

I Encontro Amazônico da SBBq

Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular

Promovendo ações em temáticas moleculares

Centro de Convenções do Amazonas Vasco Vasques | Manaus-AM

06 a 09 de Novembro de 2019

ANAIS 2019

Realização



Patrocínio



Secretaria de
Desenvolvimento
Econômico, Científico,
Tecnológico e Inovação



Apoio



FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade do Amazonas

E56 Encontro amazônico da sociedade brasileira de bioquímica e biologia molecular (1; 2019:
2019 Manaus, AM)

Anais ... / Edição técnica: Cristiane Pereira Borges Saito, Daniel Saito e Hugo Valério
Corrêia de Oliveira. – Manaus (AM) : [s.n.], 2019.

64 p.: il., color; 30 cm.

Inclui referências bibliográficas

1. Biologia Molecular. 2. Bioquímica. 3. Encontro – Manaus. I. Título

CDU 1997 – 573(811.3)(063)

Todos os resumos neste livro foram reproduzidos de cópias fornecidas pelos autores e o conteúdo dos textos é de exclusiva responsabilidade dos mesmos. A organização do referente evento não se responsabiliza por consequências decorrentes do uso de quaisquer dados, afirmações e/ou opiniões inexatas ou que conduzam a erros publicados neste livro de trabalhos. É de inteira responsabilidade dos autores o registro dos trabalhos no conselhos de ética animal, de pesquisa ou SisGen.



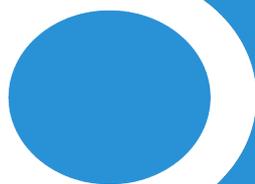


APRESENTAÇÃO

O I Encontro Amazônico da SBBq está diretamente vinculado à coordenação geral do Programa em rede em Bioquímica e Biologia Molecular e teve como intuito final agregar pesquisadores da região, projetar e divulgar a ciência realizada na região norte entre a comunidade acadêmica local e regional por meio da publicação dos resumos e palestras.

Ao todo, foram duzentos e setenta e quatro inscritos no evento, destes, grande parte composta por alunos de graduação e pós-graduação, treze palestrantes, em sua maioria, da região norte do Brasil, além de uma convidada- Prof^a Dr^a Andrea Mara Macedo, Coordenadora Geral do Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular. Foram aceitos para avaliação, cinquenta e seis trabalhos em quatro áreas do conhecimento, dentre os quais foram selecionados três que mais se destacaram, segundo a comissão científica, para premiação e um para menção honrosa.

Entre os resultados alcançados, pode-se destacar a divulgação científica em âmbito local e regional, a interação entre palestrantes, profissionais da área de bioquímica e biologia molecular e alunos de graduação e pós-graduação e o fomento de novas ideias para futura aplicação na realidade amazônica.



CORPO EDITORIAL

COMISSÃO ORGANIZADORA

ANA TANA ROSAS DO NASCIMENTO (Mestranda do PMBqBM)
ANDRÉ LUIZ MARQUES PINTO (Mestrando do PMBqBM)
ANDRÉ MIASATO HIGA (Doutorando do PMBqBM)
DENILSON LOPES EVANGELISTA (Estagiário do PMBqBM)
CLEITON FANTIN REZENDE (Professor Adjunto da UEA)
CRISTIANE PEREIRA BORGES SAITO (Coordenadora Local PMBqBM)
DANIEL SAITO (Vice-Coordenador Local PMBqBM)
ERICK ANDERSON DO VALE TAVARES (Secretário do MBT-UEA)
FÁBIO MACHADO MARINHO (Mestrando do PMBqBM)
JORGE FRANK BRAGA FERREIRA (Doutorando do PMBqBM)
TANIA A. LUCIA VIANA DE SOUZA (Secretária do PMBqBM/BIONORTE-UEA)
WESLEY ROBERTH LIMA VIANA (Aluno de Graduação- Licenciatura em ciências biológicas -UEA)

COMISSÃO CIENTÍFICA

ÁGATHA TAVARES PINHEIRO EMÍDIO (Mestranda do PMBqBM)
ANDERSON NOGUEIRA BARBOSA (Aluno egresso do PMBqBM)
DOROTHY ÍVILA DE MELO PEREIRA (Doutoranda do Programa BIONORTE)
HUGO VALÉRIO CORRÊA DE OLIVEIRA (Professor Adjunto -UEA)
THIAGO MOREIRA DA SILVA (Mestrando do PMBqBM)

AVALIADORES

EDSON JUNIOR DO CARMO (Professor Adjunto do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFAM)
RUDI EMERSON DE LIMA PROCÓPIO (Professor Adjunto, Curso de Bases Biológicas II-UEA)

Conteúdo

Área 1 - Ciências Biológicas	9
Atividade de inibidores proteolíticos em sementes de <i>Inga Mill.</i> e seu potencial antibacteriano	9
Katharine Duarte Gonçalves; Joelma Keith Rodrigues; Rafaela Oliveira da Silva; Diego Pereira de Souza; Paula Hariana da Silva Dantas; Josiane Celerino de Carvalho; Andreia Varmes Fernandes; José Francisco de Carvalho Gonçalves;	9
Análise do metagenoma oral: evidência de filotipos potencialmente associados à saúde e doença	10
Anderson Nogueira Barbosa; Rodrigo Ferreira de Oliveira; Cristiane Pereira Borges Saito; Tsai Siu Mui; Daniel Saito;	10
Estudo Químico Da Espécie Medicinal <i>Tripogandra Glandulosa</i> Cultivada Em Condições De Viveiro.	11
Gelson Santos de Oliveira; Deolinda Luciane Ferreira Garcia;	11
Identificação das ATPases do tipo P na preparação de esferoplastos de <i>Salmonella enteritidis</i>	12
Ingrid Silva Correia; Weison Lima da Silva; Cecilia Veronica Nunez; Elias Cristiano Candido da Silva;	12
Atividade antifúngica de metabólitos de fungos endofíticos isolados de espécies amazônicas	13
Raiana Silveira Gurgel; Juliana Gisele Rodrigues Correa; Patrícia Melchionna Albuquerque;	13
Produção de celulases por <i>Streptomyces capomus</i> utilizando resíduos agroindustriais amazônicos	14
Thaís Santiago do Amaral; Lucas de Souza Falcão; Victória Carolina Siqueira Mena Barreto; Sergio Duvoisin Junior; Patrícia Melchionna Albuquerque; Rafael Lopes e Oliveira;	14
Construção e caracterização de biblioteca genômica enriquecida com regiões de DNA microssatélites de <i>Duroia macrophylla</i> Huber (Rubiaceae)	15
Juliana Nascimento da Silva; Cecilia Veronica Nunez; Jacqueline da Silva Batista;	15
Produção de biossurfactantes por <i>Talaromyces</i> sp. isolado de <i>Myrcia guianensis</i>	16
Juliana Gisele Corrêa Rodrigues; Anne Borges de Bastos; Patrícia Melchionna Alburquerque;	16
Estado da arte dos marcadores moleculares para os Transtornos de Personalidade	17
Jhemerson Fernandes Paes; Adolfo José da Mota; Karolaine Oliveira Bentes; Vanessa Bianca de Lima Lobato;	17
Transcriptoma de <i>Copaifera multijuga</i>: Montagem e Anotação	18
Eliane Carvalho dos Santos; Ana Paula Bastos; Edmar Vaz de Andrade; Valdir F. Veiga Junior; Spartaco Astolfi Filho;	18
Perfil de virulência e resistência à antibióticos de amostras de <i>enterococcus</i> sp. Isolados de amostras clínicas e ambientais da comunidade do lago do limão no município de iranduba- am	19
Vitória Graziela Lopes Dutra; Maria Júlia Pessoa Brandão; Lirna Salvioni da Silva; Luciete Almeida Silva;	19
Estudo genético populacional do bagre migrador piramutaba (<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>) com o uso de marcadores moleculares microssatélites	20
Ana Caroline Viana da Silva; Dra. Jaqueline da Silva Batista; Msc. Kyara Martins Formiga;	20
Amplificação do gene <i>BRCA1</i> em pacientes com câncer de mama atendidos em Manaus, Amazonas	21
lago Lucas Viana da Silva; Diana Vieira Brito; Cleiton Fantin Rezende;	21
Identificação fenotípica de bactérias e leveduras da polpa de <i>Manioht sculenta</i> para seleção de enzimas com interesse Biotecnológico	22
Saul Muniz Fogassa; Luiz Fernando Brandão de Araújo; Eliane Carvalho dos Santos;	22
Utilização do planejamento fatorial para otimização do crescimento morfológico em meio de cultura de espécies <i>Penicillium</i> spp. isolados da amazônia	23
Ana Beatriz Nascimento da Silva; Kemily Nunes da Silva; Priscila Ferreira de Aquino;	23
Avaliação de genotoxicidade e da concentração de metalotioneínas em <i>Podocnemis unifilis</i> em uma Reserva de Desenvolvimento Sustentável na Amazônia	24

Ândrocles Oliveira Borges; José Erickson Alves Silva; Lídia Aguiar da Silva; Cleiton Fantin Rezende; Fabíola Xochilt Domingos Moreira;.....	24
Identificação fenotípica e molecular de bactérias patogênicas associadas à criação de peixes amazônicos	25
Jorge Ivan Rebelo Porto; Eliane Carvalho dos Santos; Andrea Belém-costa;	25
Propriedades bioativas e avaliação do potencial prebiótico da fibra do pedúnculo de caju utilizando <i>Bifidobacterium lactis</i>	26
Larissa Batista de Brito do Nascimento; Vítor Alves Pessoa; Sérgio Dantas de Oliveira Júnior; Larissa Ramos Chevreuil; Paula Romenya dos Santos Gouvêa; Lorena Vieira Bentolila de Aguiar; Everaldo Silvino dos Santos; Ceci Sales-campos;	26
Respostas da comunidade bacteriana em áreas de desflorestamento na Amazônia	27
Clovis Daniel Borges; Siu Mui Tsai;	27
Resistência a metais por fungos filamentosos isolados de estação de tratamento de efluente industrial têxtil	28
Elizandra Ribeiro Bueno Moreira; Milene Miranda Almeida Lira; Michel Rodrigo Zambrano Passarini; Camila Cristina de Jesus Castro;	28
Microbiota associada à ciclagem de metano em solos de floresta amazônica convertida a pastagens vista por metagenômica e qPCR	29
Leandro Fonseca de Souza; Dasiel Obregon; Fabiana de Souza Cannavan; Siu Mui Tsai;	29
Efeito da conversão de floresta em pastagem na microbiota do solo e a relação com os fluxos de CH₄ em solos da Amazônia	30
Fabiana de Souza Cannavan; Alexandre Pedrinho; Lucas W. Mendes; Mariley C. Fonseca; Luis Fernando Merloti; Tsai S. Mui;	30
Cultivos seletivos de Archaea envolvidas em oxidação de amônia em solos de floresta da Amazônia oriental	31
Fernanda Ometto Asselta; Yara Barros Feitosa; Júlia Brandão Gontijo; Siu Mui Tsai; Fabiana S. Paula;	31
Avaliação da atividade proteolítica de espécies de <i>Aspergillus</i>	32
Mussa Issufo; Larissa Ipuchima da Silva; Júlio César Maceda Santivanez; Moisés Martins Chagas; Luana Araújo Martins; Cleudiane Pereira Andrade; Augusto Bücken; Larissa de Souza Kirsch;.....	32
Triagem qualitativa de bactérias endofíticas isoladas da Região Amazônica como produtoras de PHA a partir de sacarose	33
Alzira Frota Marreiros Bezerra; Afonso Duarte Leão de Souza; Antonia Queiroz Lima de Souza;	33
Ciclo microbiano do metano em solos de floresta e pastagem da Amazônia: um estudo em microcosmos	34
Andressa Monteiro Venturini; Naissa Maria Silvestre Dias; Júlia Brandão Gontijo; Caio Augusto Yoshiura; Aline Giovana da França; Fabiana da Silva Paula; Brendan James Marc Bohannan; Siu Mui Tsai;	34
Primeiro registro de DNA ambiental de lagos de várzea da amazônia central: Definição e validação de método de extração	35
Danniel Rocha Bevilaqua; Sabrina Araújo de Melo; Adolfo José da Mota; Carlos Edwar de Carvalho Freitas; Jacqueline da Silva Batista;	35
Resistoma da cavidade oral em portadores de periodontite por sequenciamento de dna de alto rendimento	36
Fábio Machado Marinho; Anderson Nogueira Barbosa; Cristiane Pereira Borges Saito; Fabiana de Souza Cannavan; Tsai Siu Mui; Daniel Saito;	36
Co-ocorrência de grupos e textura do solo na estruturação da comunidade de Archaea na Amazônia	37
Miriam Gonçalves de Chaves; Luis Fernando Merloti; Leandro Fonseca de Souza; Fátima Maria de Souza Moreira; Siu Mui Tsai; Acacio Aparecido Navarrete;	37
Montagem e Anotação do Genoma de <i>Pleurotus ostreatoroseus</i>	38

Suelen Dias da Silva; Eliane Carvalho dos Santos; Maria Francisca Simas Teixeira; José Odair Pereira; Adolfo José da Mota;	38
Técnicas avançadas em microbiologia para avaliação das emissões de N₂O em solos agrícolas na Amazônia	39
Beatriz Maria Ferrari Borges; Clovis Daniel Borges; Henrique Debiasi; Júlio Cesar Franchini dos Santos; Tsai Siu Mui;	39
Produção de pectina liase por <i>Aspergillus brasiliensis</i> utilizando das cascas de cupuaçu (<i>Theobroma grandiflorum</i>) como substrato	40
Lucas de Souza Falcão; Patrícia Melchionna Albuquerque;	40
O papel do gene <i>SLC6A4</i> no transtorno de personalidade borderline	41
Vanessa Bianca de Lima Lobato; Adolfo José da Mota; Karolaine Oliveira Bentes; Jhemerson Fernandes Paes;	41
A complexidade ecológica do ciclo do metano em solos Amazônicos sob conversão floresta-pastagem e floresta-terra preta	42
Fernanda Mancini Nakamura; Andressa Monteiro Venturini; Jorge Luiz Mazza Rodrigues; Brendan James Marc Bohannan; Siu Mui Tsai;	42
Isolamento e caracterização de bacteriófagos líticos contra <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Ágatha Tavares Pinheiro; Cristiane Pereira Borges Saito; Hugo Valério Corrêa de Oliveira;	43
Receptores da Serotonina e o Transtorno de Personalidade Borderline	44
Karolaine Oliveira Bentes; Adolfo José da Mota; Jhemerson Fernandes Paes; Vanessa Bianca de Lima Lobato;	44
Avaliação da viabilidade e atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de guaraná (<i>Paullinia cupana</i>) em linhagens celulares	45
Patrícia Rayná Simas de Souza; Kalil Araújo da Silva; Jerusa Araújo Quintão Arantes Faria;	45
Epidemiologia molecular e genotipagem das regiões env e pol de indivíduos hiv-1 positivos de manaus em uso de terapia antirretroviral combinada e em falha virológica	46
Yury Oliveira Chaves; Flávio Ribeiro Pereira; Diego Rafael Lima Batista; Rebeca de Souza Pinheiro; Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda; Paulo Afonso Nogueira; Monick Lindenmeyer Guimarães;	46
Reação de síntese enzimática catalisada por lipase recombinante produzida na hospedeira <i>Pichia pastoris</i>	47
Edson Junior do Carmo; Isabela Cavalcante Rodrigues; Ivaldo Itabaiana Junior; Spartaco Astolfi Filho;	47
Bioprospecção enzimática de fungos filamentosos saprófitos isolados do sedimento do rio juruá	48
Caio César Barbosa Campos; Diego Pereira Guimarães; Sergio Díaz Gallo; Gilvan Ferreira da Silva;	48
Atividade metabólica dos fungos presentes nos sedimentos de quatro rios do Amazonas	49
Sergio Alberto Diaz Gallo; Elida Mayrla Almeida Nascimento; Icaro Lima; Gilvan Ferreira da Silva;	49
Área 2 - Ciências da Saúde	50
Fatores de risco do diabetes mellitus tipo 2 em pacientes do laboratório distrital leste de manaus, am.	50
Larissa Nascimento Torres; Daniel Vitor Santos Soares; Ana Beatriz Oliveira Barreto de Souza; Jéssica da Cruz Chagas; Ângela Cristina Cardoso de Sales; Edirany dos Santos Silva; Jander Torres da Silva; Rosilene Gomes da Silva Ferreira;	50
Ocorrência de obesidade em pacientes do laboratório distrital leste da cidade de Manaus, Amazonas	51
Daniel Vitor Santos Soares; Larissa Nascimento Torres; Ana Beatriz Oliveira Barreto de Souza; Jéssica da Cruz Chagas; Ângela Cristina Cardoso de Sales; Edirany dos Santos Silva; Jander Torres da Silva; Rosilene Gomes da Silva Ferreira;	51
Associação entre polimorfismos em genes de interleucinas no diabetes mellitus e periodontite: achados de uma revisão sistemática	52
Alessandro Luiz Araújo Bentes Leal; Felipe Rodolfo Pereira da Silva; Mariana Brasil de Andrade Figueira; Nayana Yared Batista; Reyce Santos Koga; Zinalton Gomes de Andrade; Silvania Conceição Furtado; José Fernando Marques Barcelos;	52

Análise da incidência de sífilis em gestantes no laboratório distrital leste, Manaus (AM)	53
Jéssica da Cruz Chagas; Aldiane Passos de Oliveira; Ângela Cristina Cardoso de Sales; Edirany dos Santos Silva; Jander Torres da Silva; Rosilene Gomes da Silva Ferreira;	53
Deteção e caracterização molecular do Zika vírus na cidade de Manaus, Amazonas	54
Isa Cristina Ribeiro Piauilino; João Bosco de Lima Gimaque; Luiz Henrique Maciel; Francielen de Azevedo Furtado; Yanka Karolinna Batista Rodrigues; Aline Cristiane Côrte de Alencar; Camila Bôtto de Menezes; Márcia da Costa Castilho;	54
Avaliação da atividade antiplasmodial de extratos de fungos aquáticos da Amazônia	55
Gabriel de Oliveira Rezende; Marta Rodrigues de Oliveira; Ivanildes dos Santos Bastos; Yury Oliveira Chaves; Patrícia Puccinelli Orlandi Nogueira; Afonso Duarte Leão de Souza; Antônia Queiroz Lima de Souza;	55
Investigação dos SNPs <i>rs2943640</i> e <i>rs2943641</i> no gene <i>IRS1</i> em pessoas com Diabetes mellitus tipo 2 no Amazonas.	56
Marjory Ximenes Rabelo; Lucivana Prata de Souza Mourão; Spartaco Astolfi Filho; Adolfo José da Mota;	56
Sangue como Amostra Clínica na Identificação do DNA do <i>Mycobacterium leprae</i> por meio da qPCR de Pacientes Diagnosticados com Hanseníase Atendidos na Fundação Alfredo da Matta	57
Michelle Carvalho do Espírito Santo; André Luiz Leturiondo; Cynthia de Oliveira Ferreira; Camila Gurgel dos Santos da Silva;	57
Potencial antibiofilme da N-acetilcisteína sobre o biofilme oral.	58
Thiago Moreira da Silva; Daniel Saito; Gemilson Soares Pontes; Cristiane Pereira Borges Saito;	58
Área 3 - Ciências Agrárias	59
Microdeterminação de fósforo em bioensaio para avaliar a capacidade de fixação de fosfato inorgânico por bactérias.	59
Augusto Bucker; Bruna Frazão; Josiane Celerino; Kevyn Melo; Sheyla Queiroz; Yasmin Verçosa Kramer; Larissa Kirsch;	59
Avaliação da qualidade de piracuí comercializado em feiras livres da Zona Leste de Manaus	60
Sâmia Karyne Gomes de Sá; Andria da Costa Loureiro; Denilson Magalhães Nogueira; Sara de Souza Comapa; Thalita Caroline Lima Alves; Lourdes Mylla Rocha Perdigão; Antônia Queiroz Lima de Souza;	60
Composição e potencial funcional de arqueias em resposta a mudança de uso solo na Amazônia oriental.	61
Luis Fernando Merloti; Sigleia Sanna de Freitas Chaves; Plínio Barbosa de Camargo; Tsai Siu Mui;	61
Identificação de <i>Streptomyces</i> produtoras de compostos antifúngicos para controle de fitopatógenos	62
Ingride Jarline Santos da Silva; Joyce Belentani de Souza Maciel; Kelvin Lee Taveira de Araujo; Josenilda Carlos dos Santos; Gilvan Ferreira da Silva;	62
Potencial de solubilização de fosfato por fungos filamentosos isolados do rio Juruá	63
Diego Pereira Guimarães; Sergio Díaz Gallo; Caio César Barbosa Campos; Gilvan Ferreira da Silva;	63
Área 4 - Ciências Exatas e da Terra	64
Estudo do potencial biotecnológico da polpa de tucumã (<i>Astrocaryum aculeatum</i>) in natura coletado em uma comunidade no município de Rio Preto Da Eva, Amazonas, Brasil.	64
Sthéfanny Caroline Mendes Azevedo; Luana Maquiné Vieira; Remigio Cenepo Escobar Rodrigues; Geverson Façanha da Silva; Sergio Duvoisin Junior; Patrícia Melchionna Albuquerque;	64



ATIVIDADE DE INIBIDORES PROTEOLITICOS EM SEMENTES DE *INGA MILL.* E SEU POTENCIAL ANTIBACTERIANO

Katharine Duarte Gonçalves^{1,2}; Joelma Keith Rodrigues¹; Rafaela Oliveira da Silva¹; Diego Pereira de Souza¹; Paula Hariana da Silva Dantas²; Josiane Celerino de Carvalho¹; Andreia Varmes Fernandes¹; José Francisco de Carvalho Gonçalves¹. ¹INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZONIA; ²UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS. Email: kdg.bio17@uea.edu.br.

A família Fabaceae é a terceira maior família entre as angiospermas, possui ampla distribuição no Brasil, apresentando cerca de 2.800 espécies. Destas, aproximadamente, 1500 são endêmicas dos diferentes biomas brasileiros. As espécies de Fabaceae, em sua maioria, são arbóreas com reconhecido valor madeireiro. Contudo, ainda existe muito a ser feito em termos de ampliar a importância econômica destas espécies, como por exemplo explorar as potencialidades não madeiráveis. Estudos têm demonstrado que sementes de Fabaceae são importantes fontes de proteínas vegetais; em particular, de proteínas relacionadas à defesa de plantas, das quais destaca-se a classe proteica dos inibidores de proteases. Inibidores proteolíticos são proteínas capazes de bloquear reversível ou irreversivelmente a atividade catalítica de enzimas proteolíticas. Portanto, estudos sobre a caracterização e aplicabilidade de inibidores de proteases, oriundos de sementes de leguminosas, reforçam as perspectivas de obtenção de conhecimentos científicos voltados para prospecção biotecnológica em espécies da flora amazônica. O objetivo deste trabalho foi investigar a atividade antibacteriana de inibidores, em sementes de *I. edulis* e *I. peizifera*. As sementes foram coletadas a partir de matrizes georeferenciadas às margens da Rodovia BR-174, Manaus. No Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal - INPA foi realizado o beneficiamento das sementes, seguida de extração, diálise e liofilização. Com o extrato protéico foi realizada a quantificação das proteínas pelo método de Bradford, utilizando BSA como curva padrão. Para a purificação parcial das proteínas realizou-se a cromatografia de afinidade, em coluna contendo Tripsina-Sepharose 4B. Os inibidores de tripsina estão presentes nos extratos protéicos provenientes de sementes de *I. edulis* e *I. peizifera*, esses inibidores são moléculas termolábeis, com especificidade para a tripsina, apresentam massas moleculares de 17 a 22 kDa, sugerindo-se que pertençam a família Kunitz. A fim de testar o efeito antibacteriano dos extratos, foram utilizadas as bactérias patogênicas *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella entérica*, obtidas da micoteca mantida pelo Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal. Realizou-se a suspensão de células contendo 10⁵ UFC/mL, posteriormente foi adicionado em placas de ELISA, 100 µL da suspensão de células e 100 µL de inibidores, em concentrações de 1, 0,50 e 0,25 mg/mL. Como controles negativos e positivos, foram utilizados tween 1%, e ciprofloxacino 0,4% (v/v), respectivamente. O monitoramento da inibição foi realizado por meio das leituras de absorbância a 600 nm, em intervalos de 12 horas, até completar 48 horas, em leitora de microplacas. Observou-se um potencial de inibição no extrato de *I. peizifera* sobre as bactérias *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*. A partir dos resultados obtidos, pode-se afirmar que sementes de espécies de *Inga* revelaram-se promissoras como fonte de substâncias capazes de inibir o crescimento bacteriano e com aplicação biotecnológica.

Palavras-chave: Fabaceae; sementes; inibidores proteolíticos

Apoio: Fundação de amparo a pesquisas da Amazônia - FAPEAM Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA



ANÁLISE DO METAGENOMA ORAL: EVIDÊNCIA DE FILOTIPOS POTENCIALMENTE ASSOCIADOS À SAÚDE E DOENÇA

Anderson Nogueira Barbosa¹; Rodrigo Ferreira de Oliveira^{1,2}; Cristiane Pereira Borges Saito¹; Tsai Siu Mui²; Daniel Saito¹.
¹Universidade do Estado do Amazonas; ²Universidade de São Paulo. Email: anderson.nb6@gmail.com.

A periodontite é uma doença infecciosa que afeta os tecidos que envolvem e suportam os dentes. Embora algumas bactérias tenham sido associadas ao desenvolvimento dessa doença, pesquisas baseadas em técnicas moleculares podem trazer informações importantes, uma vez que uma parcela significativa da microbiota oral não pode ser detectada pelo cultivo em laboratório. Este estudo prospectivo de caso-controle objetiva avaliar a filiação taxonômica e os processos funcionais envolvidos na periodontite, com base na análise metagenômica de portadores de periodontite e indivíduos saudáveis. Amostras de saliva não-estimulada foram coletadas de indivíduos saudáveis (grupo controle, n = 13) e com periodontite (grupo doente, n = 14) atendidos na Policlínica Odontológica da UEA. O DNA total foi extraído das amostras, quantificado e submetido ao sequenciamento de última geração na plataforma Illumina HiSeq2500. As sequências nucleotídicas foram submetidas ao emparelhamento (programa PEAR v. 0.9.6), previsão taxonômica (programa Metaphlan 2.0), aferição dos índices de diversidade alfa e beta (programa PAST3), montagem e anotação nos bancos de dados funcionais KEGG e CAZy (servidor MG-RAST). A diferença na frequência dos táxons e categorias funcionais entre os grupos foi avaliada pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0,05$) – programa STAMP. A Análise de Discriminantes Lineares (LDA) foi utilizada para estimar o tamanho do efeito de cada grupo com base nas diferenças de frequências (plataforma Galaxy/Hutlab). Um total de 104.004.730 sequências foi submetido à anotação taxonômica, à partir da qual 3.267.049 (3,23%) foram anotadas. A análise comparativa entre os grupos evidenciou a existência de variações na abundância ou presença/ausência de táxons que podem estar associadas à doença periodontal. A constatação de frequências aumentadas em representantes dos filos *Bacteroidetes*, *Fusobacteria*, *Candidatus Saccharibacteria*, *Spirochaetes* e *Synergistes* no grupo doente sugere um potencial papel patogênico. Ademais, os resultados indicam que os gêneros *Eubacterium*, *Leptotrichia*, *Corynebacterium*, *Treponema*, *Parvimonas*, *Fusobacterium*, *Filifactor*, *Capnocytophaga*, *Tannerella*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Selenomonas*, *Campylobacte*, *Dialister*, *Catonella*, *Anaeroglobus*, *Desulfobulbus* e *Fretibacterium* constituem um grupo com alto potencial periodontopatogênico. A análise funcional mostrou que a categoria “Metabolismo” (KEGG) foi predominante na cavidade oral, enquanto “Processamento de informação genética” foi positivamente relacionada à doença periodontal. Outras categorias que demonstraram maior frequência no grupo doente ($p < 0,05$) foram “Biossíntese de aminoácil-RNAt”, “Metabolismo do piruvato” e “Vias de fixação de carbono em procariontes”. Além disso, a análise funcional revelou 11 potenciais genes bioindicadores da doença periodontal, sendo eles: *rpoC*, *rpoB*, *carB*, *secA*, *uvrA*, *pfID*, *thrS*, *pheT*, *ntpA*, *cobQ* e *aspS*. Conclui-se que a cavidade oral apresenta uma comunidade microbiana diversificada, característica e com alta variabilidade interindividual. Contudo, existem grupos de bactérias associadas as condições de saúde e/ou doença. Essa característica de agrupamento ainda pode ser observada em genes parecem ser mais frequentes durante o estado de doença periodontal.

Palavras-chave: Periodontite; Metagenoma; Microbiota

Apoio: Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo financiamento, e a Universidade do Estado do Amazonas (UEA) e o Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP) pelo apoio técnico-científico.



ESTUDO QUÍMICO DA ESPÉCIE MEDICINAL *TRIPOGANDRA GLANDULOSA* CULTIVADA EM CONDIÇÕES DE VIVEIRO.

Gelson Santos de Oliveira¹; Deolinda Luciane Ferreira Garcia². ¹Centro de Estudos Superiores de Itacoatiara/CESIT; ²Centro de Estudos Superiores de Itacoatiara/CESIT. Email: gelsonsantos918@gmail.com.

Os poucos trabalhos desenvolvidos com a espécie *Tripogandra glandulosa* conhecida vulgarmente como tapacu, relatam ainda que, de forma empírica, a utilização da mesma no tratamento de enfermidades. É notório que na última década houve um aumento na procura de plantas medicinais, mas há ainda hoje uma grande lacuna da falta de informações sobre essas plantas. O presente trabalho teve como objetivo analisar a composição química da espécie *Tripogandra glandulosa*, para elucidar a literatura sobre os compostos químicos do espécime. Utilizou-se 10 indivíduos da espécie *Tripogandra glandulosa*, cultivadas no viveiro do Centro de Estudos Superiores de Itacoatiara-CESIT, porém foram analisadas na Universidade Federal do Amazonas-UFAM/ MAO. As análises químicas das folhas da *Tripogandra glandulosa*, foram feitas em um espectrômetro de massa full scan de varredura, que resultaram em dois espectros. Onde o primeiro espectro com íons positivos apresentaram um total de 15 compostos com massa/carga variando de 118 a 362. Já o espectro com íons negativos apresentaram um total de 14 compostos com massa/carga variando de 122 a 535. Portanto o extrato da espécie *Tripogandra glandulosa*, tem 29 compostos químicos fenólicos. Após uma busca pormenorizada na literatura com a finalidade de identificar esses compostos, foi possível identificar apenas dois deles. Sendo eles, Naltrexona com 169 m/z e Glicerona com 121 m/z. O Cloridrato de Naltrexona (substância ativa) é indicado também como antagonista no tratamento da dependência de opioides administrados exogenamente. É indicado para proporcionar efeito terapêutico benéfico no programa direcionado a dependentes, atua como antioxidante. Já a glicerina possui propriedades emolientes, lubrificantes, umectantes. A literatura ainda é muita escassa a respeito de informações do espécime e dessa forma acredita-se que, análises mais detalhadas como fragmentação de íons, devem ser realizadas, para que todos esses compostos sejam esclarecidos, deixando a disposição da ciência, informações de relativa importância a respeito da espécie, contribuindo de modo significativo com a química de princípio ativo, que está estreitamente ligado com os interesses da medicina tradicional.

Palavras-chave: Análises Fitoquímicas; Plantas medicinais; Espectrometria de massa

Apoio: PIBIC-Af-CNPq



3º Lugar

IDENTIFICAÇÃO DAS ATPASES DO TIPO P NA PREPARAÇÃO DE ESFEROPLASTOS DE *SALMONELLA ENTERITIDIS*

Ingrid Silva Correia¹; Weison Lima da Silva²; Cecília Verônica Nunez³; Elias Cristiano Candido da Silva⁴. ¹Universidade Federal do Amazonas; ²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; ³Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; ⁴Universidade

As ATPases do tipo P são enzimas que utilizam a energia da hidrólise de uma molécula de ATP para realizar o transporte de metais essenciais para a atividade celular, tais como: sódio, potássio, cálcio, cobre, cobalto e etc, e como característica principal elas apresentam um resíduo de aspartato que é fosforilado e são inibidas irreversivelmente por vanadato. A *Salmonella enteritidis* é uma bactéria de grande interesse científico por ser uma das principais responsáveis por infecções gastrointestinais em humanos e por ser um patógeno transmitido através de diversos alimentos. Portanto, a identificação de ATPases do tipo P nos esferoplastos da bactéria *S. enteritidis* poderá fornecer futuras informações a respeito da importância dos metais que são essenciais para o metabolismo deste microrganismo. As bactérias foram crescidas em meio de cultura Mueller Hinton por 48 horas e em seguida foram submetidas a sonicação, lise enzimática e osmótica, e posteriormente centrifugadas a 12.000g por 5 minutos e 35.000g por 15 minutos para o isolamento dos esferoplastos. A dosagem de atividade das ATPases do tipo P presentes nos esferoplastos foram ensaiadas em um meio de reação específico para cada uma delas na presença do íon de interesse, e presença ou ausência do vanadato, bafilomicina ou ouabaína. O Pi inorgânico foi dosado por Fiske Subarow modificado (Geno Membranes – ATPase Assay Protocol, versão 7.0). As análises estatísticas foram determinadas pelo método ANOVA de uma via para a comparação entre os tratamentos experimentais, seguido por um teste pos hoc de Tukey para comparações múltiplas, os dados representam a média de 5 a 6 experimentos realizados em triplicatas. Foi observado que a adição de cálcio aumentou a hidrólise de ATP (Controle: $728,3 \pm 43,5$; Ca^{+2} : $1053,6 \pm 31,23$; $p \leq 0,05$) e a adição de calmodulina estimulou em 7x a atividade. A adição dos metais Cu^+ , Zn^{+2} , Mn^{+2} , Co^{+2} , Fe^{+3} , resultou num percentual de estímulo na hidrólise de ATP, respectivamente de: $25,04 \pm 8,6$; $45,3 \pm 11,11$; $60,6 \pm 4$; $63,4 \pm 8,6$; $59,9 \pm 4,9$. A hidrólise de ATP foi estimulada ainda na presença de 100mM de NaCl e 20 mM de KCl (Controle: $1599,6 \pm 233,47$; Na^+ e K^+ : $2222,17 \pm 224,07$; $p \leq 0,05$). Nossos resultados indicam a presença de uma Ca^{+2} -ATPase, Na^+,K^+ -ATPase, Cu^+ -ATPase e/ou M^+ -ATPase do tipo P na preparação de esferoplastos de *S. enteritidis*, demonstrando a importância dos estudos das ATPases para um maior entendimento sobre os processos bioquímicos relacionados a este agente infeccioso e ao mesmo tempo uma nova possibilidade de estabelecer essas enzimas como futuro alvo farmacológico de novas substâncias com ação seletiva nesta bactéria.

Palavras-chave: ATPases; Cu^+ -ATPase; *Salmonella enteritidis*

Apoio: Universidade Federal do Amazonas Centro de Apoio Multidisciplinar - CAM/UFAM



ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE METABÓLITOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES AMAZÔNICAS

Raiana Silveira Gurgel¹; Juliana Gisele Rodrigues Correa¹; Patrícia Melchionna Albuquerque¹. ¹Universidade do Estado do Amazonas (UEA) - Escola Superior de Tecnologia (EST), Laboratório de Química Aplicada à Tecnologia. Email: raianagurgel@hotmail.com.

A resistência microbiana não ocorre apenas com bactérias. Os fungos também vêm desenvolvendo mecanismos de resistência e se tornando cada vez mais difíceis de serem combatidos com os medicamentos atualmente disponíveis no mercado. Nesse contexto, as infecções fúngicas produzidas por leveduras do gênero *Candida* se apresentam como uma das mais importantes causas de morbidade e mortalidade em pacientes hospitalizados, representando quase 90% de todos os processos fúngicos nosocomiais. Antifúngicos como fluconazol, anfotericina B e caspofungina, são os principais medicamentos utilizados na terapia a fungos resistentes, principalmente do gênero *Candida*, mas é notória a necessidade da busca por novas fontes de compostos antifúngicos, visto que a resistência só se alastra. Mediante isso, a utilização de micro-organismos endofíticos como fonte de compostos bioativos tem sido cada vez mais explorada e a região Amazônica, por ser dotada de uma vasta biodiversidade, merece atenção nesse ramo de pesquisas científicas. Dessa forma, o objetivo desse trabalho consiste em avaliar a atividade antifúngica de metabólitos de fungos endofíticos isolados de espécies amazônicas. Os fungos endofíticos fazem parte da coleção de trabalho do Grupo de Pesquisa Química Aplicada à Tecnologia da EST/UEA. Foram reativados 120 fungos em ágar batata dextrose e cultivados em meio líquido para obtenção dos metabólitos. Após o cultivo, os meios foram filtrados e os caldos metabólitos testados frente às cepas de *Candida albicans* (ATCC 12031), *C. tropicalis* (CC002) e *C. parapsilosis* (CC004). A técnica utilizada foi a diluição em microplaca e redução do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazóico (TTC). O ensaio foi realizado utilizando microplaca estéril de 96 poços onde foram pipetados 100 µL do inóculo na concentração de $1,5 \times 10^4$ UFC/mL, em triplicata, e 100 µL do caldo metabólico. Como controle positivo foi utilizado Itraconazol (20 mg/mL) e como controle negativo e de esterilidade do teste, apenas o caldo batata-dextrose (usado no preparo da suspensão dos fungos). Posteriormente as placas foram incubadas a 37°C por 24 h. Após esse período, foram inseridos 20 µL de TTC nos poços e as placas foram incubadas novamente a 37°C por aproximadamente 2 h para a verificação da redução do revelador. Os poços em que a amostra apresentou atividade antifúngica permaneceram incolores, enquanto os poços nos quais houve crescimento microbiano coraram de vermelho. Após os testes, 16 caldos metabólicos apresentaram atividade frente à *C. albicans*, 18 frente à *C. tropicalis* e 23 frente à *C. parapsilosis*. Treze fungos produziram compostos que apresentaram atividade frente às três espécies da levedura avaliadas. Os experimentos realizados constataram que os fungos endofíticos apresentam-se como uma fonte promissora para a obtenção de novos compostos com atividade antifúngica, onde estudos mais aprofundados serão realizados a fim de conhecer quais compostos são responsáveis pela atividade.

Palavras-chave: Atividade biológica; Metabólitos secundários; Endófitos

Apoio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM)



PRODUÇÃO DE CELULASES POR *STREPTOMYCES CAPOAMUS* UTILIZANDO RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS AMAZÔNICOS

Thais Santiago do Amaral¹; Lucas de Souza Falcão¹; Victória Carolina Siqueira Mena Barreto¹; Sergio Duvoisin Junior¹; Patrícia Melchionna Albuquerque¹; Rafael Lopes e Oliveira¹. ¹Universidade do Estado do Amazonas. Email: thais_amaral13@hotmail.com.

Enzimas podem ser obtidas de diversas fontes, como as microbianas, sendo aplicadas em diversas indústrias. Dentre elas, têm-se as celulases, que compreendem um grupo de enzimas hidrolíticas e estão relacionadas à degradação e reciclagem da biomassa. Entretanto, o alto custo da produção de uma enzima é um dos problemas enfrentados pelas indústrias que as utilizam. Uma das maneiras de baratear o processo de produção é a procura de fontes alternativas e acessíveis, como o uso de resíduos agroindustriais como substratos, fornecendo os nutrientes necessários para o crescimento dos microrganismos produtores desta molécula, como as actinobactérias, podendo citar o gênero *Streptomyces*, que se destaca como sendo produtor de celulases. Desse modo, o objetivo do trabalho foi utilizar resíduos amazônicos de *Astrocaryum aculeatum* (Tucumã), *Bertholletia excelsa* (Castanha-do-brasil) e *Euterpe precatoria* (Açaí) como fontes de carbono para a produção de celulases e posteriormente determinar o melhor resíduo. Os resíduos foram obtidos em mercados da cidade de Manaus/AM, posteriormente foram secos em estufa e triturados em moinho de facas. Foi feito o pré-inóculo de uma cultura da actinobactéria *Streptomyces capoamus*, e em seguida, a solução foi cultivada em Erlenmeyers contendo meio líquido ISP2 modificado, onde as fontes de carbono do meio foram substituídas por 5g (10%) de resíduos agroindustriais escolhidos (casca de açaí, castanha-do-brasil e tucumã) e cultivados sob agitação em shaker e retiradas 1 alíquota (~2,0 mL) por dia para análises de quantificação da atividade enzimática pelo método Ghose (1987) com modificação e posteriormente a análise da escolha do melhor fonte de carbono. Após os sete dias de cultivo e as análises, obtivemos como resultado que o resíduo de Castanha-do-brasil começou a produzir no segundo dia de cultivo e alcançou sua maior produção no quinto dia, produzindo 1,73 U/mL. Seguindo do resíduo de Tucumã, que obteve sua maior produção no sexto dia de cultivo, alcançando 0,85 U/mL, porém produziu apenas nesse dia. E o resíduo de Açaí começou a produzir a partir do segundo dia, alcançando sua maior atividade também no sexto dia de cultivo, com 0,78 U/mL. Dessa forma, os resultados podem ser comparados com os de Oliveira e colaboradores (2016), que também utilizaram resíduos agroindustriais como substrato alternativo para produção de celulases por *Streptomyces capoamus*, sendo esses resíduos de espiga de milho e de maracujá, além de carboximetilcelulose, e apresentando sua maior atividade também no segundo dia de cultivo, atingindo 0,139 U/mL. Portanto, o resíduo de Castanha-do-brasil foi o substrato selecionado tendo melhor produção enzimática em um período menor de tempo, e numa fase posterior, visa-se otimizar a produção, além da purificação do extrato enzimático, de modo que possa aumentar a atividade da enzima.

Palavras-chave: Fermentação; Actinobactéria; Enzimas

Apoio: Universidade do Estado do Amazonas - UEA; FAPEAM



CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIBLIOTECA GENÔMICA ENRIQUECIDA COM REGIÕES DE DNA MICROSSATÉLITES DE *DUROIA MACROPHYLLA* HUBER (RUBIACEAE)

Juliana Nascimento da Silva¹; Cecilia Veronica Nunez¹; Jacqueline da Silva Batista¹. ¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Email: julianasnsilva@gmail.com.

Duroia macrophylla é uma árvore terrícola, conhecida popularmente como cabeça-de-urubu, apuruí ou puruí-grande-da-mata. Foram isoladas substâncias dessa planta que apresentaram ação tóxica contra *Artemia salina*, atividade antitumoral e atividade antituberculose. A partir das propriedades biológicas que estas substâncias apresentaram e em razão de não ter estudos genéticos até o momento sobre essa espécie, torna-se importante o conhecimento sobre regiões específicas do DNA (microssatélites) que poderão contribuir para futuros estudos sobre genética populacional, que atuam como subsídios para ações de conservação e manejo. Os microssatélites são regiões encontradas ao longo do DNA que consistem de pequenas sequências contendo um a seis nucleotídeos, repetidos em *tandem*, polimórficas e abundantes. Estes marcadores podem ser classificados quanto ao motivo de repetição e quanto ao número de nucleotídeos encontrados em cada repetição. Com isso, o objetivo deste trabalho foi construir e caracterizar uma biblioteca genômica, enriquecida com regiões de DNA microssatélites, para *D. macrophylla* e desenhar *primers* que flanqueiam as regiões com microssatélites. A extração de DNA genômico foi realizada de acordo com a metodologia proposta por de Doyle e Doyle com modificações. A biblioteca foi construída de acordo com a metodologia enriquecida, usando como enzima de restrição RSA I, RSA21 e RSA25 como adaptadores e as sondas CT₈ e GT₈ para seleção de regiões repetitivas. A extração do DNA plasmidial foi realizada pelo método miniprep, seguida do sequenciamento nucleotídico no ABI 3130 xl. As sequências nucleotídicas foram analisadas com o auxílio do programa CHROMAS 2.6. e para verificação da presença de microssatélites e desenho de *primers*, o programa WEBSAT. A biblioteca genômica de *D. macrophylla* foi construída a partir de 192 clones recombinantes, destes, 104 apresentaram sequência de DNA de boa qualidade, dos quais 13 clones apresentaram um total de 13 microssatélites. Quanto ao motivo de repetição, os microssatélites foram caracterizados como: dinucleotídeos (30,77%), trinucleotídeos (38,46%), tetranucleotídeos (15,39%), pentanucleotídeos (7,69%) e hexanucleotídeos (7,69%). Quanto à natureza de repetição, todos os microssatélites foram caracterizados como perfeitos. Foi possível desenhar *primers* para 11 locos microssatélites, os quais flanqueiam regiões com tamanho entre 150 e 350 pb. A maioria dos locos isolados é do tipo trinucleotídeo (45,46%), seguida de dinucleotídeo (18,18%), tetranucleotídeo (18,18%), pentanucleotídeo (9,09%) e hexanucleotídeo (9,09%). Portanto, foram isolados 11 locos microssatélites, representando 12,5% do total de clones que apresentaram sequências de boa qualidade, sendo que o motivo de repetição mais comum foi do tipo trinucleotídeo.

Palavras-chave: Molecular; SSR; Apuruí

Apoio: INPA e CNPq



PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTES POR *TALAROMYCES SP.* ISOLADO DE *MYRCIA GUIANENSIS*

Juliana Gisele Corrêa Rodrigues^{1,2}; Anne Borges de Bastos¹; Patrícia Melchionna Albuquerque^{1,2}. ¹Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Tecnologia, Laboratório de Química Aplicada à Tecnologia; ²Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia. Email: juliana.gcr@gmail.com.

Os biossurfactantes são agentes tensoativos com capacidade de detergência, emulsificação e dispersão de fases, que podem ser aplicados em processo de biorremediação (tecnologia que utiliza agentes biológicos capazes de modificar ou decompor poluentes, tornando possível o tratamento de locais contaminados). Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, os surfactantes tendem a se distribuir nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade, aumentando a interação superficial água/óleo, resultando em uma aceleração na degradação de diferentes óleos. Entretanto, a obtenção destas moléculas ainda possui um custo elevado. Dessa forma, buscaram-se fontes alternativas desses compostos que possam ser utilizadas a fim de minimizar o custo e otimizar esse processo. Nesse contexto, a utilização de novos microrganismos produtores de biossurfactantes se torna cada vez mais importante nas pesquisas científicas. Sabendo-se da grande variedade de microrganismos existentes na região amazônica e sua alta potencialidade de sintetizar moléculas tensoativas, esse trabalho teve como objetivo produzir biossurfactantes a partir do fungo endofítico *Talaromyces sp.* MgC 3.3.1. O fungo endofítico foi isolado da folha da espécie amazônica *Myrcia guianensis* (vassourinha) e se encontra depositado na coleção de trabalho do grupo de pesquisa Química Aplicada à Tecnologia (QAT) da Universidade do Estado do Amazonas (UEA). O fungo foi cultivado em meio líquido contendo Na_2SO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , extrato de levedura e óleo de soja (0,5 g/L). 1000 μL de uma suspensão de esporos (10^8 esporos/mL) foram inoculados no meio líquido, o qual foi incubado à 28°C e 170 rpm por 14 dias. Alíquotas foram retiradas diariamente para a determinação da produção de biossurfactantes, que foi avaliada por meio do cálculo do índice de emulsificação, utilizando querosene, e da medida de tensão superficial, utilizando um tensiômetro. O meio de cultivo do fungo *Talaromyces sp.* MgC 3.3.1 apresentou índice de emulsificação máximo de 45,3% no 9º dia. A maior redução da tensão superficial foi obtida no 3º dia, que passou de 58 mN/m para 39,76 mN/m, o equivalente a 31,2% de redução. Segundo Haba et al. (2000), os microrganismos ditos bons produtores de biossurfactantes são capazes de reduzir a tensão superficial a 40 mN/m ou menos, resultado esse encontrado a partir do metabólito do fungo endofítico de *M. guianensis*, indicando, portanto, o potencial desse isolado como bom produtor de moléculas tensoativas. Com este estudo foi possível verificar que o fungo *Talaromyces sp.* MgC 3.3.1 isolado da folha de *M. guianensis*, apresenta potencial para produção de biossurfactantes e deverá ser utilizado posteriormente para um cultivo em maior escala, a fim de se extrair a molécula tensoativa do meio de cultivo e caracterizá-la quimicamente.

Palavras-chave: Biorremediação; Tensoativos; Tensão superficial

Apoio: CAPES, CNPq e FAPEAM



ESTADO DA ARTE DOS MARCADORES MOLECULARES PARA OS TRANSTORNOS DE PERSONALIDADE

Jhemerson Fernandes Paes¹; Adolfo José da Mota²; Karolaine Oliveira Bentes¹; Vanessa Bianca de Lima Lobato². ¹Centro Universitário do Norte - UNINORTE; ²Universidade Federal do Amazonas - UFAM. Email: jhemersonpaes@gmail.com.

Os transtornos de personalidade (TP) são padrões persistentes de experiência interna e comportamento que se desviam acentuadamente das expectativas da cultura do indivíduo; difuso e inflexível, começa na adolescência ou início da fase adulta, apresentando como sintomas predominantes as oscilações de humor e descontrole das emoções. Estudos genéticos tentam explicar a associação entre falhas no metabolismo da serotonina e os TP, devido à ação fisiológica desse neurotransmissor. A serotonina é responsável principalmente pela modulação do humor, sendo produzida a partir do triptofano em dois passos metabólicos: o primeiro é catalisado pela triptoriptofano hidroxilase (TPH1 e TPH2) (EC 1.14.16.4) e o segundo pela dopa descarboxilase (DDC) (EC 4.1.1.28). O objetivo do presente trabalho foi minerar dados da literatura e de bancos de informação genética a respeito de mutações nos genes *TPH1*, *TPH2* e *DDC* correlacionadas com os TP a fim de se determinar possíveis marcadores moleculares que possam ser usados no diagnóstico desse grupo importante de psicopatologias. O estudo foi exploratório e sistemático. A metodologia foi dividida em: levantamento bibliográfico; seleção mediante aplicação dos critérios de exclusão e inclusão; armazenamento e análise. Foram selecionados 65 artigos, e após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, 41 seguiram para a etapa de valoração referente à análise sistemática. Três estudos alcançaram pontuação máxima (30 pontos), e seis, a pontuação mínima (0 pontos). A média foi de 16,66 pontos (SD = ± 9.98). Foram identificados 28 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) em 22 artigos. Apenas 2 estudos citam SNPs localizadas em éxons: o *rs17110563* que causa uma mutação de sentido trocado P206S no éxon 6 da enzima TPH; e o *rs120074175* que causa mutação de sentido trocado R446H no éxon 11 da mesma enzima. Mutações em éxon são candidatas naturais a marcadores moleculares, uma vez que podem acarretar perda ou alteração da função da proteína. Para mapear esses SNPs são descritos nesse trabalho dois novos pares de iniciadores (*rs17110563* F5'TTCAAATACACATGCA CAACATTAG/R5'CCTTTGGGCCTTAC CATTAC e *rs120074175* F5'CACACAGGAGAGTTC CATATTC/R5'GCCATGACACAGAA GGTTATT). Os trabalhos com marcadores moleculares para TP ainda são incipientes, mas podem contribuir muito com a prática clínica. Nesse trabalho foi possível verificar que 28 SNPs são frequentemente reportados na literatura em associação com os TP, entretanto nenhum deles possui eficácia comprovada no diagnóstico de algum transtorno. Considerando o caráter multifatorial dos TP, é possível que mutações em genes isolados não sejam determinantes, mas aditivas, o que dificulta a determinação de marcadores moleculares, mas não impede o mapeamento de fatores de risco genéticos. Nesse projeto foram propostos dois novos conjuntos de iniciadores que podem contribuir com avaliação da frequência dos alelos *rs17110563* e *rs120074175* em estudos populacionais e assim ajudar no estabelecimento da base genética associada aos TP.

Palavras-chave: serotonina; TPH; DDC

Apoio: Universidade Federal do Amazonas - UFAM, FAPEAM, CNPq, CAPES.



TRANSCRIPTOMA DE COPAIFERA MULTIJUGA: MONTAGEM E ANOTAÇÃO

ELIANE CARVALHO DOS SANTOS^{1,2}; ANA PAULA BASTOS³; EDMAR VAZ DE ANDRADE¹; VALDIR F. VEIGA JUNIOR⁴; SPARTACO ASTOLFI FILHO¹. ¹Centro de Apoio Multidisciplinar - UFAM - Manaus, AM; ²Centro Universitário do Norte-Uninorte, Manaus, AM; ³Faculdade Regional da Bahia- UNIRB - Barreiras, BA; ⁴Instituto Militar de Engenharia (IME). Email: elianekrvalho@hotmail.com.

Copaifera multijuga Hayne é uma espécie de planta de grande porte, popularmente conhecida como copaíba, nativa da América Latina e da África. São amplamente utilizadas na medicina popular amazônica, devido as propriedades medicinais do óleo-resina extraído do tronco de suas árvores. Sendo, portanto, de grande importância para pesquisas com finalidade de identificar nas plantas substâncias com potenciais finalidades médicas e biotecnológicas. Por isto, este trabalho visou pesquisar o transcriptoma de *C. multijuga* Hayne, o qual foi sequenciado utilizando a plataforma 454 Roche, sendo obtido um total de 638.576 reads, montados através da metodologia de novo com auxílio das plataformas MIRA. Sendo gerados, a partir da montagem 62.839 contigs. A anotação do transcriptoma foi realizada utilizando BLASTx (NCBI) e a anotação funcional através do banco Gene Ontology (GO). Os resultados obtidos foram categorizados de acordo com GO, onde os unigenes foram agrupados nas categorias: “Componente Celular” com 6.249 contigs envolvidos nesta categoria, “Função Molecular” com total 17.208 contigs e “Processo Biológico” com 9.499 contigs. Nas três categorias os contigs evidenciados estão envolvidos no metabolismo primário vegetal. Já do metabolismo secundário foram detectados 184 unigenes, sendo organizados em 22 clusters, envolvidos principalmente em respostas ao estresse oxidativo vegetal, compostos terpenos, importantes metabólitos envolvidos na formação do óleo-resina de copaíba, diterpenos (porção resinosa do óleo-resina) e sesquiterpenos (componentes voláteis do óleo) e unigenes relacionados com a pigmentação vegetal tais como: flavonóides, carotenóides e antocianinas. Na análise filogenética foram feitas comparações evolutivas de enzimas de terpenos sintases, componentes de formação do óleo de copaíba, com enzimas do banco de dados NCBI. O unigene de TPS4-2 de *C. multijuga* mostrou-se mais próximo a outras sequências de terpenos TPS4-2 de outras espécies de *Copaifera* disponíveis no banco. Com isto, neste trabalho estudou-se o transcriptoma de *C. multijuga* com a montagem de novo e anotação, o que leva a perspectiva de estudos com os unigenes codificadores de enzimas componentes do óleo-resina evidenciados neste trabalho, visando com isto futuras pesquisas para fins biotecnológicos.

Palavras-chave: óleo-resina; copaíba; Amazônia

Apoio: CAPES, CNPq e FAPEAM.



PERFIL DE VIRULÊNCIA E RESISTÊNCIA À ANTIBIÓTICOS DE AMOSTRAS DE ENTEROCOCCUS SP. ISOLADOS DE AMOSTRAS CLÍNICAS E AMBIENTAIS DA COMUNIDADE DO LAGO DO LIMÃO NO MUNICÍPIO DE IRANDUBA- AM

Vitória Graziela Lopes Dutra^{1,2,3}; Maria Júlia Pessoa Brandão¹; Lima Salvioni da Silva^{1,3}; Luciete Almeida Silva^{1,3}. ¹Instituto Leônidas & Maria Deane, Fundação Oswaldo Cruz, Manaus- AM, Brasil; ²Universidade Paulista, Manaus- AM, Brasil; ³Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas. Email: vigraziela5@gmail.com.

Os enterococos têm sido reconhecidos como uma das principais causas de infecções nosocomiais, infecções pós-operatórias e do trato urinário. Apesar de fazerem parte da flora normal dos seres humanos e de animais, tem surgido cepas com múltiplos fatores de virulência, adquiridas muitas vezes pela alta eficiência no mecanismo de transferência horizontal de genes. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi identificar a presença ou ausência desses genes de virulência e de resistência nas amostras de *Enterococcus spp.* isoladas de amostras de água e de fezes diarreicas da comunidade Lago do Limão/AM. O perfil de virulência e de resistência a antimicrobianos será realizado utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR), identificando a presença ou ausência desses genes pelo gel de eletroforese. Os marcadores de resistência a antimicrobianos em *Enterococcus sp.* foram determinado pela técnica de PCR utilizando oligonucleotídeos iniciadores específicos para os genes VanA, VanB, que conferem resistência à vancomicina. Para detecção de virulência, foram utilizados nove genes: o gene gelE que codifica o fator de virulência da gelatinase; o gene Ace que codifica a produção de um proteína envolvida na aderência da bactéria nas células do hospedeiro; e os genes Agg que está relacionado à ligação específica ao epitélio intestinal, células epiteliais renais, neutrófilos humanos e macrófagos; o gene ASA que codifica uma substância de agregação, o gene Esp que codifica a proteína de superfície de enterococos, feromônio sexual, Cpd e os genes CylA, CylM e CylB também fazem parte do operão da citolilina, o CylM e CylB com relevância do componente lisina (L) e o CylA é necessário para a expressão do componente ativador (A). Nas cepas de *E. faecium* isoladas detectou-se 9 genes dos 11 estudados, sendo os genes Asa (50%), gelE (37%), esp (6,25%), cpd (50%), ace (18,75%), cylB (50%), cylM (12,5%), cylA (31,25%), Agg (44%). No caso das cepas de *E. faecalis* observou-se a presença de 7 genes, incluindo Asa (12,25%), gelE (12,25%), ace (12,5%), cylB (18,75%), cylM (6,25%), cylA (31,25%), Agg (12,25%). Nos isolados de *E. gallinarum* encontrou-se somente o gene gelE (12,5%). Nos *E. durans* foram positivos para gelE (6,25%), cylM (6,25%), cylA (6,25%). Em nenhum dos isolados foram detectados os genes vanA e vanB. De acordo com esses resultados, é possível observar um potencial de virulência, pois foram encontradas cepas com fatores de virulência tanto na água para o consumo, quanto nas fezes diarreicas dos participantes da pesquisa, salientando uma porcentagem superior na espécie *E. faecium*, e menor em *E. gallinarum* apontando possíveis conjugações entre as espécies.

Palavras-chave: Enterococcus; Diversidade genética; Água

Apoio: Instituto Leônidas & Maria Deane, Fundação Oswaldo Cruz, Manaus- AM, Brasil. Universidade Paulista, Manaus- AM, Brasil. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas



ESTUDO GENÉTICO POPULACIONAL DO BAGRE MIGRADOR PIRAMUTABA (*BRACHYPLATYSTOMA VAILLANTII*) COM O USO DE MARCADORES MOLECULARES MICROSSATÉLITES

Ana Caroline Viana da Silva¹; Dra. Jaqueline da Silva Batista²; MSc. Kyara Martins Formiga^{2,3}. ¹Bolsista FAPEAM - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Coordenação de Biodiversidade (COBIO), Laboratório Temático de Biologia Molecular (LTBM), Manaus, AM, Brasil; ²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Coordenação de Biodiversidade (COBIO), Laboratório Temático de Biologia Molecular (LTBM), Manaus, AM, Brasil. Email: ana.line14.ac@gmail.com.

A espécie *Brachyplatystoma vaillantii* (Siluriformes, Pimelodidae), conhecida como piramutaba, é um exemplo de organismo que utiliza a extensão da bacia amazônica para se reproduzir na região do Alto Amazonas (nas cabeceiras dos rios). Devido à intensa exploração da pesca comercial, atualmente a espécie encontra-se em sobrepesca de crescimento, o que significa que os indivíduos pescados têm diminuído de tamanhos a cada ano. Para identificar estoques pesqueiros, os marcadores microssatélites são bastante úteis, pois possuem alto conteúdo informativo e acessibilidade. Foram selecionados para uso nesta pesquisa, sete marcadores microssatélites a fim de se estimar a variabilidade genética da piramutaba em algumas áreas de ocorrência da espécie na amazônia brasileira, buscando, verificar se a espécie compõe um único estoque, geneticamente homogêneo e de ampla distribuição na região amostrada. Foram analisados 94 indivíduos da espécie, coletados em três localidades na calha principal do sistema Estuário/Amazonas/Solimões [Belém-PA (N=23), Manaus-AM (N=25) e Tabatinga-AM (N=17)] e dois em dois tributários [Itaituba (N=9) no rio Tapajós (margem direita do rio Solimões/Amazonas) e Vila Bitencourt-AM (N=20) no rio Japurá (margem esquerda)]. O DNA genômico de cada indivíduo foi extraído, quantificado em gel de agarose 1% e fotodocumentado. Posteriormente essas amostras foram amplificadas para os sete locos microssatélites selecionados, os produtos dessa reação foram genotipados para a determinação de parâmetros de variabilidade genética. Foram obtidos 102 alelos, com média de 14,5 alelos/loco e que variaram entre 124 e 346 pb, foram analisadas tanto a variabilidade entre os locos selecionados, como entre as localidades amostradas. Segundo a heterozigosidade esperada (H_E) encontrada entre as localidades, obtivemos a média de 4,86, heterozigosidade observada (H_O) mediando em 0,62, riqueza alélica (A_R) em 42,14, e índice de endogamia (F_{IS}) entre os locos, de 0,249 (média), e os resultados apresentados com relação ao conteúdo de polimorfismo informativo ($PIC=0,750$) demonstram que a espécie possui altos níveis de variabilidade gênica, também foi verificada uma baixa diferenciação genética entre as localidades baseado no valor de F_{ST} (0,0176) amostrado, a análise de variância molecular (AMOVA) mostrou que há mais diversidade gênica entre indivíduos, independente da localidade, (97,06%), do que entre indivíduos de mesma região (1,17%), este contexto foi confirmado com o programa STRUCTURE 2.3.2, sem correlação com a localização geográfica indicando não haver estruturação gênica. A partir dos resultados obtidos, foi possível produzir um estudo populacional da piramutaba, utilizando marcadores microssatélites, e concluiu-se que a espécie pode ser considerada como um único estoque genético ou uma população panmítica com alto fluxo gênico (valores de N_m (número de migrantes) entre 7,11 a valores tendendo ao infinito), e de ampla distribuição, considerando a extensão da área geográfica amostrada.

Palavras-chave: *Brachyplatystoma vaillantii*; Bagre Migrador; Microssatélites

Apoio: CNPq; FAPEAM e MCTIC-INPA



AMPLIFICAÇÃO DO GENE *BRCA1* EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA ATENDIDOS EM MANAUS, AMAZONAS

Iago Lucas Viana da Silva¹; Diana Vieira Brito¹; Cleiton Fantin Rezende¹. ¹Universidade do Estado do Amazonas. Email: ilvs.bio18@uea.edu.br.

O câncer de mama (CM) é a neoplasia que mais acomete a população feminina no mundo todo, sendo caracterizado por seu desenvolvimento multifatorial ligado a hábitos de vida, como alcoolismo, tabagismo e obesidade, e a fatores genéticos. Mutações germinativas nos genes supressores de tumor BRCA1 e BRCA2 são responsáveis por 5 a 10% de todos os casos de CM hereditário. Dentre estes, o BRCA1 se destaca por apresentar maior incidência de mutações com significado clínico ligado ao CM. O gene BRCA1 está localizado no braço longo do cromossomo 17 (17q21) e possui 24 éxons, dos quais dois não apresentam atividade codante. Seu produto gênico, uma proteína com 1863 aminoácidos, atua na regulação transcricional, reparo de danos no genoma e controle do ciclo celular. Assim, o objetivo deste trabalho foi amplificar o éxon 5 do gene BRCA1 de pacientes com CM, por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, da sigla em inglês). O éxon 5 faz parte de um domínio conservado desse gene (RING finger) e tem uma grande relevância clínica, pois algumas das mutações mais frequentes associadas ao CM hereditário estão localizadas nesse éxon. Para este estudo, foram selecionados 49 pacientes atendidos pela Fundação Centro de Controle de Oncologia do Estado do Amazonas (FCECON) e que atendiam aos critérios de CM hereditário do National Comprehensive Cancer Network (NCCN). A extração de DNA foi realizada a partir de amostras de sangue periférico pelo método de CTAB 2%. A PCR foi feita para um volume final de 15 µL, sendo adicionados os seguintes componentes: Tampão (1X); MgCl₂ (1,5 mM); dNTPs (0,2 mM); Primer F e R (0,1 mM) e Taq DNA polimerase (1,25 U). A reação de amplificação foi realizada em um termociclador, utilizando-se as seguintes condições: desnaturação inicial de 94°C por 5 minutos, seguido de 40 ciclos de 94°C por 35 segundos (desnaturação), 63°C por 40 segundos (anelamento) e 72°C por 40 segundos (extensão); e extensão final de 72°C por 5 minutos. O produto de PCR foi analisado por eletroforese em gel de agarose 1,5%, sendo utilizado um marcador de 100 pares de bases (pb) para a comparação do tamanho dos fragmentos amplificados. Obteve-se um rendimento satisfatório de DNA genômico para todas as amostras. Os produtos de PCR apresentaram um tamanho em torno de 300 pb no gel, o qual estava de acordo com o tamanho esperado para essa região (269 pb). Desse modo, confirmou-se que a amplificação do éxon 5 foi obtida com êxito para todas as amostras analisadas. A etapa seguinte deste trabalho é o sequenciamento dos produtos amplificados para a verificação da presença de mutações nesse éxon, a qual encontra-se em andamento.

Palavras-chave: Câncer de Mama Hereditário; BRCA1; PCR

Apoio: Agradeço a FAPEAM pela bolsa do Programa de Apoio à Iniciação Científica do Amazonas (PAIC/AM)



IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA DE BACTÉRIAS E LEVEDURAS DA POLPA DE *MANIHOET ESCULENTA* PARA SELEÇÃO DE ENZIMAS COM INTERESSE BIOTECNOLÓGICO

SAUL MUNIZ FOGASSA¹; LUIZ FERNANDO BRANDÃO DE ARAÚJO¹; ELIANE CARVALHO DOS SANTOS¹.
¹UNINORTE. Email: fogassasaul@gmail.com.

A mandioca (*Manihot esculenta* subsp. *Esculenta*) também conhecida como macaxeira, aipim ou castelinha é uma cultura de grande importância econômica em todo o mundo. O Brasil, há pelo menos dez anos, situa-se entre os cinco maiores produtores mundiais de mandioca, a mandioca é cultivada em todos os estados brasileiros, situando-se entre os nove primeiros produtos agrícolas do país em termos de área cultivada, e o sexto em produção. Da raiz da mandioca é feito o tarubá, uma bebida fermentada da massa de mandioca, que é ralada e deixada para fermentação, após a apuração a massa é triturada e o líquido é peneirado para separar o suco do bagaço, com alto teor alcoólico. Esse produto é amplamente comercializado na Amazônia especialmente na região do tapajós, onde é servido tradicionalmente no período de festas juninas e na festa do Sairé em Santarém- Pará. Sabendo destas características da polpa do tarubá este trabalho teve por objetivo buscar microrganismos produtores de enzimas de interesse biotecnológico para produção de enzimas com interesse Biotecnológico. Foram isolados microrganismos a partir de 0,5 gramas de polpa de tarubá. O material foi purificado em placas contendo meio ágar nutriente e deixados para crescimento em estufa por 24 horas para crescimento bacteriano em meio ágar nutriente e 48 horas para crescimento de leveduras em meio Sabouraud. Nas colônias com crescimento bacteriano foram realizadas coloração de Gram e foram identificados bacilos Gram positivos. As leveduras tiveram formato comum, simples oval similar a *Saccharomyces cerevisiae*. Foram realizados testes de amilase (1% de amido) e lipase (0,5% de óleo de oliva) corado com iodo. Os resultados observados foram positivos em ambos os testes, somente para a levedura purificada. Foram ainda realizados nas leveduras testes de teor alcóolico, em alcoômetro, que determinou teor alcóolico de 10% em 16 horas de fermentação. Com base nestes resultados fenotípicos, testes moleculares serão realizados para identificação molecular dos microrganismos de tarubá visando caracterizar e buscar diferentes substâncias de interesse econômico industrial. Palavras-chave: tarubá, mandioca, lipase, amilase.

Palavras-chave: Taruba; Cassava; lipase and amylase



UTILIZAÇÃO DO PLANEJAMENTO FATORIAL PARA OTIMIZAÇÃO DO CRESCIMENTO MORFOLÓGICO EM MEIO DE CULTURA DE ESPÉCIES *Penicillium* spp. ISOLADOS DA AMAZÔNIA

Ana Beatriz Nascimento da Silva^{1,2}; Kemily Nunes da Silva¹; Priscila Ferreira de Aquino¹. ¹Instituto Leônidas e Maria Deane/Fiocruz Amazônia; ²Universidade do Estado do Amazonas. Email: abns.eng16@uea.edu.br.

Fungos do gênero *Penicillium* são atraentes fontes de biomoléculas. Com isso, variações no ambiente de crescimento desses fungos podem ter impactos consideráveis sobre a quantidade e diversidade de proteínas e/ou metabólitos produzidos por esses. Nesse contexto, a utilização do método de planejamento fatorial em estudos, abrangem muitas variáveis, torna-se imprescindível; visto que reduz a quantidade de experimentos, economizando tempo e recursos financeiros. Assim, esse estudo teve como objetivo utilizar o planejamento fatorial para a otimização do crescimento morfológico de duas espécies do gênero *Penicillium* isolados da Amazônia. As espécies *Penicillium purpurogenum* (CFAM 214) e *Penicillium oxalicum* (CFAM 1311) foram reativadas da Coleção de Fungos da Amazônia (CFAM) do Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD) e submetidas ao procedimento de cultura monospórica. Foram realizados 20 ensaios para o estudo do crescimento microbiano de cada cepa, tratando-se de um planejamento fatorial 2⁴ com 4 pontos centrais, codificados em três níveis e quatro variáveis independentes (carbono, nitrogênio, oligoelementos e pH). Para cada ensaio, um fragmento de cultura fúngica com 48 horas foi transferido para placas de petri contendo os nutrientes combinados, incubadas a 28°C por 10 dias. O diâmetro do crescimento micelial foi avaliado no terceiro, sexto e décimo dia. Como resultado, o fungo *Penicillium purpurogenum* apresentou melhor crescimento no décimo dia no meio 7 (2% glicose, 1% extrato de levedura, pH 9 e 150 µM de ZnSO₄. 5H₂O) com 5,633 cm ± 0,230, tal dado encontrado pode ser devido ao fato da glicose ser uma fonte de açúcar mais simples e a fonte de nitrogênio orgânica, extrato de levedura, de fácil assimilação para os fungos. Em contrapartida o menor crescimento foi no meio 1 (2% de glicose, 1% de peptona, pH 5 e 150 µM de ZnSO₄. 5H₂O) com 2,166 cm ± 0,230. Já para o fungo *Penicillium oxalicum*, o melhor diâmetro no décimo dia ocorreu no meio 17 (2% sacarose, 1% nitrato de sódio, pH 7 e 150 µM de CuSO₄. 5H₂O), ponto central do planejamento fatorial, com 7,466 cm ± 0,057, apresentou características como transparência e pouca esporulação. Sabe-se que a sacarose é uma fonte de açúcar mais complexa e o nitrato de sódio é uma fonte de nitrogênio de difícil absorção, assim, justificando a falta de esporulação encontrada nesse meio. Contudo, o menor crescimento para esse fungo foi o meio 5 (2% glicose, 1% extrato de levedura, pH 5 e 150 µM de ZnSO₄. 5H₂O) com 2,233 cm ± 0,115. Portanto, a utilização do planejamento fatorial se mostrou eficiente na combinação dos meios, onde foi possível verificar a influência das diferentes fontes de carbono, nitrogênio, pH e oligoelementos para as espécies *P. oxalicum* e *P. Purpurogenum*.

Palavras-chave: *Penicillium* spp.; crescimento microbiano; planejamento experimental

Apoio: FAPEAM, CNPq e ILMD



AVALIAÇÃO DE GENOTOXICIDADE E DA CONCENTRAÇÃO DE METALOTIONEÍNAS EM *PODOCNEMIS UNIFILIS* EM UMA RESERVA DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL NA AMAZÔNIA

Ândrocles Oliveira Borges¹; José Erickson Alves Silva²; Lídia Aguiar da Silva³; Cleiton Fantin Rezende¹; Fabíola Xochilt Domingos Moreira³. ¹Universidade do Estado do Amazonas, Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular; ²Universidade Federal do Espírito Santo, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal; ³Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Programa de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior. Email: androclesborges@gmail.com.

A Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDS-PP) foi criada para garantir ações de uso dos recursos sustentáveis e manejo dos animais no Rio Purus. Devido à preocupação com os quelônios da região, estudos com o intuito de conservar esses organismos vêm ocorrendo e precisam ser ampliados. Quelônios são considerados excelentes bioindicadores, pois apresentam características biológicas profícuas, como alta longevidade, ocupação de diferentes níveis tróficos e tipos de habitat. O presente estudo visou averiguar a ocorrência de biomarcadores de genotoxicidade (micronúcleos e anormalidades nucleares eritrocítica (ANES)) e as concentrações de metalotioneínas em *Podocnemis unifilis* em três localidades da RDS-PP para avaliação do perfil de saúde desses animais. Sangue de 34 indivíduos foi coletado para a realização de esfregaços sanguíneos corados com giemsa. Foram averiguadas frequências de micronúcleos, e de ANES (núcleos do tipo lobado, segmentado, vacuolado, protuberante e riniforme). Amostras de músculo foram utilizadas para avaliar as concentrações de metalotioneínas (MT). As MT foram isoladas a partir de séries de centrifugação, precipitação e ressuspensão do conteúdo citosólico. A análise de correlação de Spearman foi utilizada para verificar se havia correlação entre o tamanho dos indivíduos e frequência de micronúcleos, ANES e concentrações de MT. O teste de Kruskal-Wallis seguido do teste Post-Hoc de Dunn foi utilizado para avaliar se há diferença entre as frequências de micronúcleos, ANES e concentração de MT de *P. unifilis* nos três locais de coleta. As frequências de ANES e concentrações de MT foram similares em *P. unifilis* nas três localidades, enquanto micronúcleo foi significativamente menor no lago Martinho do que no Paraná do Itapuru. Foram observadas frequências de micronúcleos menores (3,08 %; 3,53 %; 1,63 %) do que as já descritas na literatura para *P. unifilis* (8 % e 12 %). Enquanto que a ocorrência de ANES mais micronúcleo foi similar a observada em neonatos de *P. expansa* contaminados por ciclofosfamida (6,15 %; 7,06 % e 9,04 %) e menores do que *Chelonia mydas* coletadas em campo. A frequência de núcleos lobados foi maior em fêmeas, enquanto a ocorrência de núcleos vacuolados foi maior em machos ($p=0,04$). Não houve correlação significativa entre tamanho, sexo e os biomarcadores de genotoxicidade ($p>0,05$). As concentrações de MT em *P. unifilis* foram menores (1,91; 2,25; 2,57 $\mu\text{g.mg}$ de proteína⁻¹) do que as encontradas em trabalhos experimentais com exposição a metais não essenciais em organismos de água doce como *Rhamdia quelen* (3,0; 5,0; 9,2 $\mu\text{g.mg}$ de proteína⁻¹) e *Oreochromis niloticus* (4,2 e 5,5 $\mu\text{g.mg}$ de proteína⁻¹). O perfil de resposta observada em *P. unifilis* é indicativo de indivíduos saudáveis na RDS-PP, demonstrando a importância das Unidades de Conservação na manutenção da saúde dos organismos que nela habitam.

Palavras-chave: Ecotoxicologia; Quelônios; Biomarcadores

Apoio: FAPEAM, CNPQ



IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS ASSOCIADAS À CRIAÇÃO DE PEIXES AMAZÔNICOS

Jorge Ivan Rebelo Porto¹; Eliane Carvalho dos Santos²; Andrea Belém-Costa³. ¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA; ²Centro Universitário do Norte-Uninorte; ³Universidade Federal do Amazonas- UFAM. Email: jirporto@gmail.com.

Com a intensificação do cultivo de peixes em condições artificiais são observadas mortalidades causadas por bactérias patogênicas oportunistas, o que pode levar a grandes perdas econômicas. Essas mortalidades podem ser observadas em cultivos de espécies regionais como o pirarucu, o tambaqui e a matrinxã. Os principais objetivos deste trabalho foram realizar análises fenotípicas e moleculares para identificar bactérias patogênicas nas espécies *Arapaima gigas* (pirarucu), *Colossoma macropomum* (tambaqui) e *Brycon amazonicus* (matrinxã), bem como estabelecer relações evolutivas entre as espécies. Foram analisados 72 isolados bacterianos da coleção de cultura de bactérias patogênicas em peixes (Universidade Federal do Amazonas - UFAM), provenientes de pirarucu, tambaqui e matrinxã oriundos de pisciculturas. As identificações fenotípicas foram feitas utilizando 19 testes bioquímicos (Gram, teste KOH, oxidase, catalase, oxidação, fermentação, motilidade, H₂S, indol, gás, glucose, uréase, lactose, citrato, arabinose, dulcitol, inositol, rafinose, trealose). As identificações moleculares foram realizadas por meio do sequenciamento parcial do gene 16S rRNA. Nas abordagens fenotípicas e moleculares foram identificadas 35 espécies agrupadas em 17 gêneros e nove famílias bacterianas: Bacillaceae, Enterobacteriaceae, Enterococcaceae, Flavobacteriaceae, Microbacteriaceae, Moraxellaceae, Paenibacillaceae, Staphylococcaceae, Streptococcaceae. Os maiores grupos foram formados pelas famílias (Enterobacteriaceae e Bacillaceae) as quais mostraram-se clados polifiléticos, tendo em vista que os gêneros e as espécies dentro destas famílias agruparam-se com gêneros e espécies distintas. Pode-se concluir que as abordagens utilizadas permitiram a identificação, classificação e reconstrução filogenética dos isolados bacterianos estudados.

Palavras-chave: Peixes; Patogenia; Amazônia

Apoio: Capes, Fapeam, Inpa, Ufam



PROPRIEDADES BIOATIVAS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PREBIÓTICO DA FIBRA DO PEDÚNCULO DE CAJU UTILIZANDO *BIFIDOBACTERIUM LACTIS*

Larissa Batista de Brito do Nascimento^{1,2}; Vítor Alves Pessoa¹; Sérgio Dantas de Oliveira Júnior¹; Larissa Ramos Chevreuil¹; Paula Romenya dos Santos Gouvêa^{1,2}; Lorena Vieira Bentolila de Aguiar^{1,3}; Everaldo Silvino dos Santos⁴; Ceci Sales-Campos¹.
¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; ²Universidade Federal do Amazonas; ³Universidade do Estado do Amazonas; ⁴Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Email: lbbnascimento@gmail.com.

Os subprodutos da agroindústria, como cascas e bagaços de frutas, apresentam potencial biotecnológico devido à presença de compostos bioativos com efeitos metabólicos positivos. Dentre esses, o pedúnculo de caju destaca-se pela presença de compostos fenólicos, flavonoides e ácido ascórbico, conferindo-lhe propriedades antioxidantes, além de ser uma ótima fonte de pectina, uma fibra alimentar a qual estudos têm relatado a presença de características bifidogênicas, ou seja, agem como estimulantes do crescimento de *bifidobactérias* e antagonistas a atividade de bactérias putrefativas. O objetivo deste estudo foi avaliar as características bioativas e o efeito prebiótico *in vitro* do pedúnculo de caju, frente à *Bifidobacterium lactis*. A fermentação anaeróbica foi realizada em shaker a 100 rpm, 37 °C, durante 24 horas. Como substrato utilizou-se o pedúnculo de caju enriquecido com solução nutriente contendo sais minerais. A contagem em placas foi realizada utilizando meio seletivo (Agar Bifidobacteria) para estimar o crescimento em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g) típicas e o pH de cada intervalo da fermentação. Como padrão foi utilizado o prebiótico fruto-oligossacarídeo. O pedúnculo de caju apresentou propriedades bioativas, com valores de ácido ascórbico igual a $4,58 \pm 0,00$ mg/10 g, compostos fenólicos totais de $366,85 \pm 3,43$ mg AGE/100 g, flavonoides de $85,03 \pm 4,15$ mg CAT/100 g e atividade antioxidante de $17,78 \pm 0,20$ µg TE/g. A contagem em placas demonstrou a presença de pequenas colônias lisas com bordas completas, regulares de coloração branca, indicativas de bactérias heterofermentativas. O padrão fruto-oligossacarídeo proporcionou crescimento de *bifidobactérias* de 10 LogUFCmL^{-1} , após 24 horas de fermentação. O pedúnculo de caju proporcionou crescimento de $8,8 \text{ LogUFCmL}^{-1}$, após 12 horas de fermentação, com redução do pH do meio (pH 5,08), alcançando valores semelhante ao padrão (pH 5,98). Diante dos resultados pode-se inferir que o pedúnculo de caju é uma fonte potencial de compostos fenólicos bem como flavonoides, além de apresentar valores razoáveis de ácido ascórbico e atividade antioxidante. Adicionalmente, o pedúnculo de caju apresentou indicativo para propriedades funcionais importantes, com possíveis benefícios à saúde humana.

Palavras-chave: Subprodutos agroindustriais; Bioativos; Moléculas

Apoio: CNPq, Capes, FAPEAM, UFRN, INPA



RESPOSTAS DA COMUNIDADE BACTERIANA EM ÁREAS DE DESFLORESTAMENTO NA AMAZÔNIA

Clovis Daniel Borges¹; Siu Mui Tsai². ¹Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brazil; ²Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brazil. Email: clovisdb@gmail.com.

A Amazônia é considerada um dos biomas mais ricos da Terra e detém uma grande parte da biodiversidade do planeta. No entanto, grandes áreas são convertidas em pastagem ao longo dos anos para atender à demanda de gado. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a estrutura da comunidade bacteriana após a conversão da floresta em pastagem, com diferentes faixas etárias. Amostras de solos não perturbados foram coletadas em três locais: florestas e pastagens dos anos 1987 e 1972 no Estado de Rondônia, Brasil. O gene bacteriano de 16S rRNA foi amplificado usando os iniciadores 27f e 1492r, sendo o iniciador direto marcado com fluorescência. O DNA amplificado foi utilizado na reação de restrição usando endonuclease HhaI e os fragmentos terminais foram lidos em um seqüenciador automático ABI 3100 para análise de T-RFLP (polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição terminal). A riqueza de unidades taxonômicas operacionais (OTUs) diminuiu com a idade das pastagens, apresentando 15 e 10 OTUs, para as pastagens 87 e 72, respectivamente ($P < 0,05$). A riqueza do pasto 87 não apresentou diferença para o local da floresta. Além disso, o local da floresta e a pastagem 87 apresentaram 30 e 32 OTUs únicas, respectivamente, enquanto a pastagem 72 apresentou apenas 24, sugerindo uma perda de riqueza. A análise de diversidade (Shannon-Wiener) mostrou que as sequências cronológicas não apresentaram diferença estatística entre os locais, com diversidade variando de 3,2 a 3,0 (a pastagem 72 apresentou a menor diversidade). A semelhança da comunidade em cada local variou de 70 a 80%, sendo que a pastagem 72 apresentou o menor valor. A Análise de Componentes Principais (PCA) mostrou diferenças entre os três locais, separando as amostras de acordo com o uso da terra e a idade. O primeiro e o segundo eixos explicaram 76,54% da variância total dos dados. No entanto, as amostras de floresta e pastagem 87 foram mais homogêneas que a pastagem 72. A análise multivariada também indicou que a estrutura bacteriana está correlacionada aos atributos do solo. A variação das amostras florestais foi influenciada pelo pH e Al; pastagem 87 por relação C / N; e pastagem 72 por C, N, K, P e S. Em conclusão, esses resultados revelam que a conversão da floresta amazônica em campos de pastagem e as cronosequências (ie idade da pastagem) alteram a estrutura da comunidade bacteriana, o que sugere que a comunidade é fortemente influenciada pelo manejo do solo, apresentando uma possível diminuição da diversidade ao longo do tempo. Novas amostragens são necessárias para melhor compreender o efeito das mudanças no uso da terra na comunidade bacteriana.

Palavras-chave: planta-microbiota; diversidades alfa e beta; legado biótico do solo

Apoio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq: 311008/2016-0 Pq; 427915/2016-3).



RESISTÊNCIA A METAIS POR FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE EFLUENTE INDUSTRIAL TÊXTIL

Elizandra Ribeiro Bueno Moreira¹; Milene Miranda Almeida Lira¹; Michel Rodrigo Zambrano Passarini¹; Camila Cristina de Jesus Castro². ¹Programa de Pós-Graduação em Biociência em Biociências (PPGBC) da Universidade Federal da Integração Latino-Americana - UNILA; ²Centro Universitário Dinâmica das Cataratas - UDC. Email: elizandra.bueno@hotmail.com.

Efluentes industriais têxteis podem representar uma grande fonte poluidora de rios e riachos, pois descarregam nesses ambientes uma variedade de poluentes químicos tóxicos perigosos, incluindo corantes, hidrocarbonetos e metais pesados, como cromo, cobre, arsênico, chumbo, níquel e cobalto. Estações de tratamento de efluentes têxteis são utilizadas para a redução destes compostos tóxicos pela ação de uma comunidade microbiana adaptada a estas condições extremas as quais utilizam uma maquinaria enzimática complexa para sobreviver nestes habitats. O uso de células recuperadas destas estações de tratamento pode ser considerado uma ferramenta eficiente em processos de biorremediação de ambientes contaminados com metais pesados. Neste sentido, o presente trabalho avaliou a capacidade de fungos filamentosos isolados de uma estação de tratamento de efluente têxtil em tolerar diferentes concentrações de metais pesados. A avaliação da resistência foi realizada com os metais pesados cobre, chumbo e cromo nas concentrações de 200 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹ e 250 mg L⁻¹, respectivamente. Vinte e três isolados foram semeados em meio de cultivo PDA (10 g de glicose, 15 g de ágar em 1000 ml de infusão de batata). Um pedaço de cada meio de cultivo (0,5 cm de diâmetro) da borda da colônia foi transferido para placas com meio PDA acrescidos com os metais em diferentes concentrações. As placas foram mantidas a 28°C por 7 dias, em triplicata. Uma placa sem a adição dos metais foi utilizada como controle. O potencial de tolerância ao metal pesado foi calculado em relação aos crescimentos radiais de controle (Oladipo et al., 2018): crescimento radial (mm) do fungo em meio de cultivo adicionado o metal pesado/crescimento radial (mm) de fungo em meio de cultivo sem adição do metal pesado. A tolerância aos metais pesados foi classificada da seguinte forma: 0,00–0,39 (tolerância muito baixa), 0,40–0,59 (tolerância baixa), 0,60–0,79 (tolerância moderada), 0,80–0,99 (alta tolerância) e 1,00–1,00 (tolerância muito alta). Quanto mais altos os valores, maior a tolerância dos fungos ao metal pesado. Todos os fungos filamentosos utilizados no presente estudo (23 isolados) foram capazes de tolerar ao menos um dos três metais pesados testados com variação do índice de tolerância entre 6.7-10 mm, 8.2-12.5 mm e 7.6–11 mm para cromo, cobre e chumbo, respectivamente. Apenas três isolados não foram tolerantes ao chumbo. Fungos filamentosos recuperados de efluentes têxteis podem apresentar estratégias moleculares que os tornam tolerantes a determinados metais pesados como cobre, chumbo e cromo. Desta forma, estes isolados poderão ser utilizados em estudos futuros de biorremediação de ambientes impactados com metais pesados.

Palavras-chave: efluente industrial; tolerância; metais pesados

Apoio: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.



MICROBIOTA ASSOCIADA À CICLAGEM DE METANO EM SOLOS DE FLORESTA AMAZÔNICA CONVERTIDA A PASTAGENS VISTA POR METAGENÔMICA E qPCR

Leandro Fonseca de Souza¹; Dasiel Obregon¹; Fabiana de Souza Cannavan¹; Siu Mui Tsai¹. ¹Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo. Email: leandro_fonseca@usp.br.

Archaea que produzem metano no solo são denominadas metanogênicas, enquanto Bactéria que utilizam este gás como fonte de carbono são metanotróficas. Estes microrganismos podem ser estudados no ambiente utilizando genes como marcadores: *mcrA*, para a produção de metano, e *pmoA* e *mmoX* para seu consumo. Neste trabalho avaliamos o efeito do desmatamento seguido do uso do solo como pastagem sobre esta comunidade microbiana. Solos foram amostradas (0-10cm) em florestas e pastagens sob solos argilosos em Ariquemes/RO, em 3 áreas cada, na estação chuvosa (2017). O DNA foi extraído, sequenciado por metodologia de alto rendimento (HiSeq 2500 v4), analisado na plataforma MG-RAST, e os genes marcadores quantificados por qPCR (*pmoA*, *mmoX* e *mcrA*). Além disto, análises químicas de solo e fluxo de metano foram avaliados concomitantemente. Observou-se que solos de floresta são drenos de metano ($-70 \pm 30 \mu\text{g.m}^2/\text{h}$), enquanto que pastagens são fonte ($25 \pm 30 \mu\text{g.m}^2/\text{h}$). Houve redução do número de cópias do gene *mmoX* (10x), aumento do gene *pmoA* (10x) e de *mcrA* (100x), considerando os dados de qPCR. Os dados de metagenoma mostraram a mesma resposta quanto aos genes *mmoX* e *mcrA*, mas não evidenciou mudança nos níveis de *pmoA* nos dois solos, o que sugere necessidade de revisão e desenho de *primers* específicos. Dentre as *Archaea* metanogênicas, *Methanosarcinassp.* aumentaram em 10% e *Methanocellassp.* dobraram em pastagens. As metanotróficas que reduziram em pastagem foram *Methanocellassp.*, *Methylosinusssp.* e *Methylococcusssp.* Concluímos que as emissões de metano em pastagem estão relacionadas ao aumento da abundância de *Archaea* metanogênicas e à redução de bactérias metanotróficas portadoras de *mmoX*, enquanto que o consumo de metano observado em floresta pode ser atribuído a uma maior abundância de bactérias metanotróficas (*mmoX*).

Palavras-chave: mudança do uso do solo; ecologia microbiana; mudanças climáticas

Apoio: FAPESP (2018/09117-1 e 2014/50320-4), CNPq (140953/2017-5 e 311008/2016-0) e CAPES (001 e 88881.189492/2018-01)



EFEITO DA CONVERSÃO DE FLORESTA EM PASTAGEM NA MICROBIOTA DO SOLO E A RELAÇÃO COM OS FLUXOS DE CH₄ EM SOLOS DA AMAZÔNIA.

Fabiana de Souza Cannavan¹; Alexandre Pedrinho¹; Lucas W. Mendes¹; Mariley C. Fonseca¹; Luis Fernando Merloti¹; Tsai S. Mui¹. ¹Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), Universidade de São Paulo, Piracicaba - São Paulo. Email: cannavanfs@gmail.com.

A mudança no uso da terra é um dos maiores impactos nos ecossistemas terrestres, causando redução ou perda da diversidade biológica. Os efeitos das mudanças no uso da terra são particularmente importantes nos trópicos úmidos devido à baixa fertilidade e acidez natural da maioria dos solos tropicais. Esses fatores contribuem para as emissões de gases de efeito estufa (GEE), incluindo o metano (CH₄). O CH₄ é produzido pelos microrganismos metanogênicos na zona anaeróbica do solo e oxidado em CO₂ por bactérias metanotróficas. É importante entender as comunidades microbianas metanogênicas e metanotróficas sob diferentes sistemas de manejo do solo e, conseqüentemente, avaliar a produção e o consumo de CH₄ no ambiente do solo. Esta proposta tem como objetivo determinar a composição e diversidade das comunidades microbianas de solos da Amazônia sob pastagem, floresta primária e secundária e reportá-la à produção e consumo de CH₄. Solos de pastagens, florestas primárias e florestas secundárias foram coletados em Belterra-PA (Amazônia Oriental). Os locais foram amostrados em maio/junho (primeiro período) e em setembro/outubro (segundo período) de 2016. A abundância metanogênica e metanotrófica foram determinadas utilizando ensaios quantitativos de PCR (qPCR) visando os genes *mcrA* e *pmoA*, respectivamente, e fluxos CH₄ foram medidos. Os resultados indicaram maior abundância de bactérias metanotróficas em solos de floresta primária e secundária e, conseqüentemente, maior consumo de CH₄. Em solos de pastagem, o teor de umidade apresentou diferenças entre o período de amostragem ($P < 0,05$) e as comunidades microbianas influenciaram o fluxo de CH₄. Quanto maior o teor de umidade, maior a abundância de organismos metanogênicos e, conseqüentemente, maior emissão de CH₄. Por outro lado, quanto menor a umidade, maior abundância de bactérias metanotróficas e alto consumo de CH₄. Para análise da composição das comunidades microbianas presentes no solo foi utilizado o método de sequenciamento de DNA metagenômico. A diversidade taxonômica e funcional de comunidades bacterianas apresentaram diferenças entre os solos estudados. Solos sob pastagem apresentaram maior diversidade taxonômica quando comparados com solos sob floresta primária e secundária. Observou-se que a diversidade taxonômica e funcional não foram alteradas entre os períodos de coleta. Os grupos bacterianos mais dominantes em todas as amostras de solo foram Actinobacteria e Alphaproteobacteria. Nossos resultados preliminares mostram que a umidade do solo é um fator-chave que influencia as comunidades microbianas e os fluxos de CH₄. Além disso, uma análise mais aprofundada integrará informações funcionais baseadas no sequenciamento metagenômico, a fim de elucidar melhor o efeito da umidade do solo nas comunidades microbianas associadas aos fluxos de carbono e metano nos solos da Amazônia.

Palavras-chave: ecologia microbiana; solos tropicais; qPCR/metagenoma

Apoio: NSF, FAPESP, CNPq (311008/2016-0).



CULTIVOS SELETIVOS DE ARCHAEA ENVOLVIDAS EM OXIDAÇÃO DE AMÔNIA EM SOLOS DE FLORESTA DA AMAZÔNIA ORIENTAL

Fernanda Ometto Asselta^{1,2,3}; Yara Barros Feitosa^{1,2,3}; Júlia Brandão Gontijo^{1,2,3}; Siu Mui Tsai^{1,2,3}; Fabiana S. Paula^{1,2,3}.
¹Laboratório de Biologia Celular e Molecular; ²Centro de Energia Nuclear na Agricultura; ³Universidade de São Paulo. Email: fernanda.asselta@usp.br.

A floresta amazônica desempenha um papel importante na dinâmica dos principais ciclos biogeoquímicos. A disponibilidade de nitrogênio mineral em solos tropicais é um fator limitante para o crescimento de microrganismos e é diretamente afetado pela atividade das Archaea e Bactérias oxidadoras de amônia (AOA e AOB) e, conseqüentemente, influencia outras funções microbianas no solo. As Archaea desempenham funções-chaves nas comunidades microbianas, e resultados preliminares de nosso laboratório indicaram que AOA é o grupo nitrificante dominante em solos da Amazônia. No entanto, a fisiologia desses organismos é muito desconhecida, já que existem apenas alguns isolados AOA em todo o mundo. Com o intuito de compreender melhor esses organismos, foram utilizadas técnicas de enriquecimento para cultivar AOA a partir de solos da floresta amazônica, buscando oferecer condições de cultivo que favoreçam o seu crescimento em relação a outros grupos, usando o meio de água doce (FWM), que possui apenas fonte inorgânica decarboxilante (bicarbonato de sódio) que favorece o metabolismo autotrófico desses organismos, e NH_4^+ , em forma de NH_4Cl , como fonte de energia. Cultivos foram mantidos em condições aeróbicas a 26°C, no escuro, sem agitação. O crescimento microbiano foi monitorado semanalmente medindo o consumo de NH_4^+ e a produção de NO_2^- e NO_3^- . Diferentes faixas de pH, concentrações de NH_4Cl e disponibilidade de vitaminas foram testadas. Foram realizados repiques sucessivos para meio fresco com base nos ciclos de crescimento, os quais foram de aproximadamente 21 dias (quando mais de 90% de NH_4^+ é convertido em NO_2^-). Os resultados mais promissores foram obtidos em meio com pH 6,5 e concentração de NH_4^+ de 0,5 mM. Após quatro meses de cultivo e crescimento estável, a diversidade de Archaea e Bactérias nos enriquecimentos foi analisada por sequenciamento do gene 16S rRNA. Observamos que, apesar da persistência de outros grupos microbianos, incluindo AOB, obtivemos uma cultura com alta dominância de AOA atribuída à família Nitrososphaeraceae. Estratégias adicionais de isolamento estão sendo testadas, incluindo uso de métodos tradicionais (físicos ou químicos) para isolamento e confirmação por métodos moleculares.

Palavras-chave: AOA; Enriquecimento; In vitro

Apoio: FAPESP (2014/50320-4), CNPq (311008/2016-0)



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DE ESPÉCIES DE *ASPERGILLUS*

Mussa Issufo^{1,3}; Larissa Ipuchima da Silva¹; Júlio César Maceda Santivanéz¹; Moisés Martins Chagas¹; Luana Araújo Martins¹; Cleudiane Pereira Andrade¹; Augusto Bücker²; Larissa de Souza Kirsch¹. ¹Universidade do Estado do Amazonas; ²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; ³Universidade Rovuma-Extensão de Niassa-Moçambique. Email: mussjequegreelution@gmail.com.

As proteases são enzimas que quebram ligações peptídicas e se destacam no mercado mundial devido a sua grande aplicabilidade, na indústria alimentícia, têxtil, cosmética e de detergentes, movimentando cerca de 2 bilhões de dólares anuais. Os fungos do gênero *Aspergillus* são promissores na produção de proteases, pois são capazes de crescer em diferentes condições de cultivo, em substratos de baixo custo, além de secretarem grandes quantidades de enzimas no meio. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial proteolítico de *Aspergillus* spp em meio de cultura líquido e sólido, bem como a capacidade dessas enzimas na coagulação do leite. Os fungos selecionados para pesquisa foram *A. niger* (CFAM 0681), *A. oryzae* (CFAM 0540), *A. subolivaceo* (CFAM 0959) e *A. aculeatus* (CFAM 1368) cedidos pela Coleção de Fungos da Amazônia (CFAM). O cultivo foi feito em meio CYA por 7 dias e após esse período foram retirados três fragmentos ($\varnothing=8\text{mm}$) de cada cultura e inoculados em Erlenmeyers contendo meio GYP (glicose 10g/L, extrato de levedura 3g/L, peptona 5g/L e água destilada 1L, pH 6,0). Os cultivos foram incubados durante quatro dias a 30 °C, 150 rpm e ao término o caldo fermentado filtrado a vácuo, e em seguida realizada a atividade proteolítica qualitativa em meio sólido. Em meio de cultura ágar leite [ágar 15g/L, solução de leite 10% (50mL), solução de gelatina 10% (50 mL) em tampão citrato-fosfato 0,1M, pH 5,0] foram realizados "cup-plates" e neles foram adicionadas alíquotas de 100 μL do caldo fermentado e as placas mantidas em temperatura ambiente por 30 minutos para posterior incubação em BOD a 37 °C por 18 h. A atividade foi determinada pela formação de halos translúcidos ao redor dos "cup-plates". Paralelamente, o caldo fermentado foi incubado na presença do substrato azocaseína 1%(p/v) e as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 440nm. A atividade coagulante do leite foi avaliada utilizando-se 5mL de leite desnatado 10%(p/v) dissolvido em solução de CaCl₂ 0,05M, pH 5,8, incubado na presença de 0,5mL da solução enzimática a 40 °C por até 40 minutos. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Não houve formação de halos de hidrólise da caseína avaliada em meio sólido, contudo na atividade quantitativa destacaram-se os fungos *A. oryzae* (20,65 U/mL) e *A. niger* (19,78 U/mL), cujos valores diferiram estatisticamente aos de *A. subolivaceo* (12,88 U/mL) e *A. aculeatus* (12,88 U/mL). Nesta pesquisa, apesar de haver produção de proteases, o caldo fermentado dos fungos não teve afinidade pela coagulação das proteínas do leite. Estes resultados confirmam o gênero *Aspergillus* como promissor produtor de proteases, propiciando novos estudos destas enzimas em outras condições de cultivo para otimização da produção e testes de aplicação biotecnológica.

Palavras-chave: Aspergillus; Proteases; Aplicações biotecnológicas



TRIAGEM QUALITATIVA DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ISOLADAS DA REGIÃO AMAZÔNICA COMO PRODUTORAS DE PHA A PARTIR DE SACAROSE

Alzira Frota Marreiros Bezerra¹; Afonso Duarte Leão de Souza²; Antonia Queiroz Lima de Souza³. ¹PPG-Multicentrico, Universidade do Estado do Amazonas; ²Departamento de Química, Universidade Federal do Amazonas; ³Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas. Email: alziramarreiros@gmail.com.

Uma estratégia para a colonização dos tecidos internos dos vegetais, adotadas por bactérias endofíticas, é o acúmulo de reservas energéticas, sob a forma de grânulos intracelulares, contendo polihidroxialcanoatos (PHAs). Os PHAs são poliésteres biodegradáveis de importante valor comercial e ambiental, sendo uma alternativa aos plásticos convencionais derivados do petróleo. Assim, considerando a elevada biodiversidade da Região Amazônica, este estudo realizou a avaliação qualitativa de bactérias endofíticas, isoladas na Região Amazônica, como produtoras de PHAs a partir de sacarose como única fonte e carbono. As linhagens foram isoladas das seguintes espécies vegetais: *Gustavia hexapetala* (Aubl.) Sm. (japaranduba); *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. (erva de jabuti); *Phyllanthus urinaria* L. (quebra-pedra); *Duguetia stelechantha* (Diels) R. E. Fries.; *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlot (crajiuru); *Mauritia flexuosa* L. (buriti); *Strychnos* cf. *toxifera* Schomb. ex Benth.; e uma macrófita aquática. As bactérias foram reativadas em placas de Petri contendo meio ISP2 ágar e incubadas a 26°C. Após obtenção de biomassa, foram submetidas ao pré-inóculo em tubos de ensaio, contendo 5 mL de ISP2 líquido e incubadas em agitador orbital a 120 rpm e 26°C durante 48 h. Para a indução da produção de PHAs, os cultivos obtidos anteriormente (10 µL) foram inoculados em meio mineral sólido suplementado com excesso de fonte de carbono, sacarose (20 g/L), e limitação na fonte de nitrogênio, sulfato de amônia (1 g/L), contido em placas de cultura de células de 12 poços e incubados a 26°C por 72 h. Após o período de incubação, a seleção qualitativa das linhagens produtoras de PHAs foi realizada com o indicador lipofílico Sudan BlackB, na qual as culturas que apresentaram coloração azul foram consideradas positivas para o teste. No total, 54 linhagens bacterianas foram submetidas ao teste qualitativo e 29 obtiveram resultados positivos na avaliação, totalizando cerca de 54% da amostragem. Destas, as isoladas da espécie *G. hexapetala* (japaranduba) e *A. chica* (crajiuru) foram as que tiveram mais representantes com potencial para produção de PHAs, 13 e 11 linhagens, respectivamente. Desta maneira, as plantas medicinais *G. hexapetala* e *A. chica* se revelam como fontes de novas linhagens bacterianas com capacidade de acúmulo de PHAs. Portanto, as bactérias endofíticas isoladas na Região Amazônica possuem potencial na produção de PHAs a partir de sacarose como única fonte de carbono, com destaque para as linhagens bacterianas isoladas de plantas medicinais. Novos estudos de caracterização estrutural são necessários para elucidar o tipo de PHA produzido.

Palavras-chave: Polihidroxialcanoatos; Bactérias endofíticas; Plantas medicinais

Apoio: CAPES projeto Pró-Amazônia, CNPq e FAPEAM



1º Lugar

CICLO MICROBIANO DO METANO EM SOLOS DE FLORESTA E PASTAGEM DA AMAZÔNIA: UM ESTUDO EM MICROCOSMOS

Andressa Monteiro Venturini¹; Naissa Maria Silvestre Dias²; Júlia Brandão Gontijo¹; Caio Augusto Yoshiura¹; Aline Giovana da França¹; Fabiana da Silva Paula¹; Brendan James Marc Bohannan³; Siu Mui Tsai¹. ¹Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. Avenida Centenário, 303, Piracicaba, SP, 13416-000, Brasil; ²Laboratório de Biogeoquímica Ambiental, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. Avenida Centenário, 303, Piracicaba, SP, 13416-000, Brasil; ³Institute of Ecology and Evolution, University of Oregon. Eugene, OR, 97403, EUA. Email: andressa.mv@gmail.com.

As mudanças climáticas têm alterado o regime de precipitação na bacia Amazônica em escala regional, o que pode afetar os fluxos de metano (CH₄) do solo como consequência das respostas diferenciais dos microrganismos metanogênicos e metanotróficos (produtores e consumidores de CH₄, respectivamente). O objetivo desse estudo foi analisar a influência da umidade sobre os fluxos de CH₄ e comunidades microbianas relacionadas nos principais usos da terra da Amazônia Oriental Brasileira: floresta e pastagem. Com base na umidade e na capacidade de campo (CC) de cada solo, um experimento de microcosmos foi estabelecido com quatro tratamentos: umidade original; 60%, 80% e 100% CC. O experimento foi realizado por 30 dias, no qual amostras de gases foram coletadas periodicamente para análise por cromatografia gasosa. A abundância das comunidades de arqueias metanogênicas (gene *mcrA*) e bactérias metanotróficas (genes *pmoA* e *mmoX*) foi avaliada por PCR quantitativo em tempo real (qPCR), enquanto seu perfil taxonômico e funcional, por metagenômica. Os dados foram analisados através de análise de variância fatorial não-paramétrica. As emissões cumulativas de dióxido de carbono não variaram entre os tratamentos. Os fluxos diários de CH₄ apresentaram resultados positivos e negativos para floresta e pastagem, demonstrando que o solo pode atuar como fonte e sumidouro desse gás, enquanto seus fluxos acumulados foram fortemente correlacionados com o teor de umidade. Esses resultados, bem como a abundância dos genes funcionais e grupos relacionados ao processo de metanogênese, foram influenciados pelo uso do solo, umidade e sua interação, com os maiores valores de emissão e abundância encontrados nos solos de pastagem sob 100% CC. Embora os resultados de metanotrofia tenham exibido maior variação entre os conjuntos de dados, tendências semelhantes foram encontradas considerando a razão de metanogênicos por metanotróficos, comumente maior nos solos de pastagem (com médias entre 4,1 a 5,3 para qPCR e entre 0,6 a 5,0 para metagenômica). A comunidade metanogênica foi composta exclusivamente por arqueias do filo *Euryarchaeota* e não mudou em diversidade e equitatividade após o período experimental. *Proteobacteria* das classes alfa (72%) e gama (21%) foram os grupos dominantes de bactérias metanotróficas, seguidos por *Verrucomicrobia* (7%). Os índices de diversidade e equitatividade da comunidade metanotrófica foram afetados pelos fatores estudados, apresentando os maiores resultados para os solos de pastagem sob 100% CC. Os resultados mostraram que os fluxos de CH₄ e suas comunidades microbianas responderam às mudanças de uso do solo, de modo que os solos de pastagem exibiram um maior potencial de emissão do que os solos de floresta, o que foi reforçado pelo aumento da umidade.

Palavras-chave: Umidade do solo; Metanogênese; Metanotrofia

Apoio: FAPESP (2014/50320-4, 2015/13546-7 e 2017/09643-2), CNPq (140032/2015-0 e 311008/2016-0) e CAPES – Código de Financiamento 001.



PRIMEIRO REGISTRO DE DNA AMBIENTAL DE LAGOS DE VÁRZEA DA AMAZÔNIA CENTRAL: DEFINIÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE EXTRAÇÃO.

Daniel Rocha Bevilaqua¹; Sabrina Araújo de Melo²; Adolfo José da Mota³; Carlos Edwar de Carvalho Freitas³; Jacqueline da Silva Batista². ¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFAM) - Campus Avançado de Manacapuru; ²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA); ³Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Email: dbevilaqua81@gmail.com.

O DNA ambiental (DNAa) vem se destacando no cenário de pesquisas ecológicas como um método eficaz na detecção de organismos aquáticos. No presente estudo pretendeu-se investigar e validar métodos de extração de DNAa de amostras de água oriundas de lagos de várzea da Amazônia central. As coletas foram realizadas no município de Iranduba, Amazonas, no período de seca e cheia em quatro lagos na ilha da Paciência: Ressaca, Piranha, Cacau e Preto, nas cotas extremas dos períodos de seca e cheia. As amostras de 1 litro de água de cada lago foram filtradas à vácuo utilizando membranas HA em Éster de celulose 0,45µm de poro, 47mm de diâmetro em seguida maceradas utilizando o equipamento *Bead Beater*. Foi testado sete métodos/Kits de extração de DNA: *Dneasy Blood & Tissue (Quiagen)*, *Dneasy Blood & Tissue* (adaptado por Thomsen, *et al.* 2010), *Dneasy Blood & Tissue (Quiagen)* adaptado no presente estudo, com a adição de 400 µL de Tampão de Lise, *Wizard® Genomic DNA Purification (Promega)*, *Genomic DNA (Invitrogen)*, *Viral RNA/DNA (Invitrogen)* e o método Fenol/Clorofórmio (Sambrook *et al.*, 1998), em uma amostra retirada ao acaso entre as obtidas. Todas as extrações seguiram o protocolo dos fabricantes exceto as adaptadas. As amostras de DNAa foram quantificadas no equipamento *Qubit* utilizando kit de reagentes *High sensitive*. Posteriormente foi realizada uma PCR convencional, com *primers* universais para amplificação parcial do gene mitocondrial 12S de peixes (Ecoprimer) seguida da eletroforese em gel de agarose 1%. O método que apresentou o melhor resultado foi obtido com o kit da *Quiagen* adaptado no presente estudo (1,37 ng/µL), pois o resultado da PCR, observado em gel, demonstrou banda do gene esperado, de intensidade forte, os demais métodos a quantificação variou de 0,00 à 1,98ng/µL, porém com intensidade inferior, ou ausência de amplificação. Esse resultado pode ter sido em razão da membrana de filtração, que no referido método, esteve totalmente submersa durante a lise das proteínas, o que permitiu a otimização da digestão do material biológico. Além disso, esse método pôde eliminar possíveis inibidores da PCR, uma vez que amostras de DNAa foram amplificadas. Após a escolha do método, amostras de DNAa dos quatro lagos foram extraídas, cujas concentrações variaram entre 0,81 (Ressaca na seca) a 3,56 ng/µL (Ressaca na cheia). Este estudo define um marco na metodologia de extração de DNAa de lagos de várzea, podendo ser utilizado no monitoramento da ictiofauna na bacia amazônica, pois foi possível detectar a presença de DNA de espécies de peixes em amostras de água obtidas.

Palavras-chave: Monitoramento; DNA ambiental; Extração de DNA ambiental

Apoio: Fundação de Amparo à Pesquisa do estado do Amazonas (FAPEAM) Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).



RESISTOMA DA CAVIDADE ORAL EM PORTADORES DE PERIODONTITE POR SEQUENCIAMENTO DE DNA DE ALTO RENDIMENTO

FÁBIO MACHADO MARINHO¹; ANDERSON NOGUEIRA BARBOSA¹; CRISTIANE PEREIRA BORGES SAITO¹; Fabiana de Souza Cannavan²; Tsai Siu Mui²; DANIEL SAITO¹. ¹Universidade do Estado do Amazonas; ²Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Email: fbmarinho88@gmail.com.

O aumento de cepas bacterianas multirresistentes nas últimas décadas levou a uma preocupação generalizada sobre a saúde humana em nível global, devido, principalmente, ao surgimento de infecções bacterianas de difícil tratamento. Por outro lado, existe ainda uma importante carência de estudos sobre os padrões de resistência presentes na microbiota oral humana, tanto em condições de saúde, quanto em doença. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo determinar o conjunto de genes de resistência bacteriana (resistoma) presentes na cavidade oral com base na análise metagenômica da saliva de portadores de periodontite e voluntários saudáveis. Amostras de saliva não-estimulada foram coletadas de indivíduos saudáveis (grupo controle, n = 13) e portadores de periodontite (grupo doente, n = 14) atendidos na Policlínica Odontológica da UEA, Manaus-AM. O DNA total das amostras foi extraído, quantificado e submetido ao sequenciamento de última geração na plataforma Illumina HiSeq2500. As sequências nucleotídicas foram submetidas ao processo de montagem (SPAdes v.3.9.0), predição (MetaGeneMark), anotação (HMMER3, *Resfams core*) e classificação gênica (CARD). Para a análise de normalidade dos dados, foi utilizado o teste estatístico Shapiro-Wilk (R v.3.5.1), enquanto que as diferenças nas frequências gênicas foram avaliadas através do teste Kruskal-Wallis (STAMP). No total, foram gerados 75.304 Mbp de dados brutos, dos quais 74.430 Mbp restaram após o filtro de qualidade, representando uma taxa de eficiência de 98,8%. A anotação genética permitiu a identificação de 2.004.184 *open readingframes* (ORFs), sendo 997.848 preditos para o grupo controle e 1.006.336 ORFs para o grupo doente. Um total de 123 genes de resistência aos antibióticos foram anotados ao analisar todas as amostras. Os genes encontrados foram classificados quanto aos diferentes mecanismos, representados por: efluxo de antibiótico (62,3%), alteração do sítio alvo (28,7%) e modificação do antibiótico por enzimas (9%). Não houve diferença significativa para os mecanismos quando analisadas as frequências entre os grupos de estudo. Contudo, ao se observarem os genes individualmente, foram encontrados 18 prevalências estatisticamente distintas ($p < 0,05$) entre grupos. Dentre estes, citam-se os genes *aph3''*, *blaB*, *vanH*, *vanW* e genes relacionados às bombas de efluxo RND, os quais mostraram-se mais frequentes no grupo doente. Os resultados revelam a cavidade oral como um importante reservatório de genes de resistência a antibióticos e que a presença de doença periodontal pode ser um fator ambiental importante na seleção de genes de resistência.

Palavras-chave: PERIODONTITE; RESISTOMA; SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO

Apoio: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), Universidade do Estado do Amazonas (UEA) e Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP).



CO-OCORRÊNCIA DE GRUPOS E TEXTURA DO SOLO NA ESTRUTURAÇÃO DA COMUNIDADE DE ARCHAEA NA AMAZÔNIA

Miriam Gonçalves de Chaves¹; Luis Fernando Merloti¹; Leandro Fonseca de Souza¹; Fátima Maria de Souza Moreira²; Siu Mui Tsai¹; Acacio Aparecido Navarrete³. ¹Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA USP Piracicaba SP Brasil; ²Departamento de Ciências do Solo - Universidade Federal de Lavras Lavras MG Brasil; ³Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - Chapadão do Sul MS Brasil. Email: mgchaves@usp.br.

Uma vez que a implantação de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia promove alterações dos fatores no solo com consequentes mudanças na estrutura das comunidades microbianas, esse estudo avaliou de que maneira as correlações entre os grupos de Archaea e entre esses e os fatores físico-químicos do solo podem ser modificados sob tais condições. Amostras de solo foram coletadas em época chuvosa na bacia do rio Solimões, no estado do Amazonas, em sistemas agrícolas de povos indígenas (AG), pastagem de gado (PA), floresta primária (FP) e floresta secundária (FP) com 5 a 20 anos de regeneração. Foi realizado PCR quantitativo em tempo real para obtenção do número de cópias do gene ribossomal 16S e a composição da comunidade arqueana foi revelada com base no sequenciamento de amplicons desse mesmo gene. Os dados de sequenciamento MiSeq gerados foram analisados usando ferramentas de bioinformática (QIIME2) e as análises estatísticas realizadas no ambiente R para correlacionar a taxonomia com a quantificação dos fatores do solo. O maior número de cópias de 16S rRNA foi obtido na FP com 955 por ng de DNA, seguida pela PA com 932, AG com 649 e FS com 410. As classes de Archaea mais abundantes nos solos amazônicos foram as das Thaumarchaeota SAGM-Gp1 (South Africa Golden Mine Gp 1) e SCG (Soil Crenarchaeotic Group), ambas com mais de 20% de ocorrência nos tratamentos, com predominância nas áreas de FP porém, com redução significativa na PA ($P < 0,05$). Dois agrupamentos bem distintos foram obtidos entre as classes: um envolvendo as Thaumarchaeota SAGM-Gp1 e SCG e outro as Euryarchaeota metanogênicas Methanomicrobia, Methanobacteria e as Bathyarchaeota, onde o segundo foi abundante na PA. O maior número de correlações entre as classes de Archaea foi obtido na FP (50% do total), seguido pela PA (42%). Nas áreas FS e AG, o número de correlações entre as classes de Archaea e os fatores físico-químicos do solo superaram aquelas entre os grupos em mais de 100% porém, não foram significativas estatisticamente. O fator do solo que mais correlacionou-se com as classes de Archaea nas áreas analisadas foi a "textura" ($P < 0,05$), especialmente relevante na PA (presente em 58% das correlações envolvendo os fatores do solo). Esses resultados sugerem que, em solos tropicais conservados e com número maior de indivíduos, as interações entre as classes de Archaea podem ser favorecidas, preservando inclusive a presença de grupos importantes como as Thaumarchaeota envolvidas no ciclo de nitrogênio. Enquanto em ambientes que sofreram a ação antrópica, onde o número de representantes do domínio é menor, as interações com os fatores do solo seriam mais relevantes na obtenção de energia e sobrevivência de Archaea.

Palavras-chave: sequenciamento; Archaea; correlação

Apoio: CNPq 311008/2016-0



MONTAGEM E ANOTAÇÃO DO GENOMA DE *PLEUROTUS OSTREATOROSEUS*

Suelen Dias da Silva¹; Eliane Carvalho dos Santos²; Maria Francisca Simas Teixeira³; José Odair Pereira⁴; Adolfo José da Mota⁵.
¹BIONORTE; ²Centro Universitario do Norte - UNINORTE; ³Universidade Federal do Amazonas; ⁴Universidade Federal do Amazonas; ⁵Universidade Federal do Amazonas. Email: suelendiass@gmail.com.

Desde a antiguidade, os cogumelos fazem parte da dieta humana devido as suas características organolépticas e composição química. *Pleurotus ostreatoroseus* Singer tem significativa importância gastronômica, por possuir basidioma carnudo de cor rosa e paladar aprazível, não obstante, também tem sido considerada valioso para prospecção de compostos bioativos com ação antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória. Entretanto, até o presente momento, majoritariamente as pesquisas se concentram nas propriedades nutricionais desse cogumelo e as informações com base no potencial genômico são escassas. Assim, o objetivo desse trabalho foi sequenciar, anotar e analisar o genoma de *P. ostreatoroseus*. O sequenciamento foi realizado no Illumina HiSeq e montado pelo método *de novo* com software SOAP. O tamanho total do genoma de *P. ostreatoroseus* é de 43.81Mb, com conteúdo GC de 56.04%, e 9,263 genes. A montagem gerou 38.588,771 contigs, com N50 de 180,9. Foram realizadas anotações no Gene Ontology (GO), KEGG, KOG, NR, TCDB e CAZy. Pelo KEGG foi possível observar a rede do metabolismo da espécie, apresentando genes envolvidos majoritariamente em catabolismo/transporte (274 genes) e metabolismo de carboidratos (248 genes). Na anotação do GO os genes mais abundantes envolvidos nas três categorias de anotação foram: (1) Componente Celular, 2.137 genes envolvidos em junções celulares e 2.137 funções celulares não definidas; (2) Função Molecular, 3.265 genes associados à atividade de ligantes não definidas, 3.090 genes associados a atividades catalíticas e 30 genes com atividades antioxidantes; (3) Processo Biológico, 3.171 genes ligados a processos multi-organismo e 3.075 genes associados a componentes celulares organizacionais ou biogênese. Na anotação KOG, a maioria dos genes (221) foi associada a modificações pós-traducionais e chaperonas. Na anotação NR foi realizada a comparação proteica com vinte espécies fúngicas depositadas nos bancos de dados NCBI, e observou-se a similaridade de 3.194 genes de *P. ostreatoroseus* com a espécie fúngica *Phanerochaete carnosae*. Essa similaridade proteica se deve ao fato de que a espécie *P. carnosae* já possui genoma depositado e possivelmente são genes conservados nas espécies de fungos. Foram identificados ainda 52 genes de *P. ostreatoroseus* depositados no banco de dados, similares com as sequências do genoma deste trabalho. Na anotação TCDB que indica a classificação funcional e filogenética de proteínas de transporte de membranas, foram observados 124 genes de transportadores eletroquímicos acionados por potencial, estes genes representam uma vasta gama de proteínas com especificidades variadas de substrato. Na anotação CAZy foram identificados 155 genes de hidrolases glicosídicas, enzimas que hidrolisam ligações glicosídicas de açúcares complexos e são bastante comuns em eucariotos. Os resultados reportados nesse trabalho irão auxiliar pesquisas futuras com aplicações biotecnológicas, pois o dado genético permite prever quais biocompostos *P. ostreatoroseus* é capaz de produzir.

Palavras-chave: cogumelo; genoma; biocompostos

Apoio: CAPES, CNPq e FAPEAM



TÉCNICAS AVANÇADAS EM MICROBIOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DAS EMISSÕES DE N₂O EM SOLOS AGRÍCOLAS NA AMAZÔNIA

Beatriz Maria Ferrari Borges¹; Clovis Daniel Borges²; Henrique Debiasi³; Júlio Cesar Franchini dos Santos³; Tsai Siu Mui¹.
¹Centro de Energia Nuclear na Agricultura; ²Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais, Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol; ³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Email: biamaferrari@yahoo.com.br.

O objetivo desse estudo foi determinar a atividade microbiana (16S rRNA Bactéria e 16S rRNA Archaea) e identificar os genes chaves associados as emissões de gases do efeito estufa no solo afetados pelas mudanças ambientais como resultado das diferentes práticas de manejo e tipos de solo. O experimento foi conduzido em duas áreas comerciais de soja na região de Mato Grosso, em solos com textura arenosa e muito argilosa, com e sem adição de calagem, em sistema de plantio direto, em solos com histórico de presença de nematoide (*Pratylenchus brachyurus*). Após a amostragem dos solos na profundidade de 0-10 cm, o DNA foi extraído do solo usando o kit PowerLyzerDNA e a quantificação absoluta dos genes foi feita pela técnica de qPCR. Os resultados obtidos mostraram uma redução na abundância de Bactéria nos dois tipos de solos (arenoso e argiloso) com adição de calagem, obtendo-se em média $4,73 \times 10^9$ e $2,96 \times 10^9$ cópias do gene por grama de solo (g. solo-1), respectivamente. Para Archaea não foram observadas diferenças no número de cópias entre os tratamentos avaliados ($p < 0,5$). O gene *nosZ* foi significativamente maior no solo arenoso com calagem ($1,21 \times 10^5$ g. solo-1) que no solo controle. Já no solo de textura argilosa houve uma redução do número de cópias do gene *nosZ* ($5,63 \times 10^4$ g. solo-1). Para o gene *nifH* não foram observadas diferenças entre os tratamentos no solo arenoso ($p < 0,5$). No entanto, no solo argiloso obteve-se maior número de cópias do gene *nifH* ($1,58 \times 10^6$ g. solo-1) no controle que com adição de calagem ($2,74 \times 10^5$ g. solo-1). Com relação as emissões de gases do efeito estufa, os dois tipos de solo apresentaram consumo de CH₄ e o controle do solo arenoso apresentou maior consumo de metano. Quanto as emissões de CO₂, não foram observadas diferenças ($p < 0,5$) entre os tipos de solos. Altas emissões de N₂O foram verificadas no tratamento sem calagem no solo arenoso. Maior abundância de nematoides foi observados nos dois tipos de solo no tratamento sem calagem e maior produtividade no solo de textura argilosa com adição de calagem. Desta forma, pode-se verificar que em diferentes áreas de cultivo de soja a calagem promoveu reduções das emissões de N₂O com aumento da oxidação de metano, provavelmente devido à redução de Al³⁺+tóxico para as metanotróficas. O conjunto de dados sugere que, independentemente do tipo de solo, a aplicação de calcário aumenta o pH do solo mitigando as emissões de N₂O. Assim, o manejo adequado da fertilidade do solo pode reduzir os impactos ambientais, sustentando a produtividade da cultura de grãos.

Palavras-chave: Ecologia microbiana; Ciclo do Nitrogênio; Óxido Nitroso

Apoio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq: 311008/2016-0 Pq; 427915/2016-3).



PRODUÇÃO DE PECTINA LIASE POR *ASPERGILLUS BRASILIENSIS* UTILIZANDO DAS CASCAS DE CUPUAÇU (*THEOBROMA GRANDIFLORUM*) COMO SUBSTRATO

Lucas de Souza Falcão^{1,2}; Patrícia Melchionna Albuquerque^{1,2}. ¹Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade do Estado do Amazonas - UEA, AM, Brasil; ²Laboratório de Química Aplicada a Tecnologia, Universidade do Estado do Amazonas - UEA, AM, Brasil. Email: lucas.sfalcao@hotmail.com.

Resíduos como cascas de frutas possuem o potencial de serem utilizadas como substratos sólidos em bioprocessos, uma vez que por meio do cultivo microbiano essa biomassa pode ser convertida em produtos de alto valor agregado, como por exemplo, enzimas hidrolíticas. As pectinas liases são hidrolases, proteínas capazes de hidrolisar a pectina, substância presente na parede celular vegetal. Diversos fatores podem influenciar a produção dessas enzimas, como por exemplo, a umidade inicial do substrato, a concentração de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, a temperatura, o tempo e o pH, de forma que é fundamental a otimização de tais variáveis quando se visa a produção enzimática. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi determinar as variáveis mais influentes no bioprocessos para produção da enzima pectina liase, pelo fungo *Aspergillus brasiliensis*, utilizando cascas de cupuaçu como substrato. Os frutos de cupuaçu foram adquiridos em um mercado de Manaus/AM. Após a obtenção das cascas, estas foram secas a 45°C por 7 dias e moídas em moinho de facas. Para avaliação das variáveis mais significativas para o bioprocessos foi realizado um planejamento experimental fatorial fracionado 2⁵⁻¹, onde se avaliou a influência da temperatura, do tempo de cultivo, das concentrações de fósforo (KH₂PO₄) e nitrogênio (NH₄NO₃) adicionadas ao substrato e a umidade inicial do resíduo sólido. O cultivo do fungo *A. brasiliensis* ATCC 16404 foi realizado em 7 g de resíduo sólido, com soluções de nutrientes em concentrações pré-determinadas. O inóculo foi feito por meio de uma suspensão de esporos que foi preparada com o auxílio de câmara de Neubauer e padronizada em 1x10⁷ esporos/mL. Após a extração das enzimas, com adição de água e filtração a vácuo, foi avaliada a atividade enzimática por meio do método do DNS. A maior atividade obtida no planejamento experimental foi de 6,27 U/mL, utilizando 30°C de temperatura, 8 dias de cultivo, 80% de umidade, 6% de nitrogênio e 3% de fósforo. Nenhuma das variáveis mostrou influência significativa no bioprocessos quando isoladas (p<0,05). No entanto, a interação entre a variável tempo de cultivo e a concentração de nitrogênio se mostrou como significativa, com efeito negativo na produção de pectina liase. Concluiu-se, portanto, que visando a otimização da produção enzimática, deve-se diminuir o tempo de cultivo e a concentração de nitrogênio presente no meio de cultivo.

Palavras-chave: Bioprocessos; Resíduos agroindustriais; Hidrolases

Apoio: FAPEAM, CAPES e UEA



O PAPEL DO GENE *SLC6A4* NO TRANSTORNO DE PERSONALIDADE BORDERLINE

Vanessa Bianca de Lima Lobato¹; Adolfo José da Mota¹; Karolaine Oliveira Bentes²; Jhemerson Fernandes Paes². ¹Universidade Federal do Amazonas; ²Centro Universitário do Norte- UNINORTE. Email: vanessa.bianca1299@gmail.com.

Os Transtornos de Personalidade são divididos em três grupos, e o Transtorno de Personalidade Borderline (TPB) está classificado no grupo B, juntamente com os Transtornos de Personalidade Antissocial, Histriônico e Narcisista. Os pacientes com este transtorno apresentam um quadro de instabilidade nos relacionamentos interpessoais, na autoimagem e nos afetos com impulsividade acentuada. Este transtorno é cinco vezes mais comum em parentes de primeiro grau, o que indica a existência de fatores genéticos associados. Ainda não se sabe exatamente a sua etiologia, mas a hipótese mais testada é a da desregulação da atividade serotoninérgica como causa de vários sintomas do TPB. Assim a busca pela correlação entre sintomas e mutações no gene do transportador de serotonina, *SLC6A4*, é frequente na literatura. No presente projeto foi feita uma mineração de dados relativos ao TPB e ao gene *SLC6A4*, objetivando selecionar estudos com dados relevantes sobre possíveis marcadores moleculares, que possam auxiliar no diagnóstico precoce do TPB. Optou-se pela análise sistemática de artigos publicados em periódicos indexados e dados genéticos depositados em bancos de DNA, RNA e proteína. Foram pré-selecionados 115 artigos, desses apenas 14 passaram pelo filtro dos critérios de inclusão e exclusão. A análise dos 14 artigos revelou que duas regiões desse gene estão sendo sistematicamente estudadas: a região promotora e o segundo íntron. Essas regiões apresentam polimorfismos de sequência e tamanho que podem influenciar na taxa de transcrição do gene *SLC6A4* e a variação na expressão gênica pode ter alguma relação com o TPB, todavia não é possível estabelecer uma correlação direta com este transtorno pois diversas outras patologias são também associadas às mesmas mutações. A literatura não reporta mutações na região codificadora do gene e ainda não existe um marcador molecular para esse gene específico para o TPB. Mesmo considerando que as mutações na região promotora do gene *SLC6A4* não são específicas para o TPB, elas podem contribuir com a definição de um perfil individual de risco ou susceptibilidade e o levantamento da ocorrência desses destes alelos em nível populacional podem ajudar na definição de um cenário de risco coletivo. Para contribuir com o levantamento de dados genéticos, neste trabalho é proposto um novo par de iniciadores (*SLC6A4* 5' TGTTCCTTGCCTATACA, *SLCA4Rv* 5' CTTGTAAGTGGAGGAAGTACTGAC), com características termodinâmicas superiores às dos iniciadores já reportados na literatura. O presente trabalho fez uma análise sistemática de artigos que correlacionam dados genéticos e o TPB e foi possível concluir que ainda não existe um marcador molecular para o gene *SLC6A4* que possa ser usado para o diagnóstico do TPB.

Palavras-chave: Transtorno de Personalidade Borderline; Gene *SLC6A4*; polimorfismos

Apoio: Universidade Federal do Amazonas (UFAM), FAPEAM, CNPq, CAPES



2º Lugar

A COMPLEXIDADE ECOLÓGICA DO CICLO DO METANO EM SOLOS AMAZÔNICOS SOB CONVERSÃO FLORESTA-PASTAGEM E FLORESTA-TERRA PRETA

Fernanda Mancini Nakamura^{1,2,3}; Andressa Monteiro Venturini^{1,3}; Jorge Luiz Mazza Rodrigues²; Brendan James Marc Bohannan³; Siu Mui Tsai¹. ¹Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, SP, Brazil; ²University of California Davis, Davis, CA, USA; ³University of Oregon, Eugene, OR, USA. Email: fe.manak@gmail.com.

Entender a dinâmica da complexidade ambiental de solos tropicais é um desafio para a revelação das drásticas mudanças antrópicas de uso do solo nas últimas décadas. Abordagens tradicionais e modernas em microbiologia permitem a investigação aprofundada da ecologia. Incubações com metano, taxa de 57mmol of C/g de solo seco em triplicatas biológicas e respectivos controles, foram incubados por 8 dias a 25°C no escuro com Latossolos sob Floresta Primária (FP, S2 51.326 W54 57.501), Terra Preta da Amazônia (TPA, S2 50.602 W54 58.544), e Pastagem (PT, S3 07.748 W54 57.259) da Amazônia Oriental, Pará, Brasil, seguido de quantificações gênicas de *mcrA* e *pmoA* (qPCR) e metagenômica em Hiseq2500 PE150 6GB e análises estatísticas efetuadas em R software; normalidade com Shapiro-wilk test with stats package 3.5.1; dados de solo e quantificações microbianas foram avaliados em ANOVA e Post hoc Tukey's test em $p < 0.05$ com agricolae package 1.3-0. A quantificação gênica mostrou dominância de metanotróficas em Floresta e TPA, enquanto que Pastagem mostrou uma dominância de metanogênicas. No entanto, com a metagenômica foi possível observar uma maior abrangência de grupos representando a junção de tipos de *pmoA* não detectados com oligonucleotídeos - *pmoA-amoA*, *pmoA1*, *pmoA2*, *mmoX* – o que nos permite vislumbrar um maior panorama da composição e distribuição dos grupos de metanotróficas. Neste sentido, Pastagem apresentou a mesma tendência de dominância de metanogênicas, como também Floresta Primária permaneceu como predominantemente metanotrófica. Porém, TPA apresentou maior tendência a metanogênicas, provavelmente possuindo uma abundância significativa do grupo MCR não detectado pelos “primers” na quantificação gênica, além de uma maior abundância de sítios anaeróbios nos agregados do solo, como também formas favoráveis de matéria orgânica. Interessantemente, todos os sítios possuem maior abundância de metanotróficas de baixa afinidade, as possuidoras da enzima sMMO, novamente não detectada na qPCR. A análise taxonômica do metagenoma mostra que, diferentemente de metanogênicas, as metanotróficas de solos tropicais drenados são mais susceptíveis a perturbações no sistema como a compactação do solo e perda de oxigenação a mudanças no tipo e estado da matéria orgânica disponível. Assim, alguns grupos são perdidos na conversão de floresta-pastagem (*Methylobacillus*, *Methylotenera*, *Methylovorus*, *unclassified derived from Methylophilales*). Por outro lado, TPA possui grupos exclusivos de metanotróficas (*Methylosinus* and *Methylibium*) provavelmente devido ao tipo de matéria orgânica recalcitrante em grande quantidade, uma das principais características das “terras pretas”. Estes grupos podem ser posteriormente estudados como bioindicadores de distúrbios ao sistema biogeoquímico de solos tropicais. Por meio da ecologia molecular microbiana evidenciou-se os impactos da conversão floresta-pastagem e outras mudanças de uso do solo no importante ciclo do metano de solos Amazônicos.

Palavras-chave: solos tropicais; metanotróficas; metanogênicas

Apoio: CNPq (311008/2016-0), CAPES, FAPESP 2015/12282-6; 2017/09616-5; 2017/09952-5.



ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTERÍOFAGOS LÍTICOS CONTRA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Ágatha Tavares Pinheiro¹; Cristiane Pereira Borges Saito¹; Hugo Valério Corrêa de Oliveira². ¹Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular, PMBqBM da Universidade do Estado do Amazonas - ESA-UEA, AM, Brasil; ²Dep de Farmácia e Bioquímica - UEA, AM, Brasil;. Email: agatha_tavares@hotmail.com.

Os bacteriófagos (fagos) líticos são vírus que infectam bactérias de forma específica; replicam-se em seu interior e lisam suas respectivas hospedeiras, sendo então liberados para infectarem novas células. *Staphylococcus aureus* é um dos principais patógenos responsáveis por infecções hospitalares e comunitárias. Apresenta patogenicidade por seu perfil de resistência aos antimicrobianos disponíveis, bem como a habilidade de formação de biofilme, dificultando o tratamento destas infecções. Neste cenário, este estudo teve como objetivo isolar e caracterizar, morfológica e geneticamente, fagos líticos contra isolados clínicos de *S. aureus*. Os fagos foram isolados de igarapés urbanos, na cidade de Manaus- AM, contaminados por efluentes. As amostras foram filtradas, os fagos foram propagados em meio de enriquecimento contendo *S. aureus*, sendo então isolados, titulados e caracterizados quanto a sua morfologia e ácido nucléico. Um total de 10 fagos líticos foram isolados, sendo (vB_SauP) -MRa4, -MRa7 e -MEd13 infectando *S. aureus* em fase de crescimento estacionária, enquanto que -MCo1, -MCo2, -MPro1, -MSil1 e MPet1 as infectam em fase exponencial e -MRa1 e -MRa2 apresentaram mudanças nas suas respectivas fases de infecção, passando da fase estacionária para exponencial. Os fagos MRa1, MRa2, MRa4, MRa7 e MEd13 demonstraram alta eficiência de infecção e especificidade para esta *S. aureus*, não infectando outras bactérias alvos testadas neste estudo. A análise por microscopia eletrônica de transmissão sugeriu nove fagos com características pertencentes à família Podoviridae e um Myoviridae (vB_SauM-MRa11). A análise do genoma dos fagos demonstrou serem de DNA fita dupla e o perfil de digestão obtidos para os nove podovírus foram semelhantes entre si com pequenas variações genética. A curva de crescimento dos fagos de fase estacionária foi realizada com o isolado clínico UEA SA001 produtor de biofilmes. Nesta, ocorreu um aumento da densidade óptica, sugestivo de um aumento na produção de biofilme, seguida da queda causada pela lise. Concluiu-se, portanto, que os fagos isolados apresentaram atividade lítica infectando *S. aureus*, sendo nove pertencentes a família podoviridae com perfil de digestão sugestivo de variação genética do tipo *indels* entre alguns deles a ser confirmada pelo sequenciamento já em andamento e um fago característico da família myoviridae. Espera-se, ainda, determinar a eficiência de infecção dos fagos MCo1, -MCo2, -MPro1, -MSil1 e MRa11, as curvas de crescimento para a determinação das fases de infecção: período de eclipse, latência, *burst size* e estabilidade de todos os fagos, além da influência dos mesmos sobre biofilmes de *S. aureus* e genômica.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*; Bacteriófagos; Biofilmes



RECEPTORES DA SEROTONINA E O TRANSTORNO DE PERSONALIDADE BORDERLINE

Karolaine Oliveira Bentes¹; Adolfo José da Mota²; Jhemerson Fernandes Paes¹; Vanessa Bianca de Lima Lobato². ¹Centro Universitário do Norte - UNINORTE; ²Universidade Federal do Amazonas - UFAM. Email: b.o.karolaine@gmail.com.

O Transtorno de Personalidade Borderline (TPB) é caracterizado por um padrão generalizado de labilidade emocional, impulsividade, dificuldades interpessoais, distúrbios de identidade e cognição perturbada. A via de sinalização da serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) é estudada desde sua biogênese, sintetizada pelo triptofano, até sua ação no tecido alvo. Esse neurotransmissor é percebido por receptores específicos; existem sete isoformas descritas, dentre essas, mais estudadas são a 5HT1 (que tem função terapêutica relevante, pois interferem no humor e comportamento) e a 5HT2A (que são associadas a traços Borderline, pois tem relação importante com casos de suicídio, comportamento impulsivo e labilidade emocional). Diversos estudos correlacionam os receptores de 5-HT e o TPB, mas é necessário intensificar buscas por biomarcadores que possam assessorar a psiquiatria de forma eficiente. O objetivo do projeto foi realizar uma análise conjunta de dados da literatura e de bancos de informação genética a respeito dos receptores de 5-HT para verificar os possíveis impactos de mutações de base única (SNP) em genes envolvidos na sinalização desse neurotransmissor. As informações foram acessadas a partir de repositórios voltados para fins acadêmicos e médicos, bem como bancos de dados genéticos, empregando palavras-chave. Todos os artigos pré-selecionados foram submetidos à triagem seletiva com base em critérios de exclusão e inclusão; os artigos selecionados seguiram para a análise sistemática dos dados. Foram obtidos 58 artigos publicados entre 2007 e 2018. Apenas 12 continham dados condizentes com os objetivos do projeto. Quarenta SNPs são reportados como potencial biomarcadores para TPB na família de receptores de 5-HT. Desses, destacam-se o *rs6295* (a montante do gene *5HTR1A*) e o *rs6314*, causando a mutação de sentido trocado H452Y no éxon 3 do gene *5HTR2A*. Apesar de inicialmente não estar no escopo do projeto, não passou despercebido que mutações no gene *ADRA2A* (receptores $\alpha 2A$ adrenérgico) também podem acarretar impactos na via de sinalização serotoninérgica, em especial a transversoão c.753C>G, que causa a mutação de sentido trocado N251K. Esses receptores não têm associação direta com a 5-HT, mas quando os receptores $\alpha 2A$ pré-sinápticos são estimulados, a síntese e liberação de noradrenalina e 5-HT são inibidas. Não foi possível encontrar marcadores moleculares para o TPB, entretanto, os SNPs aqui destacados apresentam correlação significativa com alguns quadros como comportamento suicida e automutilação. Assim a mineração dos dados disponíveis na literatura e banco de dados genéticas foi eficaz em apontar três mutações em genes relacionados à via de sinalização da serotonina com potencial para serem usadas como marcadores moleculares para o TPB. Se não isoladamente, em conjunto tais mutações podem compor um *findrisk* molecular, ferramenta que já vem sendo muito útil no estudo de outras doenças com padrão multifatorial de herança.

Palavras-chave: Serotonina; Transtorno de Borderline; Polimorfismo

Apoio: UFAM, FAPEAM, CNPq e CAPES.



AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE GUARANÁ (*PAULLINIA CUPANA*) EM LINHAGENS CELULARES

Patrícia Rayná Simas de Souza¹; Kalil Araújo da Silva²; Jerusa Araújo Quintão Arantes Faria¹. ¹Universidade Federal do Amazonas; ²Universidade do Estado do Amazonas. Email: rayna_patricia@hotmail.com.

O guaraná (*Paullinia cupana*) é um fruto da região amazônica, possui várias atividades biológicas descritas, tais como: antioxidantes, antitumorais, estimulantes, proteção hepática e perda de peso. O objetivo do trabalho consistiu na análise citotóxica e atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de guaraná (EHG) em oito linhagens celulares: A549, BEAS-2B, MCF10A, MCF7, MDA-MB 231, MRC5, NIH-3T3 e THP-1. Os ensaios funcionais de citotoxicidade foram conduzidos pelo ensaio de metabolização do reagente MTT 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo), conteúdo sub-G1 e perfil de morte analisados por citometria de fluxo com marcação com iodeto de propídeo, Anexina V e 7-AAD (7-aminoactinomicina D). Os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) foram avaliadas pela sonda fluorescente DCFDA. Os resultados foram obtidos pela realização de três experimentos independentes expressos em média \pm erro padrão da média (n=4), sendo aplicados os testes *t* de student ou one-way ANOVA com pós-teste de Tukey's. Pelo ensaio de citotoxicidade foram definidos os valores de IC50 do EHG nas oito linhagens celulares, sendo a linhagem A549 de carcinoma de pulmão a mais resistente ao tratamento necessitando de uma dose de 17,6 mg/ml para atingir o valor de IC50, enquanto a linhagem NIH-3T3, fibroblasto murino, foi a mais sensível, necessitando de uma dose baixa, de 1,5 mg/ml cerca de somente 10% do valor para a A549. As células tratadas com a concentração correspondente de IC50 apresentaram perda da morfologia original mantendo a membrana íntegra e pigmentada. Células A549 tratadas com o valor de IC50 EHG obtiveram valores aumentados de conteúdo sub-G1 e de células anexina V positivas para BEAS-2B. No ensaio de atividade antioxidante foram utilizadas três concentrações de EHG, 100, 500 e 1000 μ g/ml em duas linhagens tumorais de mama, MDA-MB 231 e MCF-7, a primeira com característica invasiva, na qual o EHG reduziu EROs basais e em condição de estresse oxidativo para todas as concentrações testadas. Diferentemente, para MCF-7, o tratamento com EHG não reduziu os EROs basais, somente ocorrendo a redução significativa no grupo pré-tratado com 1000 μ g/ml de EHG e submetido a estresse oxidativo. Coletivamente, os dados indicam atividade citotóxica distinta do EHG nas linhagens celulares, algumas se mostraram resistentes, enquanto outras foram extremamente sensíveis. Além disso, células tratadas com o valor de IC50 direcionam para um mecanismo de morte por apoptose. Em concentrações não citotóxica, o pré-tratamento com EHG foi capaz de reduzir os níveis de EROs confirmando sua atividade antioxidante nas linhagens tumorais. Mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos de resistência e susceptibilidade de algumas linhagens, bem como os mecanismos de morte celular ativados pelo EHG.

Palavras-chave: guaraná; citotoxicidade; atividade antioxidante

Apoio: Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal do Amazonas - PROPESP UFAM



Menção honrosa

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR E GENOTIPAGEM DAS REGIÕES ENV E POL DE INDIVÍDUOS HIV-1 POSITIVOS DE MANAUS EM USO DE TERAPIA ANTIRRETROVIRAL COMBINADA E EM FALHA VIROLÓGICA

Yury Oliveira Chaves^{1,4}; Flávio Ribeiro Pereira³; Diego Rafael Lima Batista¹; Rebeca de Souza Pinheiro¹; Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda^{1,3}; Paulo Afonso Nogueira¹; Monick Lindenmeyer Guimarães^{2,4}. ¹Instituto Leonidas e Maria Deane ILMD/FIOCRUZ-AM, Laboratório de Diagnóstico e Controle e Doenças Infecciosas da Amazônia (DCDIA); ²Instituto Oswaldo Cruz IOC/FIOCRUZ, Laboratório de AIDS e Imunologia Molecular; ³Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado FMT-HVD, Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema; ⁴Programa de Pós-graduação Stricto sensu em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz). Email: yurychaves@gmail.com.

O uso de antirretrovirais para supressão da replicação viral em indivíduos HIV soropositivos trouxe grandes benefícios: equilíbrio imunológico, diminuição da mortalidade e redução da transmissão do vírus. Entretanto, o surgimento de mutações de resistência adquiridas (MRA) aos inibidores da replicação viral pode resultar em falha ao tratamento, elevando os casos de AIDS em pacientes sob terapia. Cidades como Manaus vem apresentando um crescente aumento de casos de AIDS e de óbitos nos últimos anos. Por isso é de suma importância o monitoramento contínuo das MRA para readequação do tratamento para controle da evolução da infecção. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar se associação das MRA com diversidade genética do HIV-1 e o tropismo viral em indivíduos sob terapia antirretroviral em falha virológica em Manaus-AM. Foram selecionados para o estudo indivíduos HIV+ em terapia antirretroviral e com falha virológica (>1.000cps/mL) atendidos na Fundação de Medicina Tropical - Heitor Vieira Dourado. As amostras de plasma foram extraídas e o RNA retrotranscrito em cDNA e submetido à amplificação da protease e transcriptase reversa (PR/RT) e da região C2V3 da gp120 do envelope viral. Selecionamos 92 indivíduos sendo 72% do sexo masculino e 28% feminino com idade média de 39 anos (± 10) para ambos os sexos. A partir das análises das regiões *Pol/Env* classificamos 80% como subtipo B, 1% de F1, enquanto 17% das amostras foram encontrados mosaicos B/F1, com relação as variantes do subtipo B, 86% foram B pandêmico (*Bpan*) e 14% B caribenho (*Bcar*). Detectamos MRA em 87% dos indivíduos, destes 40% estão no primeiro esquema terapêutico, 41% no segundo e 19% no terceiro. Para 10 indivíduos (11%) não detectamos MRA, que associamos à não adesão ao tratamento. Foram observados uma maior prevalência de mutações M184V(68%) e K70R,E,Q(21%) e D67N(13%) para Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa- INTR e K103N(51%) P225H(13%) para Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa-INNTR. Em relação ao tropismo CCR5, 63% eram subtipo B, 100% do subtipo F1 e 75% recombinantes (BC/BF1). As variantes *Bcar* e *Bpan* tiveram o mesmo comportamento em relação a MRA e tropismo, logo, essas mutações podem possuir forte impacto para INTR e INNTR quando somadas a outras mutações podendo levar a mudança nos medicamentos antirretrovirais utilizados pela maioria dos pacientes do estudo e contribuir para falha do tratamento, pois foi possível observar um alto grau de MRA e não adesão ao tratamento em Manaus que pode levar a possível transmissão dos vírus resistentes, sendo necessária a readequação do regime terapêutico e o entendimento sobre a falta de adesão.

Palavras-chave: HIV-1; diversidade genética; Mutações de resistência

Apoio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior



REAÇÃO DE SÍNTESE ENZIMÁTICA CATALISADA POR LIPASE RECOMBINANTE PRODUZIDA NA HOSPEDEIRA *PICHIA PASTORIS*

Edson Junior do Carmo¹; Isabela Cavalcante Rodrigues²; Ivaldo Itabaiana Junior³; Spartaco Astolfi Filho¹. ¹Universidade Federal do Amazonas; ²Universidade Federal do Paraná; ³Universidade Federal do Rio de Janeiro. Email: edsonjuniorbio@yahoo.com.br.

As lipases catalisam a reação de hidrólise de ligações éster em moléculas lipídicas. No entanto, em ambiente restrito de águas essas enzimas catalisam reações de esterificação e transesterificação, que podem culminar na síntese de moléculas ou compostos, o que confere às lipases um grande potencial biotecnológico na área de síntese orgânica. O processo de esterificação desperta muitos interesses comerciais, principalmente nas áreas de solventes, surfactantes, polímeros, essências sintéticas e farmacêutica. O objetivo deste trabalho foi investigar a atividade de síntese em solvente orgânico de uma enzima lipase isolada de uma Biblioteca Metagenômica de solo de Terra Preta de Índio produzida na levedura *Pichia pastoris* (*Komagataella phaffii*). A determinação de atividade sintética foi realizada através da avaliação do potencial de esterificação na formação do éster laurato de etila. O meio reacional foi preparado utilizando 900 µL de uma solução ácido láurico/etanol 100 mM em n-heptano e 100 µL do extrato enzimático produzido por *P. pastoris*, seguido de agitação em incubadora de rotação orbital (shaker) a 200 rpm, na temperatura de 50 °C. As conversões foram monitoradas em intervalos de tempo de 5, 10, 15, 30 e 45 min e analisadas através do método de Lowry-Tinsley que utiliza o acetato de cobre II pH 6,5 ajustado com piridina. O complexo verde formado entre o ácido residual e o acetato de cobre, residente na fase superior foi analisado a 715 nm em espectrofotômetro UV/visível, utilizados como branco os solventes reacionais para o cálculo do percentual de conversão (formação de laurato de etila). Os resultados mostram que a lipase recombinante possui atividade catalítica em solvente orgânico (n-heptano) e exibiu um rendimento máximo de 70% de formação do composto em 45. A reação de síntese mostrou uma rápida formação de laurato de etila nos minutos iniciais da reação de esterificação do ácido láurico (C12) com etanol. Em 5 minutos de reação, a conversão foi de 41,11%, alcançando valores de 52,52% e 65,61% nos tempos de 10 e 15 minutos respectivamente. A partir deste ponto, a reação se mantém estabilizada atingindo valores de 68,52% e 70,73% nos tempos respectivos de 30 e 45 minutos. Os dados obtidos no presente trabalho evidenciam que a enzima recombinante é estável em solvente orgânico e indicam o potencial em reações de síntese, levando a interesses futuros na otimização do processo de produção, purificação desta enzima e na investigação de seu potencial de síntese que tem ampla aplicação comercial nas indústrias alimentícias, biocombustíveis, química fina e farmacêuticas.

Palavras-chave: Esterificação; Síntese enzimática; Lipase recombinante

Apoio: CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; FAPEAM - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas; UFAM - Universidade Federal do Amazonas



BIOPROSPECÇÃO ENZIMÁTICA DE FUNGOS FILAMENTOSOS SAPROFÍTICOS ISOLADOS DO SEDIMENTO DO RIO JURUÁ

Caio César Barbosa Campos¹; Diego Pereira Guimarães²; Sergio Díaz Gallo³; Gilvan Ferreira da Silva³. ¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas; ²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; ³Embrapa. Email: caiocezarccbc@gmail.com.

O rio Juruá é um dos maiores rios amazônicos cuja nascente é no Peru, unindo-se ao rio Amazonas no Estado do Amazonas, Brasil. Ao longo da sua trajetória, este carrega sedimentos da mata, o que permite o fluxo de diversos grupos de microorganismos ao longo do seu percurso, incluindo fungos, sejam estes unicelulares ou pluricelulares, os quais podem ter uma aplicação biotecnológica como produção de enzimas que podem ser aplicadas na indústria. Algumas das enzimas de interesse biotecnológico são as Proteases, Lipases e Celulases. As Proteases possuem uma versatilidade por serem usadas pelas indústrias farmacêuticas, alimentícias e têxteis, ao igual que a Celulase na indústria de biocombustíveis, assim como as Lipases por atuar no tratamento de efluentes e degradação de gorduras, porém até o momento o potencial dos fungos presentes no sedimento dos rios Amazônicos ainda é desconhecido. Levando isso em consideração, o objetivo deste trabalho foi identificar o potencial enzimático de fungos provenientes do sedimento do rio Juruá para a produção de celulase, lipase e protease. Para isso, foram isolados fungos de 10 amostras compostas do sedimento coletadas a cada 50 Km e no total foram obtidos 50 isolados fúngicos. Desses, 42 isolados foram testados por apresentarem morfologias macroscópicas diferentes. Dentre os resultados obtidos, observou-se que 14 fungos apresentam atividade celulolítica, um atividade lipolítica e 25 atividade proteolítica. Um único isolado tem potencial para degradação das três diferentes fontes de carbono. Quanto aos outros isolados, 12 degradam celulase e protease e o restante só tem uma atividade enzimática. Estes resultados são indicativos do potencial enzimático que os fungos do sedimentos do rio Juruá possuem, porém, ainda foi pouco explorado. O potencial quantitativo na degradação dos diferentes compostos avaliados e a viabilidade de escalar a produção das enzimas produzidas por estes fungos estão em andamento

Palavras-chave: Diversidade Fúngica; Metabolismo Mirobiano; Enzimas



ATIVIDADE METABÓLICA DOS FUNGOS PRESENTES NOS SEDIMENTOS DE QUATRO RIOS DO AMAZONAS

Sergio alberto diaz Gallo¹; Elida Mayrla Almeida Nascimento²; Icaro Lima²; Gilvan ferreira da silva¹. ¹Embrapa amazonia ocidental; ²Universidade do Estado do Amazonas. Email: sergio.diaz89@gmail.com.

Existem diversos afluentes que desembocam no rio Amazonas, os quais contribuem no aumento dos recursos e diversidade biológica. Esta diversificação estimula o estabelecimento de diversos grupos de micro-organismos, os quais, a depender do seu entorno, desenvolvem ferramentas adaptativas para garantir sua manutenção nestes habitats. Entre as estratégias adaptativas estão a produção e liberação de diversos metabólitos secundários e enzimas, entre os metabólitos estão os compostos que inibem o crescimento de outros micro-organismos. Assim, o objetivo deste trabalho foi selecionar fungos filamentosos com potencial para a produção de celulase, protease e lipase e produção de compostos antifúngicos isolados do sedimento dos rios Juruá, Purus, Madeira e Solimões. Cultura monospórica de 52 isolados morfológicamente distintos foi obtida para a realização dos testes. A análise qualitativa de degradação de celulose, proteínas e lipídios foram realizadas em placas de Petri, contendo meio seletivo. A atividade antifúngica foi avaliada em meio BDA contendo os patógenos *Fusarium decemcellulare* (Fdc 307), *Pseudopestalotiopsis gilvanis*, *Neopestalotiopsis* sp. e *Colletotrichum* sp., separadamente. Dos 52 isolados, testados 30 apresentam halo de degradação de proteínas, 12 possuem atividade lipolítica e 13 atividade celulolítica. Destes, só dois isolados apresentaram a capacidade metabólica de degradar as três diferentes fontes de Carbono. Já para o teste antifúngico 34 inibiram o crescimento de *Fusarium*, 30 tem atividade contra *Colletotrichum*, 32 controlaram *Pseudopestalotiopsis* e 32 inibiram *Neopestalotiopsis*. Estes resultados preliminares demonstram que há um possível potencial biotecnológico dos fungos presentes nos rios Amazônicos que ainda não foi fortemente explorado.

Palavras-chave: Bioprospecção; fungos filamentosos; metabolismo secundario



FATORES DE RISCO DO DIABETES MELLITUS TIPO 2 EM PACIENTES DO LABORATÓRIO DISTRITAL LESTE DE MANAUS, AM.

Larissa Nascimento Torres¹; Daniel Vitor Santos Soares¹; Ana Beatriz Oliveira Barreto de Souza¹; Jéssica da Cruz Chagas²; Ângela Cristina Cardoso de Sales³; Edirany dos Santos Silva³; Jander Torres da Silva³; Rosilene Gomes da Silva Ferreira^{1,3}.
¹Universidade do Estado do Amazonas; ²Universidade Federal do Amazonas; ³Laboratório Distrital Leste. Email: Int.bio17@uea.edu.br.

O *Diabetes Mellitus* tipo 2 (DM2) é uma síndrome metabólica caracterizada por altas taxas de açúcar no sangue, podendo acarretar em sérias complicações à saúde do indivíduo. Portanto, o objetivo deste trabalho foi analisar os fatores de risco do DM2 nos pacientes usuários do Laboratório Distrital Leste da Secretaria Municipal de Saúde (LDL/SEMSA) do município de Manaus, Amazonas, a fim de propor medidas de prevenção e controle da dislipidemia. Esta pesquisa caracteriza-se como descritiva, com delineamento transversal, aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Amazonas, sob o Parecer nº.247.750. Foi aplicado um questionário abordando as características demográficas e socioeconômicas dos pacientes, bem como seu estilo de vida. Para o diagnóstico de patologias foram coletadas amostras de sangue (5mL) após jejum de 12 horas e os resultados foram retirados do banco de dados *Softlab*. Para classificar as concentrações de triglicerídeos foram utilizados os valores propostos pelas Diretrizes Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose: TG <150 mg/dl (normal); TG entre 150 a 199 mg/dl (limítrofe); TG entre 200 a 499 mg/dl (alto) e TG ≥500 mg/dl (muito alto). Para o diagnóstico do DM2, foram adotados os valores de referência para os níveis de glicose no sangue, conforme recomendações do Ministério da Saúde: normal (<110 mg/dl); pré-diabético (110-126 mg/dl) e diabético (>126 mg/dl). A população estudada consistiu em 100 pessoas, de 18 a 75 anos, das quais apenas 3% possuem nível superior e 60% são autônomos. Destes, 79% da população não apresentaram alteração nível glicêmico, 10% encontram-se nos níveis de risco em desenvolver a doença, sendo classificados como pré-diabéticos e 11% eram diabéticos. Embora 76% da população fosse do sexo feminino, 20% da população masculina foi diagnóstica com diabetes contra apenas 8% da população feminina. Todos os diabéticos foram identificados nas faixas etárias consideradas de maior risco para o desenvolvimento da doença: 6% entre 30 a 39 anos; 9% entre 40 a 59 anos e 6% acima de 60 anos. Os níveis de triglicerídeos demonstram que 52% da população possui valores considerados normais, 25% estão na zona limite, 21% apresentam níveis altos e 3% níveis muito altos, portanto, 23% da população possuem maior risco de desenvolver DM2. No que se refere ao estilo de vida dos participantes, 97% não relataram uma boa alimentação e 62% não praticam atividades físicas regulares. Nesse sentido, estudos têm demonstrado que dieta e o aumento da atividade física diminuem a resistência à insulina, diminuindo, assim, as chances de desenvolver o DM2. Portanto, conclui-se que ações voltadas para redução de fatores de risco modificáveis como estes são fundamentais na redução dos impactos do DM2.

Palavras-chave: Diabetes; Fatores de risco; Dislipidemia

Apoio: Universidade do Estado do Amazonas (UEA), autorizado pela Secretaria Municipal da Saúde (SEMSA/AM) e Laboratório Distrital Leste (LDL/AM) e financiado por recursos da Pró-Reitoria de Extensão e Assuntos Comunitários (PROEX/UEA).



OCORRÊNCIA DE OBESIDADE EM PACIENTES DO LABORATÓRIO DISTRITAL LESTE DA CIDADE DE MANAUS, AMAZONAS

Daniel Vitor Santos Soares¹; Larissa Nascimento Torres¹; Ana Beatriz Oliveira Barreto de Souza¹; Jéssica da Cruz Chagas²; Ângela Cristina Cardoso de Sales³; Edirany dos Santos Silva³; Jander Torres da Silva³; Rosilene Gomes da Silva Ferreira^{1,3}.
¹Universidade do Estado do Amazonas; ²Universidade Federal do Amazonas; ³Laboratório Distrital Leste - SEMSA. Email: dvss.bio17@uea.edu.br.

Nos últimos anos, a prevalência da obesidade vem aumentando significativamente em vários países do mundo. Este fato é preocupante, pois o excesso de gordura corporal está diretamente relacionado ao desenvolvimento de doenças crônicas, como hipertensão e diabetes. O objetivo desta pesquisa foi verificar a frequência de obesidade em pacientes atendidos no Laboratório Distrital Leste (LDL/SEMSA), da cidade de Manaus e definir os principais fatores de risco associados, visando orientar ações de prevenção e controle da doença. Trata-se de um estudo descritivo, com delineamento transversal, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Amazonas, sob o Parecer nº.247.750. Para caracterização do estado nutricional realizou-se uma análise do Índice de Massa Corporal (IMC), segundo as recomendações da Organização Mundial da Saúde. Para definição dos principais fatores de risco foi aplicado um questionário abordando: dieta, atividades físicas, hábitos deletérios, doenças e histórico médico familiar. A população estudada consistiu em 171 pessoas, de 19 a 84 anos de idade, sendo 74% do sexo feminino. A análise do IMC revelou que 24,6% apresentaram peso normal, 38,1% foram considerados pré-obesos, 26,6% obesos grau I (30,0-34,9 kg/m²), 8,1% obesos grau II (35-39,9 kg/m²) e 2,9% obesos grau III (≥40 kg/m²). Com relação à dieta, 90% da população não possui hábitos saudáveis, pois relataram baixa ingestão de frutas, fibras, verduras e legumes e elevada ingestão de gorduras saturadas/trans, com uso frequente de frituras, carboidratos simples, sódio, refrigerantes e alimentos processados. Quanto às atividades físicas, 61,5% dos participantes foram considerados sedentários, pois relataram não praticar o mínimo de 20 minutos de atividades com frequência de três vezes na semana. Em relação aos hábitos deletérios à saúde, observou-se que 26% ingere bebida alcoólica frequentemente e 7,1% faz o uso de tabaco. Quanto às doenças, 9,9% alegaram sofrer de diabetes e 30% de hipertensão. Destes, 88,2 e 83,7% relataram possuir histórico na família de diabetes e hipertensão, respectivamente. Vale destacar que 82,3% dos diabéticos e 83,7% dos hipertensos apresentam sobrepeso ou algum grau de obesidade, aumentando a probabilidade dessas doenças estarem associadas ao excesso de peso. Sendo assim, a frequência de obesos e pré-obesos na população estudada comprova estudos nacionais que demonstram o aumento da obesidade na população em diferentes estados, sendo necessário uma cooperação entre universidade e secretarias de saúde, visando a prevenção desse agravo com estímulo de atividades físicas e alimentação saudável, para o controle do excesso de peso/obesidade e doenças associadas, garantindo maior qualidade de vida para a população.

Palavras-chave: sobrepeso; fatores de risco; síndrome metabólica

Apoio: Universidade do Estado do Amazonas (UEA), autorizado pela Secretaria Municipal de Saúde (SEMSA/AM) e Laboratório Distrital Leste (LDL/AM) e financiado por recursos da Pró-reitoria de Extensão e Assuntos Comunitários (PROEX/UEA)



ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS EM GENES DE INTERLEUCINAS NO DIABETES MELLITUS E PERIODONTITE: ACHADOS DE UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Alessandro Luiz Araújo Bentes Leal¹; Felipe Rodolfo Pereira da Silva^{2,3}; Mariana Brasil de Andrade Figueira^{1,2}; Nayana Yared Batista²; Reyce Santos Koga²; Zinalton Gomes de Andrade²; Silvania Conceição Furtado²; José Fernando Marques Barcelos².
¹Centro Universitário do Norte; ²Universidade Federal do Amazonas; ³Faculdade Metropolitana de Manaus. Email: alessandroluisaraujo@gmail.com.

Periodontitis is a high prevalent disease that results in an intense immune-inflammatory disruption carrying out teeth loss. The disease is classified as multifactorial condition which behaviour conditions such as poor oral hygiene and alcohol consumption may contribute with periodontal damage. On the other hand, genetic factors are involved in periodontitis with polymorphic interleukin (IL) genes are involved in variations in host immune patterns response. Periodontitis does not affect the oral health, the disease is associated with several systemic conditions resulted by the release of inflammatory mediators in blood. One of these such systemic conditions is the Diabetes Mellitus (DM) characterized as a heterogeneous disease that range since the non-release of insulin by beta cells in pancreas (Type 1 – DM1) to increased insulin resistance (Type 2 – DM2), which the immune system has important role in pathophysiology aspect of DM. Several studies show the periodontitis being a risk factor for DM or the inverse relationship as truly. As well as, genetic studies has been focused in to evaluate the influence among polymorphisms in IL's, periodontitis and DM. However, the results remain contradictories. Therefore, this study aimed to assess the relationship between genetic variants in IL's genes and both these conditions. As methods, a systematic search was performed for studies published before 23 January 2019, with focus in IL's gene polymorphisms, periodontitis and DM by Odds Ratio value (OR), confidence intervals (CI) or genotypic and allelic frequencies. In addition, a sensitive bias risk evaluation was performed following the Cochrane Tools for Risk Bias Assessment. After the steps of screening and eligibility, nine genetic studies approaching polymorphisms in IL's periodontitis and DM were identified. Genotype frequencies in IL-1A and IL-1B polymorphisms (the -889 C/T and +3954 C/T, respectively) were not significantly different between periodontitis and DM patients ($P > 0.05$). However, there was a suggestion that the variant genotypes in IL-1A/IL-1B may aggravate the risk of periodontitis in DM2 patients. The genotype C/T in the -889 C/T polymorphism in IL-1A gene was considered as a variant that promoted a gene-environmental interaction because diabetic subjects bearing this heterozygous genotype had enhanced risk for periodontitis (OR = 2.53 [95% CI: 1.20-10.9], $P = 0.012$). On the other hand, significant association between the +3945 C/T polymorphism in IL-1B was found in diabetic subjects with severe form of periodontitis ($P = 0.06$). In conclusion, we have identified the IL-1A and IL-1B polymorphisms are strong gene candidates for periodontitis and DM development. We believe these data may be used for further genetic studies in Dentistry as well as inform future screening programs.

Palavras-chave: Periodontal disease; Genetic variation; Risk factor

Apoio: Não aplicável.



ANÁLISE DA INCIDÊNCIA DE SÍFILIS EM GESTANTES NO LABORATÓRIO DISTRITAL LESTE, MANAUS (AM)

Jéssica da Cruz Chagas³; Aldiane Passos de Oliveira²; Ângela Cristina Cardoso de Sales¹; Edirany dos Santos Silva¹; Jander Torres da Silva¹; Rosilene Gomes da Silva Ferreira^{1,2}. ¹Laboratório Distrital Leste; ²Universidade do Estado do Amazonas; ³Universidade Federal do Amazonas. Email: chagas.jdc@hotmail.com.

A sífilis é uma Doença Sexualmente Transmissível (DST), mas também pode ser transmitida de forma congênita, ocasionando sérias complicações ao nascituro. De acordo com o Ministério da Saúde a incidência da doença em recém-nascidos é considerada alta no Brasil. Os dados do Boletim Epidemiológico de 2016 mostra que, entre os anos de 2014 e 2015, a sífilis em gestantes teve uma elevação de 20,9% e a congênita de 19%. Portanto, é imprescindível a detecção e tratamento da doença durante os cuidados do pré-natal. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi verificar a incidência de gestantes com sífilis atendidas no Laboratório Distrital Leste (LDL), bem como os fatores de risco relacionados a doença. Esta pesquisa caracteriza-se como um estudo documental e retrospectivo, a partir do resultado de dois testes diagnósticos, o VDRL (Venereal Disease Research Laboratory), exame de rastreio não-treponêmico, e o FTA-Abs (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Test), teste confirmatório, com alta sensibilidade e especialidade. Foram avaliados dados de janeiro a dezembro de 2016, pois nos anos seguintes o teste confirmatório deixou de ser realizado devido a falta de recursos. Os dados foram obtidos por meio do programa eletrônico SoftLab® e do GAL (Gerenciador de Ambiente Laboratorial) e analisados quantitativamente. O estudo foi realizado mediante aprovação do Comitê de Ética da Universidade do Estado do Amazonas (UEA), sob número 3.140.866. Foram realizados 9.028 testes VDRL em gestantes, sendo 392 positivos para a sífilis. Contudo, esses valores incluem 102 exames de acompanhamento, isto é, periodicamente as gestantes diagnosticadas com sífilis refizeram o teste para verificar o progresso da doença. Portanto, foram registrados 290 casos novos de gestantes positivas para sífilis em 2016. A distribuição mensal dos casos positivos mostra um pico no mês de março, logo após o período de Carnaval. A respeito da idade das gestantes, é possível observar que o VDRL teve maiores índices positivos na faixa etária de 18 a 22 anos, totalizando 129 testes. Também é possível observar um alto índice de gestantes na faixa etária de 13 a 17 anos chegando a 47 menores de idade. Quanto às titulações, 140 gestantes apresentaram valores baixos, demonstrando que o tratamento durante o pré-natal foi eficaz em controlar a doença. Com relação ao FTA-Abs, os resultados apontam que 82% dos testes positivos na triagem do VDRL foram confirmados pelo teste treponêmico, 10% foram falso-positivos de VDRL e 8% não constavam no sistema. Este estudo demonstrou que apesar de facilmente prevenível, essa patologia permanece sendo um problema de saúde pública desafiador em gestantes. Entretanto, o conhecimento desse agravo entre as usuárias gestantes do LDL, permitirá propostas de sensibilização e conscientização entre as gestantes, bem como o tratamento precoce e mais direcionado.

Palavras-chave: Sífilis congênita / Congenital syphilis; Grávida / Pregnant; Exames diagnósticos / Diagnostic tests

Apoio: Secretaria Municipal de Saúde - SEMSA



DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO ZIKA VÍRUS NA CIDADE DE MANAUS, AMAZONAS

Isa Cristina Ribeiro Piauilino^{1,2}; João Bosco de Lima Gimaque¹; Luiz Henrique Maciel^{1,2}; Francielen de Azevedo Furtado¹; Yanka Karolinna Batista Rodrigues¹; Aline Cristiane Côrte de Alencar^{1,3}; Camila Bôtto de Menezes^{1,2}; Márcia da Costa Castilho¹.
¹Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado FMT-HVD; ²Universidade do Estado do Amazonas -UEA; ³Centro Universitário FAMETRO. Email: isa.crissy@gmail.com.

A Zika é uma doença febril aguda com duração de três a sete dias, transmitida principalmente pelo vetor *Aedes aegypti*. Isolado pela primeira vez em 1947 na Uganda, seguiu a mesma rota dos arbovírus DENV 1-4 e CHIKV, migrando pela Oceania, e sendo disseminado para as regiões da América Central e Caribe, chegando ao Brasil no final de 2013, com transmissão confirmada em 2015, no Nordeste. A doença foi considerada pela Organização Mundial de Saúde uma emergência de saúde pública, devido às complicações neurológicas relatadas durante a epidemia, e estando associada ao aumento do número de casos de microcefalia e síndrome de Guillain-Barré. O objetivo do estudo foi diagnosticar e caracterizar molecularmente o vírus Zika circulante na cidade de Manaus. No período de 27/07/2017 a 31/05/2018, pacientes com síndrome exantemática aguda febril ou afebril, até o 5º dia do início dos sintomas foram atendidos pela equipe assistencial da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, que após consentimento formal, realizou-se a coleta de amostras de sangue (plasma) e urina; extração e purificação dos ácidos nucleicos (RNA/DNA) viral para cada amostra, com kit comercial automatizado Viral MaxWell16 (Promega) e a detecção do ZIKV-RNA, pela técnica da PCR em tempo real (RT-qPCR), com um conjunto de kits Molecular ZDC (Biomanguinhos). Foram selecionadas amostras com os menores valores de Ct para a execução da PCR convencional descrito por LANCIOTTI, et al, 2008, obtendo um fragmento de 400 pb; purificados conforme protocolo descrito por SAMBROOK E RUSSEL, 2001, e sequenciadas em Analisador Genético ABI 3130XL (Applied Biosystems). A edição e alinhamento das sequências obtidas foi realizada no Programa BioEdit v.7.1.3.0 (HALL, 1999), com as sequências de referência dos genótipos conhecidos do ZIKV obtidas no GenBank. Para caracterização dos genótipos, as sequências foram submetidas à análise filogenética utilizando o Programa MEGA v.6.05 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (TAMURA, 2013). Participaram do estudo 367 pacientes; idade média de 35,7 anos (18 a 72 anos); a maioria do sexo feminino (69,5%) e procedentes de Manaus (99,1%). Em 177 (48,2%) foi possível a detecção do ZIKV-RNA, pela RT-qPCR. Foram selecionadas amostras (plasma e urina) que apresentaram os maiores números de cópias iniciais de cDNA (Plasma/Ct = 19,82 a 29,26), (Urina/Ct = 23,02 a 26,88). Das 35 amostras, em cinco foi possível a obtenção de fragmento para o sequenciamento genético. A edição e alinhamento foi realizado com 26 sequências de referências, e gerado uma árvore filogenética com 291 nucleotídeos. Todas foram agrupadas e caracterizadas como pertencentes a linhagem Asiática. Este estudo foi o primeiro a caracterizar o ZIKV circulante em Manaus, com diferenciação genética, em comparação com as demais cepas encontradas no Brasil.

Palavras-chave: ZIKV; filogenia; Brasil

Apoio: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM); Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde (SVS/MS); Sistema Único de Saúde (SUS)



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPLASMODIAL DE EXTRATOS DE FUNGOS AQUÁTICOS DA AMAZÔNIA

Gabriel de Oliveira Rezende¹; Marta Rodrigues de Oliveira²; Ivanildes Dos Santos Bastos³; Yury Oliveira Chaves³; Patrícia Puccinelli Orlandi Nogueira³; Afonso Duarte Leão de Souza^{2,4}; Antônia Queiroz Lima de Souza^{1,2,5}. ¹PPG-MBT, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus/AM; ²PPG-BIONORTE, Universidade Federal do Amazonas, Manaus/AM; ³Centro de Pesquisa Instituto Leônidas Maria Deane - FIOCRUZ, Manaus/AM; ⁴Departamento de Química, Universidade Federal do Amazonas, Manaus/AM; ⁵Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus/AM. Email: gabrielrezende07@gmail.com.

Nas últimas três décadas, o crescente aumento de estudos envolvendo fungos aquáticos resultou na descoberta de diversos compostos bioativos, com grandes potenciais para serem utilizados na produção de novos fármacos com atividades antimicrobianas. A malária, apesar de ser uma doença antiga, ainda demonstra forte influência sobre a saúde humana, sendo umas das doenças mais graves em países com climas tropicais e subtropicais. O rápido crescimento da resistência de protozoários causadores da malária contra as drogas disponíveis na atualidade gera uma necessidade urgente de novas abordagens terapêuticas. No presente estudo, foi investigada a atividade antimalárica dos extratos obtidos do cultivo submerso de 14 fungos aquáticos da Amazônia, sendo 14 do meio líquido de cultivo e outros 14 do micélio. A atividade foi avaliada contra *Plasmodium falciparum* (FCR3), por citometria de fluxo, pela técnica tradicional da queima de vela em dessecador, fornecendo uma atmosfera rica em gás carbônico e pobre em oxigênio. As cepas foram mantidas em cultivo no meio RPMI incompleto com 10% de soro humano e alimentadas com eritrócitos humanos normais A+ e incubadas a 37 °C. O teste antiparasitário dos extratos foi realizado em triplicata com 2% de hematócrito e 3 a 5% de parasitemia utilizando a quinina como droga de referência antimalárica. As soluções estoque foram preparadas em dimetilsulfóxido (DMSO 0,02 – 0,05% de concentração final) e diluídas seriadamente em meio completo (50 a 0,39 µg mL⁻¹ em oito diluições). A leitura foi realizada em 72 h com contagem da porcentagem da parasitemia por citômetro de fluxo FAC-SCAN com identificação do parasita através do brometo de etídio. Após, foi calculada a inibição do crescimento parasitário no software GraphPad Prism V6 de acordo com a fórmula: % Inibição = 100 – [(%Fluorescência amostra – %Fluorescência Eritrócitos sadios) / (%Fluorescência Controle – %Fluorescência Eritrócitos sadios) x 100]. Dos fungos testados, o fungo M02 apresentou atividades satisfatórias no extrato AcOEt do meio líquido, com inibição parasitária de 84,25% na concentração de 50 µg/mL. No extrato AcOEt/MeOH do micélio, com 86,74% e 90,85% de inibição parasitária nas concentrações de 50 e 25 µg/mL, respectivamente. O fungo M10 também apresentou atividade acima de 80%, com uma taxa de inibição de 83,92% do extrato AcOEt do meio líquido na concentração de 25 µg/mL. Os resultados obtidos foram promissores, mostraram que podem vir a ser uma potencial fonte de compostos que atuarão frente à malária.

Palavras-chave: Fungos aquáticos; *Plasmodium falciparum*; Citometria de fluxo

Apoio: CAPES, CAPES CT-AMAZÔNIA, CNPq, FAPEAM, FINEP.



INVESTIGAÇÃO DOS SNPS *RS2943640* E *RS2943641* NO GENE *IRS1* EM PESSOAS COM DIABETES *MELLITUS* TIPO 2 NO AMAZONAS.

Marjory Ximenes Rabelo¹; Lucivana Prata de Souza Mourão¹; Spartaco Astolfi Filho²; Adolfo José da Mota². ¹Universidade do Estado do Amazonas; ²Universidade Federal do Amazonas. Email: marjoryximenes@gmail.com.

Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2) é uma doença multifatorial, resultante da interação entre fatores genéticos, ambientais e epigenéticos. A hiperglicemia crônica característica se deve principalmente à sinalização insulínica ineficiente na célula alvo, em geral por alterações estruturais/funcionais de componentes moleculares da via decorrentes de mutações de base única nos genes que os codifica. Uma proteína importante nessa cascata da sinalização é o substrato do receptor da insulina, *IRS1*, codificado pelo gene *IRS1*. Vários SNPs localizados na região reguladora do gene, ou região codificadora, já foram correlacionados com a DM2, assim estabelecer um painel genético relacionado à DM2 pode contribuir para incrementar as ferramentas preditoras do risco de desenvolvimento da doença, em especial na população onde a carga genética foi dosada. O objetivo do trabalho foi determinar a ocorrência dos SNPs *rs2943640* e *rs2943641* do gene *IRS1*, em pessoas do estado do Amazonas com diagnóstico clínico conclusivo para a DM2. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). A informação genética foi acessada a partir da extração de DNA do sangue venoso periférico de 21 voluntários. Os *loci rs2943640* e *rs2943641* foram amplificados com iniciadores específicos depositadas e em seguida sequenciados pelo método de interrupção de cadeia. As sequências obtidas foram analisadas com auxílio do programa FinchTV. A ocorrência de mutação foi avaliada por comparação de sequências no banco de DNA genômico humano do GenBank usando ferramenta *nucleotide* BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). O sequenciamento de DNA revelou que todos os 21 participantes da pesquisa portavam os dois SNPs, onde 18 (86%) são homocigotos e 3 (14%) são heterocigotos para o SNP *rs2943640* (A>C); 18 (86%) são homocigotos e 3 (14%) são heterocigotos para o SNP *rs2943641* (T>C). Esses SNPs são reportados com frequência em populações da Europa e do Leste Asiático. A frequência com que ocorrem no estado do Amazonas pode ser resultado do intenso fluxo gênico para o estado em função dos ciclos econômicos da borracha e do Polo Industrial de Manaus. Esse projeto se propôs a verificar a ocorrência dos SNPs *rs2943640* e *rs2943641* em portadores de DM2 no estado do Amazonas. Foi observado que são muito frequentes, pois foram encontrados em todos os participantes da pesquisa.

Palavras-chave: Polimorfismos; DM2; *IRS1*

Apoio: Apoio financeiro (FAPEAM, CNPq e CAPES)



SANGUE COMO AMOSTRA CLÍNICA NA IDENTIFICAÇÃO DO DNA DO *MYCOBACTERIUM LEPRAE* POR MEIO DA QPCR DE PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM HANSENÍASE ATENDIDOS NA FUNDAÇÃO ALFREDO DA MATTA

Michelle Carvalho do Espírito Santo¹; André Luiz Leturiondo²; Cynthia de Oliveira Ferreira²; Camila Gurgel dos Santos da Silva². ¹Universidade do Estado do Amazonas; ²Fundação de Dermatologia Tropical e Venereologia Alfredo da Matta. Email: michelle.cdes@gmail.com.

Introdução: a hanseníase é uma doença crônica, de evolução lenta e de alto poder incapacitante, causada principalmente pelo *Mycobacterium leprae*. A doença atinge milhares de pessoas pelo mundo com 210.671 novos casos de hanseníase registrados em 2017. O diagnóstico precoce e a poliquimioterapia (PQT) são imprescindíveis para a redução dos casos. Porém, devido à complexidade de suas manifestações clínicas, não existe um teste específico que consiga diagnosticar e classificar individualmente doença, principalmente em casos difíceis da doença como os paucibacilares (formas Indeterminadas, Neural Pura ou de lesão única). **Objetivos:** avaliar o sangue periférico, como amostra clínica, na detecção do DNA do *M. leprae* em pacientes com hanseníase atendidos na Fundação Alfredo da Matta (FUAM) e analisar sua sensibilidade quanto ao auxílio ao diagnóstico da doença. **Metodologia:** trata-se de um estudo observacional transversal, submetido e aprovado pelo CEP da instituição, realizado a partir de ensaios de detecção de DNA do *M. leprae* em 24 amostras de DNA extraídos de sangue periférico de indivíduos com diagnóstico confirmado de hanseníase – 12 paucibacilares (PB) e 12 multibacilares (MB) – utilizando a técnica molecular qPCR em Tempo Real, padronizada para amplificar os seguintes genes: 16SrRNA, Ag 85B e RLEP, utilizando sondas TaqMan específicas. **Resultados:** entre as amostras PB testadas para o DNA bacteriano, não houve amplificação para nenhum dos 3 genes estudados. Somente houve detecção dos genes nos indivíduos MB, sendo 2 (16,6%) para o gene 16S rRNA, o Ag 85B amplificou em 4 amostras (33,33%) e o RLEP que é uma região que repete bastante no DNA do *M. leprae* foi o que apresentou maior número de amostras amplificadas, totalizando 6 indivíduos (50%). Duas do total de amostras amplificadas foram positivas nos três genes testados. **Conclusão:** Levando em conta os genes analisados e a importância de auxílio ao diagnóstico de casos difíceis (formas PB), o sangue não foi uma boa amostra clínica para detecção do DNA do bacilo, em razão da sua baixa sensibilidade em relação aos genes estudados, uma vez que tais genes já são usados em rotinas laboratoriais utilizando biópsia como amostra clínica.

Palavras-chave: qPCR; *Mycobacterium leprae*; Sangue

Apoio: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM



POTENCIAL ANTIBIOFILME DA N-ACETILCISTEÍNA SOBRE O BIOFILME ORAL.

Thiago Moreira da Silva¹; Daniel Saito¹; Gemilson Soares Pontes²; Cristiane Pereira Borges Saito¹. ¹Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Manaus - Amazonas; ²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Departamento Sociedade, Ambiente e Saúde, Laboratório de Virologia, Manaus - Amazonas. Email: tmfarmacia@gmail.com.

Os biofilmes constituem um importante fator de virulência para patógenos humanos, uma vez que conferem resistência aos microrganismos que estão inseridos nesta estrutura, estando relacionados com a maioria das infecções humanas. A placa dentária é considerada um biofilme oral formado por uma ampla gama de microrganismos multiespécies, representando a principal causa das doenças infecciosas mais prevalentes da cavidade oral como a cárie dentária e infecções periodontais e endodônticas. O uso da N-acetilcisteína (NAC), um agente mucolítico amplamente empregado em infecções respiratórias tem sido proposto como alternativa para o controle do biofilme em infecções humanas. Alguns estudos in vitro relataram que a NAC diminui a formação de biofilme por uma variedade de espécies bacterianas de interesse médico, indicando um papel potencial como um agente antibiofilme. Portanto, se outros estudos reforçarem esses dados, a NAC pode ser uma alternativa para a prevenção ou tratamento das infecções associadas ao biofilme oral. O objetivo do presente trabalho é avaliar o potencial antibiofilme da N-acetilcisteína através da inibição da formação de biofilme multiespécie formado por *Streptococcus* orais (*S. mutans* ATCC UA159, *S. sanguinis* ATCC BAA-1455, *S. mitis* ATCC 49456, *S. salivarius* ATCC 7073, *S. gordonii* ATCC 35105 e *S. oralis* ATCC 10557) responsáveis pela formação inicial do biofilme oral. Para a produção de um biofilme formado por todas as espécies (multiespécie), um inóculo bacteriano de cada espécie foi padronizado na mesma concentração (1×10^6 UFC/mL) em meio de biofilme (BM) acrescido de sacarose a 1% e foram então misturados em proporção iguais (inóculo multiespécie). Posteriormente, 100 μ L de NAC em diferentes concentrações e 100 μ L do inóculo bacteriano multiespécie foram adicionados aos poços de placas de microtitulação previamente sensibilizados com saliva para formação do biofilme. O ensaio colorimétrico de cristal violeta foi utilizado para quantificar a biomassa total de biofilme formado após tratamento. Todas as concentrações testadas mostraram inibir a formação do biofilme multiespécie, inibindo as seguintes concentrações de 0,78; 1,56; 3,12; 6,25; 12,5 e 25 mg/mL, respectivamente, 1,76; 13,79; 15,04; 71,93; 92,99 e 94,49 % a sua formação. Após análise estatística pelo teste de variância one-way ANOVA e Dunnett Test (GraphPad Prism versão 5.04) que compara todas as concentrações testadas com o controle negativo (sem tratamento) nota-se significância estatística ($P < 0.05$) nas concentrações acima de 6,25 mg/mL. Acredita-se que o principal mecanismo de ação da NAC consiste em reduzir a produção de polissacarídeos extracelulares, reduzindo conseqüentemente a adesão de bactérias às superfícies já que os polissacarídeos promovem a adesão irreversível e maturação dos biofilmes, o que pode explicar os resultados obtidos. Estes resultados sugerem a possibilidade de uso da N-acetilcisteína como agente profilático para prevenção da formação do biofilme oral e conseqüentemente das infecções orais.

Palavras-chave: Biofilme; N-acetilcisteína; antibiofilme



MICRODETERMINAÇÃO DE FÓSFORO EM BIOENSAIO PARA AVALIAR A CAPACIDADE DE FIXAÇÃO DE FOSFATO INORGÂNICO POR BACTÉRIAS

AUGUSTO BUCKER¹; Bruna Frazão²; Josiane Celerino¹; Kevyn Melo²; Sheyla Queiroz³; Yasmin Verçosa Kramer¹; Larissa Kirsch². ¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) - Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (LFBV). Av. André Araújo, 2936, Coroado, 69060-001, Manaus, AM - Brazil; ²Universidade do Estado do Amazonas (UEA) - PPG Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais (PPG-MBT). Av. Carvalho Leal, 1777, Cachoeirinha, 69065-001, Manaus, AM - Brazil; ³Instituto Federal do Amazonas (IFAM) - Laboratório de Tecnologia de Alimentos. Av. Sete de Setembro, 1975, Centro, 69020-120, Manaus, AM - Brazil. Email: abucker@gmail.com.

O fósforo (P) é um elemento essencial à vida, pois a maioria dos processos metabólicos de qualquer organismo depende da presença desse elemento. Está envolvido nas vias de transferência de energia (moléculas de ATP e NADPH⁺); replicação e transcrição do material genético; e como constituinte das membranas celulares. Depois do nitrogênio, o P é o segundo macronutriente essencial para o crescimento das plantas, entretanto, a maior parte deste nutriente presente no solo se encontra na forma de fosfato inorgânico (Pi), que não podem ser utilizados pelas mesmas. Muitos microrganismos, em destaque aqueles encontrados no solo, são capazes de solubilizar o fósforo inorgânico ao excretar ácidos orgânicos. A capacidade de absorção/fixação de fósforo por microrganismos, constituem uma oportunidade para aplicação na biotecnologia agrícola e industrial, pois podem auxiliar na descontaminação de lodos ou terras contaminadas com metais pesados associados ao fósforo. Nesse sentido, o presente experimento objetivou avaliar a capacidade de bactérias (*Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens* e *Chromobacterium violaceum*) em fixar fosfato. Foram avaliadas três concentrações de fosfato inorgânico (Pi 4mM, 2 mM e 1mM). As análises foram realizadas no complexo de Laboratórios de Biotecnologia da Universidade do Estado do Amazonas, Manaus-AM. As culturas foram reativadas em meio LB (24 h), lavadas em água destilada, inoculadas em meio A por 16 horas com agitação à temperatura de 37°C. As células foram centrifugadas por 10 minutos a 6000 rpm e o sobrenadante coletado e diluído 10 vezes quando, então, foi misturado a um volume do reagente de trabalho e incubado a 37°C por duas horas. O experimento foi realizado com a utilização de soluções de Pi nas concentrações de 4 mM, 2 mM e 1mM. A leitura da densidade óptica (DO) foi realizada em espectrofotômetro na absorvância de 820nm. Os valores absolutos da DO_{820nm} foram convertidos em unidades de concentração de Pi através da equação linear obtida através dos valores plotados na curva de calibração. Todos os isolados foram capazes de solubilizar fosfato no meio de cultura nas diferentes concentrações utilizadas. Os isolados *P. fluorescens* e *S. marcescens* apresentam maior potencial de absorção de fosfato no meio de cultura na concentração de 4 mM, com cerca de 51,5% e 48,6%, respectivamente, em comparação com a *C. violaceum* que apresentou 37%. Nas demais concentrações de 2 mM observamos baixa fixação de fosfato pelos isolados, em média de 26 e 18% para *P. fluorescens* e *S. marcescens*, respectivamente. E na concentração de 1 mM em média de 66% para ambos isolados, exceto *C. violaceum* que foi testado apenas na concentração de 4 mM. Os resultados mostraram o potencial das bactérias fixadoras de fosfato em capturar fosfato inorgânico. Indicando um potencial uso biotecnológico desses microorganismos como biorremediadores.

Palavras-chave: Biorremediação / bioremediation; Biotecnologia agrícola / agricultural biotechnology; bactéria solubilizadora de fosfato / phosphate solubilizing bacteria (PSB)

Apoio: Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais - PPG-MBT da Universidade do Estado do Amazonas - UEA.



AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE PIRACUÍ COMERCIALIZADO EM FEIRAS LIVRES DA ZONA LESTE DE MANAUS

Sâmia Karyne Gomes de Sá¹; Andria da Costa Loureiro¹; Denilson Magalhães Nogueira¹; Sara de Souza Comapa¹; Thalita Caroline Lima Alves¹; Lourdes Mylla Rocha Perdigão¹; Antônia Queiroz Lima de Souza¹. ¹Universidade Federal do Amazonas. Email: samiagomes88@gmail.com.

O piracuí é uma farinha de peixe produzida, geralmente, a partir do acari-bodó sendo muito consumida na região Norte do país, cuja produção se dá de forma artesanal. Sua denominação de acordo com ADEPARA N°3250/2018 refere-se ao peixe sem cabeça e sem casco ou sem pele, cozido ou assado, triturado e com o mínimo desejável de ossos e de espinhas. Devido seu modo de fabricação caseiro, fatores como falta de atenção operacional, matéria-prima e contaminação cruzada podem ocasionar perigos de natureza física e biológica influenciando na qualidade do produto final. Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar o padrão microbiológico de farinhas de piracuí obtidas de quatro diferentes mercados (A, B, C e D) da zona Leste de Manaus. Foram empregadas no presente estudo quatro amostras do produto derivado de peixe, colhidas em diferentes localidades de forma aleatória. Utilizou-se o método de tubos múltiplos para coliformes sendo homogeneizados 25 g de farinha de peixe em 225 mL de água peptonada a 0,1% e realizada diluições de 10^{-1} a 10^{-3} . Efetuou-se o teste presuntivo com Caldo Lauril Sulfato e confirmativo com Caldo Verde Brilhante, para coliformes totais a 35°C/48 h e EC a 45°C/48 h, para termotolerantes, todos realizados em triplicata. Também foram utilizados os meios PCA, meio geral de contagem bacteriana e XLD, para *Shigella* e *Salmonella*. O teste presuntivo foi positivo apenas para as amostras A e B, indicando possível contaminação durante o beneficiamento, armazenamento e/ou transporte do alimento. Enquanto nas amostras das feiras C e D, houve apenas turvamento sem formação de gás, sugerindo possível contaminação não originada de coliformes. O parâmetro referente a coliformes totais foi nulo para todas as amostras, exceto para amostra B, indicando que o mesmo possa ter sido produzido em condições higiênicas insatisfatórias. Além disso, tanto o teste para *E.coli* como para *Salmonella* foram negativos, estando de acordo com os padrões microbiológicos, sendo o primeiro um indicador higiênico-sanitário relacionado a possível contaminação por material fecal. A contagem bacteriana em meio PCA dá destaque às amostras das feiras B e C, pois foram as que apresentaram contagem padrão mais alta, o que sinaliza possível baixa qualidade higiênica das operações e/ou matéria-prima. A partir dos resultados pode-se concluir que apesar de haver presença de microrganismos, como indicado no teste presuntivo, todas as amostras estão de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira. Ainda assim, são recomendadas melhorias nas condições higiênico-sanitárias desde a comercialização do pescado até a obtenção do produto final, tornando-o seguro para o consumidor.

Palavras-chave: Piracuí; Análise microbiológica; Feira de Manaus

Apoio: LMA- Laboratório de Microbiologia de Alimentos



COMPOSIÇÃO E POTENCIAL FUNCIONAL DE ARQUEIAS EM RESPOSTA A MUDANÇA DE USO SOLO NA AMAZÔNIA ORIENTAL.

Luis Fernando Merloti²; Siglea Sanna de Freitas Chaves¹; Plínio Barbosa de Camargo¹; Tsai Siu Mui¹. ¹Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo (CENA/USP); ²Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo (ESALQ/USP). Email: merloti.fernando@gmail.com.

O objetivo deste estudo foi avaliar a estrutura, composição e potencial funcional de comunidades de arqueias em solos amazônicos em resposta a conversão floresta-agricultura e ao uso do solo ao longo do tempo. Amostras de solo foram coletadas na Floresta Nacional do Tapajós e campos agrícolas adjacentes estabelecidos a 2, 8 e 20 anos. Adicionalmente, foi realizado um experimento em casa de vegetação para cultivar plantas de soja nos solos coletados e avaliar a comunidade de arqueia presente na rizosfera dessas plantas sob efeito do uso do solo ao longo do tempo. A partir de amostras de solo rizosférico e não-rizosférico coletadas na fase de florescimento das plantas, foram realizadas análises químicas e extração de DNA total. A partir do DNA total, foram realizadas análises de sequenciamento em larga escala do gene 16S rRNA de arqueias (plataforma Illumina MiSeq 600c) e PCR em tempo real dos genes de arqueias 16S rRNA e amoA. Mais de 98% da abundância relativa de sequências de arqueias foram classificadas como pertencentes ao filo Thaumarchaeota. A análise de redundância indicou o P e o Zn como os principais parâmetros químicos do solo responsáveis pela distribuição das dessas comunidades. Além disso, a análise de PERMANOVA indicou uma segregação entre as amostras de floresta primária e as amostras de solo agrícola. Através da análise de Spearman, verificou-se que o filo de Thaumarchaeota apresentou correlação positiva com os parâmetros químicos pH, P, Cu e Zn e negativa com H + Al, B e Fe. O índice de Shannon revelou uma maior diversidade de arqueias em solos de floresta primária em relação aos solos de agricultura rizosféricos e não-rizosféricos. O número de cópias do gene 16S rRNA de arqueia foi maior no solo não-rizosférico de 2 anos (1.53×10^8 Nº de cópias de DNA por grama do solo) e no solo rizosférico de 20 anos (1.03×10^8) quando comparado ao solo rizosférico de 8 anos (8.71×10^8). A abundância do gene amoA de arqueia foi maior no solo rizosférico de 2 e 8 anos (7.30 e 5.95×10^6 respectivamente) quando comparados ao solo de floresta primária (2.58×10^6), solo não rizosférico de 8 (1.39×10^6) e de 20 anos (1.85×10^6). Em conclusão, o uso da terra ao longo do tempo influenciou a abundância de arqueias e a mudança de uso do solo alterou sua composição e diversidade. O filo Thaumarchaeota mostrou ser predominante em todos os ambientes avaliados. Além disso, os resultados indicam uma predominância das arqueias oxidantes de amônia em todos os solos, principalmente nos rizosféricos.

Palavras-chave: Ecologia microbiana; Sequenciamento em larga escala; PCR em tempo real

Apoio: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)



IDENTIFICAÇÃO DE *STREPTOMYCES* PRODUTORAS DE COMPOSTOS ANTIFÚNGICOS PARA CONTROLE DE FITOPATÓGENOS

Ingride Jarline Santos da Silva^{1,2,3}; Joyce Belentani de Souza Maciel³; Kelvin Lee Taveira de Araujo³; Josenilda Carlos dos Santos^{3,4}; Gilvan Ferreira da Silva^{3,5}. ¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA; ²Universidade do Estado do Amazonas-UEA; ³Embrapa Amazônia Ocidental. Email: ingridejarline@hotmail.com.

O controle biológico por meio do uso de micro-organismos, pode ser considerado como uma alternativa para diminuir o uso de defensivos químicos no controle de fitopatógenos que afetam plantas de interesse agrícola. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi identificar e quantificar o potencial de inibição de bactérias previamente selecionadas contra fungos fitopatogênicos. Quatro actinobactérias com potencial antimicrobiano, isoladas de sedimentos do Rio Madeira (MAD 24, MAD 42, MAD 51 e MAD 189), foram identificadas por meio de análise morfomolecular, com base em dados de microscopia eletrônica de varredura e sequenciamento do gene 16S rDNA. O potencial de inibição (PIC) contra quatro fitopatógenos: *Colletotrichum siamense*, *Pseudopestalotiopsis gilvanis* sp. nov., *Neopestalotiopsis formicarum* e *Fusarium decemcellulare*, foi obtido *in vitro* por meio da metodologia de cultura dupla, em meio BDA. A média do percentual de inibição (PIC) após 10 dias variou de 46% a 74% dependendo das actinobactérias testadas, onde o isolado MAD24 apresentou melhor desempenho contra *N. formicarum* (72% \pm 0.5), MAD42 contra *C. siamense* (72% \pm 0.5), MAD51 contra *C. siamense* (74% \pm 2.4) e MAD189 contra *N. formicarum* (69% \pm 0.5). Todos os isolados foram identificados como membros do gênero *Streptomyces*, no qual são conhecidos por apresentarem alto índice de compostos antimicrobianos. O isolado MAD24 está filogeneticamente mais relacionado à espécie *S. costaricanus*, o MAD42 e MAD189 à *S. misionensis* e o MAD51 à *S. owasiensis*. Os isolados apresentaram morfologias diferentes entre si, sugerindo que estes pertencem a diferentes espécies. A inibição aqui identificada foi maior do que outras espécies de *Streptomyces* utilizadas no controle de doenças (Patente Nº EP3003047B1) indicando o potencial de MAD24, MAD42, MAD51 e MAD189 na obtenção de produtos e processos para controle dos fitopatógenos testados.

Palavras-chave: actinobactérias; antimicrobianos; controle biológico

Apoio: FAPEAM, Embrapa, INPA, CNPq e CAPES



POTENCIAL DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO POR FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DO RIO JURUÁ

Diego Pereira Guimarães¹; Sergio Díaz Gallo²; Caio César Barbosa Campos³; Gilvan Ferreira da Silva². ¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; ²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; ³Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas. Email: diego.p.guimaraes@gmail.com.

O fósforo é um dos macronutrientes mais importantes para o crescimento das plantas, presente em estruturas orgânicas e inorgânicas. Este é absorvido pelas plantas na forma de fosfato iônico PO_4^{3-} . A deficiência desse nutriente na maioria dos solos tropicais limita o crescimento de diferentes cultivares, uma vez que o fósforo solúvel é bastante reativo com os elementos Fe, Ca e Al, formando compostos com baixa solubilidade. Existem diversos grupos de microrganismos capazes de solubilizar fosfatos inorgânicos e orgânicos, tais como as bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium*, e também fungos filamentosos, como *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma*. O objetivo deste trabalho foi selecionar fungos filamentosos com potencial de solubilização de fosfato isolados dos sedimentos do rio Juruá. A solubilização de fosfato, foi avaliada utilizando o meio NBRIP suplementado com 3g.L⁻¹ de fosfato de cálcio ($Ca_3(PO_4)_2$), fosfato de ferro ($FePO_2$) e fosfato de alumínio ($AlPO_4$). Dos 42 isolados morfológicamente diferentes analisados, 18 apresentam capacidade para solubilizar fosfato de cálcio, 11 fungos apresentam capacidade para solubilizar fosfato de ferro, e 10 apresentam capacidade para solubilizar fosfato de alumínio. Destes, apenas 07 isolados conseguem solubilizar as 03 fontes de fosfato, 05 deles conseguem solubilizar 02 fontes de fosfato e 09 solubilizam apenas uma única fonte de fosfato. Esses resultados evidenciam que a biodiversidade de fungos filamentosos do rio Juruá possuem atividades funcionais que podem ser explorados para produção de biofertilizantes, auxiliando assim na agricultura das áreas tropicais, especialmente nos solos amazônicos que são ricos em Fe.

Palavras-chave: fósforo; biofertilizante; amazônia



ESTUDO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DA POLPA DE TUCUMÃ (*Astrocaryum aculeatum*) IN NATURA COLETADO EM UMA COMUNIDADE NO MUNICÍPIO DE RIO PRETO DA EVA, AMAZONAS, BRASIL.

Sthéfanny Caroline Mendes Azevedo¹; Luana Maquiné Vieira¹; Remigio Cenepo Escobar Rodrigues¹; Geverson Façanha da Silva¹; Sergio Duvoisin Junior¹; Patrícia Melchionna Albuquerque¹. ¹Universidade do Estado do Amazonas. Email: sthe_caroline@hotmail.com.

O tucumã, também conhecido como tucumã do Amazonas, comumente encontrado na Região Amazônica, é o fruto oriundo da palmeira *Astrocaryum aculeatum*. Este fruto possui potencial econômico local, uma vez que é muito apreciado na gastronomia regional. Caracteriza-se como um fruto pouco ácido, com baixos teores de açúcar, alto teor de β -caroteno e alto valor energético. Tais características fazem com que o tucumã seja um fruto de interesse biotecnológico. Dada a pequena quantidade de estudos sobre a espécie, no que diz respeito às suas características nutricionais e sua viabilidade biotecnológica, buscou-se avaliar a atividade antioxidante através do sequestro de radicais DPPH• e proteção contra peroxidação pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico; o fator de proteção solar (FPS), através de análise espectrofotométrica; e a atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Escherichia coli* (ATCC 35218) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), através da redução da resazurina; e contra o fungo *Candida albicans* (ATCC 12031), através da redução do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólico (TTC), pela técnica de diluição em microplaca. Também foi realizada a caracterização fitoquímica, com avaliação qualitativa das classes químicas dos extratos da polpa do tucumã. Foi realizada ainda a análise de quercetina por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Constatou-se a presença de flavonoides, taninos, alcaloides e saponinas no extrato metanólico e alcaloides e esteroides no extrato hexânico. Não foi possível detectar quercetina nos extratos. O extrato metanólico da polpa de tucumã apresentou notável atividade antioxidante através da técnica de sequestro de radicais DPPH•, sendo apenas 8,65 vezes menos eficiente (CE50 = 154,34 $\mu\text{g/mL}$) que o padrão quercetina (CE50 = 17,83 $\mu\text{g/mL}$) e 7,96 vezes menos eficiente que o padrão ácido ascórbico (CE50 = 19,37 $\mu\text{g/mL}$). A atividade antioxidante verificada através da proteção contra peroxidação pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico apresentou melhores resultados, com atividade antioxidante apenas 3,98 vezes menos eficiente (CP50 = 466,08,34 $\mu\text{g/mL}$) que o padrão quercetina (CP50 = 116,9 $\mu\text{g/mL}$). A ação protetora contra a oxidação do β -caroteno se mostrou mais eficiente que a ação de sequestro de radicais DPPH•, demonstrando que o extrato metanólico da polpa de tucumã é mais eficiente na proteção contra oxidação do que no sequestro de radicais livres. Foi verificado FPS de 5,65 no extrato metanólico e ausência de atividade de proteção solar no extrato hexânico. Os extratos metanólico e hexânico da polpa de tucumã não apresentaram atividade antimicrobiana contra as cepas patogênicas testadas. Com este estudo, foi possível verificar que a polpa do tucumã coletado em uma comunidade no município de Rio Preto da Eva-AM, possui potencial biotecnológico interessante para a indústria de cosméticos, alimentícia e farmacêutica, tendo como principal característica a atividade antioxidante.

Palavras-chave: tucumã; atividade antioxidante; potencial biotecnológico

Apoio: Universidade do Estado do Amazonas (UEA); Grupo de Pesquisa Química Aplicada à Tecnologia (QAT/UEA); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM).

