave: glicocorticoides, resistência à insulina, via inflamatória, via insulínica, receptor de glicocorticoide



BIOLOGIA CELULAR E DO DESENVOLVIMENTO

10. HISTOCHEMICAL ANALYZES OF ULTRAVIOLET B (UV-B) RADIATION ON HEPATOPANCREAS OF THE PRAWNS MACROBRACHIUM OLFERSI.

Cardoso, Valquíria M.; Ammar, Dib; Müller, Yara M. R.

valquiria.machado.cardoso@gmail.com

Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, UFSC, Florianópolis, SC

The UV-B radiation may cause molecular changes and trigger cellular stress due to changes in gene regulation and in cellular mechanisms such as cell cycle. The purpose of this study was analyzed the effect of UV-B radiation on typical cells of hepatopancreas: Embryonic (E), responsible for cell turnover; Fibrillar (F), mainly engaged in the production of digestive enzymes; Basal (M) that stores protein material; Resorptive (R), that store lipids and glycogen; Secretory (B), responsible for the intracellular digestion and excretion of metabolic products on tubular lumen. Prawns *Macrobrachium olfersi* were irradiated with artificial UV-B (irradiance: 310 mW/cm²) and after three days, the hepatopancreas cells were analyzed by histochemical: Periodic Acid-Schiff (neutral polysaccharides); Toluidine Blue (acid polysaccharides) 5%, pH3.0; Coomassie Brilliant Blue (proteins) 0.02% in Clarke's solution; Sudan IV (lipids). In general, was observed that the volume and quantity of vacuoles cellular increased in the hepatopancreas tubules after UV-B irradiation, when compared with non-irradiated. This change may be related to the data obtained from histochemistry, which showed that: R, B and F cells showed increased in the cytoplasm of neutral and acidic polysaccharides and less glycogen granules when compared with non-irradiated. M cells showed lower protein deposits and R and F cells showed lower cytoplasmic reaction to lipid. UV-B radiation was able to induce cellular responses and metabolic changes in the hepatopancreas of prawns *M. olfersi*. IBAMA approval: 15294/1. Funding support: CAPES; CNPq.



11. EFEITO DA INOSINA, DA CAFEÍNA E DA INTERAÇÃO ENTRE ESSES TRATAMENTOS FRENTE A GENOTOXICIDADE DO CLORETO DE METILMERCÚRIO.

Sérgio José Macedo Júnior^{1,2}, Amanda Fernandes de Oliveira¹, Vanessa Benitez¹, Adair Roberto Soares dos Santos³, Alcíbia Helena de Azevedo Maia^{1,2}
sjmacedo.junior@gmail.com

¹ Laboratório de Pesquisas Toxicológicas, Departamento de Patologia, UFSC

² Departamento de Farmacologia, UFSC,

³ Laboratório de Neurobiologia da Dor e Inflamação, Departamento de Ciências Fisiológicas, UFSC.

Introdução: A exposição ao metilmercúrio (MeHg) promove danos ao material genético (ADN) e parâmetros, tais como, a formação de micronúcleos (MN), têm sido amplamente utilizados como biomarcadores do seu efeito genotóxico. Assim, objetivou-se investigar o efeito antígenotóxico da inosina, da cafeína e da interação entre esses tratamentos, diante da formação de MN em cultura primária de linfócitos humanos expostos ao MeHg. **Métodos:** 500 µl de sangue total obtidos de humanos saudáveis foram adicionados à 3,9 ml de meio de cultura RPMI, 1 ml de soro fetal bovino, 0,1 ml de fitohemaglutinina (1 mg/mL), 60 µl de penicilina (5 mg/mL) e 25 µl de estreptomicina (1 mg/mL). As células foram colocadas em estufa à 37 °C. Vinte horas após, foram tratadas com DMSO (0,25%) ou cloreto de MeHg 10 µM (diluído com DMSO 0,25%) em associação à inosina 5 µM, cafeína 5 µM ou ambas (concentrações previamente determinadas em estudos-piloto). Após 24 h em estufa à 37 °C, foi realizado o bloqueio da citocinese adicionando 30 µL de citocalasina B (1 mg/ml). Após 28 h em estufa à 37 °C, as células foram tratadas com solução hipotônica de citrato de sódio (1%), à temperatura ambiente. Em seguida, foram tratadas com solução fixadora (ácido acético:metanol 1:3, 3 ciclos), dispostas em lâmina e coradas com solução de Giemsa diluída em água (1:15). O número de células binucleadas micronucleadas em 1000 células binucleadas foi determinado utilizando microscópio óptico. Resultados expressos como média ± E.P.M. Análise estatística ANOVA de 2 vias, seguida pelo teste de Bonferroni. **Resultados:** O cloreto de MeHg (10 µM) induziu significativamente a formação de MN em cultura primária de linfócitos humanos, quando comparado ao grupo não exposto (média = 4,63 ± 0,32 vs 1,83 ± 1,09; p < 0,05). A inosina (5 µM) preveniu significativamente a formação de MN induzida pelo cloreto de MeHg (média = 2,37 ± 0,72 vs 4,63 ± 0,32; p < 0,05), diferentemente do observado com a cafeína (5 µM) (3,250 ± 0,48 vs 4,63 ± 0,32). Por outro lado, a combinação de inosina (5 µM) e cafeína (5 µM) preveniu significativamente a formação de MN induzida pelo cloreto de MeHg (1,12 ± 0,47 vs 4,63 ± 0,32; p < 0,01). **Conclusão:** A inosina foi capaz de prevenir a formação de MN induzida pelo MeHg quando usada isoladamente, diferentemente da cafeína. No entanto, quando utilizadas em associação, pode-se observar um possível efeito sinérgico dos tratamentos.

Palavras-chave: Metilmercúrio, micronúcleo, linfócitos, inosina, cafeína.



12. RUTIN PROTECTS MELANOCYTES FROM DEATH CAUSED BY AFLATOXIN B₁.

Jader Nones¹; Janaína Nones²; Patrícia Alves de Almeida¹; Andrea Gonçalves Trentin¹

jnones@cidasc.sc.gov.br

¹Department of Cell Biology, Embryology and Genetics, Federal University of Santa Catarina

²Department of Chemical Engineering, Federal University of Santa Catarina

The neural crest (NC) is a population of stem/progenitor cells endowed with neural and mesenchymal potentials. The derivatives of the NC at trunk level include melanocytes, neurons, glial cells, smooth muscle and some endocrine cells. Despite the well known effects of aflatoxins and flavonoids on embryonic development, their influence on NC-derived melanocytes has not been addressed. The present study investigated the effects of aflatoxin B₁ (AFB₁) on quail NC cells both with and without rutin, a flavonoid, on NC-derived melanocytes. NC cells were treated with AFB₁ (30 μM) and/or rutin (20 μM) for 6 days. Then, cell viability was assessed by MTT assay and trypan blue while cell proliferation was analyzed by BrdU assay. Melanocyte differentiation was evaluated by immunocytochemistry against a specific cellular marker (meEM). These studies were approved by the local Ethical Committee of Animal Research (No. 103 and 787 CEUA/UFSC). The AFB₁ (30μM) treatment of NC cells resulted in decreased cell viability (about 75%) and decreased cell proliferation (about 78%). Moreover, AFB₁ alone reduced the number of MeEM positive cells by 18%, whereas, AFB₁ associated with rutin (20 μM) partially reversed this effect (40% compared to the control group). On the other hand, rutin alone had no effect on cell proliferation or melanocyte differentiation. Therefore, our results demonstrated that AFB₁ is toxic to NC-derived melanocytes, but that this effect is partially prevented by rutin. This data suggests that rutin may help prevent embryonic malformations and/or neurocristopathies. However, further research is necessary to better understand the mechanisms involved in AFB₁ and rutin interactions.

Keywords: rutin, melanocytes, neural crest



13. EFFECTS OF ULTRAVIOLET-B RADIATION ON EMBRYOS OF FRESHWATER PRAWN DURING EARLY MORPHOGENESIS AND ORGANOGENESIS.

Eliane Cristina Zeni, Dib Ammar, Heloísa Schramm, Yara Müller, Evelise Nazari
eliane.zeni@posgrad.ufsc.br

Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

Embryos of prawn *Macrobrachium olfersi* were used to evaluate the *impact* of UVB radiation in *freshwater environments*. Females carry eggs in an external brood pouch until hatching (E14), and so we hypothesize that exposure of embryos to UVB radiation would result in cellular impairments. Thus, we investigate the effects of UVB radiation on cell proliferation and expression of cell-cycle. We tested our hypothesis by exposing embryos in early morphogenesis/organogenesis (E5) to UVB lamp 6W(310 mW/cm²) for 30 min. After, embryos were maintained in four conditions: 1 h in darkness; 1 h in visible light; 24 h light:24 h dark; 48 h in darkness. Non-irradiated embryos were used as control (IBAMA approval – 15294/1). Formation of pyrimidine dimers (CPD), and impairments in proteins involved in proliferation (phosphohistoneH3) and cell-cycle (p53, p21 and PCNA) were analyzed. Immediately after irradiation, we observed high number of cells labeled with anti-CPD and anti-PCNA, demonstrating the harmful effects of UVB radiation. After 48 h of irradiation, we observe significant decrease in CPD in embryos kept in visible light, suggesting the occurrence of photorepair. Also, after 48 h in visible light, we observed reduction of cells labeled with anti-p53. In darkness 48 h after exposure, embryos maintained higher number of cells labeled with anti-CPD and anti-p53. Additionally, no changes were observed in cells labeled with anti-p21. Moreover, after 48h in darkness and light:dark, we observed decrease in proliferation. Our results showed that UVB radiation negatively impacts cells; however embryos were able to fotorepair when exposed to visible light.

Keywords: ultraviolet radiation; embryo; cell-cycle; pyrimidine dimer; repair.

Support: CAPES, CNPq, FAPESC



14. IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE PESCADOS COMERCIALIZADOS EM FLORIANÓPOLIS/SC E A CONTRIBUIÇÃO PARA A SUSTENTABILIDADE E CONSERVAÇÃO.

Clisten Fátima Staffen¹; Mari Dalva Staffen¹; Andrea Rita Marrero¹; Renato Hajenius Aché de Freitas³; Yara Costa Netto Muniz¹; Ilíada Rainha de Souza¹; Tiago Frigo²; Andressa de Lima¹; Leticia do Nascimento¹; Saulo José dos Reis¹.

clistenfs@yahoo.com.br

¹Laboratório de Polimorfismo Genéticos, Depto. de Biologia Celular, Embriologia e Genética, UFSC;

²Secretaria de Pesca e Maricultura, Prefeitura Municipal de Florianópolis;

³Laboratório de Biologia de Teleósteos e Elasmobrânquios, Depto. de Ecologia e Zoologia, UFSC.

O litoral brasileiro possui configuração geográfica favorável para a prática de pesca marinha, costeira e continental, além de apresentar uma grande diversidade de espécies de peixes. Grande parte do pescado é comercializado in natura e outra parte é industrializado na forma de postas e filés congelados. O processo de comercialização de pescado processado acaba gerando problemas, uma vez que características morfológicas usadas na identificação das espécies são removidas, possibilitando a substituição das espécies de forma acidental ou intencional nas diferentes etapas do processamento do pescado. Na busca de um sistema “bioidentificador”, a técnica de DNA barcoding, baseada na sequência do gene Citocromo C Oxidase subunidade I (COI), localizado no DNA mitocondrial. Esta abordagem representa uma estratégia extremamente promissora para a identificação de irregularidades em diferentes etapas do processamento do pescado, principalmente fraudes visando maior lucratividade. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a autenticidade dos pescados comercializados em mercados e peixarias de Florianópolis/SC, contribuindo para a sustentabilidade e conservação. O estudo molecular terá como amostragem filés de pescado frescos ou congelados, cujo DNA da região citada será submetido ao sequenciamento de segmentos do gene mitocondrial COI, comparando-os com sequências disponíveis nos bancos de dados FishBOL, GenBank e BOLD. O resultado do alinhamento das sequências será utilizado na elaboração de um laudo público, identificando as substituições de peixes considerados nobres pelos de menor valor agregado, para a produção de filés e produtos processados, vendidos erroneamente. A identificação genética dos peixes é uma ferramenta importante para garantir a transparência no comércio pesqueiro, além de contribuir para a conservação e sustentabilidade da biodiversidade.

Palavras-chave: pescado processado, substituições/fraudes, COI, DNA Barcoding.



15. AVALIAÇÃO DO EFEITO DE FGF8 SOBRE A DIFERENCIAÇÃO CONDRÓCÍTICA DE CÉLULAS DA CNT DE EMBRIÕES DE CODORNAS CULTIVADAS SOBRE MATRIGEL®.

Barauna, Alessandra M. D.; Prompt, Alice H.; Calloni, Giordano W.

barauna.alessandra@gmail.com

Laboratório de Células Tronco e Regeneração Celular- LACERT, BEG, UFSC, Florianópolis, SC

A crista neural (CN) é uma estrutura transitória de embriões de vertebrados que corresponde a um grupo de células multipotentes provenientes do lado dorsal do tubo neural e que se tornam amplamente distribuídas no embrião em desenvolvimento após uma fase de extensiva migração. Há dois tipos de CN: a crista neural cefálica (CNC), correspondente ao nível mais anterior do embrião e dará origem, in vivo, a fenótipos neurais e mesenquimais. A crista neural truncal (CNT) abrangendo o nível mais caudal do embrião, é capaz de originar diversos tipos celulares não-neurais e neurais. Entretanto as células da CNT não originam derivados mesenquimais in vivo, porém in vitro, estas células podem ser estimuladas a exibir potencial osteogênico, condrogênico e adipogênico. Para a obtenção de células da CNT, foram isolados explantes de tubos neurais de embriões de codorna nos estágios de desenvolvimento entre 20 a 24 somitos. Após a dissecação dos tubos, um grupo de explantes foi colocado em placa de cultivo com meio controle (sem adição de fatores) e um segundo grupo com meio tratado (com adição de 100 ng/mL de fator de crescimento de fibroblasto 8 (FGF8)). Após 15h, os explantes foram removidos e descartados. As células da CN foram tripsinizadas e subcultivadas em placas revestidas com uma matriz de membrana basal (Matrigel) em meio básico de cultivo sem fatores (Controle) e com FGF8 (Tratado) durante 7 dias. A partir das análises realizadas verificou-se e que o Matrigel suporta a sobrevivência e permite a adesão e diferenciação das células da CNT. Observou-se que a adição de FGF8 na cultura primária é capaz de aumentar significativamente o número (369 %) e a frequência de nódulos de cartilagem por poços (109 %) após 7 dias de cultivo quando comparada a cultura controle.



BIOTECNOLOGIA

16. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PEROXIDÁSICA EM CAFEIEIRO CONILON COMO INDICADORES DE RESPOSTA DE DEFESA CONTRA A FERRUGEM COMUM.

Tamiris Chaves Freire¹; Sara Inácia de Matos²; José Roberto Vieira Junior³; Rodrigo Barros Rocha⁴; Cléber de Freitas Fernandes⁵.

tamirischavesfreire@gmail.com

¹Laboratório de Fitopatologia, Depto. Núcleo Vegetal, EMBRAPA e UNIR

²Laboratório de Fitopatologia, Depto. Núcleo Vegetal, EMBRAPA e UNIR

³Pesquisador –EMBRAPA, Laboratório de Fitopatologia, Depto. Pesquisa e desenvolvimento- Núcleo Vegetal

⁴Pesquisador –EMBRAPA, Laboratório de Fitopatologia, Depto. Pesquisa e desenvolvimento- Núcleo Café

⁵Pesquisador –EMBRAPA, Laboratório de Fitopatologia, Depto. Pesquisa e desenvolvimento- Núcleo Vegetal.

No contexto do mercado mundial de exportações de café, o Brasil destaca-se por ser o maior consumidor da bebida e o maior produtor mundial, com produção de 50,8 milhões de sacas. Esta produtividade poderia ser maior, entretanto, diversos fatores tem levado a redução da produtividade, como a ocorrência de pragas e doenças durante o ciclo da cultura, entre estas, a que merece destaque é a ferrugem do cafeeiro causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk & Broome., que acomete plantações de café em todo o mundo, causando prejuízos econômicos e ambientais. Os principais detrimientos causados pela doença são: a seca dos ramos e a queda precoce das folhas, em virtude disso há queda dos frutos e redução na produção. As plantas, para impedir ou retardar a penetração dos fitopatógenos possuem defesas pré-formadas, que estão naturalmente presentes, funcionando como barreiras físicas, como a cutícula e os tricomas, e barreiras químicas, como os inibidores de protease, α -amilase, lectinas, fenóis, alcaloides, glicosídicos, lactonas insaturadas e as defesas induzidas, caracterizadas pelo aumento de seus níveis de atividade, após o aumento do ataque do fitopatógeno. Com base nisso, este trabalho teve como objetivo avaliar os níveis de atividade da enzima peroxidase nos clones da cultivar café BRS Ouro Preto em diferentes níveis de adubação. O experimento foi conduzido na lavoura cafeeira da EMBRAPA-Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária em Porto Velho-RO, foram utilizados quatro clones: M125, P199, M056 e M836 que compõem a cultivar BRS Ouro Preto, estabelecida desde setembro de 2008, foram testados três níveis de adubação (N 90,150,210; P205 50,90,130; K20 150,270,390/Kg ha), determinados em função da expectativa de produtividade. Os clones M189 e P199 demonstraram níveis iniciais de peroxidase maiores que os demais clones testados, sendo assim os clones M189 e P199 foram considerados resistentes à ferrugem em campo.

Palavras-chave: *Hemileia vastatrix*, PR-proteínas, cafeeiro, peroxidase, adubação.



17. EFICIÊNCIA IN VITRO DE EXTRATOS DO GÊNERO *Capsicum* NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS.

Sara Inácia de Matos¹; José Roberto Vieira Junior²; Cléber de Freitas Fernandes³; Tamiris Chaves Freire⁴.

sara_imatos@hotmail.com

¹Laboratório de Fitopatologia, Depto. Núcleo Vegetal, EMBRAPA e UNIR

²Pesquisador –EMBRAPA, Laboratório de Fitopatologia, Depto. Pesquisa e desenvolvimento Núcleo Vegetal

³Pesquisador –EMBRAPA, Laboratório de Fitopatologia, Depto. Pesquisa e desenvolvimento- Núcleo Vegetal

⁴Laboratório de Fitopatologia, Depto. Núcleo Vegetal, EMBRAPA e UNIR.

A construção de uma consciência ecológica e o esforço pela preservação do meio ambiente tem desenvolvido a necessidade de testar produtos naturais no controle de fitopatógenos. O uso de agrotóxicos, além de pouco eficazes, são caros e é um dos principais contaminantes ao meio ambiente e a saúde humana. Com base nisso, o objetivo desse trabalho foi testar *in vitro* 30 extratos do gênero *Capsicum* (pimenta dedo-de-moça, pimenta dos desejos, pimenta biquinho, pimenta de gaúcho, pimenta amarela) pela produção de extratos alcoólicos e aquosos obtidos das folhas, frutos e sementes, tendo como testemunhas água, álcool e fungicidas, no controle de fitopatógenos: fungo *Rhizoctonia solani* (causador da doença mela no feijoeiro comum) e o fungo *Fusarium* sp. (causador de doenças nas culturas de abóbora, café e feijão comum). O delineamento experimental dos ensaios *in vitro* foi do tipo inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. Os extratos foram obtidos através da maceração do material em N₂ líquido, seguida infusão do pó na proporção 1/10g de tecido/ml de água ou álcool. Para os ensaios antibiograma *in vitro*, foram utilizadas placas de Petri de nove centímetros de diâmetro contendo meio de cultura sólido BCA. No centro de cada placa foi depositado o micélio do fungo, e nas bordas de forma equidistante 20 µl dos extratos. Em cada placa foram testados três tipos de extratos e as testemunhas. As placas foram mantidas em incubadora tipo B.O.D. por 72 horas com regime claro/escuro de 12h à 25°C. Após este período, mediram-se os halos de inibição do crescimento micelial, quando estes ocorreram. Observou-se que o extrato aquoso da folha de pimenta dedo-de-moça e pimenta dos desejos, demonstraram controle em *Fusarium* sp.. No controle de *Rhizoctonia solani* quatro extratos se mostraram eficazes, extrato aquoso da semente de pimenta dedo-de-moça, extrato aquoso da folha de pimenta dedo-de-moça, extrato aquoso da semente de pimenta dos desejos e extrato aquoso da semente de pimenta amarela. Os extratos alcoólicos não demonstraram potencial fungicida. Esses resultados atestaram a potencialidade de extratos vegetais para o controle de *Fusarium* sp. e *Rhizoctonia solani*, no entanto, existe a necessidade de testar os mesmos extratos em campo contra as doenças, para posterior indicação de controle.

Palavras-chave: Controle alternativo, extratos aquosos, *Capsicum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp..



18. OBTENÇÃO DE LINHAGENS TRANSFECTADAS DE *T. CRUZI* E *T. RANGELI* PARA ESTUDO DA CO-INFECÇÃO *IN VIVO* E *IN VITRO*.

Ana Paula Machado do Nascimento; Edmundo Carlos Grisard; Patricia Hermes Stoco
paulinhah_1234@hotmail.com

Laboratório de Protozoologia, Depto. de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia - UFSC.

O protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da Doença de Chagas apresenta uma grande similaridade morfológica e gênica com outro tripanossomatídeo, o *Trypanosoma rangeli*, parasito que não causa patognia ao homem e que não apresenta o ciclo biológico elucidado neste hospedeiro. Este trabalho tem como objetivo estudar os aspectos relacionados aco-infecção *T. cruzi/ T. rangeli* em mamíferos e triatomíneos, utilizando um método de diferenciação microscópica entre as duas espécies através da criação de duas linhagens de parasitos que expressem proteínas fluorescentes diferentes. Para a obtenção das linhagens transgênicas dos parasitos, foram utilizados 5×10^7 parasitos das cepas CL Brener de *T. cruzi* e Choachí de *T. rangeli*. Estes parasitos foram eletroporados com os plasmídeos pTREX-eGFP para *T. rangeli* e pTREX-mRFP para *T. cruzi*. Após 24 horas, a seleção dos recombinantes foi iniciada pela adição crescente de G-418 e higromicina. Após verificação de fluorescência nas populações transfectadas, os parasitos foram clonados por diluição limitante para estabelecimento de culturas geneticamente iguais e com intensidade homogênea de fluorescência. A partir da obtenção dos parasitos ensaios de co-cultura foram realizados *in vitro* e a capacidade de infecção *in vivo* foi verificada em camundongos e *Rhodnius prolixus*. Após o processo de clonagem, a nova população obtida foi submetida à análise por citometria de fluxo, para verificação de expressão da fluorescência pelos parasitos, a qual demonstrou percentuais de 99,68% para o *T. rangeli* e 98,74% para o *T. cruzi*. Os parasitos selecionados foram colocados em co-cultura, em meio LIT nas proporções 1:1, 1:2, 1: 5, 2:1 e 5:1 e tiveram seu crescimento acompanhado por 11 dias, através de contagem em câmara de Neubauer, onde foi observado um crescimento mais lento do *T. rangeli* em relação ao *T. cruzi*, sendo que mesmo em proporções maiores de *T. rangeli*, o *T. cruzi* conseguiu manter um maior número de parasitos/ml. Nos estudos preliminares “*in vivo*”, foi observado que os parasitos permanecem expressando as respectivas proteínas fluorescentes, confirmando a eficácia do processo de transfecção e a estabilidade das novas linhagens como ferramentas para análise das interações *T. rangeli/T. cruzi* no modelo “*in vivo*” e “*in vitro*”.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli*, co-infecção, proteína fluorescente.



BIOLOGIA DE FUNGOS, ALGAS E PLANTAS

19. VIABILIDADE DOS ESPOROS DE *Pleopeltis lepidopteris*.

Elisa P. Filipin¹; Áurea Maria Randi²; Roberta Mara Royer³

lisa_pto@yahoo.com.br

¹Laboratório de Fisiologia Vegetal, Depto. de Botânica, PPG FAP- UFSC

²Docente, Depto. de Botânica, PPG FAP- UFSC

³Laboratório de Anatomia Vegetal, Depto. de Botânica, PPG FAP- UFSC

A samambaia *Pleopeltis lepidopteris* (Langsd. & Fisch) de la Sota (Polypodiaceae) é endêmica das restingas do Sul do Brasil e apresenta propriedades medicinais cujas partes terapêuticas utilizadas são frondes, raízes e rizoma. Ainda são escassas as informações sobre conservação das espécies de samambaias no Brasil e os esporos apresentam características que os tornam ideais para sua conservação ex situ em bancos de germoplasmas, como produção imensa, são fáceis de obter, requerem pouco espaço de armazenamento e germinam sem cultura rigorosa. Além do mais, o banco de germoplasma promete manutenção em longo prazo, testando a viabilidade dos esporos para o mais adequado protocolo de armazenamento em cada tipo de esporo. Permite ainda acompanhar o desenvolvimento e a integridade genética. Este trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade de esporos recém-coletados (controle) e esporos armazenados sob-refrigeração por nove anos. Esporos foram obtidos de frondes férteis coletadas nas dunas da Praia da Joaquina, Florianópolis-SC. Os tratamentos foram: 1) controle (CT) esporos recém-coletados em Maio/2014 e 2) esporos armazenados sob-refrigeração (RE) $7 \pm 1^\circ\text{C}$ coletados em Maio/2005. Para a germinação, esporos foram obtidos com a filtragem em papel entreteia e inoculados em meio de Dyer, mantidos em sala de cultivo com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e irradiância de $22 \mu\text{moles. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. A avaliação da germinação foi realizada a cada quatro dias até 16º dia, sendo contados 100 esporos por lâmina e quatro lâminas cada tratamento. Os dados foram avaliados com o teste t-student a 5% de probabilidade. Os esporos do tratamento (CT) apresentaram a maior porcentagem de germinação 96,7% no 16º dia de avaliação enquanto que os esporos do tratamento (RE) apresentaram 46,2% de germinação ($p < 0,001$). Conclui-se que o armazenamento sob-refrigeração não é um método eficaz para a conservação dos esporos de *P. lepidopteris* e tornam-se necessários outros estudos para avaliar qual o melhor método de armazenamento destes esporos.

Palavras-chave: *Pleopeltis lepidopteris*, esporos, armazenamento, germinação, conservação.



20. ESTUDO ONTOGENÉTICO DE *Eleocharis elongata* e *Eleocharis laevigumis* OCORRENTE EM AMBIENTE CONTAMINADO E NÃO CONTAMINADO POR DRENAGEM ÁCIDA DE MINA.

Roberta Mara Royer¹; Ana Claudia Rodrigues².

robertamarar@gmail.com

^{1,2}Laboratório de Anatomia Vegetal , Departamento de Botânica, UFSC

A exploração do carvão mineral, apesar do seu alto potencial energético, gera impactos severos ao ambiente, principalmente devido aos métodos utilizados no processo da mineração, pois gera grande quantidade de rejeitos, conhecidos como drenagem ácida de mina (DAM). A DAM é oriunda das transformações ocorridas no rejeito da mineração de carvão, onde o sulfeto, que é originário da pirita, é inicialmente oxidado quimicamente, sendo posteriormente catalisado por bactérias, gerando um efluente com elevada acidez, baixo pH e altas concentrações em metais pesados dissolvidos. Esses materiais podem ser lixiviados pela água da chuva, atingindo os rios e dispersando assim os contaminantes em solução ou em forma particulada, sendo esse um dos principais impactos associados ao processo de mineração do carvão. Nas últimas décadas tem-se investigado alterações provocadas nos órgãos, tecidos e em nível subcelular de plantas expostas à metais pesados. As espécies *Eleocharis elongata* Champ e *Eleocharis laevigumis* Trevisan & Boldrini ocorrem em lagoa e na margem de riachos, respectivamente, situados em áreas contaminadas pela atividade de mineração no município de Siderópolis, SC e também ocorrem em ambiente livre de contaminação por metais em Florianópolis, SC. Essas espécies são rizomatosas, áfilas e apresentam o escapo floral como órgão fotossintetizante perene. O presente trabalho tem por objetivo estudar o desenvolvimento e formação dos respectivos órgãos de forma comparativa, analisando espécimes dos dois ambientes a fim de verificar possíveis alterações morfoanatômicas que possam estar relacionadas à ação dos metais pesados. Para as análises dos espécimes, serão utilizadas a microscopia óptica, eletrônica de varredura e transmissão, confocal, seguindo os protocolos específicos para cada microscopia. Portanto espera-se encontrar variações no desenvolvimento dos órgãos como raiz, rizoma e escapo dessas duas espécies, bem como contribuir com informações que possam auxiliar para o entendimento do desenvolvimento anatômico dessas espécies.

Palavras-chave: *Eleocharis*. Meristemas. Ontogênese. Metais Pesados



ECOLOGIA

21. ALTERNATIVAS SUSTENTÁVEIS NA PRODUÇÃO CIMENTÍCIA PODEM DIMINUIR O IMPACTO AMBIENTAL.

R. A. Antunes Boca Santa¹, J. Nones¹, H. G. Riella¹, N. C. Kuhnen¹
roosebs@gmail.com.br¹

¹ Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos

Encontrar formas de crescer e multiplicar tem sido o grande pilar do desenvolvimento. Porém, apenas nas últimas décadas foi acrescentado o fator sustentabilidade e, a partir desta perspectiva de futuro, surgiram novas pesquisas tecnológicas, providas da comunidade consciente e defensora do bem estar e da qualidade de vida em todas as esferas. Portanto, é de fundamental importância elaborar projetos favoráveis em benefício da sociedade. Sendo assim, o presente trabalho procurou elaborar um novo material cimentício, que pode ser produzido a partir de subprodutos industriais. O novo cimento é um ligante inorgânico denominado geopolímero, e pode ser considerado um material alternativo para a indústria cimentícia, sua produção pode ser considerada como tecnologia limpa. Segundo Davidovits (2002), para produzir uma tonelada de cimento geopolimérico a partir do caulim, a emissão de CO₂ é de 0,180 toneladas; e, para produzir uma tonelada dos cimentos tradicionais, a emissão é de uma tonelada de CO₂. Assim, a produção de geopolímero emite aproximadamente seis vezes menos CO₂ na atmosfera. Os geopolímeros são polímeros inorgânicos e podem ser produzidos a partir de resíduos ricos em aluminossilicatos amorfos providos de diversas fontes, fator esse que diminui ainda mais a emissão de gases tóxicos. Para promover a reação o material sólido é ativado com solução fortemente alcalina. Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas cinzas pesadas, provindo da queima do carvão mineral e metacaulim processado a partir de resíduos de indústrias de papel. A cinza pesada e o metacaulim foram utilizados nas proporções de 2:1. Os ativadores de escolha foram hidróxido de sódio (NaOH) e silicato de sódio (Na₂SiO₃), com a razão molar entre SiO₂/Na₂O de 3,3. Os resíduos e as amostras geopoliméricas passaram por caracterização e, as principais análises envolvidas no processo, foram: fluorescência de raios X (FRX), difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e resistência à compressão mecânica. Os resultados deste estudo mostraram que esses materiais são extremamente resistentes, chegando a 20 MPa aos 28 dias. A durabilidade desses materiais fornece aos consumidores e ao meio ambiente uma alternativa sustentável e benéfica tanto do ponto de vista econômico como ambiental.

Palavras-chave: cimentos, geopolímeros, resíduos industriais, CO₂, tecnologia limpa.



22. ANTISENSE MORPHOLINO OLIGOMERS TARGETING IL-10 IMPROVE INFLAMMATORY RESPONSES TO BACILLE CALMETTE-GUÉRIN AND SHOW THERAPEUTIC POTENTIAL AGAINST *Leishmania major* INFECTION.

Lívia Harumi Yamashiro^{1, 2}; Vishnu Priya Bollampalli²; Gunnar Hanson³; André Báfica¹; Susanne Nylén²; Antonio G Rothfuchs².

liviayamashiro@gmail.com

¹Department of Pharmacology, Federal University of Santa Catarina, Brazil.

²Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institutet.

³Sarepta Therapeutics, USA.

Antisense phosphorodiamidate morpholino oligomers (PMOs) are synthetic, structurally-modified RNA molecules designed to suppress translation. PMOs conjugated to cell-permeating peptides (PPMOs) show increased cellular uptake and targeting specificity and thus hold therapeutical promise. The aim of our study was to investigate if treatment with a PPMO directed against the anti-inflammatory cytokine IL-10 could be used to enhance inflammatory responses to intracellular microorganisms. Interestingly, treatment of murine dendritic cells (DCs) with an IL-10-blocking PPMO reduced *Mycobacterium bovis* Bacille Calmette-Guérin (BCG)-triggered IL-10 production while increasing IL-12p40 production, asserting PPMO specificity and function. Similarly, C57BL/6 mice treated with the IL-10-blocking PPMO displayed enhanced serum IL-12p40 levels after LPS injection. We then investigated the ability of the IL-10-blocking PPMO in enhancing BCG-specific T cell responses. Indeed, co-culture of BCG-stimulated DCs with naïve, BCG-specific CD4⁺ T cells promoted an increase in IFN-gamma production in culture supernatants. Furthermore, C57BL/6 mice vaccinated with BCG in the footpad and receiving a localized injection in the same footpad with the IL-10-blocking PPMO but not a scrambled PPMO had enhanced, CD4⁺ IFN-gamma recall responses in the footpad-draining popliteal lymph node. Finally, using a cutaneous ear model of *Leishmania major* infection we found that intralésional treatment with the IL-10-blocking PPMO but not a scrambled PPMO caused a reduction in parasite load in the ears of infected mice. In summary, our results suggest that PPMOs targeting IL-10 may be promising in the context of tuberculosis vaccination and in the treatment of *L. major* infection.

Key words: morpholino, BCG, *Leishmania major*



23. ISONIAZID INDUCES KILLING OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS THROUGH A HOST TNF/IL-1BETA-INDEPENDENT, PATHOGEN KATG-DEPENDENT PATHWAY IN A HUMAN GRANULOMA MODEL.

LíviaHarumi Yamashiro⁽¹⁾; Marina Dutra Soncini⁽¹⁾, Carolina Eto⁽¹⁾, Verônica VargasHorewicz⁽²⁾; MagnoDelmiro Garcia⁽¹⁾; DarcitaRovaris⁽³⁾; AndréBáfica⁽¹⁾.

liviayamashiro@gmail.com

⁽¹⁾ Laboratory of Immunobiology, MIP, UFSC, Brazil.

⁽²⁾ Laboratory of Nitric Oxide, FMC, UFSC, Brazil.

⁽³⁾ LACEN, Brazil.

Mycobacterium tuberculosis (Mtb)-induced granuloma is a hallmark of tuberculosis, a cellular structure which has been demonstrated to restrict pathogen growth. While this pathological compartment may inhibit mycobacterial proliferation in situ, chemotherapy is required to enhance disease control. The widely used prodrug isoniazid (INH) requires activation by a bacterial KatG-encoded enzyme and contributes to killing of Mtb in vivo. Although INH displays a direct mycobactericidal effect in the prokaryotic system in vitro, it is largely unknown whether granuloma cells are affected by INH. To investigate the mechanisms by which INH inhibits Mtb growth within granulomas, we have utilized a previously described in vitro human granuloma model. Treatment with INH reduced mycobacterial growth within granulomas, but did not alter production of IL-1beta nor TNF. Moreover, blockade or addition of the above cytokines in combination with INH did not enhance killing of Mtb. Exposure of granuloma to INH-treated T cells or monocytes did not modify bacterial growth suggesting the antibiotic did not alter T lymphocyte priming nor activate monocytes to enhance Mtb control in the granuloma. Altogether, these results suggest that cell activation is not directly affected by INH treatment and, therefore, does not influence INH's bactericidal ability. Finally, INH treatment of granulomas containing Mtb clinical strains with a mutation in katG gene, led only to a minor reduction in pathogen growth, suggesting that the INH mechanism of action within the granuloma is katG-dependent. These observations suggest that INH inhibits intracellular Mtb growth by directly acting in the virulent bacteria and does not cooperate with the activation of granuloma-resident cells during infection.

Key words: tuberculosis, isoniazida, granuloma.



BIOQUÍMICA

24. EXPRESSÃO E REENOVAMENTO DA HISTONA H2B DE *Litopenaeus vannamei* COMO POSSÍVEL BIOINDICADOR DE INFECÇÕES.

Luiz Otávio de Barros Vilas Bôas¹; Gabriel Matos¹; Isabel Cristina Müller²; Maria Risoleta Freire Marques¹; Guilherme Razzera I¹

iz_dobittez@hotmail.com

guilherme.razzera@ufsc.br

¹Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica, Depto. de Bioquímica, UFSC

²Instituto Federal Catarinense, IFC, Rio do Sul.

O camarão *Litopenaeus vannamei*, é a espécie mais cultivada no Brasil e no mundo. O Estado de Santa Catarina foi grande produtor até 2005, porém, devido à infecções pelo vírus da mancha branca (WSSV), que vem se mostrando letal aos cultivos em geral, as fazendas interromperam suas atividades. Sendo assim, entender os mecanismos de defesa e encontrar alternativas de detecção do vírus tornam-se fundamentais para a retomada dos cultivos no Estado. Análises de expressão gênica tem mostrado que, dentre os mecanismos de defesa, a expressão da proteína histônica H2B se mostrou significativamente presente, podendo apresentar características defensivas a estes organismos. Estudos prévios já demonstraram atividades antimicrobianas por parte desta histona e de outras participantes do octâmero envolvido no enovelamento do DNA de eucariotos. O objetivo deste estudo, é clonar a sequência gênica desta proteína de *L. vannamei*, expressá-la de forma heteróloga, purificá-la para utilizá-la em testes antimicrobianos, produzir antissoros policlonais visando o uso com bioindicador e a caracterização da proteína nos processos de infecção. Para isso, o gene da H2B de *L. vannamei* foi subclonado no vetor pET-14b e expresso em bactérias. A proteína foi obtida em forma insolúvel utilizando a cepa de *Escherichia coli* BL21 (DE3) pLysS, ficando retida em corpos de inclusão. Foi utilizado um tampão de lise contendo 6M de ureia para que houvesse o rompimento da membrana dos corpos de inclusão e das interações hidrofóbicas da própria proteína. Após este tratamento, o sobrenadante foi purificado por cromatografia de afinidade por íons metálicos e foi obtida com pureza >90%. Para o reenovelamento, foi utilizado um tampão 50% glicerol sendo aplicado gradativamente na amostra, intercalando com centrifugações em um tubo concentrador a fim de diminuir significativamente as concentrações de ureia. A partir do enovelamento, torna-se possível a realização das próximas etapas do projeto, com testes de ligação a DNA, testes antimicrobianos e produção de antissoros policlonais para averiguação da presença alterada de H2B em *L. vannamei* infectado pelo WSSV.

Palavras-chave: expressão, heteróloga, H2B, cromatografia, reenovelamento.



25. EXPRESSÃO HETERÓLOGA DE UMA ISOFORMA DA FAMÍLIA DAS PROTEÍNAS LIGANTES DE ÁCIDOS GRAXOS (FABPs) DE *Crassostrea gigas*: SUBSÍDIO PARA A BUSCA DE NOVOS LIGANTES.

Soares, F.S;Bainy, A.C.D.Razzera,G.

bio_soares_14@yahoo.com.br

guilherme.razzera@ufsc.br

Laboratório de biomarcadores de contaminação aquática e imunoquímica. Dept. de bioquímica, UFSC.

Estudos de contaminação aquática com o uso de bioindicadores podem refletir os impactos dos contaminantes dos organismos, através de biomarcadores. A família das proteínas carreadoras de ácidos graxos (FABP) tem se mostrado como um potencial biomarcador pela ligação com xenobióticos. Em *Crassostrea gigas* as FABP têm sua função ainda pouco esclarecida e falta entender seu papel em situações de estresse ambiental. Este trabalho pretende caracterizar uma das proteínas da família das FABPs de *C. gigas* visando uma maior compreensão bioquímica da molécula para futuros experimentos ecotoxicológicos. Para isto o gene da isoforma ABU41520.1 de FABP foi subclonado em vetor de expressão bacteriano (PET14b). A proteína foi expressa em bactérias *E.coli* BL21 (DE3) pLyS por 3h. Obtivemos superexpressão da FABP em *E.coli* estamos em fase de purificação através de cromatografia de afinidade com metal imobilizado (IMAC). Além disso realizamos experimentos de modelagem molecular para obter um modelo 3D da FABP de *C.gigas* e testamos através de docking molecular a interação com xenobióticos. Nossos resultados indicam que a FABP apresenta grande potencial de carrear ligantes aromáticos como fenantreno e ibuprofeno. Atualmente existem diversas lacunas sobre o papel biológico das FABPs em *C. gigas*, como quais moléculas são realmente transportadas, em quais tecidos, e ainda o quão promíscuo é o sítio de ligação das FABPs. A produção da molécula recombinante irá permitir futuros trabalhos de imunodeteção, caracterização estrutural detalhada, testes *in vitro* com ligantes (incluindo contaminantes do ambiente aquático) entre outros estudos.

Palavras-chave: Biomarcador, FABP, Modelagem 3D.



NEUROCIÊNCIAS

26. EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE ATIVIDADE LOCOMOTORA DE CAMUNDONGOS VELHOS.

Dallagnol, Karine MathildeCampestrini¹; Scheffer, Débora da Luz^{1,2}; Ghisoni, Karina²; Bavaresco, Anelise^{1,2}; Ferreira, Priscila Maximiliana de Paula²; Nesi, Renata Tiscoski^{2,4}; Lopes, Samantha Cristine³; Prediger, Rui³; da Silva, Rodrigo Augusto²; Latini, Alexandra²; Aguiar Jr, Aderbal Silva^{1,2,3,4}

karine.chan04@gmail.com

¹Laboratório de Neurobiologia do Exercício Físico, Departamento de Bioquímica, CCB – UFSC

²Laboratório de Bioenergética e Estresse Oxidativo, Departamento de Bioquímica, CCB – UFSC

³Laboratório Experimental de Doenças Neurodegenerativas, Departamento de Farmacologia, CCB – UFSC

⁴Curso de Fisioterapia, campus Araranguá.

Introdução: Com o envelhecimento, indivíduos passam a enfrentar dificuldades em realizar atividades que requerem mobilidade. Para continuar realizando tais tarefas, o idoso utiliza estratégias comportamentais, alterando o padrão de movimento normalmente realizado pelos mais jovens. Além disso, a prática de atividade física pode minimizar os efeitos destas alterações favorecendo a aptidão funcional do idoso. **Objetivo:** Investigar o efeito do exercício físico na atividade locomotora de camundongos velhos. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 23 camundongos c57/BL6 machos, dos quais 19 tinham 22 meses de idade (velhos) e 4 tinham 3 meses de idade (adultos), divididos em quatro grupos: sedentários adultos (SED-AD), sedentários idosos (SED-ID), exercício adultos (EXE-AD) e exercício idosos (EXE-ID). Os grupos exercício tiveram livre acesso à roda de correr por um período de 8 semanas, já os animais dos grupos sedentários tiveram a roda travada, para evitar o viés de enriquecimento ambiental. A distância percorrida pelos animais na roda de correr foi mensurada diariamente através de marcadores digitais. Ao final do período de exercício, os animais foram submetidos ao teste de campo aberto, uma tarefa comportamental para avaliar atividade locomotora. **Resultados:** Ao final das 8 semanas de exercício os camundongos adultos percorreram uma distância média diária de $7,0 \pm 2,9$ km/dia, superior a dos animais idosos que foi de $2,2 \pm 0,3$ km/dia. No teste de campo aberto, os animais idosos também apresentaram uma menor atividade locomotora (SED-ID 30,8m; EXE-ID 27,8m) quando comparado aos animais jovens (SED-AD 61,3m; EXE-AD 59,4m), mas sem efeito do exercício. **Conclusão:** Estes resultados preliminares sugerem que o envelhecimento prejudica a capacidade locomotora. Além disso, vimos que o exercício não modifica a locomoção basal dos animais, mas aumenta a atividade na roda de corrida voluntária.

Palavras-chave: envelhecimento, exercício físico, atividade locomotora, rodas de correr, campo aberto.



CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

27. ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE FRUTOSE DIMINUI A SENSIBILIDADE PERIFÉRICA À INSULINA E A INTERVENÇÃO COM SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE PREVINE ESTE EFEITO EM RATOS.

Paola Miranda Sulis; Katia Motta, Amanda M Barbosa, Cristiane dos Santos, Marina Ruiz, Everson Araújo Nunes, Alex Rafacho

pasulis@hotmail.com

¹Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas, Depto. de Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências Biológicas, UFSC

Há uma associação entre o consumo excessivo de bebidas adoçadas com frutose, em especial de refrigerantes, e o desenvolvimento de distúrbios cardiometabólicos. A suplementação com óleo de peixe, por outro lado, parece trazer benefícios que atenuam os riscos cardiometabólicos. Assim, nos propusemos a avaliar os efeitos da suplementação com óleo de peixe em um modelo de ingestão crônica de frutose sobre a sensibilidade periférica à insulina e a tolerância à glicose. Ratos Wistar machos (protocolo CEUA nº.: PP00782) foram divididos em quatro grupos; grupo frutose (F) recebeu água potável contendo frutose à 10% por 60 dias consecutivos; grupo frutose + óleo de peixe (FOP) recebeu o mesmo tratamento do grupo F associado à suplementação de óleo de peixe por via intragástrica (gavagem), (1 g/kg, peso corpóreo) nos últimos 30 dias experimentais; grupo óleo de peixe (OP) foi suplementado com óleo de peixe como no grupo FOP e recebeu água potável; grupo controle (CTL) recebeu apenas água potável e foi tratado com óleo mineral (1 g/kg, peso corpóreo) nos últimos 30 dias experimentais. Foram avaliados a ingestão hídrica e alimentar bem como a sensibilidade à insulina (53º dia tratamento) e a tolerância à glicose (46º dia tratamento), e os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média e analisados pelo ANOVA de uma via e foi considerado nível de significância 95% ($p < 0,05$). Os grupos que receberam frutose (F e FOP) apresentaram aumento da ingestão hídrica e redução da ingestão já nas semanas iniciais do tratamento ($p < 0,05$) que resultou em inalteração da ingestão calórica, comparado aos seus respectivos controles (CTL e OP). O grupo F desenvolveu redução da sensibilidade à insulina que foi normalizada pela suplementação com o óleo de peixe como demonstra a taxa de decaimento da glicemia (entre os minutos 10 e 20) após um teste de tolerância à insulina ($2,3 \pm 0,3$ vs. $3,3 \pm 0,2\% \cdot \text{min}^{-1}$ para F e FOP, respectivamente) ($p < 0,05$, $n=10$). O teste de tolerância à glicose não revelou alteração entre nenhum grupo ($n=10$). Não houve nenhum efeito do óleo de peixe *per se* nos parâmetros avaliados. Nossos dados parciais permitem concluir que a administração crônica de frutose diminui a sensibilidade periférica à insulina sem alterar a tolerância à glicose, provavelmente por uma resposta secretória de insulina compensatória e alerta para o consumo da frutose. A suplementação com óleo de peixe foi eficaz, em ratos, na recuperação da sensibilidade periférica à insulina.

Palavras-chave: frutose, óleo de peixe, sensibilidade à insulina, tolerância à glicose.



BIOLOGIA CELULAR E DO DESENVOLVIMENTO

28. EFFECTS OF ULTRAVIOLET-B RADIATION ON PROTEINS INVOLVED IN APOPTOSIS DURING EARLY MORPHOGENESIS AND ORGANOGENESIS OF FRESHWATER PRAWN *Macrobrachium olfersi* (DECAPODA, PALEMONIDAE).

Heloísa Schramm da Silva¹; Dib Ammar¹; Eliane Cristina Zeni¹; Yara Müller¹, Evelise Nazari¹

heloisa.schramm@posgrad.ufsc.br

¹Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, Depto. de Biologia Celular, Embriologia e Genética, UFSC

Apoptosis plays an important role in embryonic development and its induction can be changed by ultraviolet-B (UVB) radiation. The aim of this study was to investigate which proteins involved in apoptosis are affected by UVB radiation during embryonic development, using *Macrobrachium olfersi* embryos as a model. Thus, we simulated the natural UVB irradiance (310 mW/cm^2) that embryos receive during the breeding season. Embryos at E6 were irradiated using a UVB (312 nm) lamp 6W for 30 min. After, embryos were maintained in darkness for 4h, 6h, 8h, 12h and 20h. Non-irradiated embryos were used as control (IBAMA approval – 15294/1). Bak, p53 and active caspase3 proteins were analyzed by flow cytometry. No significant changes were observed in p53 in all analyzed embryos. However, we observe a significant increase of mitochondrial protein Bak ($3.44 \% \pm 1.38$; $p \leq 0.0001$) in embryos after 6h of UVB irradiation. Additionally, the executioner caspase3 was significantly higher after 12h of UVB radiation ($2.61\% \pm 1.08$), than after 8h ($0.83\% \pm 0.25$, $p \leq 0.01$) and 20h ($1.05\% \pm 0.36$, $p \leq 0.05$). Our results suggest that UVB radiation induces apoptosis during the embryonic development of *M. olfersi*, mainly by the activation of proapoptotic Bak, due changes in mitochondrial membrane permeability.

Keywords: cell death, embryo, UV-B, crustacean.



29. ASSOCIAÇÃO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS A HIDROGÉIS DE CARRAGENANA PARA REGENERAÇÃO DÉRMICA.

Maiara Marques (IC¹), Michele Patricia Rode (PG¹), Addeli Bez Batti Angulski (PG²), Felipe Azevedo Gomes (IC¹), Talita da Silva Jeremias (PG¹), Rafael Guzella de Carvalho (IC³), Luiz Fernando Cappa de Oliveira (PQ³), Lenize Fernandes Maia (PQ³), Andréa Gonçalves Trentin (PQ¹), Leila Hayashi (PQ¹), Jair Adriano Kopke de Aguiar (PQ³), Giordano Wosgrau Calloni (PQ¹).
maiaramqs@hotmail.com

¹ Universidade Federal de Santa Catarina; ² Instituto Carlos Chagas - Fiocruz; ³ Universidade Federal de Juiz de Fora

Os hidrogéis naturais têm recebido grande atenção na área da engenharia de tecidos devido a sua semelhança com a matriz extracelular, variabilidade e compatibilidade química e biológica. Além disso, os hidrogéis naturais proporcionam um ambiente dinâmico e tridimensional para o encapsulamento de células. Nesse estudo, analisamos o potencial do hidrogel de carragenana (HC), um polímero termo-reversível de origem natural, como suporte tridimensional para o crescimento de células tronco mesenquimais (CTMs) derivadas da pele humana. Avaliamos também essa associação no reparo de lesões cutâneas de camundongo. A análise química dos hidrogéis foi realizada por espectroscopia de FT-Raman e dosagem de sulfato. Os resultados indicaram que ambos os hidrogéis são do tipo kappa, com alto peso molecular e possuem em torno de 25% de sulfato. Para avaliação *in vitro* foi utilizado células provenientes de amostras de pele humana obtidas de pacientes submetidos a *lifting* facial, sendo encapsuladas nos HC nativa e comercial. As CTMs foram mantidas em DMEM +10% SBF durante 14 dias e em seguida foram analisados os seguintes aspectos: morfologia, adesão e sobrevivência. Os resultados observados indicam que as células não são capazes de aderir ao HC apresentando um formato arredondado. As análises realizadas através do ensaio colorimétrico MTS, mostraram boa viabilidade das células até o sétimo dia de cultura e uma diminuição no décimo quarto dia da cultura. Para a avaliação *in vivo*, camundongos foram submetidos a um processo de excisão de pele de 0,6 cm na região dorsal, aplicação do tratamento e revestimento com o curativo Tegaderm®. As condições de tratamento foram: controle, HC nativa, CTMs encapsuladas no HC nativa e CTMs em solução salina. Após 3 e 7 dias o tecido foi coletado e analisado histologicamente. A análise histológica em ambos os períodos mostrou que o HC aumenta a infiltração de células inflamatórias quando comparado ao grupo controle. Em contrapartida, o tratamento com CTMs encapsuladas no HC nativa não apresenta diferença quando comparado ao controle, indicando uma capacidade imunomodulatória das CTMs. Esses dados indicam que os HC são quimicamente equivalentes e capazes de suportar o encapsulamento das CTMs e sugerem que as CTMs apresentam um papel regulador no reparo da pele.



30. EPIDEMIOLOGIA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS INTERNADOS EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA DE TRATAMENTO DE QUEIMADURAS EM SANTA CATARINA.

Matheus Reck Dutra¹; Rafaela Grecco Machado¹; Talita SilvaJeremias¹; Andrea Gonçalves Trentin¹

Matheus.reck@gmail.com

¹Laboratório de Células Tronco e Regeneração Tecidual, Depto. de Biologia Celular, Embriologia e Gentética, UFSC

As queimaduras são lesões cutâneas de alta complexidade e no Brasil, a Sociedade Brasileira de Queimaduras (SBQ) estima que ocorram cerca de 1 milhão de acidentes com queimaduras a cada ano. Destes, 200 mil são atendidos em serviços de emergência e 40 mil demandam hospitalização. Segundo Rossi (1998) a maioria dos casos de queimaduras poderiam ser evitados com trabalhos preventivos. No entanto, tendo em vista altos índices relatados na literatura os meios utilizados pelo governo, bem como pelos profissionais da saúde e educação, ainda não têm se mostrado efetivos em difundir as medidas de segurança necessárias para evitar essa situação. O objetivo do presente trabalho foi identificar o perfil epidemiológico dos pacientes queimados, internados em um hospital de referência, para encontrar uma forma de atingir essa parcela com medidas preventivas. Para isso foram coletados dados, de aproximadamente 500 prontuários no Hospital Infantil Joana de Gusmão (HIJG) entre 2007 e 2012. Os dados coletados foram: sexo, idade, profundidade da lesão, agente causador, extensão da queimadura, localização corpórea, ambiente de ocorrência das queimaduras e necessidade de enxerto. Os dados foram analisados e tabelados com o auxílio do programa Graphpad Prism e do Microsoft Office Excel. Os resultados preliminares (a partir de 174 prontuários) indicaram que o perfil epidemiológico das crianças queimadas no HIJG neste período é de um menino, em idade pré-escolar, que se queima em casa, com líquidos aquecidos. Destes prontuários 62.6% dos pacientes apresentaram queimaduras de 2º grau; 70% apresentaram até 20% da superfície corporal queimada (SCQ); a maioria dos pacientes apresentou epitelização da SCQ espontaneamente. Crianças menores de 6 anos de idade se queimaram mais com líquidos aquecidos, crianças acima dessa idade com inflamáveis, especialmente álcool líquido. Esse agente foi o maior responsável por queimaduras compreendendo mais de 20% da SCQ, e por queimaduras de 3º grau, sendo que dentre todas as queimaduras com álcool, 72% necessitaram de enxerto. O levantamento de dados de prontuários realizado no HIJG permite um melhor entendimento da problemática das queimaduras, tornando possível traçar campanhas para públicos específicos com enfoques nos principais agentes causadores. O conhecimento sobre este trauma pode guiar novas pesquisas focadas no tratamento dos pacientes internados.

Palavras-chave: SAME, HIJG, perfil epidemiológico, álcool.



31. ESTUDO DA NEUROGÊNESE NA ENGENHARIA DE TECIDO PULPAR HUMANO.

Daniela Sousa Coelho^{1, 3}; Luciane Geanini Pena dos Santos²; Paulo Fernando Dias³; Mabel Mariela Rodrigues Cordeiro^{1, 2}.
daniela.sousacoelho@gmail.com

¹ Laboratório de Bioengenharia de Tecidos Dentários (LABITED), Depto. de Biologia Celular, Embriologia e Gentética, UFSC. ² Laboratório de Bioengenharia de Tecidos Dentários (LABITED), Depto. de Odontologia, UFSC. ³ Laboratório de Estudos em Embrioatividade e Morfogênese Animal (LEBIMA), Depto. De Biologia Celular, Embriologia e Genética, UFSC.

O dente é um órgão distinto e extremamente especializado. Constituído por uma estrutura rígida, com funções de revestimento e sustentação, formadas por esmalte, dentina e cimento. Internamente, se encontra a polpa dental, tecido conjuntivo frouxo, caracterizada por apresentar uma população variada de células como odontoblastos, fibroblastos, células de defesa, microvasos e terminações nervosas, sensoriais e simpáticas pós-ganglionares. As fibras nervosas são responsáveis pela homeostase do tecido, estando relacionadas com a manutenção do tônus vascular e condução de estímulos nociceptivos. Qualquer alteração no complexo dentina-polpa, seja por fatores físicos, químicos ou biológicos (como a cárie), será percebido por fibras nervosas nociceptivas e traduzidas em dor. A cárie é a razão mais frequente de inflamação e necrose pulpar. Com a necrose da polpa, o processo de dentinogênese é parado e o dente não completa o seu desenvolvimento. Mesmo após o tratamento endodôntico, a dentinogênese não é retomada. Assim, o dente permanece com a sua estrutura incompleta e frágil, sendo mais susceptível à fratura e à perda do elemento. Desta forma, nos últimos anos, a regeneração de estruturas dentais tem sido foco de pesquisas visando desenvolver abordagens regenerativas para curar afecções dentais. Com o advento de técnicas de engenharia tecidual é possível mimetizar um tecido tanto do ponto de vista morfológico quanto funcional. O *Modelo de Fatia Dental/Arcabouço para Engenharia de Tecido Pulpar* (Cordeiro et al., 2008), possibilita a construção de novo tecido pulpar quando Células-tronco de Polpa Dental de Dentes Decíduos (SHED) são semeadas em arcabouço sintético (clorofórmio/PLLA), produzido no espaço da câmara pulpar de fatias obtidas de 3º molares humanos, e o conjunto implantado no tecido subcutâneo dorso de camundongos *Mus musculus*. O tecido neoformado é semelhante à polpa dental, quanto à vascularização e celularidade, com camada de odontoblastos neoformados em contato com a pré-dentina. Odontoblastos morfofuncionais, com capacidade de depositar matriz dentinária, posteriormente mineralizada, produzindo novas camadas de dentina tubular. Caracterizando a retomada da dentinogênese e, por consequência, da formação dental. Porém, pouco se sabe sobre a neurogênese do tecido neoformado. O principal objetivo deste estudo é avaliar a formação espontânea de inervação, a partir da reprodução do modelo supracitado, a fim de permitir a regulação das funções de células endoteliais e de odontoblastos neoformados. A caracterização do novo tecido será feita a partir de análise histológica e imunohistoquímica com marcadores específicos.

Palavras-chave: Regeneração de Tecido Pulpar, Engenharia Tecidual, Inervação da Polpa.



32. AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS COM POLÍMEROS DE CELULOSE BACTERIANA IN VITRO.

Rafaela Grecco Machado¹, Talita da Silva Jeremias¹, Diana Heck¹, Derce Recouvreux², Andréa Gonçalves Trentin¹.

rafigrecco@gmail.com

¹Laboratório de Células Tronco e Regeneração Tecidual, Depto. de Biologia Celular, Embriologia e Gentética, UFSC

²Laboratório de Polímeros e Compósitos. Centro de Engenharia de Mobilidade, UFSC.

As feridas de pele de espessura total, como queimaduras profundas e úlceras crônicas, resultam em numerosos problemas funcionais e fisiológicos no organismo. Por isso, são necessárias novas estratégias para a regeneração da pele lesada, como por exemplo a promissora associação de células estromais mesenquimais (CEMs) com biomateriais. As CEMs apresentam um baixo risco imunogênico e tumorigênico, o que as confere a possibilidade de enxerto, além de serem especialmente atrativas por causa de seu potencial de diferenciação e, principalmente, por seus efeitos parácrinos. A secreção de diferentes fatores pode afetar a migração, proliferação e sobrevivência de outras células do local da lesão, resultando em um melhor reparo. A celulose bacteriana (CB) é um polímero natural produzido pela bactéria *Gluconacetobacter hansenii* que apresenta potencial para melhorar a regeneração de feridas cutâneas. Esses polímeros tem a capacidade de absorver o exudato das feridas, não causar rejeição ou inflamação, manter a umidade das lesões, e também podem ser retiradas sem causar danos secundários nas áreas afetadas. Tendo em vista a potencialidade das CEMs e da CB, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a associação entre esses componentes, avaliando a viabilidade celular, morfologia, adesão e imunofenotipagem das CEMs derivadas da derme humana (dCEMs). Para isso, os polímeros de CB foram produzidos em um meio específico de cultivo estático por 7 dias e foram esterilizados. As dCEMs, obtidas de pacientes saudáveis submetidos a lifting facial (procedimento aprovado pelo Comitê de Ética da UFSC), foram semeadas em CBs em condições de cultura padrão. A viabilidade foi analisada pelo teste de MTS, que demonstrou que as dCEMs permaneceram viáveis após 7 dias de cultivo sobre as CBs. Através de microscopia eletrônica de varredura e de contraste de fase, foi observada adesão progressiva das dCEMs na superfície das CBs mantendo a morfologia fibroblástica típica. A análise imunofenotípica através de citometria de fluxo mostrou que as dCEMs associadas aos CBs, mantiveram suas características típicas de células tronco mesenquimais. Esses resultados mostram que a CB permite a sobrevivência e manutenção das características das dCEMs, podendo se tornar uma ferramenta para o cultivo e posterior aplicação dessas células em lesões cutâneas, visando o reparo tecidual.

Palavras-chave: Reparo cutâneo, Células estromais mesenquimais, Celulose bacteriana.



33. USO DE TÉCNICA MOLECULAR NA IDENTIFICAÇÃO DE PESCADOS EM RESTAURANTES DE FLORIANÓPOLIS/SC E O POTENCIAL RISCO NA SEGURANÇA ALIMENTAR.

Mari Dalva Staffen¹; Clisten Fátima Staffen¹; Andrea Rita Marrero¹; Renato Hajenius Aché de Freitas³; Netto Muniz¹; Ilíada Rainha de Souza¹; Tiago Frigo²; Andressa de Lima¹; Leticia do Nascimento¹; Saulo José dos Reis¹.

maristaffen@yahoo.com.br

¹Laboratório de Polimorfismo Genéticos, Depto. de Biologia Celular, Embriologia e Genética, UFSC;

²Secretaria de Pesca e Maricultura, Prefeitura Municipal de Florianópolis;

³Laboratório de Biologia de Teleósteos e Elasmobrânquios, Depto. de Ecologia e Zoologia, UFSC.

A atividade pesqueira é uma das mais antigas tradições da humanidade, sendo usada como fonte de renda, na alimentação e cultura de muitas populações. Os peixes são uma das principais fontes de proteína animal, vitaminas, minerais, ácidos graxos e aminoácidos essenciais. A remoção de características morfológicas dos peixes quando processados, dificultam a identificação das espécies que estão sujeitas a substituições, sendo um desafio detectar estas alterações, muitas vezes espécies de alto valor são substituídas por espécies de baixo valor, representando uma fraude comercial. Este trabalho tem como objetivo avaliar a presença de substituições fraudulentas de pescados comercializados em restaurantes de Florianópolis/SC, através do uso da técnica molecular DNA barcoding, baseada em um sistema global de identificação de diferentes taxas, a partir do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase subunidade I (COI) e potencial risco para a segurança alimentar. Esta metodologia permite o sequenciamento de forma rápida e a identificação espécie-específica quando caracteres morfológicos estão comprometidos, que é muito comum na comercialização de pescados pronto para o consumo. Serão produzidas sequências moleculares de amostras de tecido de peixes comercializados em restaurantes, comparando-as com as sequências dos bancos de dados BOLD, GenBank e FishBOL, e construídas relações de proximidade entre as espécies baseadas em distâncias genéticas. Portanto, espera-se que os resultados futuros demonstrem eficácia e sensibilidade do DNA barcoding para a identificação das espécies e detecção de possíveis substituições ocorridas durante o processamento dos pescados nos restaurantes a serem avaliados, coibindo assim fraudes e protegendo os direitos do consumidor. A base de dados gerados, poderá também servir para resolver questões sobre a identificação de espécies e a garantia do direito de todos ao acesso a alimentos de qualidade.

Palavras-chave: pescado processado, substituições/fraudes, COI, DNA Barcoding.



BIOTECNOLOGIA

34. SEDIMENTATION AND SURVIVAL EVALUATION OF PATHOGENS IN SWINE EFFLUENT AND SLUDGE FOR SAFE REUSE PURPOSES.

Gislaine Fongaro¹, Camila Daminelli Schissi¹, Maria Elisa Magri¹, Juceli Zaguini¹, Airton Kunz², Célia Regina Barardi¹

gislainefongaro@hotmail.com

Embrapa Suínos e Aves - Concórdia, SC

Laboratório de Virologia Aplicada – UFSC

The swine effluent is composed by urine, feces, digested food and water, characterizing high contents of solids, organic matters, phosphorus and nitrogen. Solid-liquid separation and aerobic treatment are routinely used to reduce the suspended solid concentration in the liquid fraction. In this study, treated swine effluent after aerobic reactor (AR) before settling tank, were used to evaluate the survival rates of the following pathogens artificially seeded: somatic coliphage phiX-174 (phi-X), Human Adenovirus (HAdV-2) and *Salmonella* Thyphimurium. Imhoffcones (v. 1L) were filled with the effluents and the settling experiments were performed until 120 h, in triplicate. The pathogens survival in liquid and solid fraction were determined after 0, 0.08, 0.16, 0.33, 0.75, 2.5, 5, 10, 24, 48, 72 and 120 h. In the sludge (solid-fraction) this parameter was measured after 24, 48, 72 and 120 h of settling time. The enumeration of the HAdV, phi-X and *S. Thyphimurium* were respectively performed by integrated cell culture assay–preceded by reverse transcription (ICC-RT-qPCR), double layer agar method and by ISO 6579 (2002). In effluent, the survival rate was: 12.2% for *S. Thyphimurium*, 64% for HAdV-2 and 76% for phi-X-174 after 120h; In sludge (solid-fraction) the survival rate after 120h was 1.6% for *S. Thyphimurium*, 64% for HAdV-2 and 75% for phi-X-174. The settling rate of the three pathogens was also evaluated by measuring their reduction in the liquid-fraction. *S. Thyphimurium* was significantly reduced from effluent at 45 min and 5h post sedimentation remaining constant in the other periods evaluated; HAdV-2 at 20 min, 2.5 and 24h, and phi-X at 10, 20 min, 2.5, 5 and 10h. The sedimentation of the HAdV and phi-X was positivity correlated with the sedimentation of solid particles. HAdV-2 and *S. Thyphimurium* increased significantly after 72h of settling in the secondary sludge. This means that the pathogens are present mainly in the solid particles. Solid-liquid separation and survival studies of these prevalent pathogens in effluents and sludge are viable methods that allow studying the disinfection of these matrices. This can predict the safe reuse of these secondary-products as biofertilizers in agriculture or back to the swine facilities. Financial Support: CNPQ 472804/2013-8.



35. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA IN VITRO DE DERIVADOS DA CUCURBITACINA B E DIHIDROCUCURBITACINA

B. Ribeiro MLG, Kratz JM, Lang, KL, Chiodini, FL, Durán, FJ, Schenkel EP, Simões CMO.

mariialidia@gmail.com

Laboratório de Virologia Aplicada, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina

As cucurbitacinas (CUCs) constituem um grupo de triterpenos tetracíclicos polihidroxilados, conhecidas pelo seu sabor amargo e toxicidade. São divididas em 12 categorias (A–T), sendo as cucurbitacinas B e E as precursoras das demais. Plantas contendo cucurbitacinas são usadas na medicina tradicional por suas propriedades antipirética, analgésica, anti-inflamatória, entre outras. Nosso grupo de pesquisa estuda o potencial antitumoral das CUCs há vários anos. Neste estudo foi avaliada a atividade antiproliferativa in vitro de 20 novos derivados da cucurbitacina B (CUCB) e da dihidrocucurbitacina B (DhCUCB), frente a três linhas tumorais. Foi empregado o ensaio colorimétrico do MTT. Trata-se de um ensaio que avalia quantitativamente a função mitocondrial (desidrogenases), através da conversão do MTT em cristais de formazana pelas células viáveis. Foram empregadas três linhagens tumorais: A549 (câncer de pulmão), RD (rabdomyosarcoma) e HCT-8 (câncer de cólon intestinal). As células foram tratadas com diferentes concentrações das amostras (50uM – diluição 1:2) e incubadas por 72h. Após o tratamento, as células foram incubadas com uma solução de MTT e os cristais de formazana foram dissolvidos para leitura em espectrofotômetro. O percentual de células viáveis foi comparado com controles celulares não tratados, e com controles positivos (paclitaxel, cisplatina e irinotecano). O valor de CC50 (concentração que reduz a viabilidade celular em 50% em relação ao controle celular), obtido através de regressão não linear, foi o índice utilizado para análise do potencial antiproliferativo das amostras. Os novos derivados apresentaram valores de CC50 na faixa de 0.07 uM até 24.14 uM, sendo a linhagem RD a mais sensível. Os precursores da CUCB foram mais ativos que os derivados da DhCUCB frente as três linhagens. Entre os derivados da DhCUCB, um composto não apresentou atividade antiproliferativa. Em relação à potência, os valores médios de CC50 dos novos derivados foi menor que os fármacos irinotecano e cisplatina. Entretanto, o fármaco paclitaxel e o precursor CUCB apresentaram maior potência contra as três linhagens. A partir das modificações estruturais geradas nesses 20 novos derivados, e os dados biológicos coletados para esse trabalho, será possível progredir no estudo da relação estrutura-atividade deste grupo de compostos.



36. ESTABILIDADE E INATIVAÇÃO DE VÍRUS ENTÉRICOS EM EFLUENTES E LODOS DA SUINOCULTURA UTILIZANDO ADENOVÍRUS HUMANO COMO MODELO

Camila D'Aminelli Schissi,^{1*}; Gislaine Fongaro¹; Maria Elisa Magri²; Juceli Zaguini²; Airton Kunz³; Célia Regina Monte Barardi¹

* camilaschissi@gmail.com

¹ Laboratório de Virologia Aplicada, Dpto. de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia

² Grupo de Estudos em Saneamento Descentralizado, Dpto. de Engenharia Sanitária e Ambiental

³ EMBRAPA Suínos e Aves, Concórdia - SC

A produção de suínos é uma importante atividade econômica no Brasil, havendo necessidade de desenvolver mecanismos sustentáveis para produção limpa em atividades agroindustriais. A biomassa derivada de dejetos suínos possui potencial para ser utilizada como biofertilizante, devido sua alta concentração de nutrientes. No entanto, a aplicação de dejetos deve ser baseada em parâmetros de segurança que evitem a disseminação de patógenos potenciais para infecção de animais e humanos. Neste trabalho, utilizamos Adenovírus Humano-2 (HAdV-2) como modelo de patógeno entérico e avaliou-se a estabilidade térmica do HAdV-2 em lodos e efluentes da suinocultura pós processo de biodigestão e, avaliou-se um processo de desinfecção destas mesmas matrizes utilizando como biocida a amônia não-ionizada (NH₃), sendo que a elevação de NH₃ foi mediada pela adição de ureia. A enumeração do vírus foi realizada pelo ensaio de cultura celular precedida por tratamento enzimático e transcrição reversa quantificados em qPCR (ICC-et-RT-qPCR). Para a estabilidade térmica foram utilizadas as temperaturas 16 (T1), 22 (T2), 37 (T3) e 55°C (T4), mimetizando a temperatura dos biodigestores cobertos no inverno e verão, dos biodigestores mesofílicos e termofílicos. Assim, os resultados mostraram que para inativar 99,99% dos HAdV-2 no efluente são necessários 45 e 30 dias para os tratamentos T2 e T3, e 72 h para T4, e 99,99% em lodo espera-se 45 e 60 dias para T2 e T3, e 72h para T4, para ambos tratamentos T1 o tempo de inativação é maior, onde para inativar 99,9% são necessários 120 dias. As temperaturas testadas revelaram que apenas os biodigestores termofílicos são eficazes na inativação, enquanto para as outras, os patógenos mostraram-se estáveis, levando um período maior para inativação, necessitando outros métodos para ocorrer inativação de forma eficaz. Para a inativação por elevação da concentração de NH₃ foram utilizadas as concentrações de ureia: a) Efluente: 4%(T1), 8%(T2) e 12%(T3) e b) Lodos: 8%(T1), 16%(T2) e 32%(T3), sendo todos os experimentos realizados em triplicatas e sempre avaliando um grupo não tratado. Os resultados revelaram que para inativar 99,99% dos HAdV-2 no efluente foram necessários 27, 20 e 15 dias nos tratamentos T1, T2 e T3, respectivamente, e em lodo 15, 9, 3 dias nos tratamentos T1, T2 e T3, respectivamente. Tendo em vista a estabilidade de patógenos entéricos em dejetos suínos, a higienização por NH₃ torna-se um tratamento alternativo, viável e promissor na desinfecção de efluentes e lodos agropecuários, o qual visa à valorização de resíduos como biofertilizantes, considerando a qualidade da saúde humana e animal.

Palavras-chave: Biodigestor; Biofertilizantes; Desinfecção por NH₃; ICC-et-RT-qPCR.



BIOLOGIA DE FUNGOS, ALGAS E PLANTAS

37. VIGOR EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO EM SEMENTES DE MILHO.

Camila Segalla Prazeres⁽¹⁾; Cileide Maria Medeiros Coelho⁽¹⁾
cami.agro@gmail.com

¹Laboratório de Análise de Sementes, Depto. de Agronomia, UDESC - CAV.

O objetivo do trabalho foi avaliar o vigor de sementes de milho em diferentes condições de armazenamento. Utilizaram-se sementes de três híbridos comerciais de milho (simples, triplo modificado e triplo). Uma parte das sementes foi armazenada em câmara seca, com temperatura de 10°C e 50% de umidade. A outra parte foi armazenada em BOD com temperatura controlada com umidade de aproximadamente 70% e temperatura de 10°C à 20°C com oscilações a cada 12 horas, simulando o período de entressafra de sementes armazenadas em condição ambiente do município de Coxilha - RS. O experimento foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC. A avaliação foi realizada através do teste de envelhecimento acelerado nas duas condições de armazenamento. As porcentagens médias de vigor das sementes foram de 66% e 93% para as condições de armazenamento em BOD e câmara seca, respectivamente. Evidenciou-se a menor eficácia de conservação da qualidade das sementes do híbrido simples proporcionada pela condição controlada de temperatura e umidade (BOD). O armazenamento em câmara seca foi adequado para manter a qualidade fisiológica de todas as sementes.

Palavras-chave: qualidade de semente, envelhecimento acelerado.



38. COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DE SEMENTES DE LINHAGENS E HÍBRIDOS DE MILHO E A INDICAÇÃO DOS MELHORES CRUZAMENTOS.

Camila Segalla Prazeres¹; Cileide Maria Medeiros Coelho¹
cami.agro@gmail.com

¹Laboratório de Análise de Sementes, Depto. de Agronomia, UDESC - CAV.

O objetivo do trabalho foi determinar o ganho genético através da resposta fisiológica das sementes em relação à composição bioquímica, para os teores de amido e proteína total. Utilizaram-se sementes de oito linhagens e seus respectivos híbridos: simples, triplo e triplo modificado. Obteve-se o teor de amido e a proteína total, comparado ao vigor com o teste de envelhecimento acelerado já realizado. Os resultados da análise de variância mostraram diferenças significativas entre as linhagens e híbridos, quanto ao teor de amido e proteína total, portanto, existe divergência genética entre as sementes. O teste de envelhecimento acelerado permitiu melhor discriminar os genótipos quanto ao vigor das sementes. O ganho genético para qualidade fisiológica de sementes através da composição bioquímica de sementes evidenciou-se nos híbridos triplo e triplo modificado, sendo indicados como os melhores híbridos.

Palavras-chave: qualidade de semente, amido, proteína.



RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS

39. GERMINATION OF *Araucaria angustifolia* SEEDS.

Cristhyane Garcia¹; Cileide Maria Medeiros Coelho²; Louise Alves³
crisggargioni@hotmail.com

¹Laboratório de Sementes, Depto. de Fitotecnia, CCA/UFSC

²Laboratório de Sementes, Depto. de Agronomia, CAV/UDESC.

³Laboratório de Sementes, Depto. de Engenharia Florestal, CAV/UDESC.

The species *Araucaria angustifolia* is the only native conifer of economic importance in the Brazilian Atlantic Forest. The objective of this work was to evaluate the viability associated to moisture content of seeds harvested from two populations of Brazilian southern, referred to as lot 1 and lot 2, in the years of 2012, 2013 and 2014. The moisture content was determined through two replicates of three seeds each, that were cut transversally, then weighed (wet weight), dried at $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ for 24 hours and reweighed. Four replicates of 25 seeds each were sown in trays with sand and placed in a germination chamber at 25°C , with a photoperiod of 12 hours, and were monitored for 70 days. Seeds harvested from lot 1 and lot 2 showed germination of 95% and 97% (2012), 96% and 91% (2013), 92% and 93% (2014), respectively, with moisture content of 52% and 48% (2012), 51% and 53% (2013), 50% and 49% (2014), for lot 1 and lot 2, respectively. Therefore, mature seeds of *A. angustifolia* present germination above 90%, and minimum moisture content of 48% from different origins and seasons.

Palavras-chave: araucária, qualidade fisiológica, viabilidade.



40. CONDICIONAMENTO OSMÓTICO VISANDO À REGULAÇÃO DO METABOLISMO GERMINATIVO EM EMBRIÕES *Araucaria angustifolia*.

Cristhyane Garcia¹; Cileide Maria Medeiros Coelho²

crisggargioni@hotmail.com

¹Laboratório de Sementes, Depto. de Fitotecnia, CCA/UFSC

²Laboratório de Sementes, Depto. de Agronomia, CAV/UFSC.

Sementes de *A. angustifolia* são recalcitrantes, ficando disponíveis para a utilização (produção de mudas e consumo dos pinhões por humanos e animais) por poucos meses do ano. Sementes recalcitrantes mantêm seu metabolismo acentuado e iniciam o processo germinativo imediatamente após a maturidade, mesmo enquanto armazenadas. O polietileno glicol (PEG) tem se demonstrado um método favorável ao armazenamento de sementes recalcitrantes, atuando no impedimento à germinação devido ao controle da mobilização da água dentro e fora dos tecidos, e favorecendo a manutenção da viabilidade. Objetivou-se avaliar a eficiência do PEG como regulador hídrico na ampliação da longevidade de embriões de *A. angustifolia*. Os embriões provenientes de sementes coletadas em uma população localizada em São José do Cerrito, SC, foram mantidos em substrato umedecido com água (0 MPa), PEG -1,6 MPa ou PEG -3,2 MPa, por 0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após a colheita, sendo determinados o teor de água (teste de umidade) e a viabilidade (teste de tetrazólio). Os embriões de sementes recém-colhidas apresentaram 49% de umidade e 95% de viabilidade. Após 60 dias, ocorreu decréscimo na viabilidade dos embriões mantidos em PEG -1,6 MPa (umidade inferior a 43%), e completa perda de viabilidade dos embriões mantidos em PEG -3,2 MPa (umidade inferior a 38%). Aos 180 dias, os embriões mantidos em água apresentaram 92% de umidade e 80% de viabilidade, mas não houve restrição do metabolismo germinativo. Conclui-se que os embriões mantidos em PEG -1,6 MPa mantiveram 50% de viabilidade aos 180 dias de armazenamento, sem que fosse observada germinação aparente do eixo embrionário.

Palavras-chave: araucária, restrição hídrica, qualidade fisiológica.

DIA 20/11



III Simpósio de Integração das Pós-Graduações do CCB/UFSC
Florianópolis, 17 a 20 de novembro de 2014.

FARMACOLOGIA

41. INHIBITION OF NEUTROPHIL CHEMOTAXIS BY ALPHA-1-ACID GLYCOPROTEIN: RELEVANCE AND MECHANISM INVOLVED.

Cristina Bartelle Lorenzini, Fernando Spiller¹
cristinabllorenzini@gmail.com

¹Laboratory of Immunobiology, Department of Pharmacology, UFSC

Neutrophil recruitment from blood to extravascular sites of infection play a central role in early innate immune responses. The acute phase protein Alpha-1-acid glycoprotein (AGP) was shown to inhibit neutrophil migration, rolling and adhesion *in vivo*, resulting in an insufficient bacterial clearance followed by an increase in death rate. AGP also inhibits neutrophil chemotaxis *in vitro*, and it has been suggested that AGP terminal sialic acid residues interaction with an inhibitory receptor known as Siglecs induce rise in $[Ca^{2+}]_i$. However, the mechanisms involved in neutrophil migration failure are not completely understood. In this study, we examine mechanisms related to the effect of AGP on neutrophil chemotaxis responses, and hypothesized that Alpha-1-acid glycoprotein inhibits neutrophil chemotaxis *in vitro* by Siglec-5 activation. Cell migration was evaluated using a 48 wells chemotaxis chamber technique. Chemoattractant solution (fMLP or IL-8) was added to the lower wells and a human neutrophil suspension, previously incubated with 6mM of commercial AGP or Sialic acid for 1h, was added to the upper wells. A polycarbonate filter 5.0 μ m pore size separates the lower from the upper wells, and after 2 hours chamber incubation at 37°C in 5% CO₂, this membrane is removed and stained with Diff-Quick. Neutrophils that migrated, 5 fields (40x), were counted. AGP 6mM inhibits neutrophil migration *in vitro*, as did 6mM of sialic acid, when compared to not treated neutrophils. In the conditions evaluated, this concentration of AGP did not induce cell death, and the LPS levels found in this commercial sample were insignificant (0,069ng/ml). AGP inhibited the neutrophil-chemotaxis response stimulated by IL-8 and fMLP. Sialic acid residues also inhibited this migration, suggesting that this inhibition process may be due to AGP sialic acid residues interaction with the neutrophil.

Key words: chemotaxis, AGP, neutrophil migration



42. ESTUDO DAS CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOIÉTICAS (LIN-CD34+) EM UM MODELO DE GRANULOMA HUMANO INDUZIDO POR *Mycobacterium tuberculosis*.

Murilo Delgobo¹; André Báfica¹

murilop_9@hotmail.com

¹Laboratório de Imunobiologia, Depto. de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, UFSC

A Infecção pulmonar por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) resulta na formação de granuloma em seres humanos. Macrófagos residentes sofrem necrose e liberam seu conteúdo ao meio extracelular ao tentar eliminar o patógeno, iniciando um processo inflamatório local que é perpetuado por demais macrófagos residentes. Com o acúmulo de macrófagos, linfócitos T, B, células dendríticas, células do estroma e fibroblastos, forma-se a estrutura dinâmica do granuloma. Estudos recentes apontam que células-tronco hematopoiéticas são ativadas na presença de agentes infecciosos e também de PAMPs, como o LPS, proliferando e diferenciando-se na linhagem mielóide. Entretanto, não há estudos sobre o papel destas populações celulares na dinâmica celular e modulação do granuloma na tuberculose ativa. Neste trabalho preliminar, nós empregamos o uso de um modelo de granuloma humano *in vitro* (Puisseguret *al.*, 2004; Birkness *et al.*, 2007) para investigar se a infecção por Mtb estimula a proliferação e o comprometimento de células Lin⁻CD34⁺ em diferentes linhagens hematopoiéticas. Sangue periférico humano foi coletado de doadores saudáveis e células mononucleares (PBMC) foram isoladas através de gradiente de Ficoll. 6x10⁵ PBMCs foram plaqueadas em placa de 96 poços contendo solução agarose/RPMI 1,5%, sendo posteriormente infectadas com Mtb, cepa H37Rv, com diferentes multiplicidades de infecção (MOI) por diversos tempos a 37°C 5% CO₂. Para cada tempo do estudo, as células foram processadas e marcadas com os seguintes anticorpos: Linhagem 1 FITC (CD3, CD 14, CD16, CD19, CD20, CD56); CD34 PE; CD38 APC; e o Corante fixável de viabilidade celular (FVS) V450. Após marcação, células foram lavadas, fixadas em paraformaldeído 2% por 18h e analisadas por citometria de fluxo em citômetro FACS Verse BD[®]. Observou-se que a frequência de células progenitoras Lin⁻CD34⁺ permaneceu elevada em 72h (0,046% SD: ± 0,01) infectadas com H37Rv MOI 1 em relação às células não infectadas (0,019% SD: ± 0,001). Foi observado maior frequência de morte na população Lin⁻CD34⁺ não infectada (22,4%) quando comparada às PBMCs infectadas com Mtb (11,7%), através da frequência de células positivas para FVS V450. Esses resultados preliminares sugerem que a infecção com baixa carga bacteriana no granuloma protege a população Lin⁻CD34⁺ de morte celular.

Palavras-chave: Tuberculose, Granuloma, Células-tronco.



BIOQUÍMICA

43. INDUÇÃO DE NADPH CITOCROMO P450 REDUTASE NA EXPOSIÇÃO DE CRASSOSTREA BRASILIANA À FRAÇÃO DE ÓLEO DIESEL ACOMODADA EM ÁGUA (FAD).

Lüchmann, Karim Hahn 2Marques, Maria Risoleta Freire 1Bainy, Afonso Celso Dias 1

Filiação: 1 Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), CCB, Florianópolis, SC, Brasil. 2 Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Departamento de Engenharia da Pesca, Universidade Estadual de Santa Catarina (UDESC), CERES, Laguna, SC, Brasil.

Introdução: Citocromos P450 (CYP) constituem uma superfamília de heme proteínas envolvidas na fase I da biotransformação que participa da detoxificação de compostos endógenos e exógenos. Para que esta atividade seja exercida existe a necessidade da associação do CYP com o citocromo b5 e com a enzima NADPH citocromo P450. Neste contexto, este trabalho teve como principal objetivo avaliar a expressão diferencial de proteínas envolvidas, sobretudo, nas vias de biotransformação de fase I em ostras *Crassostrea brasiliana* (= *C. gasar*) expostas à 10% de fração de óleo diesel acomodada em água (FAD) por 24h utilizando uma abordagem proteômica 2-DE acoplada à espectrometria de massas. Metodologia: Ostras *C. brasiliana* foram expostas à 10% de fração de óleo diesel acomodada em água (FAD) durante 24 horas sob condições controladas de laboratório. As proteínas branquiais de *C. brasiliana* foram extraídas, homogeneizadas e submetidas à centrifugação diferencial para obtenção da fração microsomal. A fração protéica enriquecida de retículo endoplasmático foi separada pelo ponto isoelétrico (pI) e por eletroforese em gel bidimensional (2-DE) de poliacrilamida. A alteração do percentual de volume dos spots (% volume) de cada spot de ostras expostas foi comparada a animais não-expostos, que determinou as proteínas diferencialmente expressas, as quais foram submetidas a espectrometria de massas (MALDI/MS). Resultados: Os géis bidimensionais foram considerados reprodutíveis com coeficientes de variação abaixo de 21% na detecção dos spots. Após a comparação dos géis 2-DE entre controle e exposto (24h) foi possível avaliar onze proteínas diferencialmente expressas (teste t), sendo três proteínas identificadas com valores significativos ($p < 0,05$): NADPH P450 redutase (*Musca domestica*), beta-1,3-galactosyltransferase 1 (*Crassostrea gigas*) e serina-threonina kinase PLK4 (*Aedes Egypty*) com valores de pontuação (scores) 58, 60, 57 e valores de coberturas de sequência de 15%, 37% e 10%, respectivamente. Conclusão: As três proteínas diferencialmente expressas identificadas foram comparadas ao banco de dados Swissprot e os peptídeos identificados corresponderam a mais de 10% do total da sequência da proteína, sobretudo com valores de pontuação (scores) significativos com $p < 0,05$. Análises mais precisas deverão ser realizadas para aumentar as identificações das proteínas com menor intensidade de sinal. As proteínas diferencialmente expressas em brânquias de *C. brasiliana* expostas à FAD, as quais possivelmente estarão relacionadas ao tempo de exposição. Uma vez que o presente estudo apresenta resultados pioneiros na espécie, a identificação de proteínas-alvo poderá ajudar a avaliar os potenciais efeitos de derivados de petróleo na expressão de proteínas em *C. brasiliana* como uma espécie sentinela.



44. FASEOLINA, A GLOBULINA DE ARMAZENAMENTO DO FEIJÃO PHASEOLUS VULGARIS AFETA O TRÁFICO VESICULAR NOS ENTERÓCITOS DA LARVA DE CALLOSOBRUCHUS MACULATUS.

Kunz, D.; Oliveira, G.B.; Silva, C.P.

danielek-pf@hotmail.com

Laboratório de Bioquímica e Biologia molecular de Insetos, departamento de bioquímica, UFSC. Florianópolis, SC.

Faseolina é uma grande proteína de armazenamento do feijão *Phaseolus vulgaris* e também é altamente tóxica para as larvas do bruquídeo *Callosobruchus maculatus*. Há evidências de que as propriedades tóxicas desta globulina de armazenamento está relacionada com a sua interação nas membranas microvilares presentes ao longo do trato digestivo das larvas deste bruquídeo. Após a interação com as microvilosidades, as moléculas de faseolina são absorvidas através do epitélio intestinal e, assim, ao atingir o ambiente interno das larvas, provocam a mortalidade. No presente trabalho foram estudados os mecanismos celulares envolvidos na atividade inseticida da faseolina contra a larva *C. maculatus*. Métodos: Faseolina ou vicilina marcadas com FITC (globulina de armazenamento purificadas de sementes de feijão-caupi *Vigna unguiculata* e *Phaseolus vulgaris*) foram incorporadas nas dietas das larvas em concentrações fisiológica (0,5% m / m). O destino das globulinas marcadas ou não-marcadas foi monitorada por microscopia de fluorescência, western blotting e ELISA. Uma proteína microvilar presente nas larvas do bruquídeo *C. maculatus* que liga na faseolina, foi purificada utilizando cromatografia de afinidade numa coluna de vicilina-Sepharose seguida por espectrometria de massa MALDI-TOF. RESULTADOS E DISCUSSÃO: Ao alimentar as larvas *C. maculatus* com vicilina e faseolina (marcadas ou não com FITC), fomos capazes de demonstrar que ambas as globulinas foram internalizadas nas células intestinais e migraram para dentro de estruturas vesiculares do ápice para a porção basal dos enterócitos. No entanto, quando as larvas foram alimentadas com faseolina (marcada com FITC) e, em seguida, retornaram para uma dieta controle, a concentração de faseolina permaneceu relativamente elevada, sugerindo que esta globulina é tóxica e não é removida das células do intestino médio na mesma taxa que as vicilinas. A absorção das duas formas de globulinas é o caso de endocitose mediada por receptor. O receptor foi purificado e mostrou elevada homologia com as proteínas da família SEC14. CONCLUSÃO: Os efeitos tóxicos da faseolina em células do intestino médio das larvas do *C. maculatus* envolve a ligação desta proteína à superfície celular, seguido por internalização e acumulação nos enterócitos, provavelmente matando o inseto pela falta de absorção de nutrientes importantes, tais como a vitamina E.



NEUROCIÊNCIAS

45. OVARIOECTOMIA OCASIONA ALTERAÇÕES NA RESPOSTA INGESTIVA OCASIONADA PELA ATIVAÇÃO DE RECEPTOR 5HT1A NA ÁREA HIPOTALÂMICA LATERAL.

Ana Paula DambrosTaschetto¹; Bruno Rocha Levone¹, Larissa Kochenborger², Eduardo Simão da Silva¹, Marta Aparecida Paschoalini¹

anapaulataschetto@gmail.com

¹Laboratório de Controle Neural do Metabolismo e Comportamento Ingestivo, Depto. de Fisiologia, CCB, UFSC

²Laboratório de Sistemas Emocionais e Motivacionais Depto. Fisiologia, CCB, UFSC.

Estudos conduzidos em nosso laboratório têm sugerido que os receptores 5-HT_{1A} localizados na AHL participam dos mecanismos serotoninérgicos de controle da ingestão de alimento e, possivelmente, estes circuitos estejam sendo influenciados pelos esteroides ovarianos. Assim, o presente estudo pretendeu avaliar os efeitos ingestivos e não ingestivos ocasionados pela injeção local de 8-hidroxi-2-(di-*n*-propilamino)-tetralina (8-OH-DPAT, agonista de receptores 5-HT_{1A} e 5-HT₇, na dose de 6nmol) em animais ovariectomizados (OVX) e ovariectomizados tratados com estradiol (OVX+E). A injeção do agonista dos receptores 5HT_{1A} provocou diferentes respostas ingestivas entre os animais OVX e OVX+E. Nos animais OVX, ocorreu uma hiperfagia após injeção deste agonista. Nos animais OVX+E esta dose ocasionou um aumento na ingestão, porém ela não foi significativa em relação ao controle. Do mesmo modo, a duração e a frequência da ingestão alimentar também foram aumentadas em OVX, e inalteradas em OVX+E. A latência para iniciar a ingestão foi reduzida significativamente em OVX e, apesar de ter sido reduzida em OVX+E, esta redução não foi significativa em relação ao controle. Os demais comportamentos não ingestivos (locomoção, imobilidade, exploração não locomotora, exploração vertical e auto limpeza), assim como, a ingestão de água não foram alterados. Estes resultados sugerem que, possivelmente, os esteroides ovarianos estariam interagindo com este sistema serotoninérgico presente na AHL, e de alguma forma atenuando a resposta ingestiva ocasionada pelo agonista dos receptores 5HT_{1A}. Estes são apenas resultados parciais, tendo em vista que tratamentos com outras doses de agonistas, e também o emprego de antagonistas estão sendo testados para, então, consolidar a influência destes hormônios neste sistema serotoninérgico envolvido com a ingestão alimentar.

Palavras-chave: ingestão de alimentos, ratas ooforectomizadas, ARC, AHL, receptores 5-HT_{1A}.



46. EFEITO NEUROPROTETOR DA FLUOXETINA EM UM MODELO DE ESTRESSE INDUZIDO POR CORTICOSTERONA EM CÉLULAS HT-22.

¹Nicolle Platt, ¹Heloisa Zorzi, Ana Belen Ramos Hryb, ¹Maurício Pena Cunha, ²Gabriele Ghisleni, ¹Ana Lúcia Rodrigues, ¹Manuella Pinto Kaster.

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina; ²Programa de Pós-graduação em Saúde e Comportamento, Universidade Católica de Pelotas.

Introdução: Embora a maior parte das doenças que acometem o sistema nervoso sejam multifatoriais, existem fortes indícios relacionando o papel do estresse no desenvolvimento e progressão das neuropatologias. Cerca de 75- 90% das pessoas que procuram atendimentos de emergência apresentam problemas relacionados ao estresse, sendo este considerado o principal fator ambiental na etiologia e progressão dos transtornos de humor e das doenças neurodegenerativas. Objetivo: A proposta do presente estudo é caracterizar o efeito da fluoxetina (fármaco antidepressivo inibidor seletivo da recaptação de serotonina utilizado como principal tratamento na depressão clínica), sobre a viabilidade celular em um modelo de estresse *in vitro* induzido pela incubação de células neuronais hipocampais de camundongos HT-22 com corticosterona ou dexametasona. Métodos: As células proliferativas da linhagem HT-22 foram mantidas em DMEM/F12 com 10% de soro fetal bovino. A imunoreatividade para os receptores de glicocorticóides (GC) foi determinada por Western Blot (20, 30 e 40 ug de proteínas) e a viabilidade celular foi avaliada através do método de redução de MTT. Para a caracterização do modelo de estresse *in vitro*, as células foram incubadas por 24h com diferentes concentrações do agonista seletivo de receptores de GC, corticosterona (5, 50, 100, 500, 1000 uM) ou com o corticóide sintético que age como agonista dos receptores de GC e de mineralocorticóides, dexametasona (5, 50, 100, 500, 100 uM). Em outro conjunto de experimentos a fluoxetina (0,01, 0,1, 1 e 10 uM) foi incubada por 24 horas nas células HT-22 e a viabilidade celular foi analisada. Alternativamente, as células foram incubadas com fluoxetina (0,01, 0,1, 1 e 10 uM) por 24h, e co-incubadas com fluoxetina e corticosterona (50 uM), por mais 24h antes da avaliação de viabilidade celular. Resultados: Nossos resultados sugerem que as células da linhagem HT-22 apresentam receptores de GC e que a incubação com corticosterona (50-1000 uM), mas não com dexametasona, foi capaz de reduzir de maneira concentração-dependente a viabilidade celular ($p < 0.05$, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de Bonferroni, $n=3$). A fluoxetina não alterou a viabilidade celular em nenhuma concentração utilizada ($p > 0,05$, ANOVA de uma via, $n=5$), mas a fluoxetina (0,1-10 uM) foi capaz de prevenir a redução da viabilidade celular causada pela corticosterona (50 uM) ($p < 0.05$, ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Bonferroni, $n=3$). Conclusão: Nossos resultados sugerem que as células HT-22 podem representar um bom instrumento para o estudo dos efeitos intracelulares do estresse, especialmente do estresse desencadeado pela corticosterona e que a fluoxetina é capaz de prevenir a redução na viabilidade celular causada pela corticosterona.

Apoio Financeiro: PIBIC, CNPq



CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

47. EXPOSIÇÃO AO GLICOCORTICÓIDE ANTES DA GESTAÇÃO PROMOVE REDUÇÃO DO PESO CORPÓREO DA PROLE.

Marina Ruiz¹; Cristiane dos Santos²; Amanda Marreiro Barbosa¹, Alex Rafacho⁴
emaildoautor@principal.com.br

¹ Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas – LIDoC, Depto. de Ciências Fisiológicas, UFSC.

A dexametasona (DEX) é um glicocorticoide (GC) amplamente utilizado na clínica médica devido seu potente efeito anti-inflamatório e imunossupressor. Quando administrada em excesso, a DEXA promove efeitos adversos no o metabolismo que inclui a resistência periférica a insulina (RI) e intolerância à glicose. Os GCs também podem ser utilizados durante a gestação e é sabido que essa exposição aos GCs no período intra-uterino resulta em distúrbios metabólicos nas proles. Todavia, se estes distúrbios metabólicos são reproduzidos na prole de ratas expostas aos GCs antes da gestação ainda não foram investigados. Assim, investigamos se a administração de DEXA antes da gestação pode causar alterações metabólicas na prole F1. Para isso, ratas Wistar adultas receberam injeção diária de DEXA (1.0 mg/kg i.p., por 7 dias consecutivos) (DEX), enquanto um grupo controle (CTL) recebeu apenas injeção de salina. Imediatamente após o término do tratamento as ratas foram submetidas ao acasalamento. Foram determinados o peso corpóreo e a ingestão alimentar tanto nas ratas quanto na prole bem como a glicemia das ratas durante o tratamento com a DEXA. O tratamento com DEXA alterou o padrão do ciclo estral nas ratas durante o tratamento e promoveu redução do peso corpóreo e da ingestão alimentar, comparado ao grupo CTL (n=6, p<0.05). As ratas DEX grávidas recuperaram seu peso corpóreo ao longo da gestação (n=2). Os valores de glicemia não se alteraram durante o tratamento com DEXA (n=6). Foi observada redução significativa do peso corpóreo da prole de machos a partir do 7º dia de vida (n=8, p<0,05) e da prole fêmea a partir do 14º dia (n=8, p< 0,05) em relação a prole de ratas tratadas com salina. O peso corpóreo em ambos os gêneros foram normalizados na vida adulta. Não houve alterações significativas na tolerância a glicose na prole macho e fêmea aos 3-4 meses de idade (n=8). Estes resultados parciais sugerem que a exposição aos GCs antes da gestação promove diminuição do peso corpóreo da prole alertando para os riscos do uso de GCs em períodos que precedem a gravidez.

Palavras-chave:glicocorticoide, dexametazona, prole.



48. PARÂMETROS METABÓLICOS EM RATAS COM MENOPAUSA PRECOCE E TRATADAS COM GLICOCORTICOIDE.

Francielle G Battiston, Cristiane dos Santos, Katia Motta, Amanda Marreiro Barbosa, Marina Ruiz, Sibeles Sehnen, Fernanda B L Christian, Alex Rafacho. Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas – LIDoC/UFSC/Florianópolis.

O uso prolongado de glicocorticóides (GC) promove alterações na homeostase glicêmica que inclui, especialmente, o desenvolvimento de resistência periférica à insulina. Paralelamente, mulheres na transição de segunda para terceira idade iniciam um processo natural de falha ovariana, a menopausa, podendo estar mais susceptível à situações metabólicas adversas. A associação entre o tratamento com GCs e a menopausa não está plenamente elucidada. Assim, nos propusemos a avaliar as repercussões da perda de função ovariana na presença ou não de tratamento concomitante com dexametasona sobre a homeostase glicêmica. Ratas Wistar jovens (28 dias de vida) foram submetidas à falha ovariana através da administração intraperitoneal de 4-vinilciclohexanodie, seguido do tratamento com dexametasona (1 mg/kg, p.c., i.p.) por 5 dias consecutivos, ao atingirem 7 meses de vida (grupos DEX e DEX-VCD). Os grupos controles receberam apenas injeções salina em ambas as ocasiões (grupos CTL e VCD). Os grupos DEX e DEX-VCD tiveram redução da massa corporal durante tratamento com dexametasona ($p < 0,05$, $n = 10$). Os grupos DEX e DEX-VCD demonstraram aumento dos valores de glicose sanguínea, insulina e triacilglicerol plasmáticos bem como aumento do conteúdo de glicogênio e triacilglicerol hepáticos ($p < 0,05$, $n = 10$), comparado aos seus respectivos controles. Nenhum destes parâmetros foi exacerbado pela perda de função ovariana ou alterado por efeito do VCD *per se*. Os grupos DEX, DEX-VCD e VCD desenvolveram intolerância à glicose em relação aos seus respectivos grupos controles. Estes dados parciais nos permitem concluir que a menopausa precoce promove intolerância à glicose alertando para o seu controle, mas não resulta em maiores susceptibilidades aos efeitos adversos causados pelo tratamento com GCs..

Palavras-chave: dexametasona, glicocorticoide, menopausa, tolerância à glicose.



BIOLOGIA CELULAR E DO DESENVOLVIMENTO

49. ULTRAVIOLET-B RADIATION CAUSES IMPAIRMENTS IN MITOCHONDRIA OF EMBRYONIC CELLS OF FRESHWATER PRAWN *MACROBRACHIUM OLFERSI*.

Quadros, Thaline; Simioni, Carmen; Ammar, Dib; Muller, Yara; Nazari, Evelise.

thaly_pg@hotmail.com

Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, BEG, UFSC, Florianópolis/SC.

Ultraviolet-B (UVB) radiation can trigger adverse reactions on cells, such as DNA damage and formation of reactive oxygen species. However, fewer studies have focused the mitochondria as a target of UVB radiation, and also its involvement on apoptosis process. The aim of this study was to analyze the effects of UVB radiation on embryonic cells, using freshwater prawn *Macrobrachium olfersi* as a model. Ovigerous females with embryos at E6 were exposed to UVB radiation (310 mW.cm⁻²) for 30 min, and the embryos were analyzed after 1 h, 12 h, 24 h and 48 h. Embryos at E6 and E7 of non-irradiated females were used as control (IBAMA approval – 15294/1). No changes were recognizable on embryonic structures (optical lobes, appendages and caudal papilla) after UVB radiation. However, ultrastructural analysis showed that the heterochromatin had the appearance of condensed apoptotic chromatin. In the cytoplasm, concentric membranes, such as myelin-like structures, were recognizable. Additionally, mitochondrial morphological changes, particularly in mitochondrial cristae were the major alterations induced by UVB after 24 h. Finally, UVB-irradiated embryos showed significant low cell viability (MTT assay) after 1 h (0.500 nm), 12 h (0.469 nm), 24 h (0.449 nm), and 48 h (0.511 nm) when compared to controls at E6 (0.641 nm) and E7 (0.681 nm; $p < 0.01$). Our results indicate that UVB radiation causes embryonic cell impairments, mainly related to mitochondria. Moreover, the cellular responses can be recognizable few hours after the UVB insult in embryonic cells.



50. HYPERHOMOCYSTEINEMIA INDUCES IMPAIRMENTS ON EXPRESSION OF CELL-CYCLE PROTEINS AND PAX9 AND SOX9 GENE PRODUCTS DURING LIMB DEVELOPMENT.

Gilian Fernando Bourckhardt*, Manuela SozoCecchini, Maria Luísa da Silveira Hahmeyer, Dib Ammar, Yara Maria Rauh Müller, Evelise Maria Nazari
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Brazil

*e-mail: gilian.bourckhardt@posgrad.ufsc.br

Hyperhomocysteinemia is a risk factor for the occurrence of limb defects, being able to generate DNA damage. The aim of this study was to investigate whether Hcy affect the expression of cell-cycle proteins and gene products of *Pax1/9* and *Sox9* during limb development. Chicken embryos were treated with 20 μ mol D-L Hcy/50 μ L saline at E2 and analyzed at E6. Untreated embryos received exclusively 50 μ L saline solution (Ethics Committee 23080.025620/2009-51). No significant differences in cell proliferation were observed between Hcy-treated and untreated embryos. We examined the expression of proteins involved in cell-cycle. The number of cells labeled with anti-p53 was larger in Hcy-treated (97.6 \pm 1.4) than untreated embryos (77.6 \pm 1.9, $p \leq 0.0001$). In contrast, we observed smaller number of cells labeled with anti-p21 in Hcy-treated embryos (327.6 \pm 43.7), which differed from untreated embryos (707.0 \pm 96.5, $p \leq 0.05$). The PCNA involved in cell-cycle and DNA repair, showed fewer cells in Hcy-treated embryos (59.6 \pm 2.7) that differed from untreated embryos (144.0 \pm 11.6, $p \leq 0.0001$). The products of *Pax1/9* and *Sox9* genes are essential to early chondrogenesis. The number of cells labeled with anti-Pax1 in Hcy-treated embryos did not differ from untreated embryos. In opposite, the number of cells labeled with anti-Pax9 increased in Hcy- treated embryos (69.3 \pm 2.1), in comparison with untreated embryos (51.3 \pm 0.96, $p \leq 0.0001$). Finally, Hcy-treated embryos showed larger number of cells labeled with anti-Sox9 (8.6 \pm 0.46) compared to untreated embryos (4.0 \pm 0.08, $p \leq 0.0001$). Our results indicate that the Hcy-treatment change the mesenchymal cell dynamics and provide information to better understand the cellular basis of the effects of Hcy during limb development.

Support: CAPES, FAPESC



51. CELLULAR RESPONSES TO METHYLMERCURY EXPOSURE DURING CENTRAL NERVOUS SYSTEM DEVELOPMENT IN *Gallus Domesticus* EMBRYOS.

Albuquerque, A.C. Claudia; Ferreira, Fabiana de Fátima; Nazari, Evelise; Ammar, Dib; Muller, R.M. Yara.

albuqueclaudia@gmail.com

Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, UFSC, Florianópolis, SC.

The central nervous system (CNS) is sensitive to methylmercury (MeHg) exposure, during development. The aim of this study was to investigate the effects of MeHg on brain, cerebellum and spinal cord, using *Gallus domesticus* embryos, as a model (254/CEUA/UFSC). Embryos at E3 were exposed in ovo (0.1µg MeHg/50µL saline) and analyzed at E10 by structural, ultrastructural and flow cytometry techniques. No structural alterations in embryonic neural tissues were observed in MeHg-treated embryos. However, autometallography reveals that MeHg was deposited in brain, cerebellum, and in cellular layers of spinal cord. Ultrastructural changes, mainly in the mitochondria, were observed in embryos treated with MeHg. Additionally, morphometric data indicates significant increase in thickness of ependymal layer of brain (MeHg 97.02 ± 8.14 ; control 71.90 ± 5.59) and granular layer of cerebellum (MeHg 42.26 ± 4.90 ; control 27.71 ± 1.68 , $p \leq 0.05$); unlike, we observed a significant reduction in thickness of spinal cord layers of MeHg-treated embryos (284.80 ± 9.13) in comparison to control (394.87 ± 35.16 , $p \leq 0.05$). Cell cycle proteins p21, p53 and cyclin-E were analyzed by flow cytometry. A significant increase in p21-positive cells in brain (MeHg 12.75 ± 3.36 ; control 6.34 ± 2.73) and spinal cord (MeHg 176 ± 34.81 ; control 26 ± 10.71 , $p \leq 0.05$) were observed. The p53 and cyclin-E showed no significant difference in all of the embryonic neural tissues analyzed. Our data indicate that MeHg causes impairments in the neural cells and also compromises the tissue architecture of CNS during embryonic development.



52. INVESTIGATION OF TEMPORAL DOPAMINERGIC CHANGES INDUCED BY RESERPINE IN RATS: A PHARMACOLOGICAL MODEL FOR THE STUDY OF PRE-MOTOR SYMPTOMS OF PARKINSON'S DISEASE.

Aline Guimarães Pereira¹, Filipe Carvalho Matheus², Lucila de Bortoli da Silva³, Anicleto Poli², Yara Maria Rauh Müller¹, Alexandra Susana Latini³, Rui Daniel Prediger^{2,3}.
alinegp77@yahoo.com.br

¹Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, Depto de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Desenvolvimento, UFSC;

²Laboratório Experimental de Doenças Neurodegenerativas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, UFSC;

³Laboratório de Bioenergética e Estresse Oxidativo, Programa de Pós-Graduação em Neurociências, UFSC.

The reserpine, an inhibitor of vesicular monoamine transporter, when systemically administered in rats at low doses has been proposed as a valuable model for the study of non-motor symptoms of Parkinson's disease (PD). The present study aimed to investigate the temporal effects of reserpine on putative alterations in the levels of dopamine and its metabolite 3,4-dihydroxyphenylacetic (DOPAC) in striatum at different intervals after reserpine administration. The dopamine and DOPAC contents were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) in the striatum of male Wistar rats (3 months old, n=4 animals per group) at 3, 24 or 72 h after a single subcutaneous injection of reserpine (1 mg/kg) or its vehicle (saline plus 50 µl of glacial acetic acid). The open field test was used for the assessment of spontaneous locomotor activity. The Student t-test revealed significant reduction of DOPAC levels [t=2,82; P<0,05], but not dopamine, at 3 h after reserpine injection, without significant changes in spontaneous locomotor activity. At 24 h after reserpine administration, no significant changes in dopamine [t=1,28; P=0,25] and DOPAC [t=0,56; P=0,60] levels, as well as spontaneous locomotor activity were observed. More importantly, a marked depletion of striatal dopamine [t=2,80; P<0,05] and DOPAC [t=3,28; P<0,05] levels was found at 72 h following reserpine injection, which was associated with reduced locomotor activity. Altogether, the present findings demonstrate that short periods after a single administration of low reserpine dose (1mg/kg) is a valuable model for the study of the cognitive symptoms associated with an early pre-motor phase of PD.

Palavras-chave: Reserpine, Parkinson's disease, Short-term memory, Monoamines.



53. HOMOCYSTEINE DISTURB CELL PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION IN TELENCEPHALON LAYERS OF CHICK EMBRYO

Manuela Sozo Cecchini¹, Gilian Fernando Bourckhardt¹, Karoline Kobus-Bianchini², Dib Ammar¹

, Yara Maria Rauh Müller¹, Evelise Maria Nazari¹.

*manucecchini@hotmail.com

¹Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal, Depto. de Biologia Celular, Embriologia e Genética, UFSC

² Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

High levels of homocysteine (Hcy) are related to the occurrence of congenital anomalies, including neural tube defects. Here, we hypothesize that Hcy affects cell proliferation and cytoskeletal proteins, changing the neurogenesis process. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of Hcy on neuronal and glial differentiation, as well as, cell proliferation in telencephalon of *Gallus domesticus*. Fertilized eggs of *G. domesticus* were incubated at 38 °C and submitted to treatment with 20 µmol D-L Hcy/50 µl saline at E2, and analyzed at E6. Controls were treated exclusively with 50 µl saline. Thus, embryos were removed from eggs and prepared for further analysis. Morphometry of the whole encephalic vesicles and morphometry of telencephalon layers thickness were measured. Immunohistochemistry using antibodies anti-phosphohistone H3 (cell proliferation), anti-β tubulin III (neuronal differentiation) and anti-GFAP (glial differentiation) were performed. Discrete increase in size of encephalic vesicles was observed in Hcy-treated embryos. On the other hand, decrease in the thickness of marginal layer was observed in Hcy-treated embryos. Additionally, we found that Hcy induces significant decrease in the density per area of telencephalic phosphohistone H3+ cells (NA) (45.2 mm², $p \leq 0.05$). Similarly, Hcy induces significant decrease in β tubulin III+ cells (92.6 mm², $p \leq 0.0001$). However, embryos treated with Hcy exhibit an increase in GFAP+ cells (371.8 mm², $p \leq 0.0001$). Our results demonstrate that treatment with Hcy causes impairments on development of neuronal and glial cells of *G. domesticus* embryos.

Keywords: folate, central nervous system, embryos, development



BIOTECNOLOGIA

54. TRIAGEM CITOTÓXICA DE CARDENOLÍDEOS E AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO DO COMPOSTO MAIS ATIVO EM CÉLULAS A549.

Lara Persich Cruz¹; Naira Fernanda Zanchett Schneider¹; Izabella Thaís da Silva¹
lara.persich@hotmail.com

¹Laboratório de Virologia Aplicada, Depto. Microbiologia e Imunologia, UFSC

Introdução: Câncer de pulmão é considerado o de maior ocorrência entre os tumores malignos com uma taxa de incidência mundial crescente em torno de 2% ao ano, justificando a necessidade de pesquisas para o desenvolvimento de quimioterápicos mais eficientes. Neste sentido, têm sido relatadas as atividades citotóxica e antitumoral dos cardenolídeos, um grupo de metabólitos secundários esteroidais de origem natural. Metodologia: A triagem citotóxica dos 64 cardenolídeos em células tumorais de pulmão humano (A549) foi realizada através do ensaio colorimétrico do MTT. A seletividade do composto mais ativo da série (composto 4 = glucoevatromonosídeo) em células de pulmão humanas saudáveis (MRC-5) foi avaliada por meio de coloração com sulforrodamina B. A análise do ciclo celular se deu pela marcação das células A549 com iodeto de propídio e quantificação em citômetro de fluxo. A morte celular autofágica foi investigada através da coloração com laranja de acridina, e, a expressão de importantes mediadores deste tipo de morte, tais como, Akt/mTOR e LC3BII, foi avaliada por Western blotting (WB). Resultados e Discussão: 64 cardenolídeos foram avaliados pelo método do MTT, 24 apresentaram valores de CI50 inferior a 1µM. O composto 4 apresentou o menor valor de CI50 (19nM), sendo mais potente que o controle positivo paclitaxel (CI50=260nM), além de uma toxicidade significativamente maior para células A549 em comparação às s MRC-5, mostrando-se seletivo para as células tumorais. A análise do ciclo celular revelou que este composto bloqueou as células A549 na fase G2/M, acompanhado de uma redução da expressão da ciclina B1, um importante regulador do ciclo celular avaliado por WB. O método de coloração com laranja de acridina mostrou o aparecimento de múltiplos vacúolos acídicos, indicando que o composto 4 induziu a morte celular por autofagia. A avaliação da expressão de proteínas envolvidas nesse tipo de morte demonstrou que o composto 4 inibiu a fosforilação de Akt e mTOR. O tratamento com 10nM desse cardenolídeo também levou ao aumento da conversão de LC3BI para LC3BII, fato diretamente relacionado ao surgimento de autofagossomas.

Palavras-chave: cardenolídeos, câncer de pulmão, autofagia.



55. ESTUDO DA EFICIÊNCIA DE BIODIGESTOR ANAERÓBIO NA DESINFECÇÃO DE EFLUENTES SUÍNOS E BOVINOS VISANDO REUSO AGRÍCOLA.

Ana Carolina Baltazar Zeredo¹; Gislaíne Fongaro¹; Célia Regina Monte Barardi¹.

anacarolina-zeredo@hotmail.com

¹Laboratório de Virologia Aplicada, Depto. de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, UFSC

Ao longo das décadas o Brasil adquiriu notoriedade no âmbito agropecuário, especialmente nas atividades de suinocultura e bovinocultura. Estas vertentes do setor pecuário caracterizam importantes fontes econômicas para o país, sendo a bovinocultura destaque do agronegócio nacional no cenário mundial, pois o rebanho bovino efetivo brasileiro é o segundo maior do mundo e a suinocultura confere ao Brasil o quarto lugar no patamar de produção e exportação mundial. As práticas agrícola geraram fortes impactos ambientais, principalmente pela alta produção de dejetos. Assim, o Projeto BiogasFert (Tecnologias para Produção e Uso de Biogás e Fertilizantes a partir do Tratamento de Dejetos Animais no Âmbito do Plano ABC), resultante da parceria entre as EMBRAPAs do Brasil e Itaipu Binacional com Universidades Federais e Estaduais, atua visando a produção e o desenvolvimento de práticas inovadoras e aprimoramento de outras, para o uso de biofertilizantes orgânicos e organominerais, produção de biogás, bem como contribuir para mitigação da emissão dos gases de efeito estufa; almeja, por fim, trazer novas alternativas tecnológicas para produção e uso do biogás. O Laboratório de Virologia Aplicada da UFSC é parte atuante deste projeto, sendo responsável pela análise de amostras de entrada (afluentes) e saída (efluentes) bovinícolas e suinícolas tratados em biodigestores anaeróbios (BA). Os vírus entéricos são biomarcadores de contaminação por patógenos entéricos, sendo nesse trabalho investigada a presença de rotavírus-A (RVA), circovírus porcinos-2 (PCV-2) e Adenovírus porcino (PAdV) em amostras provenientes de suínos e RVA em amostras provenientes de bovinos. Para as análises virais as amostras foram concentradas, os ácidos nucleicos totais foram extraídos e estes submetidos à reação de PCR em tempo real (qPCR). Os resultados apontaram reduções significativas nas concentrações de RVA e PCV-2 pós biodigestão anaeróbia dos efluentes suínos, com uma redução de 99% e 90% respectivamente, porém PAdV não reduziu significativamente. Nas análises dos dejetos bovinos não foi detectada a presença de RVA. Pretende-se utilizar os dejetos agropecuários tratados em BA para testes de biofertilização e fertirrigação de solos e vegetais e realizar o estudo de estabilidade destes patógenos entéricos modelos para que seja possível avaliar o risco de reusar efluentes diretamente tratados em BA sem pós-tratamento.

Palavras-chave: biodigestores anaeróbios, patógenos entéricos virais, biofertilizantes.



BIOLOGIA DE FUNGOS, ALGAS E PLANTAS

56. EFEITOS DOS METAIS PESADOS COBRE E CHUMBO SOBRE MACROALGA PARDA *Sargassum cymosum*: AVALIAÇÃO PIGMENTAR, DESEMPENHO FOTOSSINTÉTICO E MICROSCOPIA DE LUZ

Costa, Giulia Burle¹; Felix, Marthiellen. R. de Lima¹; Simioni, Carmem ¹; Ramlov, Fernanda²; Oliveira, Eva Regina²; Pereira, Débora Tomazi¹; Maraschin, Marcelo²; Chow, Fungyi³; Bouzon, Zenilda Laurita¹; Schmidt, Éder Carlos¹
giuliaburle@gmail.com

¹Laboratório de Biologia Celular Vegetal, Depto. de Biologia Celular, Embriologia e Genética, UFSC.

²Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal, Depto. de Fitotecnia, CCA, UFSC.

³Instituto de Biociência, Universidade de São Paulo, USP.

O ambiente costeiro é amplamente modificado pela introdução de poluentes. Entre os contaminantes, os metais pesados são reconhecidos pela sua toxicidade sobre os organismos da fauna e flora. Algas marinhas são capazes de acumular altas concentrações de metais pesados, mas estudos recentes apontam o declínio de populações naturais de macroalgas. Investigações dos efeitos tóxicos dos metais pesados foram feitas com a alga parda *Sargassum cymosum*, para avaliar o conteúdo de clorofilas e compostos fenólicos, mudanças na estrutura celular e avaliação *in vivo* da clorofila *a*. O delineamento experimental foi conduzido por 7 dias com os metais cobre (Cu) e chumbo (Pb) em tratamentos monometálicos (10, 25 and 50 μ M) e combinados (Cu+Pb) nas mesmas concentrações. O tratamento controle foi composto de água do mar esterilizada sem adição de metais na cultura. O conteúdo de clorofilas *a* e *c* (n=4) e de compostos fenólicos (n=4) foi maior nos tratados com metais em relação ao controle. Na análise de microscopia de luz, com a citoquímica Azul de Toluidina (AT-O, n=4), observou-se o aumento na quantidade de fisóides nas algas tratadas com metais e a sua migração para as células corticais. O padrão de desempenho fotossintético (n=4) foi modificado sob os tratamentos com metal quando comparados com o controle, e foram observados efeitos de fotoinibição significativa para os tratados de cobre e combinação dos metais. Em conclusão ao estudo, os metais cobre e chumbo são fatores de estresse para diferentes processos morfológicos, anatômicos e fisiológicos de *S. cymosum*. O aumento na concentração de pigmentos fotossintetizantes indica o seu papel na aclimação da alga para a manutenção fisiológica do metabolismo. A síntese de compostos protetores do estresse oxidativo, como fenólicos, possivelmente é relacionada a evitar os danos celulares da toxicidade dos metais pesados. Entretanto, a diminuição no máximo rendimento quântico da fotossíntese pode indicar uma possível fotoinibição e consequências de danos no aparato fotossintético.

Palavras-chave: toxicologia aquática, algas pardas, fisiologia, fotoinibição.



57. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DAS PINHAS E SEMENTES DE DUAS VARIEDADES DE *Araucaria angustifolia*.

Marília Shibata¹; Cileide M. M. Coelho²; Moises Pollak Junior³; Marcelo Maraschin⁴

¹ Laboratório de sementes, Departamento de Fitotecnia, UFSC, e-mail: mariliashibata@gmail.com.

² Professora da Universidade do Estado de Santa Catarina, Departamento de Agronomia, UDESC.

³ Laboratório de sementes, Departamento de Fitotecnia, UFSC.

⁴ Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal, Departamento de Fitotecnia, UFSC.

Araucaria angustifolia é uma espécie nativa, não domesticada, podendo encontrar diferentes variedades botânicas. Na região de Paineira – Santa Catarina há o conhecimento de pelo menos duas variedades: *angustifolia* e *caiova*. O objetivo do trabalho foi analisar as características morfológicas das pinhas e sementes de *A. angustifolia* var. *angustifolia* e *caiova*. Para cada variedade foram coletadas 20 pinhas, no município de Paineira – SC, nos meses de maio e junho durante duas safras: 2013 e 2014. Após a coleta, o diâmetro das pinhas foi mensurado com auxílio de uma suta e analisado a coloração das pinhas e sementes, massa de cada pinha, de 100 pinhões e o número de sementes por pinha. A maioria das pinhas apresentou coloração marrom ou grande quantidade de manchas desta coloração. Os pinhões da variedade *caiova* apresentaram uma coloração vermelho escuro e da variedade *angustifolia* amarelo-alaranjada. A variedade *angustifolia* apresentou valores superiores em todas as características morfológicas, exceto na massa de 100 pinhões. Comparando-se as safras, nas duas variedades verificaram-se maior massa das pinhas (2409,99 – *angustifolia* e 2007,30 – *caiova*), diâmetro (17,11 cm – *angustifolia* e 16,44 – *caiova*) e total de pinhões (129 – *angustifolia* e 115 – *caiova*) no ano de 2013. Contudo a massa de 100 pinhões foi maior no ano de 2014, com 910,25 g e 983,22 g nas variedades *angustifolia* e *caiova* respectivamente. Conclui-se que a variedade *angustifolia* possui maior massa e diâmetro das pinhas e quantidade de pinhões nos dois anos avaliados.

Palavras-chave: *caiova*, pinhão, estróbilo feminino.



58. QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Araucaria angustifolia* APÓS SECAGEM PARCIAL.

Marília Shibata¹; Cileide M. M. Coelho²

¹ Laboratório de sementes, Departamento de Fitotecnia, UFSC,
e-mail: mariliashibata@gmail.com.

² Professora da Universidade do Estado de Santa Catarina, Departamento de Agronomia, UDESC.

Sementes de *Araucaria angustifolia* apresentam comportamento recalcitrante, ou seja não toleram ou toleram pouco a secagem e são sensíveis à dessecação. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da secagem parcial das sementes de *A. angustifolia* na qualidade fisiológica. Sementes foram coletadas em Paineira – SC e submetidas à secagem por 0, 19, 47, 70, 170 e 240 horas em estufa com circulação de ar forçada a 40 °C. Em seguida, as sementes foram submetidas ao teste tetrazólio (0,1% por 1 hora), pH do exsudato (5 mL de água a 25 °C), grau de umidade (105 °C por 24 horas) e condutividade elétrica (75 mL de água por 12 horas). Verificou-se uma queda no grau de umidade conforme o aumento no tempo de secagem, de 48,9% para 34,8% após a secagem por 240 horas, refletindo na diminuição da viabilidade das sementes baseando no teste de tetrazólio (81% para 18%) e pH do exsudato (61% para 20%). O teste de condutividade elétrica demonstrou que as sementes secas por 240 horas apresentaram maior lixiviação de exsudatos ($172,3 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$), demonstrando que as sementes estavam menos vigorosas. Concluiu-se que as sementes de *A. angustifolia* são sensíveis a secagem parcial e a redução no grau de umidade causa queda na qualidade fisiológica.

Palavras-chave: viabilidade, sementes recalcitrantes, dessecação.



ECOLOGIA

59. FECUNDIDADE DE DUAS NOVAS ESPÉCIES DE *HYALELLA SMITH, 1874* (CRUSTACEA, AMPHIPODA, HYALELLIDAE) DO MUNICÍPIO DE PALMEIRA DAS MISSÕES, RS.

Vanessa da Silva de Castro¹; Daniela da Silva Castiglioni^{1,2} Aline Vasum Ozga²
assenav_vany@hotmail.com

¹Laboratório de Zoologia e Ecologia, Depto. de Zootecnia e Ciências Biológicas, CESNORS/UFSM. ² Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Centro de Ciências Naturais e Exatas, UFSM e Laboratório de Zoologia e Ecologia, Depto. de Zootecnia e Ciências Biológicas, CESNORS/UFSM. ² Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Centro de Ciências Naturais e Exatas, UFSM.

Recentemente foi encontrada num açude natural e num artificial, ambos localizados em propriedades rurais do município de Palmeira das Missões, RS, duas novas espécies do gênero *Hyaella*. Assim, este trabalho teve por objetivo comparar a fecundidade entre os três estágios do desenvolvimento embrionário e o número de juvenis eclodidos em cada espécie. Sendo que *Hyaella* sp. 1 pertence ao açude natural e *Hyaella* sp. 2 ao açude artificial. As fêmeas ovíferas foram amostradas entre ago/12 a jul/2013, por uma pessoa com puçá durante 20 minutos. Em campo, foram individualizadas e, em laboratório, foram mensuradas quanto ao comprimento do cefalotórax (mm) sob uma ocular micrométrica de estereomicroscópio e todos os ovos foram retirados do marsúpio, classificados de acordo com o estágio de desenvolvimento embrionário no qual se encontravam (inicial, intermediário, final e juvenil) e contados. Ao fim das coletas, obteve um total de 143 fêmeas ovíferas para *Hyaella* sp. 1, sendo 120 exemplares mensurados e, para *Hyaella* sp. 2 coletou-se 1.008 ovíferas, onde 614 foram analisadas. O comprimento do cefalotórax (CC) de ambas as espécies variou, respectivamente, de 0,27 a 0,67 ($0,48 \pm 0,06$) e 0,24 a 0,82 ($0,56 \pm 0,10$). A média total de ovos produzidos por *Hyaella* sp.1 foi de 19,6, variando de 10 a 28 ovos, já para *Hyaella* sp.2 a média é de 25,7, variando de 10 a 46 ovos. Além disto, foi observada correlação positiva entre o comprimento do cefalotórax e o número de ovos produzidos por ambas espécies de fêmeas ovíferas ($r^2= 0,62$; $r^2= 0,74$). A média de ovos produzidos por *Hyaella* sp. 1 nos três estágios de desenvolvimento embrionário é de $19,7 \pm 4,23$, $19,6 \pm 4,15$, $21,4 \pm 3,38$ ovos, respectivamente. Já para *Hyaella* sp.2 foi observado uma média de $26,5 \pm 6,5$, $25,7 \pm 6,5$, $26,1 \pm 3,7$ ovos. Também foi observado a média de $19,5 \pm 3,52$ juvenis no marsúpio das fêmeas ovíferas de *Hyaella* sp.1 e $24,2 \pm 6,7$ para *Hyaella* sp. 2. Diante do presente estudo, conclui-se que ambas espécies não apresentam diferenças significativas entre o número médio de ovos nos diferentes estágios de desenvolvimento embrionário e juvenis, ou seja, o número de ovos e juvenis permanece praticamente o mesmo ao longo do período embrionário. No entanto, o CC de *Hyaella* sp.1 é inferior ao da *Hyaella* sp. 2, a qual apresentou maior capacidade de suportar embriões e juvenis, portanto, quanto maior a fêmea maior é seu sucesso reprodutivo.

Palavras-chave: Fecundidade, desenvolvimento, produção.



60. DETERMINAÇÃO DA MATURIDADE SEXUAL DE UMA ESPÉCIE DE HYALELLA (HYALELLIDAE) DE UM BANHADO DO MUNICÍPIO DE PALMEIRA DAS MISSÕES, RS.

Vanessa da Silva de Castro¹; Kelly Galiotto¹ & Daniela da Silva Castiglioni^{1,2}
assenav_vany@hotmail.com

¹Laboratório de Zoologia e Ecologia, Departamento de Zootecnia e Ciências Biológicas, UFSM.
^{1, 2} Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Centro de Ciências Naturais e Exatas,

As espécies de *Hyaella* são encontradas em diversos habitats de água doce, como reservatórios permanentes, lagos, tanques e riachos, estando muitas vezes aderidas a macrófitas, nadando na coluna d'água ou confinados ao sedimento. Assim, este trabalho teve por objetivo determinar o tamanho da maturidade sexual de machos e fêmeas de *Hyaella* sp. amostrada num banhado de uma propriedade rural no município de Palmeira das Missões, RS. Os exemplares foram amostrados por uma pessoa com puçá durante 20 minutos, no período um ano (ago/12 a jul/2013) e os casais em comportamento pré-copulatório foram individualizados ainda em campo. Em laboratório, os exemplares foram mensurados quanto ao comprimento do cefalotórax (mm) sob ocular micrométrica. A determinação da maturidade sexual foi baseada no tamanho do menor macho e menor fêmea encontrados em casais de pré-cópula. Além disto, a maturidade sexual das fêmeas também foi estimada através do tamanho (CC) da menor fêmea ovígera amostrada. A maturidade sexual de machos e fêmeas foi estimada em 0,45 e 0,37 mm, respectivamente. Levando-se em consideração o tamanho da menor fêmea ovígera amostrada, a maturidade sexual foi estimada em 0,27 mm. Os machos encontrados em comportamento pré-copulatório apresentaram uma variação de tamanho de 0,45 a 0,64 mm e as fêmeas de 0,37 a 0,57 mm, sendo os machos ($0,52 \pm 0,05$ mm) significativamente maiores do que as fêmeas ($0,45 \pm 0,05$ mm). Além disto, foi observada correlação positiva entre o tamanho (CC) dos machos e das fêmeas amostrados formando casais ($r^2 = 0,62$). A maturidade sexual observada em *Hyaella* sp. na qual os machos maturam com tamanhos superiores a fêmeas, deve-se provavelmente ao fato destes investirem mais em crescimento somático e conseqüentemente atingem maiores tamanhos e tornam-se maduros com tamanhos superiores as fêmeas, uma vez que estas dividem parte de suas energias entre produção de ovos, cuidado com a prole e crescimento somático. Tal resultado é semelhante ao já observado para outras populações de *Hyaella* já estudadas no Brasil.

Palavras-chave: Maturidade, pré-copulatório, cefalotórax

