

Revista do Centro de Estudos Ambientais – UNESP, Rio Claro, Brasil

Volume 7 • Número 1 • Suplemento 1 • Jan/Jun 2007

**III SIMPÓSIO EM
MICROBIOLOGIA APLICADA**



**19 a 21 de Abril
de 2007**



Organização - Curso de Pós Graduação em Microbiologia Aplicada

PROGRAMAÇÃO

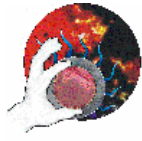
EDITORIAL

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO

Holos Environment

Volume 7 • Número 1 • Suplemento 1 • Jan/Jun 2007
ISSN: 1519-8634 (ON-LINE) / ISSN: 1519-8421 (CD-ROM)



III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

Universidade Estadual Paulista - UNESP

Reitor: Marcos Macari

Vice-Reitor: Herman Jacobus Cornelis Voorwald

Centro de Estudos Ambientais - CEA

Diretor Executivo: Roberto Naves Domingos

Vice-Diretora Executiva: Ana Luiza Brossi Garcia

Holos Environment

Editores: Deisy Piedade Munhoz Lopes

Nivar Gobbi

Editoração Eletrônica

Jorbson Antonio Giovanni

Reginaldo César Bortolin

Apoio Editorial

Sara Cristina Galvão

Edério D. Bidóia

Secretaria Executiva

Maria Gleide Lopes Rodrigues Palatin

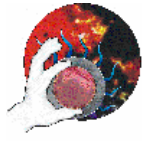
Isabel Marisilvia Vicente

APRESENTAÇÃO

A *Holos Environment* é aberta a qualquer publicação original que contribua para o desenvolvimento das ciências ambientais e nela podem ser publicados artigos científicos, notas prévias, "short communications", revisões e "book reviews", nos idiomas, português, inglês ou espanhol (short communications, apenas em inglês). A revista *Holos Environment* destaca-se por possuir carácter interdisciplinar e visa abranger a temática ambiental sob uma dimensão holística. Sendo assim seu público-alvo deve ser constituído por autores que de alguma forma, estejam envolvidos com as ciências ambientais, tais como, biólogos, ecólogos, geólogos, geógrafos, físicos, químicos, agrônomos, e demais pesquisadores que trabalham na área de educação ambiental, direito ambiental, ou engenharia ambiental.

Holos Environment

Volume 7 • Número 1 • Suplemento 1 • Jan/Jun 2007
ISSN: 1519-8634 (ON-LINE) / ISSN:1519-8421 (CD-ROM)



III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

A Holos Environment possui periodicidade semestral e as edições saem em junho e dezembro de cada ano. Como norma de seleção de qualidade dos artigos, os mesmos são submetidos ao exame de referees especializados, pertencentes a um abalizado corpo editorial, onde se incluem vários representantes da ciência internacional.

A Holos Environment é editada em padrão eletrônico, gravada em CD-ROM, compatível com ambiente Windows 95 ou superior. No formato on-line a Holos Environment ficará disponibilizada no site <http://www.rc.unesp.br/ib/cea/holos>.

PRESENTATION

Holos Environment is a scientific publication from UNESP - Center of Environmental Studies (CEA), which accepts articles in Portuguese, English and Spanish, related to Environmental Sciences, presented as complete articles, short communications (only in English), and book reviews.

With a interdisciplinary view, Holos Environment aims to involve environmental issues by a holistic dimension, joining authors from different fields of knowledge, as: biologists, ecologists, geologists, geographers, physicists, chemists, agronomists, educators, environmental lawyers, environmental engineers, and any other scientists related with environmental research.

All manuscripts submitted to Holos Environment are sent to at least two referees from our selected Editorial Board, in which are included international representatives.

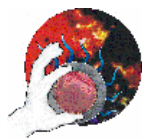
Holos Environment is published on a semestrial bases, in CD-ROM and On-line formats, Win9x compatible. <http://www.rc.unesp.br/ib/cea/holos>.

PRESENTACIÓN

La revista Holos Environment está abierta a cualquier publicación original que contribuya con el desarrollo de las ciencias ambientales; en ella pueden ser publicados artículos científicos, notas previas (*short communications*), revisiones y book reviews, utilizando los idiomas portugués, inglés o castellano. La revista Holos Environment se destaca por su carácter interdisciplinario y porque busca abordar la temática ambiental desde una dimensión holística. De este modo, el

Holos Environment

Volume 7 • Número 1 • Suplemento 1 • Jan/Jun 2007
ISSN: 1519-8634 (ON-LINE) / ISSN:1519-8421 (CD-ROM)



III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

público a que se dirige debe ser constituido por autores que, de alguna forma, estén preocupados con las ciencias ambientales, entre los que se pueden contar biólogos, ecólogos, geólogos, geógrafos, físicos químicos, agrónomos y otros investigadores que trabajen en las áreas de educación ambiental, derecho ambiental o ingeniería ambiental.

La *Holos Environment* es una publicación semestral y los números son editados en los meses de junio y diciembre de cada año. Como norma de selección de calidad de los trabajos, ellos son sometidos a la apreciación de *referees* especializados, pertenecientes a un prestigiado cuerpo editorial, en el que se incluyen varios representantes internacionales de esta ciencia.

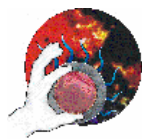
Respecto a la forma de publicación, la *Holos Environment* es editada en padrón electrónico, gravada en CD-ROM, compatible con el sistema Windows 95 o superiores. En el formato *on fine*, la *Holos Environment* está a disposición de los usuarios en el sitio <http://www.rc.unesp.br/ib/cea/holos>

Agradecimentos

Os Editores agradecem à Diretoria Executiva do Centro de Estudos Ambientais da Universidade Estadual Paulista, aos Funcionários Técnicos Administrativos e Especialistas em Informática do CEA, assim como aos autores pelo envio dos artigos; aos *referees* pela revisão dos mesmos e a todos que vêm colaborando com a Revista *Holos Environment*. Agradecimento especial ao Prof. Dr. Manoel Rolando Berrios Godoy pela versão da apresentação da revista para o Espanhol.

Codificação: IBICT/ISSN 1519-8421 (CD-ROM) e 1519-8634 (ON-LINE)

Classificação: Qualis da CAPES - Internacional



III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

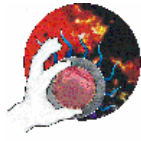
COMISSÃO ORGANIZADORA

Profa. Dra. Dejanira de Franceschi de Angelis (Coordenadora)
Profa. MSc. Adriana Knob (Doutoranda)
Prof. Alex Fernando de Almeida (Mestrando)
Profa. Dra. Ana Kleiber Pessoa Borges
Prof. MSc. André Rodrigues (Doutorando)
Profa. Angela Romero Lopes (Mestranda)
Profa. Ariane C. D. Bertoletti (Mestranda)
Prof. César Rafael F. Terrasan (Mestrando)
Profa. Danilla M. de Oliveira (Mestranda)
Profa. Danielle B. Pedrolli (Mestranda)
Profa. Fabiana A. Hencklein (Mestranda)
Felipe Bardari Tury (Graduando)
Prof. Dr. Guilherme Garcia da Silveira
Profa. MSc. Isabel Celeste Caires Pereira Gusmão
Prof. Ítalo Macedo Silva
Profa. Marcela Miura Satow (Mestranda)
Profa. MSc. Mariana Cortezi (Doutoranda)
Profa. Mariane A. Messetti (Mestranda)
Prof. MSc. Ricardo C. Guerra (Doutorando)

Prof. Ricardo Ventura (Mestrando)
Profa. Roberta Barros Lovaglio (Mestranda)
Prof. Siddhartha G. V. A. O. Costa (Doutorando)
Prof. Valdenilson José Alves de Oliveira
Desenhista: Ronaldo Bella

COMISSÃO CIENTÍFICA

Dr. Adriano Pinto Mariano
Profa. Dra. Antonia Marli dos Santos
Prof. Dr. Carlos Renato Corso
Profa. Dra. Cassiana Maria Reganhan Coneglian
Profa. Dra. Dejanira de Franceschi de Angelis
Profa. Dra. Derlene Attili de Angelis
Prof. Dr. Ederio Dino Bidoia
Profa. Dra. Eleonora Cano Carmona
Prof. Dr. Fernando Carlos Pagnocca
Prof. Dr. Jonas Contiero
Prof. Dr. José Carlos Marconato
Prof. Dr. Marcos Aparecido Pizano
Prof. Dr. Mauricio Bacci Junior
Prof. Dr. Pedro de Oliva Neto
Prof. Dr. Roberto Naves Domingos
Profa. Dra. Sâmia Maria Tauk-Tornisielo
Profa. Dra. Vera Lucia Ramos Bononi



III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

Editorial

A vasta utilização de microrganismos nas diferentes áreas da ciência e do setor produtivo motivou a Comissão Organizadora a promover a continuidade do processo informativo das aplicações dos mesmos.

Na primeira e segunda edição do Simpósio foram abordados temas relativos ao meio ambiente, fermentações, água e biodegradação, visando demonstrar para alunos e pesquisadores a amplitude da microbiologia e seu relacionamento com as diferentes áreas do setor. No ano de 2007, na terceira edição do evento foram abordadas as áreas de Microbiologia Ambiental e Microbiologia Industrial, temas de grande importância social, científica e econômica.

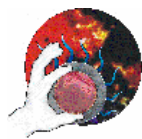
Durante o evento foram apresentadas palestras envolvendo pesquisas desenvolvidas por alunos do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas – Microbiologia Aplicada, da UNESP, objetivando agregar novos conhecimentos. Além desses alunos, profissionais e pesquisadores de outras instituições, com ampla experiência nas áreas abordadas, também foram convidados a ministrar palestras.

Os resumos dos trabalhos apresentados na forma de painéis no III Simpósio em Microbiologia Aplicada foram avaliados por uma Comissão Técnico-científica formada por professores ligados ao Programa de Pós-graduação que premiou o trabalho de maior destaque.

Os resumos dos trabalhos apresentados foram reunidos em um CD pela Comissão Organizadora e entregues aos participantes do evento.

Em nome da Comissão Organizadora, agradecemos à valiosa colaboração do Instituto de Biociências, dos patrocinadores e de todos que nos prestigiaram com sua participação no III Simpósio em Microbiologia Aplicada.

Prof. Dra. Dejanira de Franceschi de Angelis
Coordenadora Geral do Evento



III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

Quinta feira (19/04/2007)

8h – 8h30: Entrega de material e Fixação de Painéis.

8h30: Mesa Redonda: *Microbiologia Aplicada: desafios e perspectivas.*

Prof. Dr. Amilton Ferreira – Diretor do IB – UNESP

Profª. Dra. Dejanira F. de Angelis – Coordenadora do Simpósio – UNESP, Rio Claro.

Prof. Dr. Jonas Contiero – Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Aplicada.

Profª. Fabiana Aparecida Hencklein – Representante Discente da Pós-Graduação em Microbiologia Aplicada.

10h00: Pausa para o café.

10h20: *Fermentação etanólica da teoria à prática*

Prof. Dr. Henrique Viana Amorim - Fermentec Ltda. Assistência Técnica em Fermentação Alcoólica

11h00: *Monitoramento da fermentação alcoólica através da quantificação de ácido láctico.*

Mestrando Ricardo Ventura (Depto. Bioquímica e Microbiologia – UNESP, Rio Claro).

12h00: Almoço.

13h30: Apresentação de Painéis.

14h30: *Produção e aplicação de biossurfactantes*

Mestranda Roberta Barros Lovaglio (Depto. Bioquímica e Microbiologia - UNESP, Rio Claro).

15h10: *Bioconversão do glicerol em 1,3-propanodiol: um monômero utilizado para a produção de PPT (polipropileno tereftalato)*

Prof. MSc. Gervásio Paulo da Silva (Depto. Bioquímica e Microbiologia – UNESP, Rio Claro / UNEB - Senhor do Bonfim - BA) .

15h50: Pausa para café.

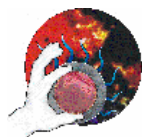
16h10: *Pesquisas em Biotecnologia e Patentes.*

Profª. Dra. Elisabete José Vicente (ICB e CPB – USP, São Paulo).

16h50: *Ômega 3 e 6: Alternativas de Produção e Aplicação.*

Mestrando Alex Fernando de Almeida (CEA –UNESP, Rio Claro).

17h30: Encerramento.



III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

Sexta-feira (20/04/2007)

8h30: Reutilização de águas de indústrias metalúrgicas

Dr. Antônio Roberto Crystal Bello (C.B. Consultoria)

9h10: Xilanases microbianas: produção e aplicação.

Mestrando César Rafael Fanchini Terrasan (Depto. Bioquímica e Microbiologia – UNESP, Rio Claro).

9h50: Pausa para café.

10h10: Rastreabilidade da cadeia produtiva da Tilápia (*Oreochromis niloticus*) com enfoque na qualidade da água e do pescado.

Profa. Dra. Marília Oetterer (Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição – ESALQ/USP, Piracicaba).

10h50: Diversidade dos fungos anamorfos no solo do Pólo Cerâmico de Santa Gertrudes – SP.

Prof. Dr. Norberto Carlos Schoenlein (Universidade de Guarulhos)

11h30: Almoço.

13h30: Biorremediação dos solos contaminados: novos desafios.

Paulo Negrais Seabra (CENPES, Petrobrás, RJ).

14h40: Avaliação da biodegradabilidade anaeróbia de resíduos.

Prof. Dr. Durval Rodrigues de Paula Junior (Faculdade de Engenharia Agrícola, Departamento de Água e Solo - UNICAMP, Campinas).

15h30: Taxonomia de microrganismos: métodos e aplicações.

Dra. Lara Durães Sette (CPQBA/UNICAMP).

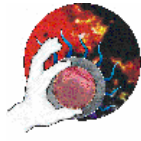
16h10: Pausa para café.

16h30: Aplicações biotecnológicas de celulasas microbianas.

Doutorando Rodrigo Simões R. Leite (IBILCE - UNESP, S. J. do Rio Preto).

17h10: Apresentação de painéis.

18h10: Encerramento.



III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

Sábado (21/04/2007)

8h30: Aplicação de pectinases microbianas.

Mestrando Alexandre Costa Monteiro (IBILCE - UNESP, S. J. do Rio Preto).

9h10: Produção de ácido láctico.

Mestranda Angela Romero Lopes (Depto. Bioquímica e Microbiologia – UNESP, Rio Claro).

9h50: Produção de goma xantana.

Mestranda Cintia Rodrigues (UNESP, Assis).

10h30: Pausa para café.

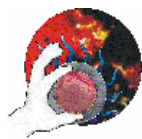
10h50: Desfloculação de leveduras com emprego de enzimas imobilizadas.

Mestrando Henrique Rosa (UNESP, Assis).

11h30: Glucanas fúngicas: produção, caracterização e aplicação

Doutoranda Ana Flora Dalberto Vasconcelos (UNESP, Presidente Prudente).

12h30: Premiação e Encerramento.



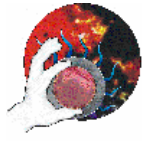
III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

Sumário

A influência do óleo vegetal no metabolismo da microbiota do solo do campus do CESET/UNICAMP	1
Alterações no crescimento e na morfologia de <i>Rhizopus arrhizus</i> por (HAP'S) xileno e naftaleno	2
Análise através de microscopia eletrônica de varredura da microbiota presente nos grãos de kefir	3
Análise da expressão dos genes do operon <i>rus</i> em <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> LR mantida em contato com calcopirita.....	4
Análise do meio de cultura para biodegradação de resíduos sólidos por <i>Fusarium</i> spp.....	5
Análise microbiológica das águas dos Rios Atibaia e Jaguari, município de Paulínia, SP.....	6
Análise microbiológica das mãos dos manipuladores dos embutidos na indústria de carnes	7
Aproveitamento biotecnológico alternativo do soro de queijo por <i>Kluyveromyces marxianus</i>	8
Atividade celulolítica de rizobactérias associadas à <i>Rhizophora mangle</i>	9
Atividade do Poliquilgerm [®] sobre o crescimento e viscosidade de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> (B512F).....	10
Avaliação da aplicação das boas práticas de laboratório.....	11
Avaliação da atividade fitopatogênica dos metabólitos produzidos pelo patógeno <i>Aphanomyces cochlioides</i>	12
Avaliação da biodegradação de efluente de indústria de produtos químicos	13
Avaliação da biodegradação de resíduos de hidrocarbonetos no solo de “landfarming” utilizando infravermelho	14
Avaliação da filamentação induzida por álcool isoamílico e fonte de carbono sob diferentes condições de cultivo em linhagem industrial de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15
Avaliação da qualidade microbiológica dos sucos de laranja comercializados em Alfenas-MG.....	16

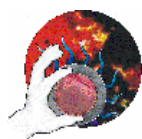


III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

Avaliação das condições do processo de fermentação das unidades produtoras da cooperativa dos produtores de cachaça do Vale do Piranga.....	17
Avaliação de diferentes resíduos agroindustriais para o cultivo do cogumelo <i>Pleurotus sajor-caju</i>	18
Avaliação de esgoto bruto para construção de um projeto de pesquisa	19
Avaliação do biossurfactante produzido por <i>Candida tropicalis</i> UCP 0996 utilizando um planejamento fatorial.....	20
Avaliação físico-química e sensorial de cachaças produzidas com <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e bactérias lácticas.....	21
Bactérias e algas fitopatogênicas em orquídeas do viveiro de mudas da Uniararas, município de Araras, SP.	22
Biodegradação do polietileno tereftalato por <i>Bacillus subtilis</i>	23
Biossurfactante produzido por <i>Candida lipolytica</i> utilizando resíduo agroindustrial de acordo com planejamento fatorial	24
Biotransformação do corante trifenilmetano por <i>Cunninghamella elegans</i> Lendner..	25
Capacidade amilolítica de bactérias isoladas da bebida fermentada indígena, cauim	26
Caracterização da comunidade microbiana presente em solo contaminado por metais pesados	27
Caracterização da fauna de morcegos encaminhados para diagnóstico laboratorial da raiva no ano de 2005, na região de Presidente Prudente, SP, Brasil	28
Caracterização de <i>Bacillus</i> spp. em diferentes rizosferas por análise multivariada.....	29
Caracterização de pectinases produzidas por <i>Aspergillus giganteus</i> , em fermentação submersa com resíduo de laranja.....	30
Caracterização e aplicação do biossurfactante produzido por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em meio de baixo custo	31
Cinética de produção de biossurfactante por <i>Candida lipolytica</i>	32
Comparação entre fermentação em substratos sólido e líquido para produção de ácidos graxos insaturados	33
Densidade de bactérias heterotróficas em águas e areias de praias recreacionais marinhas e sua relação com parâmetros abióticos.....	34
Deteção de urease e lipase em amostras de <i>Bacillus lichemiformis</i> isolados de solo contaminado por petróleo	35

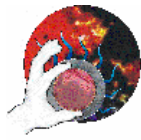


III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

Diversidade dos fungos anamorfos do solo do pólo cerâmico do município de Santa Gertrudes, São Paulo, Brasil.....	36
Efeito anti-bacteriano “in vitro” de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas.....	37
Efeito de doses de boro e níveis de saturação por bases na nodulação e desenvolvimento de mimosa <i>Scabrella benth.</i> (bracatinga).....	38
Efeitos do fenantreno no crescimento radial de <i>Cunninghamella elegans</i> e <i>Rhizopus arrhizus</i>	39
Estabilidade do biossurfactante produzido por <i>Candida glabrata</i> UCP 1002	40
Estudo comparativo da compostagem e da vermicompostagem: desenvolvimento de plantas de milho e sua biota fungica endofítica.....	41
Estudo da ação de agentes químicos na inibição do crescimento de <i>Lactobacillus fermentum</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i> envolvidos na fermentação alcoólica industrial	42
Estudo da ação inibidora do derivado n,n,n-trimetilquitosana na cinética de crescimento da <i>E. coli</i>	43
Estudo do cristal violeta como agente controlador da contaminação microbiana do fluido de corte.....	44
Estudo microbiológico de linhagens com perspectiva de propriedades antibióticas inibitórias de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
Expressão da enzima quitinase em linhagens de <i>Chromobacterium violaceum</i>	46
Fixação biológica de nitrogênio pela soja <i>Glycine max</i> (L.) Merrill.....	47
Identificação de espécies de <i>Pseudomonas</i> spp. em amostras de efluente hospitalar e água superficial: caracterização do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos e triagem para produção de metalo- β -lactamases	48
Identificação de fungos do gênero <i>Aspergillus</i> em amostras de feijão através de microscopia eletrônica de varredura.....	49
Identificação de fungos filamentosos em amostras de feijão comercializadas na cidade de Lavras-MG	50
Identificação de leveduras <i>Saccharomyces</i> por PCR e PFGE.....	51
Identificação dos microrganismos presentes em bebida fermentada produzida pelos índios tapirapé em Confresa, Mato Grosso	52
Implementação de metodologia para monitoramento de lodos ativados no tratamento de efluentes têxteis	53
Influência do biodiesel na biodegradabilidade da mistura óleo diesel/biodiesel.....	54

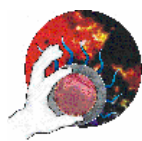


III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

Influência do tempo de desinfecção na germinação de sementes <i>Arundina graminifolia</i>	55
Inibição do desenvolvimento micelial fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos	56
Isolamento de bactérias para bio-sorção de metais em efluentes de curtume	57
Isolamento de microrganismos autóctones para tratamento de efluente oleoso.....	58
Isolamento e caracterização da comunidade bacteriana associada aos manguezais do Estado de São Paulo	59
Isolamento e caracterização morfológica de bactérias isoladas de cavernas da região de Altinópolis	60
Levedura degradadora de biodiesel	61
Sobrevivência de <i>Xanthomonas campestris</i> após ser submetida à irradiação por ultravioleta	62
Microbiota do fermentado de kefir	63
Monitoramento e análise toxicológica da biodegradação de óleo lubrificante automotivo	64
Obtenção de isolados endofíticos e patogênicos de <i>Theobroma grandiflorum</i> (wild) ex <i>Spreng schum</i> e <i>Theobroma subincanum</i> Martius produtores de jasmônatos	65
Oomycetos patogênicos em orquidários comerciais da região de Araras, SP.....	66
Otimização da reação de polimerase em cadeia para amplificação do gene <i>ccar</i> de mutante de <i>Streptomyces clavuligerus</i>	67
Perfil de resistência de amostras de <i>Streptococcus agalactiae</i> isoladas de peixes aos antibióticos florfenicol e biciclomicina.....	69
Pesquisa de metalo-beta-lactamases em <i>Pseudomonas aeruginosa</i> de efluente hospitalar e água superficial em Passo Fundo, RS	70
Pesquisa e caracterização de bactérias resistentes a altas concentrações de amônia isoladas do tratamento biológico do efluente de refinaria de petróleo	71
pH de resíduos da biodegradação de óleo lubrificante automotivo.....	72
Produção de ácido lático em diferentes meios de cultivo.....	73
Produção de astaxantina por <i>Mucor javanicus</i> a partir de milhocina.....	74
Produção de biossurfactante por <i>Pseudomonas fluorescens</i> utilizando petróleo como substrato.....	75



III SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA



Rio Claro, 19 a 21 de Abril de 2007.

Produção de <i>tnf-α</i> em camundongos geneticamente selecionados para boa (high) e má (low) resposta a anticorpos, experimentalmente infectados com a <i>Leptospira sorovar pomona</i>	76
Projeto de estação de tratamento de esgotos utilizando o processo de lodos ativados por batelada para uma cidade do porte de Corumbataí – SP.....	77
Propriedades do biosurfactante produzido por <i>Candida sphaerica</i> UCP 0995 cultivada em resíduos industriais.....	78
Purificação parcial de proteases de dois isolados de <i>Bacillus</i> sp	79
Reaproveitamento do soro de leite na produção de bacitracina por <i>Bacillus licheniformis</i>	80
Redes neurais artificiais aplicadas ao processo de produção de biosurfactante por <i>Candida lipolytica</i>	81
Remoção natural de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> em um sistema alternativo empregado no tratamento de esgotos	82
<i>Rhizopus arrhizus</i> : comportamento frente a substratos para oxidorreduções.....	83
Screening de fungos filamentosos, degradadores de hidrocarbonetos complexos.....	84
Seleção de microorganismos com propriedades inibitórias contra <i>Lactobacillus fermentum</i>	85
Solubilização de níquel e cobre mediante lixiviação bacteriana de rejeitos mineiros em frascos agitados.....	86
Surfactante produzido por <i>Candida sphaerica</i> com habilidade de emulsificação e redução da tensão superficial.....	87
Técnicas moleculares para a caracterização de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> associadas à produção de cachaça.	88
Triagem da produção de metalo-beta-lactamases em <i>Acinetobacter</i> spp. isolados de efluente hospitalar de Porto Alegre – RS	89
Uso de cepas selecionadas de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> na produção de cachaça.....	90
Uso de Poliquilgerm [®] no controle de <i>Lactobacillus fermentum</i> , contaminante da fermentação etanólica.....	91
Utilização de meio de baixo custo para produção de amilase por <i>Bacillus licheniformis</i>	92
Utilização de surfactante produzido por <i>Pseudomonas</i>	93
Utilização dos valores de cutoff na interpretação da resistência de <i>Aeromonas</i> móveis para diferentes antibióticos	94

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

A INFLUÊNCIA DO ÓLEO VEGETAL NO METABOLISMO DA MICROBIOTA DO SOLO DO CAMPUS DO CESET/UNICAMP

Alves, C.L.¹, Makino, D.L.^{2*} & Neto, A.L.O.³
CENTRO SUPERIOR de EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA – CESET/UNICAMP
Rua Paschoal Marmo, 1888, Jd. Nova Itália, Limeira, SP, 13.484-332
danilucasmakino@yahoo.com.br

Palavras-chave: Óleo vegetal, biodisponibilidade e crescimento microbiano.

INTRODUÇÃO: Dentre os fatores limitantes a manutenção e ao crescimento microbiano no solo está a biodisponibilidade de matéria orgânica, que mineralizada completamente resulta na produção de gás carbônico e água. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do óleo vegetal na atividade metabólica dos microrganismos presentes no solo coletado e analiticamente analisado no campus do Centro Superior de Educação Tecnológica, CESET – UNICAMP.

2. MATERIAIS E MÉTODOS: A amostragem do solo e o ensaio respirométrico foram realizados segundo a metodologia de Bartha descrita na Norma Cetesb L6.350 (1990). A coleta de amostra de solo para a análise granulométrica foi realizada da mesma forma que o respirométrico e envolveu os processos de peneiramento e sedimentação física, descritos pela Norma NBR 7181 (1984).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO: Observou-se que as leituras para o solo com aplicação de óleo vegetal sempre demonstraram valores maiores em relação ao controle. Isto está relacionado à biodisponibilidade do óleo vegetal à degradação microbiana, que ao utilizá-lo como fonte nutricional resulta na maior produção de CO₂.

4. CONCLUSÕES: Pode-se concluir que:

- O óleo vegetal não ocasionou efeitos tóxicos significativos e serviu de fonte nutricional/energética para a microbiota constituinte do solo coletado no campus do Centro Superior de Educação Tecnológica; e
- O solo com aplicação de óleo vegetal apresentou 3 vezes mais CO₂ (respiração edáfica) do que o solo sem aplicação (Controle).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ZAGATTO, P.A. & BERTOLETTI, E. Ecotoxicologia Aquática – princípios e aplicações. Rima Editora, São Carlos, SP. 478 pp. 2006.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB. Norma técnica L6.350. RESÍDUOS - MÉTODO RESPIROMÉTRICO DE BARTHA. São Paulo, 15 p, 1990.
- PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S. KRIEG, N. R. Microbiologia: Conceitos e Aplicações. São Paulo: Pearson Education do Brasil. V II. 517 p, 1997.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. Microbiologia de Brock. São Paulo: Prentice Hall, 2004. 608 p.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ALTERAÇÕES NO CRESCIMENTO E NA MORFOLOGIA DE *Rhizopus arrhizus* MEDIADAS POR (HAP'S) XILENO E NAFTALENO

CARDOSO, A.^{1,3}, JARA, A. M. A. T.^{1,3}, M. C. FREITAS SILVA^{2,3}, CAMPOS-TAKAKI, G. M.³

1Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais - UNICAP, Brasil, 2Doutorado Biologia de Fungos - UFPE, 3Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais - NPCIAMB; Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP - R. do Príncipe, 526, Boa Vista, Recife, PE, 50050-900. E-mail takaki@unicap.br

Palavras-chave: *Rhizopus arrhizus*, Hidrocarbonetos Aromáticos, Crescimento Radial.

INTRODUÇÃO: Os Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (HAP'S) são conhecidos por seu potencial mutagênico e/ou carcinogênico, e sua contaminação no solo ou na água é motivo de grande preocupação para o meio ambiente (Brakstad, 2005). A queima incompleta nos processos de combustão, incêndios em florestas e erupções vulcânicas são os meios naturais de produção dos HAP'S. Os Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos são encontrados no ar, na água e no solo onde podem durar por meses e anos (Zheng, 2000). Alguns microrganismos incluindo as bactérias e muitos *Zygomycetes* são capazes de degradar HAP'S com quatro ou mais anéis aromáticos (Mahmood e Rama, 1993). O presente estudo tem por objetivo investigar a influência do Xileno e do Naftaleno no crescimento radial do fungo *Rhizopus arrhizus*.

MATERIAL E MÉTODOS: Microrganismo: Foi utilizado um isolado de *R. arrhizus*, (UCP 402), depositado no Banco de Culturas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais - UNICAP - PE. Meio de cultivo descrito por Hesseltine & Anderson (1957), contendo Xileno e Naftaleno nos quais foram inoculadas as amostras do microrganismo. O crescimento radial foi medido em cm, durante um período compreendido entre 12 e 72 horas. Amostras controle foram utilizadas como referência. O crescimento foi observado em presença da luz e em temperatura de 28°C. Foi realizado microcultivo durante 4 dias e, em seguida, foram feitas observações da estrutura morfológica por microscopia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O microrganismo apresentou um crescimento parcial no meio de cultivo contendo Naftaleno. No meio de cultivo contendo Xileno, o *R. arrhizus* exibiu um discreto crescimento. Em ambos os casos, o microrganismo foi exposto à luz durante o processo de crescimento.

CONCLUSÕES: Os resultados obtidos mostram que *R. arrhizus* apresenta tolerância aos HAP'S Xileno e Naftaleno em presença da luz. O presente estudo sugere que *R. arrhizus* pode ser utilizado na biosorção destes Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- BRAKSTAD, O. G. Microbial Diversity during Biodegradation of Crude Oil in Seawater from the North Sea. *Microbial Ecology* 49(1), 2005.
- HESELDTINE, C. W. and ANDERSON, R. F. Microbiological production of carotenoides. *Mycologia*. 49: 449-452, 1957.
- MAHAMOOD, S. K. and RAMA RAO, P. Microbial abundance and degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 50(4) 486-491, 1993.
- ZHENG, Z. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil using surfactant and the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 75(12) 1183-1189, 2000.

Apoio Financeiro: FINEP, CAPES e CNPq.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ANÁLISE ATRAVÉS DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA MICROBIOTA PRESENTE NOS GRÃOS DE KEFIR

Magalhães, K.T.^{1*}, Schwan, R.F.²

¹Mestranda em microbiologia agrícola – Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras, MG

²Coordenadora do curso de pós-graduação em microbiologia agrícola – Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras, MG

*e-mail: gt-magalhaes@uol.com.br

Palavras-chave: Kefir, microscopia eletrônica de varredura, fermentação.

INTRODUÇÃO: Kefir é um lácteo fermentado resultante da fermentação ácido-lática e alcoólica dos grãos de kefir, que são microrganismos que vivem em perfeita simbiose, entre eles leveduras *Saccharomyces kefir* e *Torula kefir*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus caucasicus*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc spp* e o *Henmenbergs kefir bacillus* responsável pela produção do polissacarídeo.

MATERIAL E MÉTODOS: Em estudos atuais os grãos de kefir foram observados em microscopia eletrônica de varredura, utilizando dois grãos de kefir cultivados por 24h a 21°C em leite integral pasteurizado (YPÊ – Lavras, MG). Depois de coletadas as amostras, os grãos foram imersos em solução fixativa (Karnovisk's modificado), pH 7,2 por 24h. Posteriormente uma das amostras foi transferida para glicerol 30% por 30 min e imersa em nitrogênio líquido para posterior fratura em superfície metálica resfriada pelo mesmo. Ambas as amostras foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1%, desidratadas em gradiente de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%) por três vezes, secas em máquina de ponto crítico (Bal-tec CPD 030), montados os *stubs* e cobertos com ouro no metalizador (Bal-tec SDC 050). Ao final deste procedimento os cupons foram examinados em microscópio eletrônico de varredura (EVO 040 Leo).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os cupons indicaram colonização de leveduras e bactérias na superfície externa dos grãos de kefir. Três tipos de lactobacilos (curto, longo e encurvado) foram observados ao longo dos grãos.

CONCLUSÃO: Os grãos de kefir analisados apresentaram maior concentração de microrganismos na superfície, enquanto que na fração interior do grão poucas células bacterianas foram observadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

SEYDIM, Z.G., WYFFELS, J.T., SEYDIM, A.C. Turkish kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation. *International Journal of Dairy technology.*, 1. ed. 58: 25-29, 2005.

Apoio financeiro: CAPES, FAPEMIG, Cooperativa Agrícola Alto Rio Grande LTDA (YPÊ) – Lavras, MG

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DOS GENES DO OPERON *RUS* EM
Acidithiobacillus ferrooxidans LR MANTIDA EM CONTATO COM
CALCOPIRITA**

Carlos, C.^{1*}, Reis, F.C.¹, Madureira, D. J.¹ & Ottoboni, L.M.M.¹

¹Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética – CBMEG, Unicamp, Campinas-SP;
* camilacarlos@gmail.com

Palavras-chave: *Acidithiobacillus ferrooxidans*; operon *rus*; calcopirita;

INTRODUÇÃO: *Acidithiobacillus ferrooxidans* é uma bactéria Gram-negativa, acidofílica e quimiolitotrófica, capaz de obter energia através da oxidação de Fe²⁺ e formas reduzidas de enxofre, tendo O₂ comoceptor final de elétrons. Esta bactéria tem importância econômica, pois está envolvida no processo de biolixiviação. Este processo é usado na recuperação de metais a partir de minérios de baixo teor, como por exemplo, na recuperação de cobre. A calcopirita (CuFeS₂) é o mineral sulfetado de cobre mais abundante da natureza. Entretanto, o processo de biolixiviação de cobre é mais utilizado para outros sulfetos e óxidos, uma vez que estes atingem taxas muito mais favoráveis de oxidação pela bactéria do que a calcopirita. O operon *rus* é composto pelos genes *cyc2*, *cyc1*, ORF1, *coxB*, *coxA*, *coxD* e *rus*. Estes codificam proteínas envolvidas no transporte de elétrons do Fe²⁺ até o O₂. Estudos têm demonstrado que os níveis de transcrição deste operon são dependentes do substrato energético. Assim sendo, o presente trabalho tem por objetivo verificar a expressão dos genes do operon *rus* quando *A. ferrooxidans* LR é mantida em contato com a calcopirita.

MATERIAL E MÉTODOS: A linhagem LR de *A. ferrooxidans* foi cultivada em meio T&K e sulfato de ferro, até que alcançasse 80% de oxidação de Fe²⁺ sendo posteriormente incubada em 2,5% de calcopirita por 24 horas. As células foram coletadas e lavadas para a extração de RNA. O RNA foi isolado de células cultivadas na presença de ferro (controle) e de células mantidas em contato com calcopirita. Após o isolamento do RNA, o cDNA foi sintetizado e, posteriormente, foi feita a reação de PCR em tempo real. Os *primers* foram desenhados com o programa Primer3 (<http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3>) utilizando como molde a sequência genômica de *A. ferrooxidans* ATCC 23270T depositada no TIGR (www.tigr.org). O gene *alaS*, que codifica a proteína alanil tRNA sintetase, foi usado como controle endógeno.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Todos os genes do operon *rus* foram reprimidos na presença de calcopirita quando comparado ao ferro. Este resultado pode explicar o baixo aproveitamento da lixiviação deste mineral, pois há uma menor taxa de oxidação direta do ferro presente na calcopirita e conseqüentemente uma menor quantidade de íons Fe³⁺ e H⁺ (agentes lixiviantes) disponíveis no meio, diminuindo também a taxa de oxidação indireta.

CONCLUSÕES: A partir destes resultados pode-se concluir que a expressão dos genes do operon *rus* foi reprimida na presença de calcopirita. Estão sendo feitos experimentos para a verificação da expressão dos genes do operon *rus* em outros sulfetos metálicos, como a bornita, para obter maiores informações sobre a expressão dos genes deste operon na presença de minerais sulfetados de cobre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

YARZÁBAL, A., APPIA-AYME, C., RATOUCHEV, J. & BONNEFOY, V. Regulation of the expression of the *Acidithiobacillus ferrooxidans* *rus* operon encoding two cytochromes *c*, a cytochrome oxidase and rusticyanin. **Microbiology** **150**: 2113–2123, 2004.

BELIVAQUA, D., LEITE A.L.L.C., GARCIA O., TUOVINEN O.H. Oxidation of chalcopirite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. **Process Biochemistry** **38**(4): 587-592, 2002.

Apoio Financeiro: FAPESP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ANÁLISE DE MEIO DE CULTURA PARA A BIODEGRADAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS POR *Fusarium* spp

Takahashi, J.P.^{1*}, Vicentini, A.P.², Souza, M.C.³

^{1,3} Universidade Metodista de São Paulo, Av. Dom Jaime de Barros Câmara n 1000, SBCampo, SP

² Instituto Adolfo Lutz, Av. Dr. Arnaldo, 355 - 01246-902 - Cerqueira César - São Paulo - SP

* jusavoia@yahoo.com.br

Palavras-chave: Resíduos sólidos, *Fusarium* spp, Glicose

Nos dias atuais, processos como o de biodegradação vem se tornando uma prática importante para a conservação do meio ambiente. Muitos são os seres responsáveis por esse processo. Como representante dos Eucariotos (aeróbicos e heterotróficos) podemos citar o fungo *Fusarium* spp (Moreira & Siqueira, 2006). Derivados desse fungo são utilizados na produção de ácido giberélico, no controle biológico de pragas, como produtor de micotoxinas utilizadas nos processos industriais, como produto de contaminação de alimentos e são ainda associados a doenças em vegetais, animais e humanos (Bononi, 1999). Observando o amplo potencial desse fungo e de outros, e sua facilidade de crescimento em meio de cultura, nosso grupo tem analisado meios de cultura ideais para o crescimento desse fungo e sua utilização na degradação de resíduos sólidos. Estudando os meios de crescimento para fungos iniciamos utilizando componentes mínimos para o crescimento do fungo (Meio mínimo) com a presença de resíduo sólido (pó de borracha) e com a presença e ausência de fonte de carbono (Glicose). Observamos que só houve crescimento fúngico esperado e degradação do resíduo quando havia a presença de carboidrato no meio de cultura. Na ausência do carboidrato havia uma adsorção das partículas sólidas no tecido fúngico e o crescimento do mesmo diminuiu em 70% em relação ao meio com carboidrato, assim como a degradação do resíduo sólido também aparecia diminuída em 85%. Resíduos sólidos são componentes altamente poluidores no meio ambiente, por isso a descoberta de novos agentes que possam degradar essas substâncias é de extrema importância hoje em dia. Nosso estudo inicialmente nos dá uma remota esperança de possibilidade de uso desse agente se testarmos os meios adequados para que o processo de biodegradação ocorra com maior segurança e efetividade.

BONONI, V.R.L. Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas, 1.ed São Paulo, 1999.

MOREIRA, F.M.S, SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e Bioquímica do solo, 2.ed UFLA, 2006.

Apoio Financeiro: Universidade Metodista de São Paulo.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DAS ÁGUAS DOS RIOS ATIBAIA E JAGUARÍ,
MUNICÍPIO DE PAULÍNIA, SP**

Borges, A. K. P.^{1*}, Angelis, D. F.², Santos, S. N.³, Dalfré, I. A. B.² & Rodrigues, M. L. B.O.²

¹UFT – Universidade Federal do Tocantins – Rua 3, Qd 17, B. Jardim dos Ipês

Caixa Postal 136, CEP 77500-000 Porto Nacional - TO

² Departamento de Bioquímica e Microbiologia da UNESP/Rio Claro – Av. 24-A, 1515, B. Bela Vista, CEP 15.506-900 Rio Claro, SP

³Centro Universitário Hermínio Ometto UNIARARAS/ARARAS;

*e-mail: anakleiberborges@hotmail.com

Palavras-chave: análise de água, microrganismos, Rio Atibaia e Jaguarí

INTRODUÇÃO: A disponibilidade de água no globo terrestre tende a estar comprometida, devido à atividade antrópica desordenada. Grande proporção da água doce superficial existente encontra-se prejudicada em decorrência da crescente contaminação. Este trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica das águas dos Rios Rio Atibaia e Jaguarí, pertencentes à Bacia Hidrográfica dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiá (BH – PCJ).

MATERIAL E MÉTODOS: Foram realizadas coletas quinzenais em 2 pontos de amostragens: 1) Rio Atibaia localizado na Latitude (S) 22° 44' 25" e Longitude (W) 47° 07' 33", e 2) Rio Jaguarí localizado na Latitude (S) 22° 41' 48" e Longitude (W) 47° 08' 59", no Município de Paulínia, SP, de acordo com procedimento padrão, perfazendo um total de 60 amostras no período de Julho/2000 a julho 2006. Estas foram analisadas microbiologicamente quanto às bactérias pelas técnicas: Tubos múltiplos, Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (CT) e coliformes termotolerantes; "Pour Plate" para bactérias heterotróficas (BH), segundo (APHA, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: No rio Atibaia os resultados mínimos e máximos do NMP para os testes de CT/mL foram respectivamente: 2,96 x 10⁵ e 99,91 x 10⁵ e para coliformes termotolerantes: 1,91 x 10⁵ e 13,50 x 10⁵. No rio Jaguarí os valores em NMP mínimos e máximos obtidos de CT/mL foram respectivamente: 0,17 x 10⁵ e 3,47 x 10⁵ e para coliformes termotolerantes: 0,06 x 10⁵ e 0,08 x 10⁵. O número de UFC/mL de BH no rio Atibaia tem como valores mínimos e máximos: 3,37 x 10⁵ e 5,62 x 10⁵ e o rio Jaguarí: 0,21 x 10⁵ e 1,72 x 10⁵ respectivamente.

CONCLUSÕES: Os rios estudados estão inseridos em uma área densamente povoada e industrializada, de tal forma que bactérias: coliformes totais (CT) e coliformes termotolerantes estando presentes em número elevado. Pode-se afirmar pelos dados obtidos que os rios Atibaia e Jaguarí no segmento analisado não atendem a Resolução n° 357, (CONAMA, 2005) para rios de Classe II.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

(APHA) AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20. ed. Washington: American Public Health Association, AWWA, WPCF, 1998. 1569p.

CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). Resoluções do CONAMA n° 357. 5. ed. Brasília: IBAMA, 2005. 23p.

Apoio Financeiro: REPLAN/Paulínia, SP, FUNDUNESP & UFT.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DAS MÃOS DOS MANIPULADORES DOS EMBUTIDOS NA INDÚSTRIA DE CARNES

MILLEZI, A.F. *¹, TONIAL, T. M. ² ¹ Rua João Batista Hermeto, n.17/401- Lavras – MG – Universidade Federal de Lavras ² Rua Assis Brasil, Frederico Westphalen – RS – Universidade Regional e Integrada do Alto Uruguai e das Missões * e-mail: amillezi@yahoo.com.br

Palavras-chave: manipuladores, microbiológicas, alimentos.

INTRODUÇÃO: Este estudo foi realizado em uma indústria, localizada em Frederico Westphalen - RS. Segundo Silva (1995), mãos podem veicular microorganismos patogênicos, dependendo do tipo de alimento manipulado, propiciando a ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos. Realizou-se a avaliação da eficácia do sanificante Biguatin, através do monitoramento microbiológico das mãos de manipuladores do setor dos embutidos da indústria de carnes.

MATERIAL E MÉTODOS: O monitoramento microbiológico das mãos ocorreu antes da higienização e após, sendo realizadas 16 coletas, oito antes e oito após a lavagem das mãos. Para a coleta de material das mãos foram utilizados sacos plásticos esterilizados contendo 200 mL de água peptonada salina 0,1 %, também esterilizada. Foi destinado um saco plástico para cada coleta, no qual cada manipulador mergulhou toda a superfície das mãos. Realizou-se análise de *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e termotolerantes e pesquisa de *Salmonella sp.* A identificação dos microorganismos foi efetuada de acordo com as normas estabelecidas pela ABNT.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Houve presença de coliformes totais em amostras, antes da higienização, a contagem maior foi $8,23 \times 10^2$ UFC/mão. As reduções após o uso do sanificante foram satisfatórias. Na amostragem 4 houve maior contagem após a lavagem e na amostra 7 houve presença de coliformes totais somente após a higienização. A contaminação provavelmente pode ter ocorrido devido à inadequação das condições de higiene do manipulador. Em relação à presença de coliformes termotolerantes, somente ocorreu antes da higienização, na amostra 8, a presença dessas bactérias determina a existência de contaminação de origem fecal. Após a sanificação a contagem foi reduzida para $<1,0 \times 10^1$ UFC/mão, sendo considerada satisfatória a ação do biguatin. Não houve presença de *S. aureus*. Esse dado é confortante, já que essa espécie é importante por provocar intoxicação alimentar (SIQUEIRA, 2004). Também não houve presença de *Salmonella sp.*

CONCLUSÕES: Pode-se concluir que no setor dos embutidos, as condições de higiene dos manipuladores de alimentos deixam a desejar. Nas análises de coliformes totais, a elevada contagem da amostra 7 após a higienização, leva à conclusão de que a contaminação pode ter ocorrido devido à inadequação das condições de higiene do manipulador. A ação do sanificante biguatin foi considerada satisfatória, nas condições estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

SILVA D. Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos. **Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária**, 352 p.,1995.

SIQUEIRA, M.W. Qualidade microbiológica de equipamentos, utensílios e manipuladores de uma indústria de processamento de carne. **Revista Higiene alimentar**, 32: 36-46, 2004.

Apoio Financeiro: PIIC/URI

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

APROVEITAMENTO BIOTECNOLÓGICO ALTERNATIVO DO SORO DE QUEIJO POR *Kluyveromyces marxianus*

Nalin, D.A.^{1,*}, Angelis, D.A.¹ & Serzedello, A.¹

Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Instituto de Biociências, Av. 24A n.1515, Bela Vista, C.P. 199, UNESP- Rio Claro - SP

* dilza@rc.unesp.br

Palavras-chave: bioconversão, soro de queijo, metabólitos

INTRODUÇÃO: No Brasil, cerca da metade do soro de queijo (SQ) gerado em grande quantidade na produção de queijo é aproveitada, sendo o restante processado como efluente por ser um forte agente contaminante das águas (PERRY, 2004). Este sub-produto pode ser aproveitado para produção de levedura do gênero *Kluyveromyces* como: fonte de proteína (SABRA, 2004); ribonucleotídeos processados a partir de RNA da levedura, de interesse tanto da indústria de alimentos, utilizado como aditivo de sabor (OGRODOWSKI, 2006).

MATERIAL E MÉTODOS: Utilizou-se SQ tipo doce desproteínizado (tratamento termo-ácido com HCL1,0N, pH4,5, 90° C por 10 minutos). *Saccharomyces fragilis* ATCC 10022 – IZ sinonímia de *Kluyveromyces marxianus var. marxianus* foi cultivada sob diferentes condições (enriquecimento com 0,3% de (NH₄)₂HPO₄, solução de micronutrientes, Vinhaça Concentrada 6° Brix (VC), agitação e aeração). Extraíu-se os lipídios totais (Kates, 1986) e RNA (Andreu, 1988)

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O meio SQ com VC e (NH₄)₂HPO₄ proporcionou maior produção de biomassa em 12 horas de cultivo (7,5g/L). Substituindo-se a agitação pela aeração (1vvm) a produção de biomassa duplicou, com diminuição de 70% da DQO final. A extração de lipídios totais com clorofórmio/metanol facilitou a extração de RNA da biomassa, esta com 50% de proteína e composição de aminoácidos semelhantes aos da soja.

CONCLUSÕES: O SQ que é gerado na indústria, de resíduo pode ser aproveitado como matéria prima na obtenção de biomassa, da qual é possível a extração de metabólitos com significativo valor agregado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ANDREU, B. et al. Simple method for RNA extraction from yeast. *Biotech.and Bioeng.* v.32,n.9,p.927-9, 1988

KATES, G.M. Concentração de vinhaça até 16° Brix. Rev.. STAB, Piracicaba, , n.9, p.45-47,1980

PERRY, K..S.P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Química Nova*, 27,p., 293, 2004

OGRODOWSKI, R. Produção de biomassa a partir de soro de queijo para obtenção de ribonucleotídeos. Campinas, SP. Tese de doutorado (Engenharia de Alimentos), 2006

Apoio Financeiro: CNPq

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ATIVIDADE CELULOLÍTICA DE RIZOBACTÉRIAS ASSOCIADAS À
RHIZOPHORA MANGLE

Sá, A. L. B.^{1*}, Dias, A. C. F.², Melo, I. S.³
Embrapa Meio Ambiente, CP. 69 - CEP 13820-000, Jaguariúna-SP, Brasil.
E-mail:biobragh@yahoo.com.br

Palavras-chave: *Rhizophora*, celulose, *Bacillus*

INTRODUÇÃO: Os manguezais são ambientes amplamente ricos em biodiversidade, cujo papel como ecossistema envolve principalmente a ciclagem dos nutrientes. O principal representante vegetal deste ecossistema é a espécie arbórea *Rhizophora mangle*, (Holguin *et al.*, 2001). No Brasil, a distribuição dos manguezais é uma das maiores do mundo em extensão e podemos encontrá-lo desde o Cabo Orange, no Amapá, até o sul de Santa Catarina, na foz do Rio Araranguá, município de Laguna.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram isoladas 93 bactérias do manguezal preservado de Cananéia-SP e 36 do mangue impactado de Bertioga-SP em meio Nutrient Agar. A análise quantitativa da atividade de endoglucanase foi determinada à partir da clivagem de polímeros de carboximetilcelulose marcados com Remazol Brilliant Blue R. Foram ainda determinadas as tolerâncias à salinidade em meio Nutrient Agar a concentrações de 3%, 5%, 7%, 10%, 15% e 20% de NaCl e a atividade de antibiose contra *Pythium aphanidermatum*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Das 93 bactérias isoladas, 22 de Cananéia e 9 de Bertioga apresentaram atividade celulolítica. Apesar da diversidade bacteriana encontrada, a atividade celulolítica restringiu-se a *Bacillus* (*B. subtilis* e *B. pumilus*) e *Paenibacillus* (*P. macerans* e *P. lentimorbus*). Apresentaram ainda atividade celulolítica duas actinobactérias (não identificadas) e *Curtobacterium flaccumfaciens*. A análise quantitativa de endoglucanase apontou *Bacillus subtilis*, como melhor produtor de celulase e a atividade foi confirmada pela amplificação do gene *EglA*. Os celulolíticos testados para salinidade toleraram concentrações de até 15% de NaCl, com exceção de *B. subtilis* e *P. lentimorbus*, que cresceram até a concentração de 20%. A microscopia eletrônica de varredura das células crescidas em diferentes salinidades mostrou significativa produção de biofilme microbiano nas concentrações mais altas, o que sugere a atuação do biofilme como mecanismo de tolerância ao ambiente salino. Das 32 bactérias com atividade de celulase, 21 mostraram-se positivas para a atividade de antibiose contra *Pythium*.

CONCLUSÕES: Os melhores resultados das análises foram obtidos com os isolados de Cananéia e tal situação sugere que a preservação do ecossistema cria uma reciprocidade de equilíbrio para com a microbiota do ambiente, onde os microrganismos contribuem estavelmente através da ciclagem de nutrientes e produção de metabólitos de interesse biotecnológico.

HOLGUIN, G., VASQUEZ, P., BASHAN, Y. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. *Biol Fertil Soils*, 33: 265-278, 2001.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ATIVIDADE DO POLIQUILGERM[®] SOBRE O CRESCIMENTO E VISCOSIDADE DE *Leuconostoc mesenteroides* (B512F)*Messetti, M.A.¹; Santos, A.M.¹; Angelis, D.F.¹; Chierice, G.O.²; Claro Neto, S.² & Domingos, R. N.³¹Depto. de Bioquímica e Microbiologia, Unesp - Avenida 24A, 1515 13506-900 Rio Claro, SP;²Instituto de Química – USP Av. Trab. São-Carlense, 400 São Carlos, SP;³Centro de Estudos Ambientais (CEA), Unesp - Avenida 24A, 1515 13506-900 Rio Claro – SPmari_messetti@ig.com.br**Palavras-chave:** Poliquilgerm[®], *Leuconostoc*, dextrana.

INTRODUÇÃO: Das sementes da mamona extrai-se o óleo de rícino, aplicado *in natura* ou em sua forma modificada nas áreas médica, farmacêutica e industrial (Chierice & Claro Neto, *in Azevedo & Lima* 2001). Um de seus derivados químicos - o Poliquilgerm[®] - evidencia propriedades antifúngicas contra *Candida albicans* (Bertolotti et al., 2004). A bactéria *Escherichia coli* também mostrou-se sensível ao nível de 99,9% (Messetti et al., 2005). Devido a estas características microbiostáticas, o Poliquilgerm[®] está sendo avaliado para controle de contaminantes industriais que sintetizam biopolímeros e podem aumentar a viscosidade dos fluidos dos processos. Dentre estes destaca-se *Leuconostoc mesenteroides*, um contaminante da indústria sucro alcooleira, que sintetiza dextrana.

MATERIAL E MÉTODOS: A influência do Poliquilgerm[®] sobre a viscosidade dos meios de cultivo contendo *L. mesenteroides* (produtor de dextrana) foi verificada comparativamente com soluções padrão de dextrana. O produto foi adicionado à estas soluções, e seus valores de viscosidade foram obtidos através de Viscosímetro de Ostwald. A seguir cultivou-se *L. mesenteroides* (B512F) em meio de cultura Mayeux & Colmer, na ausência e presença do Poliquilgerm[®]. Avaliou-se o crescimento da bactéria por espectrofotometria na região do visível ($\lambda = 540$ nm).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O produto não alterou a viscosidade das soluções de dextrana ao longo do tempo. As culturas de *L. mesenteroides* mostraram, após 24 horas, decaimento da viscosidade de 20,57 e 16,90%, quando acrescidas de 1,0 e 0,2% de Poliquilgerm[®], respectivamente. A presença de 0,2% do produto induziu uma diminuição de mais de 50% nas primeiras 6 horas de cultivo e de até 67,58% em 20 horas.

CONCLUSÕES: Os experimentos demonstraram que é possível diminuir a viscosidade do meio contendo *L. mesenteroides* quando Poliquilgerm[®] é aplicado. Embora preliminares, os dados indicam que o Poliquilgerm[®] possui potencial para inibir a produção de dextrana, assim como o crescimento do microorganismo em estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BERTOLETTI, A. C. D.; SANTOS, A. M.; ANGELIS, D. F.; CHIERICE, G. O.; CLARO NETO, S. Viabilidade de *Candida albicans* CCT 0776 *in vitro* sob atividade antimicrobiana do Poliquilgerm[®] derivado do óleo de *Ricinus communis* L. (mamona). In: Encontro de Biólogos do Conselho Regional de Biologia – 1 (15.: 2004: São Pedro) **Resumos...** São Pedro, 2004. pág. 142 ref. 11.28.

CHIERICE, G. O.; CLARO-NETO, S. Aplicação industrial do óleo. In: AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F. **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa, 2001. cap. 5.

MESSETTI, M. A.; SANTOS, A. M.; ANGELIS, D. F.; DALFRÉ, I. A. B.; CHIERICE, G. O.; CLARO NETO, S. Viabilidade de *Escherichia coli* CCT 1457 *in vitro* sob atividade antimicrobiana do Poliquilgerm[®] derivado do óleo de *Ricinus communis* L. (mamona). In: Workshop Internacional sobre Microbiologia Ambiental – “Desafios e oportunidades na América do Sul”, 2005, Campinas. **Resumos...** Campinas: Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), 2005. 1 CD-ROM.

Apoio Financeiro: CNPq

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO
E SISTEMAS DA QUALIDADE, EM INSTITUIÇÕES PÚBLICAS DE PESQUISA E ENSINO
SUPERIOR NA ÁREA DE SAÚDE NO BRASIL**

Camurça, E.M.N¹, Ô, C. do²

¹Universidade Federal de São Carlos – Campus Araras.

²Universidade Federal do Ceará

* e-mail: tinacamura@terra.com.br

Palavras-chave: Laboratórios, Qualidade. Procedimentos de Laboratório. Medidas de Segurança.

INTRODUÇÃO: Este trabalho teve como objetivo incentivar a implantação de técnicas de gerenciamento e procedimentos de boas práticas de laboratório junto a Rede Brasileira de Laboratórios - REBLAS a partir da avaliação de diagnóstico situacional, a qual foi realizada mediante a aplicação de questionários em laboratórios de instituições públicas de ensino superior e pesquisa na área da saúde em quatro capitais brasileiras.

MATERIAL E MÉTODOS: A pesquisa de campo foi realizada mediante visitas em laboratórios de instituições de ensino superior e pesquisa para diagnosticar a situação dos mesmos por meio de entrevistas com aplicação de questionários. O tamanho da amostra foi estabelecido em cinquenta (50) pesquisadores, distribuídos em instituições de ensino e pesquisa de quatro (04) capitais brasileiras. Em cada instituição foram selecionados laboratórios e identificados os pesquisadores responsáveis para serem entrevistados. Em seguida foi elaborado um diagnóstico situacional dos laboratórios através dos quais foram comparados modelos de boas práticas de laboratório previamente existentes na literatura com aqueles dos laboratórios entrevistados, os quais foram avaliados e conduzidos sob sigilo, de modo a manter a integridade dos laboratórios e instituições em questão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Como resultado do diagnóstico situacional dos laboratórios foram desenvolvidos modelos de procedimentos de boas práticas de laboratório e garantia da qualidade (procedimentos operacionais padrão e formulários), os quais poderão ser implantados e implementados em laboratórios de instituições públicas de ensino superior e pesquisa existente no Brasil.

CONCLUSÕES: As concepções teóricas que fundamentaram o trabalho foram analisadas e comparadas com as pesquisas teóricas e de campo e viabilizaram a escolha e elaboração de técnicas de gerenciamento e procedimentos padronizados em função do diagnóstico situacional dos laboratórios entrevistados. A implementação do sistema poderá refletir na comunidade científica conferindo confiabilidade em decorrência da introdução de procedimentos e técnicas padronizadas e no futuro permitirá que os laboratórios possam ser credenciados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária –ANVISA, conferindo segurança aos pesquisadores, bem como, reprodutibilidade dos resultados. Desta forma, este procedimento pode beneficiar consideravelmente as técnicas laboratoriais de microbiologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Critérios para a habilitação de laboratórios segundo os princípios das boas práticas de laboratório (BPL):** revisão 00 procedimento GGLAS 02/BPL. Brasília, 2001b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Guia para qualidade em química analítica:** guia CITAC / EURACHEM. Brasília, 2002b.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FITOPATOGÊNICA DOS METABÓLITOS
PRODUZIDOS PELO PATÓGENO *APHANOMYCES COCHLIOIDES***

Bomfeti, C.A.¹, Fukushi, Y.² & Tahara, S.²

¹Universidade Estadual de Londrina, CCB/BIO, CP 6001, 860051-990 Londrina/PR, Brasil;

² Universidade de Hokkaido, Faculdade de Agricultura, 060-8589 Sapporo/Hokkaido, Japão .
*clebomfeti@hotmail.com

Palavras-chave: *Aphanomyces cochlioides*, fitotoxina.

INTRODUÇÃO: *Aphanomyces cochlioides* é o agente causal da podridão radicular no espinafre (*Spinacia oleracea* L.) e "damping-off" na beterraba (*Beta vulgaris* L.), sendo capaz de infectar ainda, algumas outras espécies das famílias Chenopodiaceae e Amaranthaceae (Islam *et al.*, 2002). Tendo em vista, a importância da doença, no que se refere à queda de produção e conseqüentes prejuízos, um melhor conhecimento do mecanismo de patogenicidade, como a produção de fitotoxinas, poderá melhorar as formas de controle deste fitopatógeno.

MATERIAL E MÉTODOS: O fitopatógeno *Aphanomyces cochlioides* foi cultivado em meio BD (Batata Dextrose) por 14 dias a 28° C sob condições estáticas. O micélio foi então separado do meio de cultura através de filtragem e o filtrado foi extraído exaustivamente com acetato de etila. As fases orgânica e aquosa foram inoculadas em mudas de espinafre com 10 dias de idade para a verificação da atividade fitotóxica dos mesmos. Amostras destes extratos foram também aplicadas em papel de filtro (4 cm de diâmetro) e após a evaporação dos solventes, sementes de agrião (*Nasturtium officinale*) foram depositadas sobre o papel e incubadas sob condições controladas. Para confirmar a atividade fitotóxica da fase orgânica, amostras deste extrato foram adicionadas a tubos contendo ágar 0,5% e sementes da gramínea *Phleum pratense* foram depositadas na superfície dos tubos a fim de analisar a inibição na taxa de germinação desta espécie. Para estabelecer o tempo ótimo de incubação para a produção dos metabólitos fitotóxicos o patógeno foi incubado sobre condições estáticas e sob agitação durante 7, 14, 21 e 28 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A fase orgânica proveniente da extração do meio de cultura onde foi cultivado o patógeno *A. cochlioides* induziu mudanças morfológicas e inibiu o crescimento das mudas de espinafre. As mudas tratadas apresentaram lesões encharcadas e folhas amareladas sendo que os caules e as raízes apresentaram-se menores e mais finas que aqueles das plantas controles. Este extrato também provocou inibição na germinação e no crescimento das raízes de agrião e da gramínea. A maior produção dos compostos fitotóxicos foi obtida após 14 dias de incubação do patógeno sob condições estáticas, ocorrendo uma diminuição significativa desta produção após 21 dias de cultivo.

CONCLUSÕES: Neste trabalho foi demonstrado pela primeira vez que *A. cochlioides* produz compostos fitotóxicos que causam a inibição do crescimento da raiz e diminuição na taxa de germinação de algumas espécies de planta. Análises químicas para a determinação do composto(s) ativo e a elucidação da estrutura molecular deste composto(s) ainda são necessárias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ISLAM, M. T., ITO, T., SAKASAI, M. & TAHARA, S. Zoosporicidal activity of polyflavonoid tannin identified in *Lannea coromandelica* stem bark against phytopathogenic Oomycete *Aphanomyces cochlioides*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50:6697-6703, 2002.

Apoio Financeiro: MEXT-Japão

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

AVALIAÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA DE PRODUTOS QUÍMICOS

Oshiro, M.N.I.^{1*}, Santos, A.M.², Angelis, D.F.³ & Oliveira, V.J.A.⁴
^{1,2,3,4} Universidade Estadual Paulista – Unesp. Av 24A, 1515. Rio Claro, SP.
* maoshiro@uol.com.br

Palavras-chave: Biodegradação, teste de toxicidade.

INTRODUÇÃO: Os compostos xenobióticos muitas vezes apresentam alta recalcitrância à biodegradação. Tais produtos são utilizados para os mais diversos fins e com frequência originaram-se de resíduos antrópicos e são descartados junto com esgotos domésticos. De qualquer forma os resíduos atingem as águas doces dos rios e podem comprometer a saúde humana e animal, bem como a microbiota. O intuito deste trabalho foi avaliar a biodegradação de efluente industrial de produtos químicos mediante análises de Demanda Química de Oxigênio (DQO), cromatografia gasosa e testes de toxicidade com sementes de *Eruca sativa* (rúcula) e com o microcrustáceo *Daphnia similis*.

MATERIAL E MÉTODOS: Os experimentos foram realizados junto ao Departamento de Bioquímica e Microbiologia, do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. As análises de DQO e teste de toxicidade com *D. similis* seguiram metodologia da CETESB. O teste de toxicidade com sementes foi baseado em Wang (1987). A cromatografia gasosa foi feita em aparelho da marca Varian, modelo CP-3380.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O efluente estudado constitui um meio estressante, tanto que houve pequena recuperação de biotipos bacterianos capazes de se adaptarem e metabolizarem os compostos orgânicos presentes. A média de diminuição de matéria orgânica pela microbiota adaptada sob condições aeradas foi de 53,70%. Pela cromatografia gasosa pode-se observar a biodegradabilidade de alguns compostos de identidade desconhecida. Tomando-se como referência os picos dos cromatogramas antes e após o tratamento, verificou-se o declínio de uns e a elevação de outros. O teste de toxicidade com sementes evidenciou a diminuição da toxicidade do efluente, porém, ainda persistem efeitos residuais negativos para os organismos, visto que só foi possível a ocorrência de germinação das sementes com amostras em diluições abaixo de 15%. Ainda assim, as raízes apresentaram defeitos em seu alongamento, tendo crescimento médio inferior a 1,00 cm, sendo que o controle negativo (água destilada) permitiu crescimento médio de 3,00 cm. Para *D. similis* a toxicidade abaixou 26,13% em unidades toxicológicas (UT), comprovando o resultado obtido com o teste das sementes.

CONCLUSÕES: O experimento apresentou resultados positivos, pois houve adaptação de uma microbiota estável, diminuição da matéria orgânica e da toxicidade. Entretanto, houve dificuldade na realização de um tratamento eficaz neste tipo de efluente devido à presença de alta salinidade 63 g/L de resíduo sólido, por isso, verificou-se no efluente tratado persistência de grande parcela de compostos orgânicos e do efeito tóxico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental – CETESB. **Água – Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustácea):** Método de ensaio. L5.018. São Paulo, 1991. 32p.
- Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental – CETESB. **Demanda Química de Oxigênio:** Método da oxidação por dicromato de potássio em refluxo. São Paulo, L5.121, 1990, 8p.
- SHEN, T. T. **Industrial Pollution Prevention.** Berlin: Spring-Verlag, 1995. 371 p.
- WANG, W. Root elongation method for toxicity of organic and inorganic pollutants. **Environmental Toxicology & Chemistry**, v.6, p. 409-414, 1987.

*Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada***Avaliação da biodegradação de resíduos de hidrocarbonetos no solo de “landfarming” utilizando infravermelho.**

Hencklein, F.A.¹, Angelis, D.F.¹, Domingos, R.N.¹, Gonçalves, R.A.², Negrais-Seabra, P.³, La Scala Jr, N.⁴

¹Departamento de Bioquímica e Microbiologia – IB - Unesp – Rio Claro/SP, ²Refinaria de Paulínia – Petrobras – Paulínia/SP, ³Cenpes – Petrobras – Rio de Janeiro/RJ, ⁴Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias -UNESP - Jaboticabal/SP. 1.Departamento de Bioquímica e Microbiologia – IB - Unesp – Campus de Rio Claro Av. 24A, 1515 Bela Vista - Caixa Postal:199 CEP: 13506-900 - Rio Claro, SP
e-mail: faaphe@rc.unesp.br

Palavras-chave: 1.Biodegradação, 2.Resíduos de hidrocarbonetos, 3.Landfarming.

INTRODUÇÃO: Técnicas de biorremediação baseadas nas atividades metabólicas dos microrganismos têm certas vantagens, pois estimulam os processos naturais de biodegradação, enquanto a atenuação natural não alcança os limites regulamentados pelos órgãos de controle ambiental em um tempo razoável. Este trabalho objetivou avaliar a biodegradação dos hidrocarbonetos presentes em solo de “landfarming” utilizando a metodologia do infravermelho para quantificar a liberação de gás carbônico (CO₂).

MATERIAL E MÉTODOS: O experimento foi realizado em reatores contendo 10 litros de solo. Foram analisados dois tipos de solos com características distintas. O solo de cerrado utilizado apresenta característica predominantemente arenosa e baixa concentração de matéria orgânica (MO) e o solo de “landfarming” composição bastante argilosa e alta concentração de MO. Os solos foram peneirados e sua umidade ajustada para 70% da capacidade de campo. Utilizou-se para a correção da umidade vinhaça e água. Além disso, adicionou-se casca de arroz como agente descompactante para melhorar a textura dos solos, facilitando a troca de gases. A atividade dos microrganismos foi avaliada comparativamente mediante a produção de CO₂, que foi armazenado numa câmara, colocada sobre a coluna de solo do reator. Os gases eram succionados por uma bomba e fluía no aparelho, que mediante sensibilidade da luz infravermelha, quantificou o CO₂.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: As medições foram realizadas todos os dias, durante um período de 31 dias. As observações permitiram verificar que há acúmulo de CO₂ produzido e armazenado durante o período determinado. Para medidas imediatas do CO₂ é necessário realizar sucção contínua durante certo tempo para que o CO₂ pudesse ser quantificado mediante respiração microbiana e também pelos processos químicos de mineralização do carbono. Nas medições realizadas procedeu-se a sucção por 5 minutos de cada câmara armazenadora. Os resultados demonstraram que os tratamentos contendo a mistura de casca de arroz e vinhaça produziram maiores liberações de CO₂. Nos reatores contendo mistura de solos (cerrado e “landfarming”) adicionados de vinhaça e casca de arroz ocorreu a maior liberação do gás durante o período estudado. Os experimentos foram comparados, quando a liberação de CO₂ com solo esterilizado, neste a liberação de CO₂ foi menor que nos solos não esterilizados.

CONCLUSÕES: Pode-se concluir que a utilização de material descompactante e vinhaça auxiliam no processo de biodegradação dos compostos presentes no “landfarming” contribuindo para otimização da biorremediação. Além disso, o uso do equipamento que detecta CO₂ com maior sensibilidade pode auxiliar no entendimento dos processos metabólicos realizados pelos microrganismos na biorremediação e biodegradação de substâncias dispersas no solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ATLAS, R. M. Biorremediation of petroleum pollutants. *Intern. Biodet. Biodegrad.*, Edinburg, v.35, n.1, p.317-327, 1995.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Norma técnica L 6.350:** Solos - Determinação da Biodegradação de Resíduos – Método respirométrico de Bartha. São Paulo, 1990, 15p.
- DEL'ARCO, J. P.; FRANÇA, F. P. Biodegradation of crude oil in sandy sediment. *Intern. Biodet. Biodegrad.*, Edinburg, v.44, n.2, p.87-92, 1999.
- SEABRA, P. N. Uso da Biorremediação em Áreas Impactadas pela Indústria do Petróleo. In: MELO, I.S.; SILVA, C.M.M.S.; SCRAMIN, S.; SPESSOTO, A. (Ed.) **Biodegradação**. Jaguariúna. EMBRAPA, 2001. p.41-60.

Apoio Financeiro: MCT – CTPETRO – FINEP – ANP – PRH05

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

Avaliação da filamentação induzida por álcool isoamílico e fonte de carbono sob diferentes condições de cultivo em linhagem industrial de *Saccharomyces cerevisiae*

Miranda, V.S.², Brunetto, H.G.³ & Ceccato-Antonini, S.R.¹.

¹Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Sócio-Economia Rural,
Cento de Ciências Agrárias

²Bolsiata Fapesp, Bolsiata Fapesp³
Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Anhanguera, km 174, Araras.

* vivi@cca.ufscar.br

Palavras-chave: Filamentação, álcool isoamílico, *Saccharomyces cerevisiae*

INTRODUÇÃO: As leveduras são de fundamental importância sócio-econômica na biotecnologia, especialmente a espécie *Saccharomyces cerevisiae*, a qual apresenta alterações morfológicas (filamentação) em decorrência de situações estressantes. (CECCATO-ANTONINI & SUDBERY, 2004). Este trabalho teve como objetivo analisar a influência da fonte de carbono, especialmente a sacarose, em linhagem industrial de *S. cerevisiae* CCA 193 (PE-02), isolada de processo fermentativo e o potencial de filamentação desta em meios de crescimento e de fermentação EM condições não indutoras e indutoras de filamentação.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram realizados testes em meio YEP contendo sacarose nas concentrações de 10mM, 58,4mM e 100mM, e com 111mM de glicose em estufa a 30°C por 7 dias. O meio de caldo de cana clarificado 4ºBrix foi utilizado para a realização do preparo do inóculo e testes em condições de crescimento, em incubadora a 30°C e 160rpm. Para os testes fermentativos, utilizou-se o meio de caldo de cana clarificado 12ºBrix em estufa a 30°C por 48 horas. Em todos os testes adicionou-se 0,5% de álcool isoamílico (AIA) para indução da filamentação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Nos testes com diferentes concentrações de sacarose e glicose, observou-se que somente na presença de AIA a levedura apresentou filamentação. Em condições de crescimento, ocorreram mais células filamentosas que em condições de fermentação. Além disso, observou-se filamentação em meio 4ºBrix sem AIA, porém o tipo de morfologia apresentada foi de cadeias lineares extensas de células. Nos testes fermentativos sem reciclo celular, as alterações morfológicas não foram significativas. Já nos testes com reciclo celular, onde a indução da filamentação ocorreu a partir da fase de inóculo de processo fermentativo, com 0,1% de AIA, observou-se filamentação e, posteriormente, com o aumento desta taxa, verificou-se uma recuperação na viabilidade celular e na produção de etanol quando comparado com os testes onde a levedura não sofreu indução na fase de inóculo.

CONCLUSÕES: Portanto, conclui-se que a indução da filamentação por AIA em meio de crescimento contendo sacarose como fonte de carbono é mais intensa que em condições de fermentação e que a filamentação pode ser benéfica para o processo fermentativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CECCATO-ANTONINI, S.R. & SUDBERY, P.E. Filamentous growth in *Saccharomyces cerevisiae*. Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo, 35: 173-181, 2004.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

“AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DOS SUCOS DE LARANJA COMERCIALIZADOS EM ALFENAS-MG”

Vieira, E.A.^{1*}, Souza, A.C.¹, Chavasco, J.K.²

Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL-MG, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 11, CEP 37130000, Alfenas, MG;
email⁽¹⁾: edenvieira@yahoo.com.br

Palavras Chaves: Contaminação, Suco de Laranja, Coliformes.

INTRODUÇÃO:

A pesquisa de bactérias patogênicas ou indicadores de condições higiênicas sanitárias auxilia na verificação da qualidade do alimento consumido. Levando-se em consideração esta reflexão, torna-se importante, para a Saúde Pública, o estudo da incidência de microrganismos potencialmente patogênicos em sucos de frutas *“in natura”*, em virtude do acentuado consumo desse produto nas últimas décadas (1)

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de sucos de laranja distribuídos no comércio de Alfenas-MG, quanto à presença de coliformes totais e coliformes a 45°C, comparando os sucos mantidos em refresqueiras com os sucos preparados na hora.

MATERIAL E MÉTODOS:

Foram coletadas 40 amostras de sucos de laranja *“in natura”*, sendo 31 amostras de refresqueira e 9 amostras feitas na hora. Essas amostras foram analisadas quanto à presença de coliformes totais e a 45°C, segundo o método de número mais provável (NMP) de coliformes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Em 70% das 40 amostras analisadas, o número de coliformes totais apresentou contagem acima do permitido pela legislação que estabelece valores de 10² NMP/ml². (2)

Já na análise do número de coliformes a 45°C, 15% das amostras apresentaram contagem acima do permitido pela legislação.

Os sucos naturais que foram coletadas de refresqueiras apresentaram um maior número de coliformes totais e a 45°C comparados com os sucos preparados na hora, sendo 61,2% das amostras de refresqueiras houve contagem acima do ideal de coliformes totais. Já nas amostras coletadas na hora, apenas 33,3% apresentaram contagem acima do ideal de coliformes totais. Na contagem de coliformes a 45°C, apenas 5 amostras de refresqueiras apresentaram contagem acima do ideal, sendo que em nenhuma amostra de sucos preparados na hora apresentou coliformes a 45°C.

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos permitem concluir que a maioria das amostras apresenta níveis de contaminação microbiana acima do ideal o que vem a exigir das autoridades sanitárias uma maior fiscalização, pois na maioria das vezes estes sucos são preparados sem os cuidados de higiene, colocando em risco a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

(1) SILVA, J.A. et al. **Higiene Aliment** 2002, Vol.16

(2) ANVISA. **Agência nacional de vigilância sanitária**. Resolução nº 12 de 02 de janeiro de 2001

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DO PROCESSO DE FERMENTAÇÃO DAS UNIDADES PRODUTORAS DA COOPERATIVA DOS PRODUTORES DE CACHAÇA DO VALE DO PIRANGA

Duarte, W.F.^{1*}, Schwan, R.F.²

¹Mestrando em microbiologia agrícola – Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras, MG

²Coordenadora do curso de pós-graduação em microbiologia agrícola – Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras, MG

*e-mail: whasleyfd@yahoo.com.br

Palavras-chave: fermentação; cachaça; qualidade.

Introdução: A variação na qualidade da cachaça ao longo da safra, devido à presença de diferentes linhagens de leveduras é um problema. Para ser evitado têm-se isolado da fermentação de cachaça linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* para serem utilizadas no preparo do fermento iniciador (Pataro et al, 2002). A freqüente ocorrência de contaminações por bactérias nas dornas de fermentação representa também um dos mais graves problemas enfrentados na produção de cachaça. Em estudo com identificação de bactérias contaminantes em destilarias, o gênero *Lactobacillus* representou 71% do total de Gram-positivas; destes, 24% foram do gênero *Bacillus*. As bactérias produtoras do ácido lático formaram os grupos com populações maiores, apesar de não terem sido capazes de se multiplicar durante o processo fermentativo (Schwan et al., 2001). Atenção especial deve ser dada às contaminações, principalmente quando a produção da cachaça se faz pelo sistema de cooperativa, pois tem-se diversas unidades produtoras e uma só bebida ao final do processo. Neste caso é grande o risco de que uma unidade produtora comprometa a qualidade da cachaça produzida nas demais.

Material e métodos: No presente trabalho fez-se o acompanhamento do processo fermentativo (safra 2005) nas unidades produtoras integrantes da Cooperativa dos Produtores de Cachaça do Vale do Piranga – COOPERVAPI. O projeto é coordenado pelo Sebrae – MG, unidade Ponte Nova. Durante as visitas, foram feitas observações microscópicas das amostras coletadas nas dornas de fermentação objetivando-se verificar a presença de bactérias contaminantes e a viabilidade das células de leveduras através da utilização de corante vital azul de metileno.

Resultados e conclusão: Em todos os alambiques visitados, verificou-se a presença de contaminações. Na maioria dos casos, o processo fermentativo estava comprometido devido à elevada população de bactérias contaminantes. Na avaliação da viabilidade celular, observou-se um número reduzido de células inviáveis, no entanto, constatou-se populações baixas de leveduras nas dornas de fermentação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

PATARO, C.; GOMES, F. C. O.; ARAÚJO, R. A. C.; ROSA, C. A.; SCHWAN, R. F.; CAMPOS, C. R.; CLARET, A. S.; CASTRO, H. A. Utilização de leveduras selecionadas na fabricação da cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 37-43, 2002.
SCHWAN, R. F.; MENDONÇA, A. T.; SILVA JUNIOR, J. J.; RODRIGUES, V.; WHEALS, A. E. Microbiology and physiology of cachaça (aguardente) fermentations. **Antonie van Leeuwenhoek**, Delft, v. 79, n. 1, p. 89-96, Jan. 2001.

Apoio Financeiro: CAPES, FAPEMIG, CNPq

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA O CULTIVO DO COGUMELO *Pleurotus sajor-caju*

MARTOS, E. T.^{1*}, MOREIRA G. F.¹, SIQUEIRA F. G.¹, DIAS E. S.², SILVA R.³,
¹ Universidade Federal de Lavras – DBI, ² Orientador – Universidade Federal de Lavras,
³ Co-Orientador – Universidade Federal de Lavras. e-mail etmartos@yahoo.com.br*

Palavras Chaves: *Pleurotus sajor-caju*, Resíduos agroindustriais, Cogumelo.

Introdução: A utilização de resíduos agroindustriais como substrato para a produção de cogumelos, é uma das melhores alternativas para a redução de custos, o que é fundamental para a oferta de cogumelos a preços mais acessíveis. Este trabalho teve como objetivo avaliar a produção do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes substratos.

Material e Métodos: Foram realizados 5 tratamentos com 5 repetições cada, com as seguintes formulações: 100% grama batatais – 1,6% de N (T-1); 50% grama batatais e 50% de capim coast-cross – 1,2% de N (T-2); 60% de grama batatais e 40% de resíduo industrial de algodão – 0,95% de N (T-3); 80% de grama batatais e 20% de palha de feijão – 1,4% de N (T-4); 60% de grama batatais e 40% de bagaço de cana – 0,89% de N (T-5). Os ingredientes foram misturados e umedecidos para aproximadamente 65% de umidade; depois foram acondicionados em sacos de polipropileno (1kg/saco) e autoclavados duas vezes a 121^o C/2h. Após o resfriamento, o sacos foram inoculados com, aproximadamente, 20g de inoculante do *P. sajor-caju*. Os sacos foram incubados em sala com luz difusa e temperatura ambiente até a completa colonização do substrato (30 dias). Os dados foram submetidos à análise de variância através do teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão: Os tratamentos T-2 e T-3 apresentaram a menor produtividade (19,24 e 19,77%), enquanto que o T-5 apresentou a maior produtividade (26,13%), seguido pelos tratamentos T-1 e T-4 (23,7 e 23,9%).

Conclusões: Os resultados mostram que a grama batatais pode ser usada pura ou em combinação com outros resíduos, sem comprometer a produtividade do cogumelo *P. sajor-caju*.

Referências Bibliográficas

DIAS E. S., KOSHIKUMO É. M. S., SCHWAN, R. F., SILVA, R., CULTIVO DO COGUMELO *Pleurotus sajor-caju* EM DIFERENTES RESÍDUOS AGRÍCOLAS, **Revista Ciência agrotecnologia**, Lavras. V.27, n.6, p.1363-1369, nov./dez., 2003

DONINI, L.P., BERNARDI, E., MINOTTO E., NASCIMENTO, J.S., DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE *PLEUROTUS* SPP. SOB A INFLUÊNCIA DE DIFERENTES SUBSTRATOS E DEXTROSE. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.3, p.331-338, jul./set., 2005

Financiamento: FAPEMIG

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

AValiação de Esgoto Bruto para Construção de um Projeto de Pesquisa

CORAUCCI FILHO, B.¹, CRUZ, L. M. de O.¹, NICOLAU, C. E. ^{1*},
OLIVEIRA, R. Â. de¹, RAMALHO, L. C.¹ & TONETTI, A. L.¹

¹ FEC – UNICAMP

Avenida Albert Einstein, 951, Cidade Universitária "Zeferino Vaz",
Barão Geraldo, Campinas, SP, 13083-852.

* cintiaelenan@yahoo.com.br

Palavras-chave: Esgoto, tratamento, caracterização.

INTRODUÇÃO: Quase a totalidade dos esgotos provindos da área rural e de núcleos urbanos no interior do país é lançada diretamente nos corpos hídricos sem nenhum tratamento, agravando os problemas ambientais. A minimização desses danos pode ser obtida com a utilização do filtro anaeróbio com recheio de bambu combinado com filtros de areia, os quais propiciaram a adequação do efluente à maioria dos quesitos apresentados na legislação ambiental brasileira, a Resolução CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005). A presente pesquisa busca aprofundar esses estudos por meio da construção de um novo sistema composto por esses dois reatores em uma nova área de pesquisa. Salienta-se que nesse projeto será avaliado o esgoto bruto desse local e os resultados comparados com a bibliografia existente sobre o assunto.

MATERIAL E MÉTODOS: Caracterizou-se o esgoto bruto que será empregado no trabalho através de análises de parâmetros físicos, químicos e biológicos para amostras coletadas diariamente em uma semana. Esses dados foram comparados com resultados existentes para o esgoto de uma área residencial da cidade de Limeira, São Paulo. Todas as análises seguiram os procedimentos do *Standard Methods for the Examination of Water e Wastewater* (AWWA, 1998). Na literatura, buscou-se relacioná-los com os valores apresentados por Von Sperling (1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os resultados obtidos para os parâmetros analisados do esgoto bruto em questão foram similares aos encontrados no esgoto da cidade de Limeira e também para aqueles sugeridos por Von Sperling (1996), caracterizando-a como um efluente tipicamente doméstico. Destaca-se que para as análises de coliformes totais, *Escherichia coli*, cistos de *Entamoeba coli*, cistos de *Entamoeba histolytica* e larvas de nematóides, os resultados permitirão averiguar satisfatoriamente a capacidade de remoção do sistema alternativo em estudo, possibilitando determinar o risco à saúde pública que o efluente poderá ou não trazer.

CONCLUSÕES: Conclui-se que o esgoto bruto provindo do novo local de coleta tem características semelhantes ao de um efluente doméstico, podendo ser utilizado na pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AWWA – APHS. *Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater*. 20a. ed. New York, 1998.

BRASIL, MMA. **Resolução CONAMA Nº. 357/2005**. Brasília, 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 10 mar 2007.

VON SPERLING, M. **Princípios básicos do tratamento de esgotos**. 1ª edição. Belo Horizonte: UFMG, 1996.

Apoio Financeiro: FAPESP; CNPq.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

Avaliação do Biossurfactante Produzido por *Candida tropicalis* UCP 0996 Utilizando um Planejamento Fatorial

Galdino, R. A.^{1,2}, Gusmão C.A.B.^{1,2}, Sarubbo, L. A.^{2,3}

¹Graduando em Engenharia Ambiental, Centro de Ciências e Tecnologia – UNICAP; ²Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB), Universidade Católica de Pernambuco, Rua Nunes Machado, n. 42, Bloco J, Boa Vista, CEP: 50 900-000, Recife-PE; ³Centro de Ciências e Tecnologia – Universidade Católica de Pernambuco; E-mail: rodrigo_galdino@terra.com.br

Palavras-chave: Biossurfactante, *Candida tropicalis*, pH, Tensão Superficial

INTRODUÇÃO: os biossurfactantes são metabólitos produzidos por microrganismos (HABA et al., 2000), e possuem propriedades capazes de reduzir a tensão superficial, bem como, inúmeras aplicações que envolvem desde a ação de detergência à solubilização e dispersão de fases (MAKKAR & CAMEOTRA, 2002). Neste contexto o objetivo deste trabalho, foi avaliar a produção de biossurfactante por *Candida tropicalis* no tocante a relação redução da tensão superficial – pH, utilizando um planejamento fatorial como ferramenta estatística.

MATERIAL E MÉTODOS: a *Candida tropicalis* UCP 0996 foi cultivada durante 144 horas à 150rpm e 27°C, em meio mineral suplementado com óleo vegetal residual de fritura e milhocina, um resíduo da indústria da fabricação de produtos à base de milho, como substratos, de acordo com o seguinte planejamento fatorial 2⁴ sem ponto central: Óleo de fritura (2 e 4 %), Milhocina (2 e 4 %), Agitação (150 e 200 rpm) e Inóculo (10² e 10⁶ células/mL).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: considerando a tensão superficial como parâmetro mais utilizado para a detecção de agentes surfactantes, esta foi selecionada como variável resposta do planejamento experimental. A produção dos agentes surfactantes foi realizada segundo planejamentos fatoriais, sendo os resultados analisados pelo programa STATISTICA versão 6.0 da Statsoft, USA.

Com os resultados obtidos, observou-se que a interação entre as variáveis concentração de milhocina (2% e 4%), agitação (200rpm) e inóculo (10⁶ células/mL) foi positiva quanto à redução da tensão superficial (30 mN/m), bem como, tiveram resultados significativos do ponto de vista estatístico. Em tais condições, os valores de pH se mantiveram entre 5 e 6, ou seja, pH com caráter ácido.

CONCLUSÕES: O planejamento fatorial utilizado permite direcionar experimentos futuros baseados na utilização de maiores concentrações de milhocina, maior tamanho de inóculo e maior velocidade de rotação para a produção de biossurfactantes potentes por *Candida tropicalis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

HABA E.; et al. Screening and production of rhamnolipids *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste flying oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.379-387, 2000.

MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S. An update on the use of uncoventional substrates for biosurfactant production and their new applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 58, p. 428-434. 2002.

Apoio Financeiro: FACEPE e FINEP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

Avaliação físico-química e sensorial de cachaças produzidas com *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias lácticas

Vieira, J.P.F.^{1*}, Schwan, R.F.², dos Anjos, J.C.P.³, Cardoso, M.G.³ & Duarte, W.F.²

¹Graduando em Engenharia de Alimentos, bolsista de iniciação Científica FAPEMIG, Universidade Federal de Lavras-MG; ²Departamento de Biologia Universidade Federal de Lavras-MG; ³Departamento de Química Universidade Federal de Lavras-MG.

jpaulo_ufla@yahoo.com.br

Palavras-chave: Cachaça; *Saccharomyces cerevisiae*; bactérias lácticas.

INTRODUÇÃO: Dentre as diversas etapas do processo de produção da cachaça, a fermentação é uma das mais importantes, com a produção de álcool etílico em maior quantidade e a formação de diversos outros compostos denominados componentes secundários podendo-se citar aldeídos, metanol, álcoois superiores, ácidos e ésteres. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as interações entre as culturas iniciadoras de *Saccharomyces cerevisiae* e *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus buchneri* na qualidade final da cachaça artesanal.

MATERIAL E MÉTODOS: A fermentação alcoólica foi realizada no Laboratório de Microbiologia (DBI), em 4 bateladas em 4 dornas com capacidade de 30 L, inoculados com: *Saccharomyces cerevisiae* (CA116) - CA116; CA116 e *Lactobacillus buchneri* - CA116/LB; CA116 e *Lactobacillus plantarum* - CA116/LP; CA116 e *Lactobacillus buchneri* e *Lactobacillus plantarum* - CA116/LP/LB; A análise físico-química foi realizada no laboratório de Análises Físico-químicas de Aguardente (DQI). A análise sensorial foi feita no Laboratório de Análise Sensorial (DCA), com 40 provadores não treinados em cabines individuais e aplicados o teste de ordenação e estudo de aceitação global das 4 cachaças.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Observou-se que somente a amostra CA116/LP apresentou uma concentração superior de ácidos voláteis comparados com as demais amostras. As amostras CA116/LP e CA116/LP/LB apresentaram redução na produção de álcool superior. A presença de aldeídos mostrou-se característica para cada inóculo utilizado. A amostra CA116/LB apresentou menor teor de ésteres. Amostras utilizando as bactérias apresentaram maior teor de metanol comparado aos resultados das amostras com CA116. Não houve diferença significativa nas análises de ordenação e aceitação global entre as cachaças produzidas.

CONCLUSÕES: A interação entre a levedura e as bactérias resultaram em cachaças com características físico-químicas peculiares, estando os parâmetros analisados em conformidade com os limites permitidos pelo MAPA e não havendo diferença sensorial perceptível para os consumidores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

DATO, M. C. F. Analysis of the secondary compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* and wild yeast strains during the production of "cachaça". *Braz. J. Microbiol.* v.36 n.1,2005.

CAMPOS, C. R. Uso de cepas selecionadas de *saccharomyces cerevisiae* na produção de cachaça. 2003. 105p. Dissertação (mestrado)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Apoio Financeiro: FAPEMIG, CNPQ e CAPES

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

BACTÉRIAS E ALGAS FITOPATOGÊNICAS EM ORQUÍDEAS DO VIVEIRO DE MUDAS DA UNIARARAS, MUNICÍPIO DE ARARAS, SP.

Silva, K. B.¹, Moraes, C. P.¹, Marteline, M. A.¹, Ronconi, C. C.², Ribeiro, H. C.¹, Pulz, P.¹

¹ UNIARARAS. Rua Maximiliano Baruto, no. 500, Jardim Universitário, CEP: 13607-339 – Araras/SP.

² Orquidácea - Produtores de Orquídeas. Estrada Municipal de Itapema, 4415. Caixa Postal: 06. CEP: 08900-970 - Guararema/SP.

*e-mail: kleber_roses@yahoo.com.br

Palavras-Chaves: Orchidaceae, produção vegetal, fitopatologia

INTRODUÇÃO: Orquídeas são flores importantes para o agronegócio florícola mundial. Para estabelecimento de protocolos fitossanitários eficazes nestas plantas, realizou-se a identificação de bactérias e algas fitopatogênicas no viveiro de mudas da Uniararas.

MATERIAL E MÉTODOS: Em 2006 foram realizadas inspeções em plantas para recolhimento de material biológico com sintomas de enfermidades. As amostras foram identificadas, organizadas e fotografadas. Realizaram-se cultivos de tecidos infectados em ½ MS sem acidificação. Logo após realizaram-se provas bioquímicas descritas em literatura especializada para a identificação das bactérias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Foi identificada a alga *Cephaleuros virescens* (Chlorophyta, Trentepohliaceae) para Híbridos de *Cattleya* e *Oncidium varicosum* e *Oncidium pubes*. Quanto às bactérias foram identificados *Erwinia caratovora* pv. *Caratovora* para *Brassavola perrine* e *Oncidium varicosum*, *Pseudomonas* sp para *Coelogyne massangeana* e *Xanthomonas* sp para Híbridos de *Phalaenopsis*, fato considerado normal devido aos freqüentes relatos na literatura sobre infecções por parte destes organismos em orquídeas.

CONCLUSÕES: O controle fitossanitário no viveiro de mudas da Uniararas encontra-se ineficiente, fato provado pelos fitopatógenos *Cephaleuros virescens*, *Erwinia caratovora* pv. *Caratovora*, *Pseudomonas* sp e *Xanthomonas* sp identificados em suas plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

SCHAAD, N.W, JONES, J.B. & CHUM, W. 2001. **Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria**. APS Press. 200p.

Apoio Financeiro: Empresa Orquidácea Ltda.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

BIODEGRADAÇÃO DO POLIETILENO TEREFTALATO por *Bacillus subtilis*
 JARA, A. M. A.T.^{1,4}, CASULLO ARAÚJO, H. W.^{2,4}, SILVA, T.A. L.^{3,4}, CARDOSO, A.^{1,4} &
 CAMPOS – TAKAKI, G. M.⁴

¹Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais – UNICAP, Brasil., ²Doutorado RENORBIO, ³Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, ⁴Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais – NPCIAMB; Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP – R. do Príncipe, 526, Boa Vista, Recife, PE, 50050-900. E-mail takaki@unicap.br.

Palavras-chave: Polietileno tereftalato, *Bacillus subtilis*.

INTRODUÇÃO: Nos últimos anos, o homem vem descobrindo a necessidade da preservação do ambiente em que vive. O uso de polímeros sintéticos tem aumentado significativamente desde o começo do século XX (NDON *et. al.*, 1992). Os plásticos após o consumo são descartados rapidamente, permanecendo em depósitos de lixo e aterros por décadas. Desta maneira, os plásticos sintéticos vêm se acumulando na natureza a uma taxa de cerca de 25 milhões de toneladas/ano(AHN *et. al.*, 2001). A biodegradação tem sido descrita como uma possível metodologia para reduzir o acúmulo dos plásticos sintéticos e convencionais (HUANG, 1995). Neste sentido estudos foram realizados com *Bacillus subtilis* para avaliar o potencial de degradação do PET.

MATERIAL E MÉTODOS: Microrganismo – Foi utilizado um isolado de *Bacillus subtilis*, UCP 999 (Pernambuco), depositado no Banco de Culturas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais da UNICAP. O polietileno tereftalato foi submetido a 4 processos físico-químico, irradiação UV por 12h/dia=36h, irradiação UV 2h/dia = 6h, temperatura 50°C durante 72h e de 35°C durante 72h (estufa). Em seguida foram cortados, pesados e esterilizados quimicamente. Os filmes foram colocados no Erlenmeyer de 250 ml contendo 1 ml da suspensão do *Bacillus subtilis* e 100 ml do meio AN contendo 0,02-0.50%µl de tween 80, agitados a 150 rpm por 30 dias à 35°C e com os produtos da degradação do plástico foi feito o teste de toxicidade utilizando *Artemia salina*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Frequentemente, as mudanças nas propriedades elétricas ocorrem devido, principalmente, ao crescimento microbiano na superfície e está associada à umidade e a mudanças no pH causadas pela excreção de metabólitos (ASTM G21-90,1990). O pH inicial do experimento foi de 6.75 passando para 8,8 , após após 30 dias de incubação. O teste com *Artemia salina*, apresentou toxicidade. Segundo Franchetti (2002), quebras oxidativas da cadeia macromolecular do PVC, através de processos enzimáticos, indicam a presença de ácidos carboxílicos e de políenos, cujo processo pode ser semelhante em PET.

CONCLUSÕES: As alterações do pH são mediadas pela excreção de metabólitos tóxicos. Na biodegradação ocorreu a quebra da cadeia macromolecular do polímero e através do teste de toxicidade observar-se presença de subprodutos tóxicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- AHN, B.D; KIM, S.H. and YANG, J.S. Synthesis and characterization of the biodegradable copolymers from succinic acid and adipic acid with 1,4-butanediol. *Journal of Applied Polymer Science and Technology*, v.82,p.2808-2826,2001.
 NDON, U. J; LEVINE, A. D. and BRADLEY, B. S. Evaluation of biodegradability of starch – based plastics. *Wat. Sci. Tech.*v.26,n.9-11,p.2089-2092,1992.
 HUANG, S. J. and EDELMAN, P. G. An overview of biodegradable polymers and biodegradation of polymer In: Scott, G & Gilead, (Ed). *Degradable polymers: principles & applications*. London Chapman and Hall (S.I), p.18-23, 1995.
 FRANCHETTI, S. M. M. e MUNIZ, D.K. Interação entre filmes de PVC e chorume enriquecido com meio mineral. *Arq. Inst. Biol.* v.69, n.3, p.103 –107, julho, 2002.

Apoio Financeiro: FINEP, CAPES e CNPq.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

BIOSURFACTANTE PRODUZIDO POR *CANDIDA LIPOLYTICA* UTILIZANDO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE ACORDO COM PLANEJAMENTO FATORIAL

Andrade, RFS^{1,4}; Luna, JM^{2,4}; Campos-Takaki, GM^{3,4}.

¹Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas e Saúde,

²Doutorado em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Pernambuco

³Departamento de Química – Universidade Católica de Pernambuco;

⁴Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais (NPCIAMB), Universidade Católica de Pernambuco*
rosileide_fontenele@yahoo.com.br

Palavras-chave: Manipueira, Biossurfactante, *Candida lipolytica*.

INTRODUÇÃO: A busca por surfactantes naturais em substituição aos surfactantes sintéticos derivados do petróleo têm sido assunto de grande interesse da biotecnologia em função da necessidade de preservação ambiental. Neste contexto, destacam-se os metabólitos produzidos por microrganismos, os chamados biossurfactantes. Estes surfactantes possuem estrutura molecular com grupos hidrofílicos e hidrofóbicos capazes de exibir diversas propriedades como formação de macro ou micro emulsões, ação espumante, solubilidades e detergência, além da grande capacidade de redução da tensão superficial (BANAT, et al., 2000; MULLIGAN, 2005). Neste sentido, este trabalho teve como objetivo a produção de biossurfactante por *Candida lipolytica* utilizando como substrato resíduo agroindustrial (manipueira), realizado de acordo com planejamento fatorial.

MATERIAL E MÉTODOS: A produção de biossurfactante produzido por *Candida lipolytica* foi realizado a partir da melhor condição do planejamento fatorial de 2³ em Erlenmeyer com 250mL de capacidade contendo 100 mL de meio Yest Salt Water (YSW) inoculados com uma suspensão de 10⁷ células/mL utilizando como substrato a manipueira. Os frascos foram mantidos sob agitação orbital de 150rpm à temperatura de 28°C por 96 horas. O líquido metabólico livre de células foi submetido a variável resposta tensão superficial e testado quanto ao seu poder de remoção.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Através da determinação da tensão superficial foi selecionada a melhor condição do planejamento para realização da remoção. Os resultados obtidos após 96 horas de cultivo, demonstraram na condição 2 do planejamento fatorial uma significativa redução da tensão superficial da água 70 mN/m para 26,35 mN/m, onde ocorre maior concentração de manipueira (10%) e menor nível de sulfato de amônio e uréia. A remoção realizada utilizando o líquido metabólico livre de células conseguiu remover 62,2% do óleo contido no solo.

CONCLUSÕES: *Candida lipolytica* apresenta habilidade de crescer e produzir biossurfactante em meio contendo manipueira como substrato possuindo grande poder de remoção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: BANAT IM, MAKKAR RS, CAMEOTRA SS. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Appl Microbiol Biotechnol*. v. 53, p.495-508, 2000.

MULLIGAN, C.N. Environmental applications for biosurfactants. *Environmental Pollution*, v.133, p.183-198, 2005.

Apoio Financeiro: FINEP/ CTPETRO/ CNPq/ CTPETRO

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

BIOTRANSFORMAÇÃO DO CORANTE TRIFENILMETANO POR
CUNNINGHAMELLA ELEGANS LENDNERAmbrósio, S.T.¹; Campos-Takaki, G. M.²¹Doutorado em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas/UFPE Recife-PE;²Departamento de Química e meio ambiente/NPCIAMB/UNICAP – Universidade Católica de Pernambuco. Recife-PE, Brasil, Recife – PE 50050-590 galba_takaki@yahoo.com.br**Palavras-chave:** Corante trifenilmetano; Violeta cristal; Biodegradação; Biossorção; *Cunninghamella elegans***INTRODUÇÃO:** O violeta cristal pertence à classe dos corantes trifenilmetanos, sendo extensivamente utilizado pela medicina humana e veterinária, laboratórios em geral, indústrias de cosméticos e também pelo setor têxtil, para colorir fibras de nylon, lã, seda e algodão. Contudo, os maiores consumo são decorrentes de atividades nas indústrias de couro e papel (Azmi et al., 1997). Neste trabalho foi investigada a descoloração do violeta cristal utilizando *C. elegans*, visando um melhor entendimento sobre o crescimento micelial na presença e ausência do corante e com intuito de estudar o potencial de biotransformação do violeta cristal pelo fungo.**MATERIAL E MÉTODOS:** *Cunninghamella elegans* UCP 542 foi isolada do sedimento do mangue procedente do Município de Rio Formoso, Recife, PE, Brasil. O corante utilizado neste estudo foi o violeta cristal C.I. 42555. O crescimento micelial foi obtido a partir da inoculação de 5mL de uma suspensão de esporos ($3,8 \times 10^8$ esporos/mL) em frascos de Erlenmeyer contendo 95 mL do meio de baixo custo (peptona 10g/L; sacarose 20g/L; KH_2PO_4 0,5 g/L) (Kapdan et al., 2000). Aliquotas do sobrenadante foram submetidas à análise espectrofotométrica para determinação da cor. Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata. Frascos controle sem o corante foram mantidos nas mesmas condições. Biotransformação do corante: Frascos de Erlenmeyer com capacidade de 125mL contendo 30mL de meio Sabouraud líquido foram inoculados com 5mL da suspensão de esporos ($3,8 \times 10^8$ esporos/mL) e mantidos sob agitação de 150 rpm a 28°C (Hansen et al., 1995).**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Os resultados obtidos com 72 horas de cultivo, correspondente à fase exponencial de crescimento, o metabolismo celular mostrou-se mais efetivo tanto para a descoloração e crescimento micelial, indicando ser um período de ativo metabolismo celular, cujos dados são confirmados por Griffin (1964). Segundo Gaden (2000), o processo fermentativo pode mostrar duas fases, onde primeiramente ocorre uma acumulação, seguida do metabolismo oxidativo sobre o produto acumulado, definida como fermentação tipo III. O comportamento do pH avaliado durante o crescimento de *C. elegans* na presença do corante mostrou uma tendência à alcalinidade, em torno de 7,6 após 48 horas de cultivo, sugerindo que o aumento do pH está relacionado às reações ocorridas durante o crescimento e descoloração decorrentes do caráter iônico do corante.**CONCLUSÕES:** Os resultados obtidos indicam que o potencial enzimático de *C. elegans* são decorrentes do sistema citocromo P-450, um complexo com múltiplas enzimas, cujo mecanismo bioquímico permite a oxidação de compostos aromáticos.**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:** Azmi W., Kumar R.S, Banerjee U.C., 1998. Biodegradation of triphenylmethane dyes. *Enzyme and Microbial Technology* 22, 185-191; Gaden (2000); Griffin, D.H., 1994. Chemistry of the fungal cell. In *Fungal Physiology*. Wiley-Liss, New York, USA, pp. 23-62; Kapdan et al., 2000; Hansen, E.B., Cho, B.P., Korfmacher, W.A., Cerniglia, C.E., 1995. Fungal transformation of antihistamines: metabolism of brompheniramine, chlorpheniramine, and pheniramine to N-oxide and N-demethylated metabolites by the fungus *Cunninghamella elegans*. *Xenobiotica* 25(10), 1081-1092; Kapdan, I. K., Kargi, F., McMullan, G., Marchant, R., 2000. Effect of environmental conditions on biological of textile dye by *Coriolus versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology* 26, 381-387**Apoio Financeiro:** FINEP, CAPES e CNPq.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

CAPACIDADE AMILOLÍTICA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DA BEBIDA FERMENTADA INDÍGENA CAUIM.

Caio T. Rachid C. C¹; Rosane Freitas Schwan²

¹., bolsista CNPq, 7^o módulo de Ciências Biológicas, setor de Microbiologia Agrícola, DBI/Ufla; ²Orientadora – DBI Ufla
² e-mail: rschwan@ufla.br

Palavras-chave: amilase, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*

INTRODUÇÃO: Alimentos fermentados são largamente consumidos em todo o mundo. Muitos são obtidos a partir da fermentação de substrato amiláceo, como arroz, mandioca entre outros. A fermentação espontânea é normalmente utilizada e inúmeros microrganismos fazem parte do processo, principalmente os do gênero *Lactobacillus*. Como mandioca e cereais consistem principalmente de amido, *Lactobacillus* amilolíticos, seriam altamente benéficos. A inoculação da massa do substrato com tais microrganismos levaria a um melhor controle da fermentação e a produção de produtos com melhor qualidade. Além disso, a capacidade de hidrolisar o amido é um importante fator para taxonomia dos microrganismos. Esse trabalho foi feito com o objetivo de verificar a capacidade amilolítica de 143 microrganismos isolados da bebida fermentada indígena, cauim.

MATERIAL E MÉTODOS: Os microrganismos, isolados e identificados em trabalhos anteriores foram obtidos da coleção de microrganismos do lab. de fisiologia e genética de microrganismos do DBI/UFLA. Cada isolado foi reativado e inoculado em meio de hidrólise de amido (amido solúvel 1%; caseína ácida hidrolisada 1%; glicose 0,1% Na₂HPO₄ 0,3%; MgSO₄.7H₂O 0,01% e ágar 1,3%) e incubados por 7 dias a 34°C. Após o período as placas foram cobertas com uma solução de lugol. Como testes positivos foram considerados os isolados com presença de um halo claro ao redor da colônia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Dos 143 isolados testados, 20, de dez espécies diferentes, apresentaram atividades amilolíticas. Como o Cauim é preparado a partir da fermentação de material amiláceo, estes microrganismos provavelmente assumem uma posição central no processo fermentativo. Dentre os isolados, destacam-se os gêneros *Corynebacterium* e *Lactobacillus*. Os isolados do gênero *Lactobacillus* são pertencentes às espécies *Lb. plantarum* ou *Lb. pentosus*, ambas espécies de ocorrência em fermentação espontânea de alimentos, possuindo, portanto, potencial para exploração comercial como culturas iniciadoras do processos fermentativo. **CONCLUSÕES:** Houve grande diversidade de espécies entre os isolados com capacidade amilolítica. Os isolados do gênero *Lactobacillus* possuem potencial para utilização industrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- M. C. Santoyo, G. Loiseau, R. R. Sanoja, J.P. Guyot Study of starch fermentation at low pH by *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 reveals uncoupling between growth and a-amylase production at pH 4.0 Int. J. of Food Micr. 80 (2003) 77– 87
- A.I. Sanni, J. Morlon-Guyot, J.P. Guyot New efficient amylase-producing strains of *Lactobacillus plantarum* and *L. fermentum* isolated from different Nigerian traditional fermented foods Int. J. of Food Micr. 72 (2002) 53– 62
- J.P. Guyot, J. Morlon-Guyot Effect of different cultivation conditions on *Lactobacillus manihotivorans* OND32T, an amyolytic lactobacillus isolated from sour starch cassava fermentation Int. J. of Food Micr. 67Z2001.217–225

Apoio Financeiro: Fapemig/CNPq

*Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada***CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA PRESENTE EM SOLO CONTAMINADO POR METAIS PESADOS.**Kavamura, V.N.^{1*}, Irie, C.N.¹, Araújo, W.L.² & Esposito, E.¹¹Laboratório de Química Biológica e Biotecnologia, Núcleo de Ciências Ambientais – ²Núcleo Integrado de Biotecnologia. Universidade de Mogi das Cruzes. Av. Dr. Cândido Xavier de Almeida Souza, 200. Centro Cívico. CEP: 08780-911.

* e-mail: vannessner@gmail.com

Palavras-chave: Microorganismos, metais pesados, ARDRA.

INTRODUÇÃO: A contaminação do solo por metais pesados tem sido constantemente relatada e estudada. Eles desempenham algumas importantes funções em determinadas reações bioquímicas, (HIGGINS & BURNS, 1975), entretanto, em altas concentrações, eles podem formar complexos inespecíficos nas células, ocasionando efeitos citotóxicos (NIES, 1999). Sabe-se que a alta concentração de metais pesados pode afetar diretamente a microbiota do solo através da modificação do seu tamanho, diversidade e atividade. Deste modo, o objetivo do trabalho foi caracterizar a microbiota existente em solo controle e solo contaminado por metais pesados.

MATERIAL E MÉTODOS: Subamostras de solo controle e contaminado de diferentes profundidades foram inoculadas em 100 ml de meios TSB, Malte-levedura-agar e Água milli-Q autoclavada e incubadas a 28°C, 100 rpm, por 24 horas. Então foi realizada diluição seriada e da última, foi realizado plaqueamento e isolamento dos microorganismos. Realizou-se observação de caracteres morfológicos e alguns testes como Gram, catalase e meio seletivo MacConkey. Por fim, para as bactérias, foi feita extração de DNA, amplificação do gene 16S rDNA e digestão com a enzima HhaI para a técnica de ARDRA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Tabela 1. Caracterização da microbiota isolada de amostras de solo controle e solo contaminado por metais pesados.

Microbiota isolada de solo	Solo controle	Solo contaminado
Número de isolados	8 bactérias e 2 fungos	13 bactérias *
Morfologia	4 bacilos, 3 cocos e 1 sarcina	6 bacilos, 6 cocos e 1 indeterminado
Coloração de Gram	6 Gram-negativos e 2 Gram-positivos	7 Gram-negativos e 6 Gram-positivos
Catalase	7 catalase positiva e 1 catalase negativa	11 catalase positiva e 2 catalase negativa
Fermentação da lactose	5 não fermentam a lactose e 3 fermentam	11 não fermentam a lactose e 2 fermentam

* - inclui os perfis de solo de 0-40 cm, 40-80 cm e 80-120 cm de profundidade.

O maior número de isolados foi obtido na superfície 0-40 cm do solo contaminado. O DNA de apenas 3 isolados de solo controle e de 9 de solo contaminado foi extraído, aplicada a técnica de ARDRA como etapa preliminar a identificação das espécies, obtendo-se 10 haplótipos que serão analisados e submetidos ao seqüenciamento.

CONCLUSÕES: A análise dos haplótipos e o seqüenciamento estão sendo realizados para verificar se ocorreu alguma alteração na estrutura da comunidade microbiana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: HIGGINS, I.J. & BURNS, R.G. The Chemistry and Microbiology of Pollution. London: Academic Press, 1975;

NIES, D.H. Microbial heavy-metal resistance. Applied Microbiology and Biotechnology, 51: 730-750, 1999.

Apoio Financeiro: Fapesp processo n. 05/54617-2 e Bolsa Mestrado UMC.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

CARACTERIZAÇÃO DA FAUNA DE MORCEGOS ENCAMINHADOS PARA DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA RAIVA NO ANO DE 2005, NA REGIÃO DE PRESIDENTE PRUDENTE, SP, BRASIL

Albas, A.^{1*}, Souza, E.A.N.¹, Rosa, A.R.² & Silva, M.M.S.²

¹Pólo da Alta Sorocabana – APTA Regional, Rod. Raposo Tavares, Km 563, 19055-020, Presidente Prudente, SP; ²Centro de Controle de Zoonoses, Prefeitura Municipal de São Paulo, Rua Eulália, nº 86, 02031-020, São Paulo, SP *avealbas@yahoo.com.br

Palavras-chave: Morcego, Raiva, Fauna.

INTRODUÇÃO: Segundo informe da Organização Panamericana de Saúde (OPAS, 2001), em 2001, nos países das Américas foram notificados 60 casos de raiva humana, sendo que o principal transmissor foi o cão e em segundo lugar os morcegos (hematófagos e não hematófagos). ALBAS et al. (2005), pesquisaram a presença do vírus rábico na região de Presidente Prudente, SP, no período de 1996 a 2003 e detectaram a presença de 58 amostras positivas em morcegos não hematófagos. Portanto, este trabalho teve por objetivo estudar o perfil da fauna de morcegos encaminhados para diagnóstico laboratorial no ano de 2005 na Região de Presidente Prudente, SP.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram avaliadas 381 amostras de morcegos não hematófagos encaminhados para diagnóstico laboratorial da raiva pelo Pólo da Alta Sorocabana, que é credenciado para esta finalidade pelo Ministério da Saúde desde 1996. Para o diagnóstico, se fez uso das duas técnicas recomendadas pela Organização Mundial da Saúde: Imunofluorescência Direta (DEAN et al., 1996) e Prova Biológica (KOPROWSKI, 1996). A identificação e classificação foi realizada conforme indicação de VIZOTTO & TADDEI (1973) e GREGORIN & TADDEI, (2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Este estudo mostrou que no ano de 2005, o laboratório de diagnóstico de raiva de Presidente Prudente recebeu 381 amostras de morcegos para análise, sendo que o gênero *Molossus* foi responsável por 299 (78,48%) delas. Somente quatro amostras (1,05%) foram positivas e nenhuma foi do gênero *Molossus*, sendo duas nas espécies de *Artibeus lituratus*, uma em *Lasiurus ega* e uma em *Eptesicus furinalis*. Esta fauna encontrada na Região de Presidente Prudente é diferente da encontrada por SILVA et al (1996) no Município de São Paulo, SP.

CONCLUSÕES: O fato de não ter sido encontrado nenhum caso positivo no gênero *Molossus*, pode indicar que estas espécies não compartilhem abrigos com os morcegos hematófagos e neste sentido os autores sugerem estudos envolvendo o comportamento de variadas espécies na Região. O experimento constatou a circulação do vírus rábico, alertando assim, os órgãos oficiais responsáveis pela vigilância epidemiológica, quanto ao controle da raiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: ALBAS, A., ZOCCOLARO, P.T., ROSA, T.Z., CUNHA, E.M.S. Diagnóstico laboratorial da raiva na região oeste do Estado de São Paulo, *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **38** (6): 493-495, 2005.

DEAN, D.J., ABELSETH, M.K., ATANASIU, P. The fluorescent antibody. In: Meslin FX, Kaplan NM, Koprowski H (eds) *Laboratory techniques in rabies*, 40th edition, World Health Organization, Geneva, 80-87, 1996.

GREGORIN, R. & TADDEI, V.A. Chave artificial para a identificação de Molossídeos Brasileiros (Mammalia, Chiroptera). *Mastozoologia-Neotropical*, **9**(1): 13-32, 2002.

KOPROWSKI, H. Routine laboratory procedures: The mouse inoculation test. In: Meslin FX, Kaplan NM, Koprowski H (eds) *Laboratory techniques in rabies*, 40th edition, World Health Organization, Geneva, 80-87, 1996.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. *Boletín: Vigilancia Epidemiológica de la rabia en las Américas*, XXXIII, 2001.

SILVA, M.M.S, HARMANI, N.M.S., GONÇALVES, E.F.B., UIEDA, W. Bats from the Metropolitan Region of São Paulo, Southeastern Brazil. *Chiroptera Neotropical*, **2**(1): 39-41, 1996.

VIZOTTO, L.D. & TADDEI, V.A., Chave para a determinação de quirópteros brasileiros. *Boletim de Ciências*, São José do Rio Preto, **1**: 1-72, 1973.

Apoio Financeiro: FAPESP, Proc. 05/59818-6

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

CARACTERIZAÇÃO DE *BACILLUS* SPP. EM DIFERENTES RIZOSFERAS POR ANÁLISE MULTIVARIADA

*Coelho, L.F¹, Freitas, S.S¹, Melo, A.M.T¹, Chiorato, A.F¹

¹Instituto Agrônômico, Av. Barão de Itapura nº 1481 - 13012-970, Campinas-SP.

*lufonco@yahoo.com.br

Palavras-chave: rizobactéria, diversidade, RPCPs

INTRODUÇÃO: A utilização de rizobactérias aumenta a produção agrícola, entretanto, nem sempre são obtidos bons resultados. Desta forma, é necessário estudar a ecologia desses microrganismos na rizosfera. O objetivo deste trabalho foi verificar a diversidade de *Bacillus* spp. na rizosfera de alface e comparar com diferentes rizosferas.

MATERIAL E MÉTODOS: Isolaram-se *Bacillus* spp. da rizosfera de alface, rúcula, salsa e chicória em 8 propriedades agrícolas do município de Campinas, os isolados foram classificados quanto à espécie com base em PALLERONI (1984), por meio de testes bioquímicos. A análise dos dados foi feita por estatística multivariada, utilizando distância Euclidiana, agrupamento dos isolados pelo método do vizinho mais próximo e análise por componentes principais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: De maneira geral, a bactéria mais comum, independente da rizosfera, foi *Bacillus megaterium*. CATTELAN (1998) ao estudar a diversidade de bactérias na rizosfera de soja, também, observou a predominância de *B. megaterium*. A diversidade de *Bacillus* spp. entre isolados de alface foi menor do que nas outras plantas. Isso sugere que alface exerce uma seleção mais forte.

CONCLUSÕES: Ocorreu maior especificidade de *Bacillus* spp. na rizosfera de alface do que na rizosfera de rúcula, salsa e chicória.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CATTELAN, A. J. Screening and characterization of soil and rhizosphere bacteria for traits that promote early soybean growth. Georgia, 1998. 89p. Tese de Doutorado – University of Georgia.
PALLERONI, N. J. Genus I *Pseudomonas*, p. 141–199. In KRIEG, N. R. AND HOLT, J. G. (ed.), **Bergey's manual of determinative bacteriology**, 3rd ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1984.

*Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada***Caracterização de pectinases produzidas por *Aspergillus giganteus*, em fermentação submersa com resíduo de laranja.**

Pedroli, D.B*, Carmona, E.C.

Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Instituto de Biociências de Rio Claro, Unesp.

* e-mail: danipedroli@yahoo.com.br

Palavras-chave: enzimas microbianas, pectinases, *Aspergillus*.

INTRODUÇÃO: As pectinases constituem um grupo de enzimas que catalisam a degradação das substâncias pécicas presentes no material vegetal, através de reações de despolimerização (hidrolases e liases) e desesterificação (pectinesterases). As poligalacturonases (PGs) catalisam a clivagem hidrolítica de ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ do ácido poligalacturônico (ácido pécico). As pectina liases (PLs) catalisam a clivagem de ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ por transeliminação. Ambas as enzimas são classificadas de acordo com sua preferência pelo substrato e modo de ação. Pectinases são amplamente utilizadas na extração, clarificação e despectinização de sucos de fruta, maceração de vegetais para produção de pastas e purês, e na fabricação de vinhos (ROMBOUITS & PILNIK, 1980; KASHYAP *et al.*, 2001).

MATERIAL E MÉTODOS: O fungo *Aspergillus giganteus* foi cultivado em meio líquido de Vogel com 3% (m/v) de bagaço de laranja. A atividade poligalacturonase foi determinada através da determinação de açúcares redutores (MILLER, 1959), utilizando-se ácido galacturônico como padrão. A atividade pectina liase foi determinada de acordo com PITT (1988). A determinação de proteínas foi realizada pelo método de Lowry, utilizando-se soro albumina bovina como padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A poligalacturonase produzida por *A. giganteus* apresentou-se mais ativa em meio levemente ácido, com máxima atividade em pH 6,5. Contudo, a pectina liase apresentou-se mais ativa em meio alcalino, com atividade máxima em pH 8,5. As duas enzimas também diferiram na temperatura ótima, sendo 50 °C para PG e 60 °C para PL. Quanto à estabilidade, a PG mostrou-se estável em uma ampla faixa de pH, mantendo mais de 80 % de sua atividade quando incubada por 24 h de pH 3,5 a 10,0. Já a PL, mostrou-se estável apenas em meio ácido, mantendo mais de 80 % quando incubada por 24 h em pH 3,0 a 6,0. A estabilidade térmica das enzimas também foi avaliada. A PG apresentou meia-vida de 10 min quando incubada a 55 °C, enquanto a PL apresentou meia-vida de 27 min quando incubada a 50 °C. As atividades PG e PL foram testadas em diferentes substratos pécicos, tendo a PG apresentado maior especificidade por substratos de baixa ou nenhuma esterificação, enquanto a PL mostrou-se mais ativa sobre pectinas de baixa e média esterificação.

CONCLUSÕES: As enzimas apresentaram características distintas entre si, e também diferenças daquelas produzidas em fermentação submersa com pectina de citrus como substrato, evidenciando uma expressão diferencial de pectinases por *A. giganteus* em fontes de carbono distintas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:KASHYAP, D.R.; VOHRA, P.K. & TEWARI, R. Application of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresour. Technol.*, 77: 215-227, 2001.MILLER, G.H. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31: 426- 429, 1959Pitt, D. Pectin Lyase from *Phoma medicaginis* var. *pinodella*. *Methods Enzymol.* 161: 350-354, 1988.ROMBOUITS, F.M. & PILNIK, W. Pectic enzymes. In: *Microbial Enzymes and Bioconversions* (A.H. Rose, Editor). Academic Press London: 5: 227-272, 1980.**Apoio Financeiro:** Fapesp

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**Caracterização e aplicação de um biossurfactante produzido por
Pseudomonas aeruginosa em meio de baixo custo**

Farias, C.B.B.^{1,2*}, Sarubbo, L.A.^{2,3}

¹Graduando em Engenharia Ambiental, Departamento de Química e Meio Ambiente – UNICAP;

²Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB), Universidade Católica de Pernambuco, Rua Nunes Machado, n. 42, Bloco J, Boa Vista, CEP: 50 900-000, Recife-PE;

³Departamento de Química e Meio Ambiente – Universidade Católica de Pernambuco

E-mail: charlesbronzo@pop.com.br

Palavras-chave: Biossurfactantes, *Pseudomonas aeruginosa* e Resíduo Industrial

INTRODUÇÃO: os biossurfactantes são compostos biológicos originados de microrganismos que exibem propriedades superficiais (GEORGIU *et al.*, 1992; OECD 1995; CHRISTOFI; IVSHINA, 2002). Os surfactantes, sintéticos e naturais, são capazes de reduzir a tensão superficial da água, que é de 72 mN/m, para 27 mN/m. Desta forma o objetivo deste trabalho foi de caracterizar e aplicar, em ambientes contaminados por petróleo, o biossurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa*.

MATERIAL E MÉTODOS: a *Pseudomonas aeruginosa* UCP0992 foi cultivada em meio LB (LIN *et al.*, 1998) contendo 2,5% de milhocina e 2,5% de resíduo de refinaria de óleo vegetal como substratos durante 120 horas sob agitação de 150 rpm à 37°C. O biossurfactante foi isolado em clorofórmio/metanol (2:1). A tensão superficial e a CMC foram medidas em tensiômetro automático. O biossurfactante foi caracterizado pela identificação de carboidratos, lipídeos e proteínas, e utilizado para remoção de óleo motor em frações de areia impregnadas, e logo em seguida submetidas aos seguintes tratamentos: lavagem com água destilada (controle) e com solução aquosa do biossurfactante a 0,1% (abaixo da CMC), 0,3% (na CMC) e 0,5% (acima da CMC). Os frascos foram submetidos à agitação de 150 rpm por 24 horas a 27°C, sendo a quantidade de óleo removida determinada após extração com hexano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O isolamento do biossurfactante apresentou um rendimento de 7,4 g/L e sua CMC foi de aproximadamente 0,098 g/L, sendo observado neste ponto uma tensão superficial de 29 mN/m. Rocha e colaboradores (1992) obtiveram valores em torno de 29 mN/m e CMC de 0,15 g/L para o biossurfactante de *P. aeruginosa*. O surfactante demonstrou ser composto por carboidratos, lipídeos e proteínas. A remoção do óleo por diferentes concentrações das soluções de biossurfactantes demonstrou os seguintes resultados: 86,25% de remoção para solução de 0,1%; 89,25% de remoção para solução da CMC (0,3%) e 91% de remoção para solução à 0,5% de biossurfactante.

CONCLUSÕES O biossurfactante produzido demonstrou ser um complexo formado por carboidrato, lipídeo e proteína, e ter habilidade em atuar na remoção de óleo em solo contaminado por petróleo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CHRISTOFI, N.; IVSHINA, I. B. A review: Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. *Journal of Applied Microbiology*, v. 93, p. 915-929, 2002.

GEORGIU, G.; LIN, S. C.; SHARMA, M. M. Surface-active compounds from microorganisms. *Bio/Technology*, v. 10, p. 60-65, 1992.

LIN, S. -C.; LIN, K. G.; LO, C. C.; LIN, Y. M. Enhanced biosurfactant production by a *Bacillus licheniformis* mutant. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 23, p. 267-273, 1998.

OECD. Surface tension of aqueous solutions OECD guideline 115. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development.

ROCHA, C.; SAN-BLASS, F.; SAN-BLASS, G. VIERMA, L. Biosurfactant production by two isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *World journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 8, p. 125-128, 1992.

Apoio Financeiro: CNPQ e FINEP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

DETERMINAÇÃO DA CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE POR *CANDIDA LIPOLYTICA*Rufino, R.D.^{1,3*}, Luna, J.M.^{2,3}, Sarubbo, L.A.³ & Campos-Takaki, G.M.³¹Doutoranda em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco; ²Doutoranda em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco; ³Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB), Universidade Católica de Pernambuco.

*raqueldrufino@yahoo.com.br

Palavras-chave: Biossurfactante; *Candida lipolytica*; Resíduo industrial; Tensão superficial**INTRODUÇÃO:** Os surfactantes constituem uma importante classe de compostos químicos, amplamente utilizados em diversos setores industriais (Rufino et al., *IN PRESS*). Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, esses compostos se distribuem nas interfaces, com diferentes graus de polaridade, reduzindo, desse modo, a tensão interfacial e superficial (Sarubbo et al., 2007). Neste contexto, a produção de biossurfactante por *Candida lipolytica*, utilizando resíduo industrial como substrato, representa uma alternativa para a produção de biopolímeros, possibilitando aplicações futuras no controle da poluição, causada por petróleo e derivados, em ecossistemas terrestres e aquáticos.**MATERIAL E MÉTODOS: Microrganismo** - A *Candida lipolytica* (UCP 0988), pertence ao Banco de Culturas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB), da Universidade Católica de Pernambuco. **Meio base de produção** - Para a produção do biossurfactante foi utilizado o seguinte meio: NH₄NO₃ 0,1%, KH₂PO₄ 0,02%, MgSO₄.7H₂O 0,02%, ácido glutâmico 1%, acrescido de 6% do resíduo industrial da refinaria de óleo de soja, ou 1% de glicose. O cultivo foi realizado durante 72 horas e após esse período foram determinadas a biomassa e a tensão superficial (Kuyukina et al., 2001).**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A maioria dos biossurfactantes conhecidos é sintetizada por microrganismos que crescem em hidrocarbonetos imiscíveis em água, embora alguns tenham sido produzidos em substratos solúveis como glicose, glicerol e etanol. Na procura de substratos baratos para a produção de biossurfactantes, os efluentes industriais surgem como promissores (Rufino et al., *IN PRESS*). Sendo assim, avaliou-se o crescimento e a produção de biossurfactante pela *Candida lipolytica* utilizando resíduo industrial da refinaria de óleo de soja ou glicose como fonte de carbono. Os resultados obtidos demonstraram que o microrganismo obteve, após as 72 horas de crescimento, 3,28g/L de biomassa com uma tensão superficial de 25,29 mN/m, no meio contendo o resíduo como substrato; enquanto que no meio com a glicose o crescimento foi inferior, apresentando apenas 0,86 g/L de biomassa com uma tensão de 46,75 mN/m.**CONCLUSÕES:** Através dos resultados obtidos pode-se observar a possibilidade da utilização de um substrato de baixo custo para a produção de biossurfactante com potencial para aplicação na redução da poluição ambiental.**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**KUYUKINA, M.S., IVSHINA, I.B., PHILP, J.C., CHRISTOFI, N., DUNBAR, S.A. & RITCHKOVA, M.I. Recovery of *Rhodococcus* biosurfactants using methyl tertiary-butyl ether extraction. *Journal of Microbiological Methods*, 46: 149-156, 2001.RUFINO, R.D., SARUBBO, L.A. & CAMPOS-TAKAKI, G.M. Enhancement of Stability of Biosurfactant Produced by *Candida lipolytica* using as Substrate Industrial Residue. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. *IN PRESS*.SARUBBO, L.A., FARIAS, C.B.B. & CAMPOS-TAKAKI, G.M. Co-utilization of canola oil and glucose on the production of a surfactant by *Candida lipolytica*. *Current Microbiology*. 54: 68-73, 2007.**Apoio Financeiro:** Capes/Facepe

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

COMPARAÇÃO ENTRE CULTIVOS EM SUBSTRATOS SÓLIDO E LÍQUIDO DE *Mucor circinelloides* PARA PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS INSATURADOS

TURY,¹ F.B.; ALMEIDA A. F.; TAU-K-TORNISIELLO, S.M.
Centro de Estudos Ambientais – CEA, Universidade Estadual Paulista – UNESP
felipebardari@hotmail.com

Palavras-chave: *M. circinelloides*, ômega-6, fontes de carbono

INTRODUÇÃO: Ômega 6 é intensamente utilizado pela indústria alimentícia e farmacêutica por ser precursor de hormônios como as Prostaglandinas da classe 1 e 2. Microrganismos da Ordem Mucorales têm sido testados a fim de substituir as fontes naturais de produção destes compostos com menor custo/benefício.

MATERIAL E MÉTODOS: O fungo *M. circinelloides* foi cultivado nos substratos farelo de trigo, mandioca e farinha de soja por 7 dias para determinar o melhor tempo de cultivo. Ao substrato foram acrescidos 2% de óleo de canola, de girassol e de gergelim, sendo que as misturas de dois destes óleos foram nas proporções de 1:1, 2% de cada, e 2:2, sendo, portanto 4% de cada. O objetivo principal foi a otimização da produção de ácido gama-linolênico (AGL). Os cultivos em substrato líquido foram realizados em frascos agitados utilizando meio de Vogel, extrato de levedura 1% acrescido de 2% de óleo de canola, girassol, gergelim e de soja, como únicas fontes de carbono, por 6 dias. Foram utilizados inóculos constituídos por suspensão de 1.10^7 esporos.mL⁻¹. A extração dos ácidos graxos foi realizada utilizando-se o método de Folch et al. (1957). Os lipídios foram esterificados usando-se NaOH metanólico 2M e BF₃ e analisados em cromatografia gasosa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Após sete dias de cultivo, verificou-se que a farinha de soja foi o melhor substrato para a obtenção de lipídios totais (102.48 mg/g substrato) e para produção de AGL (4.1 mg/mL), sendo que a maior concentração de AGL foi encontrada no sexto dia de cultivo. Foram acrescentados os suplementos carbônicos ao substrato em diferentes proporções sendo que a mistura contendo óleo de canola + óleo de gergelim (1:1) foi mais eficiente na produção de AGL (1,84 mg/ g substrato). O maior conteúdo de AGL foi obtido na menor concentração de lipídios totais (76,3 mg/g substrato), mostrando que nem sempre o maior conteúdo de óleo contém a maior fração de ácidos graxos insaturados (AGI). Após 6 dias de cultivo líquido, verificou-se que a melhor fonte de carbono para a obtenção de lipídios totais e AGL foi óleo de soja obtendo-se 8,72 g/L e 5,48 mg/L, respectivamente. A maior concentração de AGL foi encontrada no quarto dia de cultivo.

CONCLUSÕES: O cultivo em substrato líquido forneceu melhores condições para analisar o rendimento de produção de AGI e menor tempo de cultivo, todavia, quando se compararam os resultados com aqueles obtidos em substrato sólido, utilizando-se resíduos industriais, foram verificados, além da minimização do custo do processo, houve maior quantidade de AGL produzida, apesar da necessidade de maior tempo de cultivo. Neste último, também houve maior dificuldade em controlar determinados fatores ambientais como umidade e pH.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for isolation isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, v. 226, p. 497-509. 1957.

Apoio: FAPESP, FUNDUNESP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

DENSIDADE DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS EM ÁGUAS E AREIAS DE PRAIAS RECREACIONAIS MARINHAS E SUA RELAÇÃO COM PARÂMETROS ABIÓTICOS

Oliveira, A.J.F.C.¹, França, P.T.R.^{**}, Samico, M.L.¹, Pinto, A.B.¹, Siqueira, V.P.¹ & Pinhata, J.M.W.
¹UNESP - Campus do Litoral Paulista – Praça Infante Dom Henrique, s/ nº - São Vicente - SP
^{*}ranzani@csv.unesp.br

Palavras-chave: bactérias heterotróficas, água e areia do mar, parâmetros abióticos.

INTRODUÇÃO: Estudos recentes mostram que a densidade de bactérias heterotróficas nas areias de praias é mais elevada do que na água do mar devido ao fato de o sedimento marinho exercer um efeito de proteção contra radiação solar e a predação, além de reter matéria orgânica, essencial ao crescimento de microrganismos (Pianetti, *et al*, 2004).

MATERIAL E MÉTODOS: As coletas foram realizadas no verão, durante 5 dias, em 5 pontos na praia do Gonzaguinha (G) e em 3 pontos na praia da Ilha Porchat (IP), Município de São Vicente, SP. As amostras de água foram coletadas na maré alta (MA) e na maré baixa (MB). Amostras de areia seca e úmida foram coletadas em pontos correspondentes as coletas de água. As contagens bacterianas foram realizadas através da técnica de "spread plate" (APHA, 1999)

RESULTADOS E DISCUSSÃO: No Gonzaguinha, a densidade bacteriana na água variou de $2,0 \times 10^3$ a $4,4 \times 10^5$ UFC ml⁻¹ enquanto que, na Ilha Porchat, a variação foi de $1,0 \times 10^3$ a $3,0 \times 10^5$ UFC ml⁻¹. As maiores densidades de bactérias foram obtidas nas amostras coletadas na MB, em ambas as praias. As densidades bacterianas nas amostras de areia foram superiores às obtidas nas amostras de água, atingindo valores máximos de $4,5 \times 10^5$ UFC ml⁻¹ no Gonzaguinha, e de $7,0 \times 10^5$ UFC ml⁻¹ na IP. No Gonzaguinha, os maiores valores de densidade foram obtidos na areia seca enquanto que, na IP, as maiores densidades ocorreram na areia úmida. Os resultados indicam que há uma correlação positiva entre a densidade de bactérias na areia úmida e na MB ($r = 0,94$).

CONCLUSÕES: As maiores densidades de bactérias nas amostras de água da MB indicam que parte das bactérias consideradas nas contagens é de origem alóctone, proveniente do aporte de material de origem terrígena. As maiores densidades bacterianas observadas nas amostras de areia indicam que as areias das praias, assim como outros sedimentos, favorecem a concentração de microrganismos. A correlação positiva entre a densidade bacteriana na MB e na areia úmida indica que há um fluxo de bactérias da água para a areia e uma ressuspensão das bactérias da areia para coluna de água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

PIANETTI, A., BRUSCOLINI, F., SABATINI, L. & COLANTONI, P. Microbial characteristics of marine sediments in bathing area along Pesaro-Gabicce coast (Italy): a preliminary study. *J. Applied microbiology*, **97**: 682-689, 2004.

APHA, American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA, AWWA, WEF. 20th Edition, 1999. 1120p.

Apoio Financeiro:

Fundunesp

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

DETECÇÃO DE UREASE E LIPASE EM AMOSTRAS DE *Bacillus licheniformis* ISOLADOS DE SOLO CONTAMINADO POR PETRÓLEOCavalcanti, G.I.F.N.¹ Medeiros, M.M.¹, Andrade, R.N.S.² & Alves da Silva, C.A.^{3,4}¹ Aluno de Iniciação Científica, ² Aluno de PIBIC Júnior, ³ Curso de Química, Centro de Ciência e Tecnologia, ⁴ Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB) - Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), R. do Príncipe, 526, Boa Vista, Recife-PE, CEP: 50050-900, calves@unicap.br**Palavras-chave:** lipase, urease, *Bacillus licheniformis*, Produção enzimática.**INTRODUÇÃO:** Os microrganismos apresentam uma extensa diversidade genética e desempenham inúmeras funções nos mais variados processos de ecossistemas, atuando assim como componentes fundamentais nas cadeias alimentares e nos ciclos biogeoquímicos existentes. Diversas espécies do gênero *Bacillus* possuem uma alta capacidade em produzir e secretar uma grande quantidade de enzimas extracelulares (SCHALLMEY, et al., 2004). As espécies termofílicas, têm contribuído para o desenvolvimento de uma grande variedade de novos produtos enzimáticos. As lipases (E.C.3.1.1.3), são enzimas capazes de catalisar a hidrólise de triacilgliceróis na interface óleo/água para produzir acilgliceróis parciais, ácidos graxos livres e o glicerol. (NASCIMENTO, et al, 2004). A urease é uma enzima que catalisa a hidrólise do nitrogênio em compostos de amônia, utilizando a uréia e substratos protéicos de baixo peso molecular. Essa enzima apresenta uma grande importância na agricultura, sendo bastante utilizada em processos envolvendo o aumento da fertilização em solos ricos contendo diversos minerais (MOBLEY, et al., 1995).**MATERIAL E MÉTODOS:** Foram utilizadas 26 amostras de *Bacillus licheniformis* isoladas de solo proveniente do porto da cidade do Recife, sendo identificadas e catalogadas no Banco de culturas do Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais. As culturas foram mantidas em meio AN em diferentes temperaturas de crescimento (28, 37, 45 e 50 °C). **Deteção de Urease:** Foi utilizado o método HANKIN & ANAGNOSTAKIS (1979), utilizando dupla camada: Agar nutritivo com adição de 5% de uréia (camada inferior), e Agar tampão fosfato adicionado de 5% de uréia e 5% de azul de bromotimol (camada superior). A presença da enzima foi evidenciada pelo aparecimento de uma coloração amarela no meio de cultura. **Deteção de Lipase:** Foi utilizada a metodologia de HANKIN & ANAGNOSTAKIS (1979), utilizando meio Ágar Nutritivo suplementado de uma concentração de Tween 20 solúvel (pH 6,0). As placas foram reveladas com uma solução de iodo 0,1N, durante 5 minutos. A formação de um halo claro e opaco em torno da colônia, evidencia a presença de lipase.**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Para deteção da urease, os melhores resultados foram obtidos nas temperaturas mais altas (45°C e 50°C), onde foram obtidos halos em torno de 8,0 cm. Nos ensaios da lipase, os melhores resultados foram obtidos na temperatura de 37°C.**CONCLUSÕES:** Os resultados obtidos indicam que os microrganismos testados apresentam um alto potencial biotecnológico, na produção de enzimas extracelulares, como a urease e a lipase.**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**HANKIN, L. & ANAGNOSTAKIS, S.L. – The Use of Solid Media for Detection of Enzymes production by Fungi, *Mycologia*, 67, 597 – 607, 1979.MOBLEY, H. L. T., ISLAND, M. D. And HAUSINGER, R. P. - Molecular Biology of Microbial Ureases, *Microb. Reviews*, 59: 451–480, 1995.NASCIMENTO, M.G.; NETO, P.R.C. e MAZZUCO, L.M.- Biotransformação de óleos e gorduras, *Bioet., Ciência e Desenvolvimento*, 28-31, 2004.SCHALLMEY, M., SINGH, A. and WARD, O. P. – Developments in the use of *Bacillus* species for Industrial Production, *Canadian J. Microb.*, 50, 1-17, 2004.**APOIO FINANCEIRO:** CNPq/ FINEP/ FACEPE/UNICAP

*Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada***DIVERSIDADE DOS FUNGOS ANAMORFOS DO SOLO DO PÓLO CERÂMICO DO MUNICÍPIO DE SANTA GERTRUDES, SÃO PAULO, BRASIL**Schoenlein, N. C.^{1,3,4}; Corso, C.R.², Schoenlein-Crusius, I. H.³, Oliveira, L. H. dos S.^{3,4} e Souza, J. I.^{3,4}Universidade Guarulhos, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas¹, UNESP, Rio Claro, Departamento de Bioquímica e Microbiologia², Instituto de Botânica, Seção de Micologia e Liquenologia³; UNESP, Rio Claro, Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de Microbiologia Aplicada⁴**Palavras-Chaves:** metais pesados, biodiversidade, pólo cerâmico.**INTRODUÇÃO** O solo do pólo cerâmico no município de Santa Gertrudes, São Paulo tem sido poluído há décadas por diversos elementos, principalmente chumbo e zinco. Foram realizadas quatro coletas de amostras de solo (duas durante a época chuvosa e duas na seca), em cinco locais, entre novembro de 2002 a junho de 2003, determinando-se a temperatura, pH, teores de chumbo, zinco e umidade.**MATERIAL E MÉTODOS** Os fungos foram obtidos através do método de Warcup modificado pela diluição inicial das amostras, com a utilização de meios de extrato de malte (2%), adicionados com doses crescentes de Zn e Pb. Após cinco dias de incubação a 25°C, as colônias foram purificadas e identificadas.**RESULTADOS E DISCUSSÃO** Foram obtidos 70 táxons de fungos anamórfos com 70% de similaridade entre as micotas obtidas com os dois metais; 43 táxons foram isolados dos meios de cultura com Pb, havendo predominâncias de isolamentos nas concentrações mais elevadas (500 a 1000 mg Pb.L⁻¹). Sessenta e três táxons foram obtidos nos meios com Zn, principalmente nas concentrações de 200 a 500 mg Zn L⁻¹. Predominaram espécies de Trichoderma, Penicillium e diversos fungos usualmente associados a substratos vegetais em decomposição. À elevada habilidade saprofítica competitiva dos fungos cosmopolitas pode ter-se somado a crescente tolerância aos metais pesados, justificando a tendência de terem sido isoladas diversas espécies em meios de cultura acrescidos de elevadas doses de Zn e Pb.**CONCLUSÕES** A tendência de obter maiores números de táxons em meios de cultura com elevadas concentrações de Zn e Pb, pode ser justificada pela existência de uma bem adaptada e competitiva micota no solo, caracterizada pela elevada tolerância aos metais pesados e uma habilidade competitiva saprofítica eficiente.**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**BONACIN-SILVA, A. L, *Caracterização ambiental e estudo do comportamento do chumbo, zinco e boro em área degradada por indústrias cerâmicas – região dos lagos de Santa Gertrudes, São Paulo*. 2001. 230f. Dissertação (Mestrado em Geologia) Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.WARCUP, J.H. The soil plate method for isolations of fungi from soil. *Nature*, London, v.166, p.117-118, 1950.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

EFEITO ANTIBACTERIANO “IN VITRO” DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS

*Alvarenga, A. L., Schwan, R.F², Gervasio I. M.³, *¹ Mestre em Ciências dos Alimentos.

²- Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras, MG.

*e-mail: naluciaalvarenga@yahoo.com.br

Palavras-chave: extrato etanólico, extrato aquoso, plantas condimentares medicinais; atividade. Antimicrobiana.

Introdução: As bactérias patogênicas, de grande importância em saúde pública, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri* e *Salmonella choleraesuis* podem estar veiculadas a alimentos, comprometendo seriamente a sua qualidade e, dependendo da quantidade presente e da condição de saúde dos pacientes, poderá levá-los à morte.

Objetivo: Portanto torna-se necessário à utilização de métodos seguros e eficientes no controle destas bacterioses.

Materiais e métodos: Foram utilizados, extratos aquosos e etanólicos de *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Cymbopogon citratus* (capim limão), *Zingiber officinalis* (gengibre), *Mentha piperita* (hortelã), *Origanum vulgare* (orégano) e *Salvia officinalis* (sálvia) nas concentrações de 10% e 20% sobre seis cepas das bactérias patogênicas: *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. flexneri*, *S. mitis*, *S. mutans* e *S. choleraesuis*.

Resultado e discussão: Na superfície do meio de cultura Ágar Müller Hinton, as cepas foram espalhadas e cilindros de metal com 100 µL de cada um dos extratos foram colocados. Como controle negativo utilizou-se água destilada ou álcool a 70%; para o controle positivo foram utilizados antibióticos específicos para cada cepa bacteriana. Os resultados mostraram que o extrato etanólico de sálvia a 20% foi o mais eficiente no controle de *L. monocytogenes*.

Conclusão: Todos os extratos etanólicos a 20% foram eficientes para o controle de *S. flexneri*. Para *S. mitis*, o extrato etanólico de gengibre a 20% apresentou a maior atividade antibacteriana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AGUIAR, M. L. B. A.; MATOS, F. J. A.; MOURA, V. R. A. Atividade antibiótica de plantas da flora nordestina. Ci. Cult. v. 36, p. 547, 1984.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): Revisão. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 62(1): 55-61 2003.

Apoio: Universidade Federal de Lavras, FAPEMIG.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

Efeito de doses de boro e níveis de saturação por bases na nodulação e desenvolvimento de *Mimosa scabrella* Benth. (bracatinga)

Chaves, L.S.M.¹, Almeida de, J.C.R.² & Almeida de, A.A.S.³

¹Autor apresentador; ²Orientador; ³Co-orientador. Universidade de Taubaté, Av. Tiradentes, 500 – Taubaté/SP – Depto de Ciências Biológicas

* leo.smc@uol.com.br

Palavras-chave: Fixação Biológica de Nitrogênio, Bracatinga, Nutrição Vegetal.

INTRODUÇÃO: O experimento para avaliar o efeito de doses de boro, da saturação por bases e da adubação fosfatada sobre a nodulação e desenvolvimento da *Mimosa scabrella* Benth. (bracatinga) foi conduzido em casa-de-vegetação, localizada no Departamento de Ciências Agrárias da Universidade de Taubaté (SP).

MATERIAL E MÉTODOS: Contendo dez (10) tratamentos, o experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. As sementes foram inoculadas com *Rhizobium* - BR3454 procedente da EMBRAPA/AGROBIOLOGIA, e então semeadas em sacos plásticos pretos com capacidade para 500 g cada. Após 90 dias da semeadura avaliou-se a altura, o diâmetro do coleto, a biomassa seca da parte aérea e raízes e a biomassa natural dos nódulos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Foram consideradas as variáveis relacionadas ao desenvolvimento da planta e observou-se que o aumento da saturação por bases e a adubação com boro promoveu o desenvolvimento da bracatinga em altura, diâmetro do coleto, biomassa de parte aérea e raízes. Contudo, avaliando-se a associação simbiótica constatou-se diminuição da biomassa natural de nódulos na maior dose de boro (6 mg/kg). A adubação básica, com fósforo e potássio, demonstrou ser relevante tanto para o crescimento da planta como para a nodulação.

CONCLUSÃO: Assim, para o rápido desenvolvimento da bracatinga e garantia da nodulação em estágio inicial é recomendável a aplicação de 0,5 mg de boro, e 0,5 g de calcário, 2 gramas de super fosfato simples para cada quilograma de solo.

REFERÊNCIAS:

AVÍLIO, A. F. & S., M. FARIA. The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. *Soil. Biol. Biochem.*, 29 (5/6): p. 897-903; 1997.

BOLAÑOS, L.; EL-HAMDAOUI, ^a; BONILLA, I. Recovery of development and functionality of nodules and plant growth in salt-stressed *Pisum sativum* – *Rhizobium leguminosarum* symbiosis by boron and calcium. *Journal of Plant Physiology*, 160: p. 1493-1497; 2003.

BOLAÑOS, L.; BREWIN, N. J. & BONILLA, I. Effects of boron on rhizobium-legume cell-surface interactions and nodule development. *Plant Physiology*, Rockville, 110: p. 1249-1256; 1996.

CAMPELLO, E.F.C. O papel de leguminosas arbóreas noduladas e micorrizas na recuperação de áreas degradadas. In: BALENSIEFER, M., *Coord. Recuperação de áreas degradadas. III Curso de Atualização*, Curitiba, p.11-16; 1996.

GAIAD, S. & CARPANEZZI, A.A. Ocorrência de *Rhizobium* em leguminosas de interesse silvicultural para a região sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 19: p.156-158; 1984.

LOVATO, P.E.; PEREIRA, J.C. & VIDOR, C. Flutuação populacional de *Rhizobium phaseoli* em solos com e sem calagem. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 9: p.9-12; 1985.

SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE. *Resolução SMA*. Fixa orientação para o reflorestamento heterogêneo das áreas degradadas e dá providências correlatas. São Paulo; 2001.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**EFEITOS DO FENANTRENO NO CRESCIMENTO RADIAL de
Cunninghamella elegans E *Rhizopus arrizhus***

Freitas Silva, M.C.¹; Campos-Takaki, G. M.²

¹Doutorado em Biologia de Fungos, Centro de Ciências Biológicas/UFPE Recife-PE
²Departamento de Química e meio ambiente/NPCIAMB/UNICAP . Universidade Católica de Pernambuco. Recife-PE, Brasil, Recife . PE 50050-590
galba_takaki@yahoo.com.br

Palavras-chave: Fenantreno, *Cunninghamella elegans*, *Rhizopus arrizhus*, Crescimento.

INTRODUÇÃO: A contaminação por substâncias recalcitrantes, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP's), requer uma atenção prioritária devido às suas propriedades mutagênicas e carcinogênicas. *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, *Cunninghamella elegans*, *Penicillium janthinellum*, *Syncephalastrum* sp e *Rhizopus arrizhus*, possuem a capacidade de biodegradar e biotransformar uma grande variedade de HAP.s(1).

MATERIAL E MÉTODOS: Após o crescimento em YMA (Yeast Malt Agar), foram inoculados discos (5 mm de diâmetro) no centro de placas de Petri contendo os meios Hesseltine e Anderson (2) e Saboraud com ou sem fenantreno a 0,5 mg/mL. As placas foram incubadas na temperatura de 28°C. A avaliação do crescimento radial foi realizada através de medições diárias do diâmetro das colônias com auxílio de uma régua. As leituras foram realizadas com

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Em ambos os meios, a presença do fenantreno não interrompeu o crescimento dos microorganismos. A última leitura demonstrou uma reação inibitória de *C. elegans*, tanto em meio Saboraud + fenantreno (2,3cm) quanto em meio Hesseltine e Anderson + fenantreno (1,8cm), em relação ao controle, porém, *R. arrizhus* apresentou um resultado significativo no meio Saboraud + fenantreno (9,0 cm) em relação ao controle, corroborando com os resultados obtidos por Shiosaki (4).

CONCLUSÕES:

A adição do fenantreno aos meios HeA e Saboraud retarda, mas não impede o crescimento do microorganismo. *R. arrizhus* mostra ser mais tolerante ao fenantreno do que *C. elegans*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- 1.CAPOTORTI, G. Formation of Sulfate Conjugates Metabolites in the Degradation of Phenanthrene, Anthracene, Pyrene And Benzo[A]Pyrene by the Ascomycete *Aspergillus terreus*. *Polycyclic Aromatic Compounds.*, 25(3) 2005.
- 2.HESSELTINE, C.W. & ANDERSON, R.F. Microbiological production of carotenoids. *Mycologia.*, 49:449-452. 1957.
- 3.SHARON, L. W., HILL, J. E., REDMAN, J. A. & Elimelech, M. Influence of Growth Phase on Adhesion Kinetics of *Escherichia coli* D21g. *Appl. Envir.Microbiol.*, 71: 3093-3099. 2005.
- 4.SHIOSAKI, R.K. Aspectos Bioquímicos e Fisiológicos da Biorremediação de Pireno por *Rhizopus arrizhus* UCP 402 e *R. arrizhus* UCP 402X (mutante). *Tese de Doutorado*. 2004.

APOIO FINANCEIRO: CNPq, CAPES, FACEPE e FINEP.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

Estabilidade do Biosurfactante Produzido por *Candida Glabrata*Gusmão, C. A. B.¹, Sarubbo, L. A.^{1,2}¹Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais, ² Departamento de Química e Meio Ambiente, Universidade Católica de Pernambuco, Recife-PE, -mail: carol_arruda@terra.com.br**Palavras-chave:** Sal, Temperatura, pH, Resíduo Industrial

INTRODUÇÃO: Os surfactantes são moléculas anfipáticas contendo porções hidrofílicas e hidrofóbicas que tendem a se localizar preferencialmente na interface entre fases fluidas que possuem diferentes graus de polaridade e pontes de hidrogênio, interfaces óleo-água ou ar-água. Estas propriedades tornam os surfactantes capazes de reduzir a tensão superficial e interfacial e formar microemulsões. (LIN, 1996; JENNINGS, TANNER, 2000). Desta forma o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação do surfactante produzido por *Candida glabrata* quando submetido a condições extremas.

MATERIAL E MÉTODOS: a *Candida glabrata* UCP 1002 foi cultivada em meio mineral tendo como fonte de carbono um resíduo da indústria de fabricação de gordura vegetal (margarina) a partir de óleo de soja. O meio mineral contendo 0,1% de NH₄NO₃, 0,01% de KH₂PO₄ e MgSO₄.7H₂O foi suplementado com 5% do resíduo industrial e 0,2% do extrato de levedura. As fermentações foram realizadas durante 144 horas a 150rpm e 27°C. A capacidade surfactante do biosurfactante foi testada quando o mesmo foi submetido a condições extremas de pH (2, 4, 6, 8, 10 e 12), NaCl (2%, 4%, 6% e 8%), temperatura (4°C, 27°, 70°, 100° e 120°C) e tempo a 100°C (10, 20, 40 e 60 min).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Foi verificado que não houve grande variação da tensão superficial com o aumento do pH, mostrando ampla faixa de aplicação do biosurfactante de *Candida glabrata* em meios ácidos e básicos. Concentrações crescentes do sal foram capazes de reduzir a tensão superficial do líquido metabólico livre de células, observando-se principalmente o valor de 26,63mN/m com 8% de NaCl, o que representa uma redução aproximadamente de 20% dos valores na ausência do sal. KIM e colaboradores (2000), evidenciaram que uma concentração de 2% de NaCl foi suficiente para inativar surfactantes comerciais. As variações de temperatura demonstraram que a tensão superficial sofreu pequenas alterações, apresentando valores de tensão menores a temperaturas maiores que 70°C, embora a tensão tenha aumentado para a temperatura de 4°C. Em relação ao tempo a 100°C os valores da tensão margearam os obtidos em condições normais o que comprova a pouca influência do tempo de aquecimento na capacidade do biosurfactante em reduzir a tensão superficial.

CONCLUSÕES: O biosurfactante produzido demonstrou estabilidade em atuar sob condições ambientais especiais de salinidade, pH, temperatura e tempo a 100°C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

JENNINGS, E.M.. TANNER, R.S. Biosurfactant - Producing Bacteria found in contaminated and uncontaminated soils. *Proceedings of the Conference on Hazardous Waste Research*, p. 299 - 305, 2000.

KIM, S.H.; et al. Purification and characterization of biosurfactants from *Nocardia* sp. L - 417. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, v. 31, p.249-253, 2000.

LIN, S.C. Biosurfactant: recent advances. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* v. 63, p. 1119 – 1211, 1996.

Apoio Financeiro: CNPQ e FINEP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ESTUDO COMPARATIVO DA COMPOSTAGEM E DA VERMICOMPOSTAGEM NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO E SUA BIOTA FUNGICA ENDOFÍTICASILVA, A. C.^{1,2}, ANSELMO, C.¹ & TAU-K-TORNISIELO, S.M.³¹ CENA/ESALQ-USP, AV. CENTENÁRIO 303 PIRACICABA-SP CEP 13400-190, acdsilva@cena.usp.br² DOUTORANDO EM MICROBIOLOGIA APLICADA – UNESP/RC³ CEA/UNESP, AV. 24-A RIO CLARO-SP CEP 13506-900, samiatauk@linkway.com.br**Palavras-chave:** *microrganismos endofíticos, milho, compostagem, vermicompostagem*

INTRODUÇÃO - Microrganismos endofíticos são geralmente fungos, bactérias e actinomicetos, são combinações de microrganismos que vivem sistematicamente no interior das plantas, sem causar aparentemente danos a seus hospedeiros; são distintos dos microrganismos epifíticos, que vivem na superfície em tecidos vegetais. Os fungos vivem em mutualismo, antagonismo ou em simbiose neutra comum a uma ampla faixa de organismos autotróficos. Dessa forma, o conhecimento da interação endofítico-planta e dos fatores associados a ela pode contribuir para a utilização destes microrganismos no aumento da produtividade vegetal e desenvolvimento de uma agricultura sustentável. O milho é uma das culturas mais importantes do ponto de vista econômico e social sendo uma das mais consumidas em todo o mundo como alimento. Além do mais, há poucos estudos sobre a influência da adubação orgânica no desenvolvimento dessa planta, bem como sobre sua microbiota fúngica endofítica. Ela é largamente estudada do ponto de vista genético e no seu melhoramento, o conhecimento dos fungos endofíticos desta planta auxiliará muito na possível condição de resistência à moléstias e pragas

MATERIAL e MÉTODOS - Foram utilizadas sementes da variedade Compostas G4, safra 2003/2004, provenientes do Campo Experimental de Anhembi da ESALQ/USP e estas plantadas em dois compostos orgânicos, sendo um de compostagem preparado de dejetos bovino obtido do Centro de Pesquisa para o Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais (CEPARA)/ESALQ/USP e o outro da vermicompostagem (húmus de minhoca), ambos na proporção de 3:1, tendo o solo limpo como testemunha. Para cada tratamento foram utilizados 15 vasos. Cada vaso recebeu dez sementes, no total de 450 sementes. Para os experimentos foram usadas 5 plantas por tratamento com 20 dias, 5 plantas por tratamento com 40 dias provenientes dos vasos do local de plantio. Todas as sementes e as partes das plantas foram submetidas ao tratamento prévio de esterilização, que constitui de: Imersão em álcool 70%, por 1 min., Imersão em hipoclorito de sódio (NaOCl) a 3% de cloro ativo (v/v), por 4 min; e novamente lavagem do material em álcool 70% por 30 seg.. Após a esterilização, as sementes e as partes das plantas foram colocadas sobre meio de cultura em placas de Petri esterilizadas, contendo em seu interior aproximadamente 20 ml do meio de cultura. Foi adicionado a este meio de cultura 100 µg/ml da solução do antibiótico terramicina para impedir o crescimento de possíveis bactérias endofíticas. Realizou-se medidas do comprimento (cm) das raízes, caules e folhas de 5 plantas de cada tratamento de 20 e 40 dias..

RESULTADOS e DISCUSSÃO - Todos os resultados de crescimento das partes das plantas medidas mostraram-se maiores no solo que recebeu vermicompostagem, seguida da compostagem e por último a testemunha. Foi detectada a presença de fungos endofíticos em todas as partes das plantas, isto é, raízes, sementes, caules e folhas. A ocorrência de isolados em diferentes partes da planta demonstrou que existe um gradiente de frequência na ordem: raiz > caule > folha > semente. Os fungos mais encontrados foram *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp. Houve semelhança dos gêneros nos diferentes tratamentos, com exceção a forma perfeita do fungo *Colletotrichum* sp. a *Glomerella cingulata* que ocorreu somente no solo (testemunha). O número de fungos isolados das diferentes partes da planta de milho foi maior nas coletadas do solo (testemunha).

CONCLUSÃO – O tratamento do solo com vermicompostagem pareceu ser melhor para a produtividade fisiológica da cultura estudada. Os tratamentos usados de modo geral não contribuíram para acarretar alterações na diversidade fúngica encontrada nas diferentes partes da planta, com poucas exceções, porém houve maior quantidade de fungos nas plantas cultivadas no solo testemunha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- SILVA, A. C.; ARAUJO, J. M.; AZEVEDO, J. L. Ocorrência de actinomicetos endofíticos em milho (*Zea mays*). In: REUNIÃO ANUAL DE GENÉTICA DE MICRORGANISMOS, 20., Piracicaba, 1995. Anais. 1995. p. 125.
- SILVA, A. C.; NOGUEIRA, N. L.; SALVADOR, J. O.; GUIRADO, N.; MOREIRA, A. Ocorrência de fungos endofíticos em goiabeira (*Pisidium guava*), cultivadas em omissão de macronutrientes. In: 3º ENCONTRO CIENTIFICO DOS PÓS – GRADUADOS DO CENA/USP, Piracicaba, 1997. Resumos. 1997. p.22.
- SILVA, A. C.; PEREIRA, J. O.; AZEVEDO, J. L. Obtenção de fungos endofíticos de milho (*Zea mays*) var. PIRANÃO. In: REUNIÃO ANUAL DE GENÉTICA DE MICRORGANISMOS, 18, São Paulo, 1992. Resumos. São Paulo: SBG/USP, 1992, p. 134

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ESTUDO DA AÇÃO DE AGENTES QUÍMICOS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Lactobacillus fermentum* e *Saccharomyces cerevisiae*

ENVOLVIDOS NA FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA INDUSTRIAL

LIMA, A.F.¹; SANTOS, C.¹; OLIVA-NETO, P.¹

¹Laboratório de Bioquímica e Microbiologia, UNESP – Assis – SP.

Av. Dom Antonio, 2100, CEP 19806-300

faaliaga@gmail.com

Palavras-chave: Fermentação alcoólica, antibióticos, *Lactobacillus fermentum*.

INTRODUÇÃO: A produção do etanol carburante é sujeita à contaminação por bactérias lácticas, especialmente *Lactobacillus*, os quais provocam distúrbios operacionais ocasionando queda do rendimento e produtividade alcoólica. É necessário o estudo de novos antibióticos para que se efetue o controle industrial.

MATERIAL E MÉTODOS: Realizou-se a técnica da macrodiluição (Jones et al, 1985) adaptada, em tubos de 6 mL de meio formulado com 2% de sacarose (DORTA, 2006) em pH 5,0 para duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*, CCT 4370 (ATCC 9763) e FCLA M26 isolada da usina Nova América, e, em tubos de 6 mL de meio MRS em pH 6,0 também para duas linhagens de *Lactobacillus fermentum*, CCT 0559 (ATCC 9338) e CCT 1396, sendo ambos inóculos padronizados com padrão Macfarland 0,5 assepticamente. Os agentes químicos foram testados em diferentes concentrações: o ácido tartárico autoclavado (4000 a 500 ppm e controle); 3,4,4 triclorocarbanilida-tcc autoclavado (12,5 a 1,562 ppm e controle); tcc+cloreto de benzetônio-cbe autolavado (12,5 a 1,562 ppm e controle); hj kamoran autoclavado (10 a 0,019 ppm e controle) e filtrado em Milipore (10 a 0,039 ppm e controle). O crescimento foi acompanhado pela turbidez (espectrofotômetro a 600nm) no tempo de 0 e 24 horas e em seguida calculado a % de inibição.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O estudo dos agentes químicos apresentou inibição (CMI) de *L. fermentum* e *S. cerevisiae*, respectivamente, nas seguintes concentrações: ácido tartárico autolavado (acima de 4000 ppm) e (4000 ppm); tcc autoclavado (12,5 ppm) e (acima de 12,5 ppm); tcc+cbe autoclavado (6,25 ppm) e (acima de 12,5 ppm); hj kamoran autoclavado (0,156 ppm) e (acima de 10 ppm); hj kamoran Milipore (0,321 ppm) e (acima de 10 ppm).

CONCLUSÕES: Na concentração de 12,5 ppm de tcc autoclavado e de 6,25 ppm de tcc+cbe autoclavado, verifica-se a relevância para o estudo destes agentes no controle de *Lactobacillus*, pois não prejudicam o metabolismo da levedura. Observou-se diferença entre o antibiótico hj kamoran autoclavado e filtrado em Milipore, onde a inibição se efetou 0,156 ppm e 0,312 ppm, respectivamente. Ambas as concentrações no trabalho realizado apresentam uma dosagem inferior à dosagem recomendada na indústria de 1 a 3 ppm.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

DORTA, C.; OLIVA-NETO, P.; ABREU-NETO, M. S.; NICOLAU-JUNIOR, N.; NAGASHIMA, A.I. Synergism among lactic acid, sulfite, pH and ethanol in alcoholic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2 and M26). *World J. Microbiology Biotechnology*, 22 :117-182, 2006.

JONES, R. P.; PAMMENT, N.; GREENFIELD, P. F. Alcohol fermentation by yeasts the effect of environmental and other variables. *Process Biochemistry*, 16: 42-49, 1981.

APOIO FINANCEIRO : FAPESP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ESTUDO DA AÇÃO INIBIDORA DO DERIVADO N,N,N-TRIMETILQUITOSANA NA CINÉTICA DE CRESCIMENTO DA *E. Coli*

Carvalho, C.R.; Osiro, D.; Britto, D. & Assis, O.B.G.

Embrapa Instrumentação Agropecuária, R. XV de Novembro, 1452, C.P. 741, 13560-970, São Carlos – Brasil, camilapizinha@yahoo.com.br, odilio@cnpdia.embrapa.br

Palavras-chave: *E. coli*; N,N,N-trimetilquitosana; cinética de crescimento microbiano

INTRODUÇÃO: Devido a sua atividade antibacteriana e antifúngica, a quitosana (um polissacarídeo resultante da desacetilação da quitina) tem sido indicada para várias aplicações nas áreas alimentícia e farmacológica. No entanto, devido a sua solubilidade somente em pH abaixo de 6,0, essas aplicações tem sido limitada em alguns casos, o que tem levado ao desenvolvimento de outros derivados de quitosana solúveis em uma maior faixa de pH. Neste sentido, avaliamos neste trabalho a influência do derivado N,N,N-trimetilquitosana (TMQ) na cinética de crescimento da *Escherichia coli*.

MATERIAL E MÉTODOS: O derivado TMQ foi sintetizado através da reação com dimetilsulfato conforme procedimento previamente descrito⁽¹⁾. Para o crescimento da *E. coli* utilizou-se um meio sintético composto de 2,0g de glicose; 4,72g de (NH₄)₂SO₄; 5,0g de NaCl e 2,722g de KH₂PO₄. A *E. coli* foi incubada em placas de Petri esterilizadas, em triplicata. Para avaliação da ação inibidora da quitosana, foram adicionadas separadamente as concentrações de 0,01; 0,1 e 0,5 g/L, ao meio de cultura. A contagem de microorganismos foi realizada por densidade ótica, por espectroscopia de UV⁽²⁾, ao longo de 24 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O gráfico da cinética de crescimento da *E. coli* indicou uma redução acentuada do número de células na presença de TMQ quando comparados com a amostras controle (meio sem adição de TMQ), confirmando a ação bactericida da TMQ. O mecanismo pelo qual isto ocorre ainda está em discussão, mas sabe-se que parâmetros como massa molar, pH e grau de carga do polímero influenciam grandemente na cinética de crescimento. A TMQ, assim como a quitosana, é um polieletrólito, isto é, um polímero que em meio aquoso desenvolve cargas ao longo da cadeia, que neste caso são cargas positivas. Segundo alguns autores⁽³⁾, estas cargas positivas interagem com cargas negativas presente na superfície bacteriana, causando um colapso e disfunção da membrana. Outras possibilidade seriam a absorção da TMQ ou complexação de íons metálicos essenciais, o que levaria a um distúrbio no metabolismo da célula, levando-a a morte. Neste estudo foi observado também que as concentrações mais diluídas de TMQ foram mais eficiente na repressão do crescimento da *E. coli*. Uma possível explicação para isto seria a conformação adotada pela cadeia no meio de crescimento. Possivelmente, em meio mais diluído a cadeia de TMQ está mais estendida (menos enovelada), com cargas menos blindada, facilitando uma troca iônica, possibilitando uma maior interação entre as cadeias do polissacarídeo com as células da *E. coli*.

CONCLUSÕES: O derivado hidrossolúvel de quitosana apresentou eficiente na inibição do crescimento de *E. coli* em meio sintético, principalmente para concentrações mais diluídas como 0,01 g/L.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. D. BRITTO & O.B.G. ASSIS, A novel method for obtaining a quaternary salt of chitosan *Carbohydrate Polymer*, aceito para publicação, 2007.
2. Silverstein R. M., Bassler G. C., Morrill, T. C. *Spectrometric Identification of Organic Compounds* 5ª Edition, John Wiley & Sons, Inc, 1991 U.S.A .
3. RABEA, E.I. et al. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, **4**: 1457-1465, 2003.

Apoio Financeiro: Os autores são gratos à FAPESP, ao CNPq e à EMBRAPA.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ESTUDO DO CRISTAL VIOLETA COMO AGENTE CONTROLADOR DA CONTAMINAÇÃO MICROBIANA DO FLUIDO DE CORTE

Polito, D.¹; Arruda, O.S.²; Bianchi, C. E.³

¹ Curso de Ciências Biológicas/FC/UNESP/Bauru (Aluna)

² Depto. Ciências Biológicas/FC/UNESP/Bauru (Docente)

³ Depto. Engenharia Mecânica/FEB/UNESP/Bauru (Docente)

¹ danipolito@fc.unesp.br

Palavras-chave: microrganismos, cristal violeta, fluido de corte

INTRODUÇÃO: Fluidos de corte são usados nos processos de retificação e usinagem e têm como principais funções lubrificar e refrigerar peça e ferramenta de corte (Skerlos e Zhao, 2003). Geralmente são emulsões de derivados de petróleo cuja composição, rica em água e nutrientes, favorece a proliferação de microrganismos. A contaminação microbiana leva à perda de qualidade dos fluidos de corte tornando-o ainda importante vetor de infecções aos operadores (Howes, 1991). Quando o fluido perde suas características originais necessita ser substituído. Por se tratar de importante poluente ambiental o descarte dos fluidos constitui-se em sério problema para a indústria. Nessa linha de pesquisa temos ensaiado diversos experimentos buscando encontrar solução para esses problemas. No presente estudo testamos a adição do corante cristal violeta ao fluido de corte com o objetivo de prevenir a contaminação microbiana.

MATERIAL E MÉTODOS Ao fluido de corte foi adicionado cristal violeta na concentração final de 1:16000 (Soares, 2004). Foram realizadas coletas em dias alternados e as amostras semeadas em meios de cultura bacteriológicos e incubadas

RESULTADOS E DISCUSSÃO Durante 45 dias, foram coletadas 21 amostras do fluido de corte sem adição de cristal violeta. A partir da segunda coleta, as amostras apresentaram colônias de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloace*. No fluido de corte com adição de cristal violeta foi realizado 10 coletas durante um período de 21 dias. Essas amostras não apresentaram crescimento bacteriano.

CONCLUSÕES Com base em resultados ainda preliminares, que necessitam de melhor confirmação, podemos inferir que o cristal violeta exerceu forte ação impediante na proliferação microbiana. Em vista disso podemos sugerir que este corante pode se constituir em importante agente controlador da contaminação microbiana dos fluidos de corte. Nossos estudos encontram-se em andamento porém julgamos que os resultados são promissores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HOWES, T.D.; TOESCHOFF, H.K.; HEUER, W. "Environmental aspects of grinding fluids". **CIRP Annals - Manufacturing Technology**, v. 40, n. 2, p. 623-630, 1991.

SKERLOS, S.J.; SKERLOS, L.A.; AGUILAR, C.A.; ZHAO, F. Expedient identification and quantification of mycobacterium species in metalworking fluids using peptide nucleic acid probes. **Journal of Manufacturing Systems**, v. 22, n. 2, p. 136-147, 2003.

SOARES, S.; SOUZA, H. M.; TOSTES, M.A.V.; LOURENÇO, D.M. Efeito de dois agentes tripanosomicidas, violeta genciana e WR6026 na preservação de concentrado de plaquetas. **Rev. Bras. Med. Trop**, v.37, n. 3, p. 248-251, 2004.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ESTUDO MICROBIOLÓGICO DE LINHAGENS COM PERSPECTIVA DE PROPRIEDADES ANTIBIÓTICAS INIBITÓRIAS DE *Pseudomonas aeruginosa*.

Silva, A. R.*; Andreotti, D.Z. ; Taraboulsi-Junior, F.A. ; Madeira-Junior, J.V.; Oliva-Neto, P.;
Departamento de Ciências Biológicas, Unesp, Assis, SP.
alinerds@gmail.com

Palavras-chave: antibióticos, aflatoxina, *Pseudomonas aeruginosa*.

INTRODUÇÃO: *Pseudomonas aeruginosa* é uma espécie importante para as instituições de saúde por sua alta frequência em infecções e sua difícil erradicação, por ter resistência natural e adquirida a antibióticos, resultando em fracassos terapêuticos. Este estudo avalia a possível ação antibacteriana de extratos líquidos obtidos de cultura de linhagens fúngicas e bacterianas pré-selecionadas no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia da UNESP/Assis e provenientes da Mata Atlântica.

MATERIAL E MÉTODOS: Os extratos são produzidos pela inoculação das linhagens e incubação com 150rpm e 28°C, durante 72, 96 e 120 horas, para encontrar o período de produção ótima. Faz-se filtração simples, centrifugação e filtração em Millipore ou autoclavagem para esterilização, respectivamente. A curva de crescimento bacteriano é feita com a inoculação de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) incubada em estufa à 37°C, sendo um controle e 3 tratamentos. Durante a incubação, amostras são retiradas assepticamente em determinados períodos (0; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 10; 24; 48 horas) para medir a biomassa através de espectrofotômetro (600nm). Analisam-se as velocidades específicas de crescimento (μ), os coeficientes de correlação linear para encontrar a taxa de inibição dos tratamentos e o tempo de duplicação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O resultado mais expressivo até o momento foi a linhagem MA15-1 de 72h, extrato autoclavado. O teste inicial teve $\mu_{\text{controle}}=0,4498$; $\mu_{\text{tratamento}}=0,0070$; o que resultou em uma inibição de 98,44%. A duplicata teve $\mu_{\text{controle}}=0,3992$; $\mu_{\text{tratamento}}=0,1021$ e inibição de 74,42%. E a triplicata, $\mu_{\text{controle}}=0,4756$; $\mu_{\text{tratamento}}=0,1328$ e inibição de 72,07%.

CONCLUSÃO: O extrato que resultou em inibição têm potencial antibiótico. O estudo continuará para verificar se a atividade também ocorre com a linhagem *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC9027) e se os extratos possuem aflatoxina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BRITO, D. V. D.; OLIVEIRA, E. J.; DARINI, A. L. C. et al. **Surto hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* em uma Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU)**. Braz. J. Microbiol., nov. 2003, vol.34 supl.1, p.27-28. ISSN 1517-8382.

CUNHA, B. C. A. **Produção de antibióticos**. In: AQUARONE, E.; I, W.; LIMA, U. A. Série. Biotecnologia, Tecnologia das Fermentações. São Paulo. V.1; 1975. p. 116-117.

GOMES, P. A. D. P.; OLIVA-NETO, P. **Seleção de linhagens fúngicas e bacterianas com propriedades antibacterianas contra *L. fermentum***. 2004. Iniciação Científica e Monografia (Ciências Biológicas/Assis) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Financiamento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo N° 04/00081-1).

Apoio Financeiro: FAPESP.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**EXPRESSÃO DA ENZIMA QUITINASE EM LINHAGENS DE
*Chromobacterium violaceum***

Silva, M. L. R. B.^{1,4}, Lyra, M.C.C.P.², Burity, H.A.², Silva, M.V.³ & Takaki, G.M.^{4*}

¹Universidade Federal de Pernambuco, Doutorado em Ciências Biológicas; ²Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA). Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Bioquímica. ⁴Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB), Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP, Rua Nunes Machado, nº 42, Bloco J, térreo, Boa Vista, Recife, PE, Brasil, CEP: 50050-590.

* e-mail takaki@unicap.br

Palavras-chave: N-acetilglicosamina, exoquitinase, endoquitinase

INTRODUÇÃO: As bactérias produzem quitinases para catalisar a degradação de quitina para utilização como fonte de energia. As bactérias são capazes de produzir quitinases de todos os tipos, provavelmente para hidrolisar as diversas fontes de quitina na natureza. No genoma da *Chromobacterium violaceum* foram encontrados 05 fases abertas de leituras (*ORFs-Open reading frames*), que possuíam uma alta similaridade com proteínas capazes de codificar a produtos que tem grande correspondência a endo e exoquitinases. As quitinases são proteínas geralmente secretadas pelo organismo e consideradas de grande interesse biotecnológico sendo usada na degradação de lignina, biorremediação, transformação de compostos esteróides e como biomoléculas de defesa/resistência visando o controle de inseto-praga. O objetivo deste trabalho foi caracterizar linhagens de *C. violaceum* buscando obter dados para determinar a atividade quitinolítica destes organismos.

MATERIAL E MÉTODOS: Treze linhagens de *C. violaceum* e a estirpe-padrão ATCC12472 foram caracterizadas para obtenção de proteínas quitinolíticas. As proteínas foram extraídas de acordo com a metodologia (Lyra, 2001). Para a análise da atividade quitinolítica, as proteínas foram submetidas a separação em gel de poliacrilamida a 12% (p/v) usando o reagente glicol quitina como substrato. Após a corrida, o gel foi corado por 10 minutos com uma solução de calcofluor White M2R 0,1% em tampão Tris-HCl (0,5M pH 8,9) e descorado em água por 2h, a temperatura ambiente, observado sob luz UV e fotodocumentado. Para verificar se as linhagens possuíam atividade quitinolítica os ensaios foram realizados com substratos sintéticos constituídos de dímeros e tetrâmeros de N-acetilglicosamina (N,N'-diacetilquitobiose e N,N',N''-triacetilquitotriose). A seguir foi adicionado na reação o DMAB (ρ -dimetilamino benzaldeído) que reage especificamente com monômeros de N-acetilglicosamina, liberados pela ação da enzima, sendo esse ensaio uma medida indireta da ação de quitinase.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A atividade quitinolítica em gel desnaturante com a presença de glicol quitina foi observada pelo perfil diferenciado entre as linhagens. Nos ensaios com os substratos sintéticos (N,N''-diacetilquitobiose e N,N',N''-triacetilquitotriose), considerando a atividade sobre ambos os substratos, entretanto, os resultados indicaram maiores valores da atividade quitinolítica usando o cromóforo diacetilquitobiose.

CONCLUSÕES: As linhagens de *C. violaceum* possuem a habilidade de hidrolisar a quitina apresentando uma maior quantidade de exoquitinase secretada com relação à endoquitinase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

LYRA, M.C.C.P. *Estudios genéticos y fisiológicos del gen *noI* de la región específica de cultivar, *noIXWBTUV*, de la bacteria de amplio rango de nodulación HH103 y sus implicaciones en el Sistema de Secreción de Tipo III (TTSS)*. 2001. 161p. Tese (Doutorado) – Departamento de Microbiología, Universidad de Sevilla, Sevilla, 2001.

Apoio Financeiro: CAPES, UNICAP, FINEP e IPA

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO PELA SOJA (*Glycine max* (L.)
Merrill)**

Pedrozo, M. G. C.* , Silva, R.

Universidade Federal de Lavras- Departamento de Biologia – Setor de Microbiologia - Lavras
M.G.* gabis_bio@yahoo.com.br

Palavras-chave: Fixação Biológica, Nitrogênio, *Bradyrhizobium*

Introdução

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é a principal fonte de N para a cultura da soja. Sementes de soja quando inoculada com *Bradyrhizobium japonicum* estabelece uma interação mutualística, através da formação de nódulos radiculares que garante a nutrição nitrogenada necessária para a produção de grãos. Com objetivo de avaliar a nodulação e desenvolvimento da soja (*Glycine max* (L.) Merrill).

Material e Métodos

A cultivar MG/Br 46 – Conquista grupo semitardio (126 – 145 dias) inoculada com *B. japonicum* estirpe 29W e semeadas em vaso contendo latossolo vermelho distroférico – LVdf com os seguintes tratamentos: 1- Adubação (NPK 04-30-10); 2- Adubação + inoculante; 3- adubação + inoculante + composto orgânico; 4- composto orgânico + inoculante. O composto orgânico foi oriundo da compostagem de substrato exaurido pelo cultivo de cogumelo. Delineamento foi IC com rodízio periódico dos vasos por 57 dias, mantendo a umidade em torno de 60%. O crescimento da plantas foi acompanhado a partir da germinação, medindo-se a altura a cada 10 dias. Após 57 dias da instalação a parte aérea foi coletada para determinar a massa seca e nitrogênio total e o sistema radicular para contagem dos nódulos.

Resultados

O tratamento adubação + composto + inoculante foi o que apresentou maior acumulo de massa seca da parte aérea, número de nódulos, teor de nitrogênio e altura de plantas. Neste experimento ficou mais uma vez comprovado que a matéria orgânica favoreceu o estabelecimento da simbiose mutualística e o desenvolvimento da soja, visto que, além do composto ser fonte de vários nutrientes, a maturação do nível de umidade favoreceu a cultura uma vez que, em vaso é um fator limitante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BARBERI, A. Crescimento de *Bradyrhizobium elkanii* BR 29 em meio com diferentes valores de pH e desempenho de sua simbiose com soja (*Glycine max* (L.) Merrill). 2003. 43f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

LANDGRAF, L. **Embrapa debate produção de grãos na Amazônia**. Embrapa Soja, 2004. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br>>. Acessado em: 16 abr. 2005.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626p.

SILVA, R. H. da; ROSOLEM, C. A. Crescimento radicular em razão da sucessão de cultivos e da compactação do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 6, p. 855 – 860, jun. 2002.

Apoio Financeiro: Capes, UNILAVRAS, UFLA

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Pseudomonas* spp. EM AMOSTRAS DE EFLUENTE HOSPITALAR E ÁGUA SUPERFICIAL: CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS E TRIAGEM PARA PRODUÇÃO DE METALO- β -LACTAMASES

Spindler, A.*, Einsfeld Ferreira, A.¹, Fuentesfria, D.B.¹, Corção, G.¹.

¹Departamento de Microbiologia / ICBS, UFRGS

Rua Sarmiento Leite, 500 ICBS CEP: 90050-170 Porto Alegre, RS *alinebiomedica@gmail.com

Palavras-chave: *Pseudomonas* spp., resistência a antimicrobianos, metalo- β -lactamases

INTRODUÇÃO: A resistência a β -lactâmicos devido a produção de enzimas do tipo metalo- β -lactamases é uma questão de suma importância, uma vez que seus genes residem em regiões móveis do DNA bacteriano, tornando-os transferíveis para outras bactérias. O gênero *Pseudomonas* está amplamente distribuído no ambiente, já existindo casos descritos na literatura de presença de MBLs em *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida* e *P. stutzeri*. Por estas características, o gênero é ideal para o monitoramento de resistência a antimicrobianos no ambiente. Poucos estudos têm sido realizados sobre a microbiota do esgoto hospitalar e seu efeito sobre a comunidade microbiana do efluente que está recebendo este esgoto, sendo assim, este projeto visa verificar a presença de espécies de *Pseudomonas* produtoras de MBLs em efluente hospitalar e no corpo d'água onde este é lançado.

MATERIAL E MÉTODOS: As amostras de efluente hospitalar e água superficial coletadas foram provenientes da cidade de Porto Alegre. As colônias não fermentadoras foram selecionadas e submetidas a testes microbiológicos clássicos para confirmação de gênero e espécie. A susceptibilidade dos isolados foi testada pela metodologia de difusão em ágar. A triagem fenotípica de produção de MBLs foi realizada com o teste de aproximação de discos utilizando como substratos o imipenem e a ceftazidima, e como inibidores o EDTA e o ácido 2-mercaptopropiônico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Foram recuperados 55 isolados. Destes, foram identificados: 15 *P. pseudoalcaligenes* (27,6%), 8 *P. oryzyhabitans* (14,5%), 7 *P. stutzeri* (12,7%), 6 *P. aeruginosa* (10,9%), 6 *P. putida* (10,9%), 5 *P. luteola* (9,0%), 5 *P. fluorescens* (9,0%), 2 *P. mendocina* (3,6%) e 1 *P. alcaligenes* (1,8%). A distribuição das espécies de *Pseudomonas* mostrou-se bastante diversa, pois, pelo menos nove espécies diferentes puderam ser identificadas. Quanto ao perfil de susceptibilidade, 18 amostras (32,7%) foram caracterizadas como multi-resistentes. Quanto à triagem fenotípica, 12 amostras foram positivas para pelo menos um dos métodos utilizados. Destas, 6 foram identificados como *P. aeruginosa*, 4 como *P. fluorescens*, 1 como *P. alcaligenes* e 1 como *P. oryzyhabitans*, sendo que as duas últimas espécies ainda não foram relacionadas a MBLs na literatura.

CONCLUSÃO: Cepas de *Pseudomonas* spp produtoras de MBLs estão sendo lançadas no ambiente aquático, através do esgoto hospitalar não tratado, e estas podem participar na disseminação da resistência a β -lactâmicos neste ambiente. Como perspectivas futuras para este trabalho, prevê-se a pesquisa dos genes produtores de MBLs através de PCR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

YONG, D., CHOI, Y.S., ROH, K.H., KIM, C.K., PARK, Y.H., YUM, J.H., LEE, K. & CHONG, Y. Increasing prevalence and diversity of metallo- β -lactamases in *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., and *Enterobacteriaceae* from Korea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50:1884-1886, 2006.

Apoio Financeiro: CAPES-PROF

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS DO GÊNERO *Aspergillus* EM AMOSTRAS DE FEIJÃO ATRAVÉS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Pereira, G.I.^{1*}, Caixeta, D. S.², Batista, L.R.³, Alves, E.⁴ & Piccoli, R. H.⁵
^{1,2} Microbiologia Agrícola-DBI/UFLA; ^{3,5} Microbiologia de Alimentos-DCA/UFLA;
 Microscopia ⁴ Eletrônica de Varredura e Análise Ultra-estrutural-DFP/UFLA
 * Ggiseleip@yahoo.com.br

Palavras-chave: feijão, *Aspergillus*, Microscopia Eletrônica de Varredura

INTRODUÇÃO: O feijão é um alimento muito consumido no Brasil, a contaminação desses grãos por microrganismos pode ocorrer em diversas etapas, desde o campo até a mesa do consumidor. Diversos gêneros de fungos, entre eles o gênero *Aspergillus* são encontrados em feijão. Estes fungos podem produzir micotoxinas que são prejudiciais à saúde do homem. Este estudo teve como objetivo isolar e identificar espécies de *Aspergillus* presentes em feijão das variedades jalo, rosinha, preto e carioca., através de microscopia eletrônica de varredura.

MATERIAL E MÉTODOS: Para o isolamento de fungos toxigênicos associados aos grãos de feijão, foi utilizada a técnica de Plaqueamento Direto em meio de cultura DRBC (Agar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol). A partir de culturas puras, todos os isolados foram incubados em meio de cultura e temperatura padronizadas conforme Klich (2002), durante 7 dias. Após o período de incubação os isolados do gênero *Aspergillus* foram fixados, desidratados e secos ao ponto crítico segundo metodologia de Alves (2004). A metalização foi realizada através do banho de ouro e visualização foi realizada em microscópio eletrônico de varredura Leo Evo 40.

RESULTADO E DISCUSSÃO: A identificação foi baseada nas diferenças dos conidióforos e conídios das espécies de *Aspergillus* encontradas nas amostras de feijão. Três espécies foram isoladas e identificadas, sendo *A. ochraceus*, *A. wentii* e *A. flavus*. O conidióforo de *A. ochraceus* apresentou-se mais rugoso e os conídios apresentaram-se lisos. De acordo com Kozakiewicz (1989), com base em micrografias eletrônicas de varredura, é possível caracterizar *Aspergillus ochraceus* através da descrição de algumas estruturas, como conídio esférico, conidióforo rugoso com 1,0 – 1,5 mm de comprimento e esporos mais lisos. O conidióforo e os conídios de *Aspergillus wentii* apresentaram-se levemente rugoso. O *Aspergillus wentii* foi descrito por Kozakiewicz (1989), por apresentar conídio micro-tuberculado, conidióforo geralmente liso com vários mm de comprimento e esporos rugosos. O *Aspergillus flavus* apresentou conídios lisos ou levemente rugosos e conidióforo rugoso. A textura dos conidióforos e dos conídios variou entre as espécies de *Aspergillus*, estas características auxiliaram na identificação das espécies.

CONCLUSÕES: A identificação através da microscopia eletrônica de varredura foi compatível com a identificação tradicional, podendo ser considerada boa ferramenta para auxiliar na identificação de fungos do gênero *Aspergillus*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS: BENNETT, J. W.; KLICH, M.; Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, p. 497-516; July, 2003.

KOZAKIEWICZ, Z.; *Aspergillus* species on stored products. *Mycological Papers*, N.º. 161, 188p.; 1989.

SILVA, L. C. Fungos e micotoxinas em grãos armazenados. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Disponível em : <<http://www.uinioeste.br/agais/fungos.html>>.

TSENG, T., J. TU & L. SÓO. Comparison of the profiles of seedborne fungi and the occurrence of aflatoxins in mould-damage beans and soybeans. *Microbios, Taipei*, 84 (339): 105-116, 1995.

Apoio Financeiro: Microbiologia de Alimentos-DCA-UFLA, FAPEMIG

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM AMOSTRAS DE FEIJÃO COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE LAVRAS-MG.Caixeta, D. S.¹; Pereira, G. I.²; Batista, L. R.³; Piccoli, R. H.⁴.^{1,2} Microbiologia Agrícola-DBI/UFLA, ^{3,4} Microbiologia de Alimentos-DCA/UFLA, danny.cx@zipmail.com.br¹**Palavras-Chave:** Feijão, contaminação, fungos toxigênicos

INTRODUÇÃO: O Brasil é o segundo maior produtor mundial de feijão. No entanto, no processo tradicional de produção de feijão, grãos e sementes são normalmente armazenados em condições ambientais, onde fatores abióticos e bióticos contribuem para processo de deterioração dos grãos, sendo os fungos os principais microrganismos responsáveis por esse processo. Este estudo teve como objetivo o isolamento e identificação de fungos toxigênicos em quatro tipos de feijão (rosinha, carioca, preto e jalo) comercializados no município de Lavras-MG.

MATERIAL E METODOS: Foram adquiridas amostras de 200g em estabelecimentos comerciais e transferidas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UFLA/ Lavras-MG. Para o isolamento de fungos toxigênicos associados aos grãos de feijão, foi utilizada a técnica de Plaqueamento Direto em meio de cultura DRBC (Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol). A partir de culturas puras, todos os isolados foram incubados em meio de cultura e temperaturas padronizados conforme Klich (2002), durante 7 dias. Após o período de incubação os isolados foram identificados a partir de suas características microscópicas e macroscópicas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Das quatro amostras analisadas, todas apresentaram algum tipo de contaminação. A mostra de feijão rosinha apresentou o maior índice de contaminação (63%), seguida do feijão carioca (40%), feijão preto (12%) e feijão jalo (8%). A amostra de feijão rosinha apresentou 11% de contaminação com *A. flavus* e 2% de contaminação com *C. cladosporioides* enquanto que a mostra de feijão carioca apresentou uma grande variedade de espécies contaminantes dentre elas *A. wentii* (6%), *A. ochraceus* (1%) e *P. citrinum* (1%). Nas amostras de feijão preto foram identificadas somente as espécies de *Cercospora* spp. (2%) e *Cladosporium cladosporioides* (1%). No entanto, nas amostras de feijão jalo, não foi identificado nenhuma espécie toxigênica. Segundo Sekiyama et al. (2005), o *A. flavus* é considerado o segundo maior produtor de aflatoxinas, capaz de produzir somente as do grupo B, onde a B1 é considerada uma dos mais potentes carcinogênicos e com efeitos hepatóxicos em humanos. Em produtos como feijão e amendoim, as aflatoxinas prejudicam a divisão celular, o que compromete o crescimento, e bloqueiam a síntese de clorofila, tornando-se letal para a planta (Silva et al., 2002).

CONCLUSÕES: A partir dos resultados parciais obtidos neste estudo, verifica-se a necessidade de um controle mais efetivo das condições de colheita no campo, estocagem e transporte desse produto, devido ao alto índice de contaminação dos grãos, o que torna um problema de ordem econômica e de saúde pública.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:KLICH, M. A. Identification of common *Aspergillus* species. **Centraalbureau vöör Schimmelcultures**, 2002.SEKIYAMA, B. L.; RIBEIRO, A. B.; MACHINSKI, P. A.; JR MACHISKI, M. Aflatoxins, ochratoxins a and zearalenone in maize-based food products. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 289-294, 2005.

Apoio Financeiro: DCA/UFLA, CAPES

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

IDENTIFICAÇÃO DE LEVEDURAS *SACCHAROMYCES* POR PCR E PFGERamos C. L.^{1*}, Pereira G. V. M.¹, Cardoso P. G.¹, Schwan R.¹, Dias E. S.¹¹ Programa de Microbiologia Agrícola, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras
*cintialramos@yahoo.com.brPalavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*, pcr, pfge.

INTRODUÇÃO: Critérios fenotípicos comuns usados na identificação de leveduras oferecem geralmente resultados insatisfatórios. Um exemplo ilustrativo é proporcionado pelo grupo de espécies designadas como *Saccharomyces sensu stricto* que incluem espécies de leveduras de grande importância industrial utilizadas como inóculo na produção de vários alimentos e bebidas, tais como pães, cerveja, vinho, cachaça. Portanto é de grande importância a busca de um método rápido para a identificação destas leveduras.

MATERIAL E MÉTODOS: Neste estudo, 20 isolados procedentes de coleções reconhecidas pela comunidade científica pertencente ao grupo *Saccharomyces sensu stricto* foram submetidos à análise de PCR empregando o *primer* SCREC114. Este *primer* possui 100% de homologia com o gene REC114 presente no genoma da espécie *S. cerevisiae*. Foi também realizado o PFGE para pelo menos um isolado de cada espécie. O PCR foi realizado diretamente da colônia, sem a necessidade da extração do DNA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Foram obtidos produtos de amplificação de aproximadamente 605 pb como esperado para os isolados de *S. cerevisiae*, entretanto também foram obtidos produtos semelhantes para os isolados de *S. pastorianus* e *S. uvarum*. Através da técnica de PFGE oito perfis distintos puderam ser observados, sendo que para a espécie *S. cerevisiae*, três isolados diferentes foram analisados, obtendo-se perfis diferentes para cada isolado. Os isolados pertencentes às espécies *S. paradoxus*, *S. bayanus* e *S. mitakae* obtiveram perfis eletroforéticos específicos. Já para os isolados de *S. pastorianus* e *S. uvarum* foram observados perfis semelhantes, assim como para *S. cariocanus* e *S. kudriavzevii*. Apesar das técnicas de PCR e PFGE apresentarem resultados semelhantes para *S. pastorianus* e *S. uvarum*, estas são espécies diferentes. Apresentaram o mesmo cariótipo, mas não necessariamente a mesma seqüência em seus DNAs. Estes resultados indicaram a possibilidade de serem híbridos entre estas espécies. Hibridizações naturais entre leveduras do gênero *Saccharomyces* é mais comum do que se pensava ocorrer, e pode ser considerado como um mecanismo importante para a evolução das leveduras.

CONCLUSÃO: Portanto, neste estudo foi possível observar a grande dificuldade na identificação destas leveduras, necessitando de uma maior atenção e maior detalhamento nas metodologias para este grupo de grande importância econômica e industrial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

GONZÁLEZ S. S., BARRIO E., GAFNER J., QUEROL A. Natural hybrids from *Saccharomyces bayanus* and *Saccharomyces kudriavzevii* in wine fermentations. **FEMS Yeast Res.**, 6: 1221-1234, 2006.

NAUMOV G.I., NGUYEN H.-V., NAUMOVA E.S., MICHEL A., AIGLE M., GAILLARDIN C. Genetic identification of *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, a cider-fermenting yeast. **International journal of Food Microbiology**, 65: 163-171, 2001.

VAUGHAN MARTINI A., MARTINI A. Three newly delimited species of *Saccharomyces sensu stricto*. **Antonie van Leeuwenhoek**, 53: 77-84, 1987.

Apoio Financeiro: Capes

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS PRESENTES EM BEBIDA FERMENTADA PRODUZIDA PELOS ÍNDIOS TAPIRAPÉ EM CONFRESA MATO GROSSO.

Almeida¹ E.G; Souza-Dias².M.A.G Schwan^{2*}. R.F. ¹Doutorando em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras ²Departamento de Biologia Universidade Federal de Lavras – MG.

rschwan@ufla.br

Palavras-chave: índios Tapirapé, bebida fermentada, microbiota, fermentação.

INTRODUÇÃO: Os índios Tapirapé, da tribo TAPI'ITÁWA, produzem várias bebidas fermentadas. Uma delas é chamada de "Cauim". Estes índios vivem próximos à cidade de Confresa no Estado de Mato Grosso. Esta bebida é geralmente usada como principal alimento pelos pais e crianças até os dois anos de idade.

MATERIAL E MÉTODOS: O processo fermentativo dura 24 horas e pode ser preparada usando vários substratos tais como arroz, mandioca, milho verde e maduro e amendoim. A microbiota específica e sua atividade metabólica ainda não são conhecidas, sendo este o principal objetivo deste estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: No início da fermentação, a população de bactérias presentes nas amostras coletadas foi de $7,9 \times 10^9$ UFC / mL. População esta, superior a de leveduras que foi de $3,2 \times 10^4$ UFC / mL. No entanto, a partir de 12 horas até o final da fermentação, a população de leveduras aumentou atingindo $6,9 \times 10^7$ UFC / mL. De toda microbiota avaliada, um total de 355 microrganismos foram isolados e identificados quanto ao gênero e espécie. Destes isolados, 132 foram de leveduras e 223 de bactérias. Dentre os isolados bacterianos, 215 foram Gram positivos e 8 Gram negativos. Os gêneros de leveduras mais freqüentes foram: *Candida*, *Cryptococcus*, *Lypomyces*, *Pichia*, *Debaryomyces* e *Trichosporon*. O pequeno número de isolados de bactérias Gram negativas foram representados pelas espécies de *Enterobacter cloacae*; *Enterobacter agglomerans*; *Pseudomonas maltophilia*; *Serratia plymuthica*. Entre as bactérias Gram positivas os gêneros mais encontrados foram: *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Corynebacterium* e *Paenibacillus*. Houve um predomínio das espécies *Lactobacillus pentosus* e *Lactobacillus plantarum* em todas as amostras analisadas. A população microbiana encontrada na bebida fermentada indígena "cauim" está representada em maior quantidade por bactérias Gram positivas (59,9%), seguida de leveduras com (37,8%) e o restante (2,3%) bactérias Gram negativas.

CONCLUSÕES: O estudo de alimentos fermentados indígenas pode contribuir para a produção e preservação de alimentos e contribuir com a nutrição das tribos indígenas no futuro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

WAGLEY, C. Lágrimas de boas vindas; Os Índios Tapirapé do Brasil Central. Belo Horizonte: Itatiaia; São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1988.

MACFADDIN, J. F. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins, 1980. 527 p.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, Baltimore, 1994. 787 p.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPEMIG, CAPES.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

IMPLEMENTAÇÃO DE METODOLOGIA PARA MONITORAMENTO DA MICROFAUNA DE LODOS ATIVADOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES TÊXTEIS

Cláudio Antônio A. Lima¹; Jorge Augusto C. Santos ^{*2}; Marília Martins³
Maestro Nicanor Vieira 269¹; Alfredo Thieres Vieira 87b²; Gabriel Monteiro da Silva 714³.
jorgeaugusto_carvalho@yahoo.com.br

Palavras Chave: Microbiologia, Lodos Ativados, Efluentes Têxteis.

Introdução

A pujança do parque têxtil do Brasil se repercute também na preocupação com as questões ambientais haja vista o consumo elevado de água em seus processos e o grande volume de efluentes líquidos com intensa carga poluidora que quando não tratados adequadamente, causam grande impacto ambiental. Dentre as tecnologias destinadas a depurar os efluentes líquidos têxteis, a mais utilizada atualmente, é o processo biológico aeróbio pelo sistema de lodos ativados. A capacidade de depuração deste sistema se deve as atividades metabólicas dos microorganismos presentes, bactérias, protozoários, micrometazoários, algas e fungos. O fato da microfauna ser extremamente sensível à ação do meio e de agentes externos, permite considerá-la um ótimo indicador das condições operacionais do sistema de tratamento, sendo de grande valia no entendimento da dinâmica do tratamento, possibilitando uma intervenção bem mais consistente e rápida em relação ao tradicional monitoramento por parâmetros químicos e físico-químicos.

Materiais e Métodos

Foram selecionadas duas estações de tratamento de efluentes têxteis que utilizam o sistema de lodos ativados, a primeira tratando despejos de lavanderia e acabamento de tecidos de algodão. A segunda, tratando despejos de tinturaria de fios de poliéster, sendo a sedimentação no decantador secundário assistida quimicamente.

As coletas das amostras do afluente ocorrem nos tanques de aeração a 20 cm da superfície, transferidas para frascos de vidro ou polietileno, sendo imediatamente encaminhadas para análise. A quantificação da microfauna e identificação estão sendo feitas com o auxílio de microscópio. Com o auxílio de máquina digital as imagens mais relevantes foram registradas.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises microscópicas foram confrontados com os resultados dos testes físico-químicos realizados pelos operadores das estações e confirmaram a capacidade bioindicadora de alguns microorganismos. Protozoários ciliados livres natantes, por exemplo, *Chilodonella sp* e *Euplotes sp* e outros gêneros de ciliados tais como, *Paramecium*, *Vorticella*, *Litonotus sp*, indicadores de nível de fósforo e nitrogênio no tanque de aeração. Testes de sedimentabilidade e análises do lodo apontam a importância das bactérias filamentosas na agregação dos flocos e auxílio à sedimentação. As análises microscópicas também indicaram as características de um lodo jovem, foi observado um grande número de amebas do gênero *Arcella* e *Centropyxis*, e flagelados. A biodegradabilidade do afluente indicou a presença de um maior número de gêneros e rotíferos, bem como número de organismos, os grupos indicadores são do gênero *Philodina* e *Epiphanes* em efluentes mais biodegradáveis e a presença de protozoários fixos dos gêneros *Suctorina* e *Vorticella* em efluentes menos biodegradáveis.

Conclusões

A implantação da metodologia do monitoramento da microfauna em lodos ativados é de baixo custo e os resultados da correlação dos microrganismos presentes com os parâmetros de controle operacional, facilitam o entendimento da dinâmica do tratamento e podem auxiliar na otimização operacional do sistema de tratamento.

Referências Bibliográficas

CETESB. *Microbiologia de Lodos Ativados*. São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1989.23 p. (Manuais).

Agradecimento ao Sebrae e UNIFAL pela concessão de bolsas aos alunos

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**INFLUÊNCIA DO BIODIESEL NA BIODEGRADABILIDADE DA MISTURA
ÓLEO DIESEL/BIODIESEL**

Mariano, A.P.*, Tomasella, R.C., Oliveira, L.M. & Angelis, D.F.
Departamento de Bioquímica e Microbiologia - Instituto de Biociências (IB)
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Av. 24-A, 1515 CP 199 CEP 13506-900 Rio Claro – SP
*email: adrianomariano@yahoo.com.br

Palavras-chave: biodiesel, óleo diesel, biodegradabilidade.

INTRODUÇÃO: A introdução do biodiesel na matriz energética brasileira foi estabelecida pela Lei 11.097 de janeiro de 2005, que determina a adição voluntária de 2% de biodiesel ao óleo diesel comercializado até 2007, sendo a adição obrigatória a partir de 2008. A mistura de 5% de biodiesel ao óleo diesel será voluntária no período de 2008 até 2012, passando a ser compulsória a partir de 2013. Com a comercialização do biodiesel ou da mistura biodiesel/diesel, poderão ocorrer, assim como acontece com o óleo diesel e outros combustíveis, acidentes que provoquem a contaminação do meio ambiente. Uma possibilidade de remoção dos contaminantes é o emprego da biorremediação. Aqui, novamente o biodiesel apresenta vantagens, pois estudos demonstraram que o biodiesel é mais facilmente biodegradado que o óleo diesel (Zhang et al., 1998). Nesse contexto, este trabalho objetivou avaliar o efeito da adição do biodiesel na biodegradabilidade do óleo diesel.

MATERIAL E MÉTODOS: A verificação da biodegradabilidade das misturas de combustíveis em solo foi realizada com o método respirométrico (respirômetros de Bartha & Pramer) e com o indicador 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP) (Hanson et al., 1993). No primeiro, foram simuladas contaminações de solo coletado em um posto de combustíveis com a adição de 50 mL de combustível por Kg de solo, com as seguintes composições percentuais volumétricas da mistura biodiesel/diesel: 0/100; 5/95; 20/80 e 100/0. Respirômetros de Bartha e Pramer (250 mL) contendo 50 g de solo, em triplicata, foram empregados para medir a produção microbiana de CO₂ em cada condição simulada. Com o indicador DCPIP, avaliou-se a capacidade de dois consórcios (obtidos do solo do posto de combustíveis e de um solo não contaminado) e da cultura *Pseudomonas aeruginosa* LBI, separadamente, em biodegradar as seguintes composições percentuais volumétricas de biodiesel/diesel: 0/100; 5/95; 20/80; 50/50 e 100/0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Em todos os testes com o indicador DCPIP o tempo transcorrido para a descoloração do meio diminuiu com o aumento da concentração de biodiesel na mistura. Em relação à quantidade de CO₂ produzido nos experimentos respirométricos, esta aumentou com a adição do biodiesel. Estes resultados demonstram a maior biodegradabilidade do biodiesel e da mistura dos combustíveis em relação ao óleo diesel. Assim, ficou demonstrado mais um ganho ambiental que representa a adição do biodiesel à matriz energética brasileira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

HANSON, K.G.; DESAI, J.D.; DESAI, A.J. A rapid and simple screening technique for potential crude oil degrading microorganisms. **Biotechnology Techniques**, **7**: 745-748, 1993.
ZHANG, X., PETERSON, C.L., REECE, D., HAWS, R., MOLLER, G. Biodegradability of biodiesel in the aquatic environment. **Trans. ASAE.**, **41**:1423-1430,1998.

Apoio Financeiro: Os autores agradecem à Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) (PRH-05) pelo apoio financeiro.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

INFLUÊNCIA DO TEMPO DE DESINFECÇÃO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr.

Diogo, J. A.¹, Ribeiro, H. C.^{1*}, Moraes, C. P.¹, Marteline, M. A.¹,
Andrade, C. R.¹, Emídio, J. P.¹.

¹ Centro Universitário Hermínio Ometto – UNIARARAS. Rua Maximiliano Baruto, no. 500, Jardim Universitário, CEP: 13607-339 – Araras/SP.
e-mail: hileiacamargo@gmail.com

Palavras-chave: Orchidaceae, fitopatôgenos, produção vegetal.

INTRODUÇÃO: Comercialmente o cultivo de orquídeas terrestres é de grande importância no agronegócio florícola. Sementes de orquídeas podem ser germinadas em meios de cultura artificiais, sendo o maior problema encontrado na cultura “*in vitro*” destas plantas, o alto índice de contaminação dos meios de cultura. A desinfecção de sementes em soluções de hipoclorito a 5% durante cinco minutos, para algumas espécies, além de desinfetar, também afeta ou destrói embriões influenciando na produtividade final, principalmente para plantas como as do gênero *Arundina*. Este trabalho teve por objetivo a avaliação da germinação de sementes de *Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr. submetidas a soluções de hipoclorito a 5% em diferentes períodos de tempo e a identificação de fungos contaminantes de meios de cultura.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram utilizados 15 frascos contendo meio ½ MS distribuídos em três tratamentos e cinco repetições. Após desinfecção por dois e meio, cinco e dez minutos, foram semeadas 0,2 g de sementes por frasco. A identificação dos fungos contaminantes foi realizada com base em literatura especializada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Todos os frascos do tratamento 1 e 2 (dois e meio minutos e cinco minutos) desenvolveram colônias de *Pythium ultimum*, fitopatôgeno frequentemente encontrado em orquídeas. No tratamento 3 (dez minutos) das cinco repetições, duas apresentaram baixa taxa de germinação, sem o desenvolvimento de colônias fúngicas.

CONCLUSÕES: Pode-se concluir que para *A. graminifolia* ainda são necessários mais estudos para constatar o intervalo de tempo ideal (entre cinco e dez minutos), para obtenção de uma maior eficiência na desinfecção de sementes

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

COUTINHO, L.N. Aspectos de fungos fitopatogênicos em plantas ornamentais e seu controle. Disponível em: <http://www.biológico.sp.gov.br/rifib/XIVRifib/coutinho.PDF>. Acesso em: 12/mar/2007.

TRUJILLO, G & HERNÁNDEZ, Y. Bacterial spot in orchid. *Fitopatologia Venezolana*.12: 4-8, 1999

Apoio Financeiro: Empresa Orquídea Ltda.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO MICELIAL FÚNGICO ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CONDIMENTOS

*Silva, F. C.¹, Chaulfoun, S. M.², Maciel, W. P.³, Pereira, M. C.⁴ & Elizei V. G.⁵
¹UFLA; Campus Universitário - Caixa Postal 3037 - CEP 37200-000 - Lavras MG.
* Fernandachavess@yahoo.com.br

Palavras-chave: Fungos, condimentos, óleos essenciais

INTRODUÇÃO: Os microrganismos têm grande aplicabilidade no campo biológico, na agricultura, na medicina e em outras áreas, mas por outro lado também estão relacionados à deterioração de alimentos e a elevação de riscos de contaminação por micotoxinas. A utilização de substâncias naturais tem demonstrado os efeitos inibidores de condimentos no desenvolvimento de microrganismos deterioradores, toxigênicos e patogênicos veiculados por alimentos. Desta forma, objetivou-se determinar o efeito da adição de óleos essenciais em meio sintético sobre o desenvolvimento micelial dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus ochraceus*.

MATERIAL E MÉTODOS: Como culturas de teste utilizaram-se as espécies de fungos, *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* obtidos da micoteca do EcoCentro/EPAMIG. Os óleos canela, menta, cravo-da-índia foram testados nas concentrações 180, 360, 540, 720 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$. Os óleos foram diluídos diretamente no meio de cultura (BDA) e o inóculo, constituído por um disco de micélio de 5 mm de diâmetro, contendo os fungos em estudo. As placas foram incubadas a temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, durante 7 dias. Após este período foram efetuadas medições ortogonais do diâmetro das colônias tendo como referência o crescimento micelial do fungo sem adição de óleos. Para comparação entre as médias dos diferentes tratamentos efetuou-se o teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR (Ferreira, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O óleo essencial de canela inibiu o desenvolvimento dos fungos testados em todas as concentrações. O óleo de menta teve um efeito pronunciado a partir da concentração de 360 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ enquanto, o óleo de cravo apresentou esse efeito a concentração de 540 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$. Em estudo realizado por Pereira (2001) o óleo essencial da canela inibiu completamente o desenvolvimento dos fungos *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp. e *Eurotium repens*. Enquanto o óleo essencial do cravo e da menta teve um efeito pronunciado com o aumento das concentrações o que vai de acordo com o estudo realizado. Deve-se, portanto enfatizar que o óleo de cravo utilizado neste trabalho foi extraído há alguns meses, prejudicando assim a sua eficiência.

CONCLUSÕES: O uso da fração oleosa dos condimentos, dada a sua eficácia sobre o desenvolvimento micelial fúngica, torna seu uso uma ferramenta antimicrobiana na conservação dos alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

PEREIRA, M.C. **Efeito da adição de condimentos no controle de microrganismos, na conservação de produtos e na inibição de metabólitos produzidos por fungos associados ao café.** Lavras: UFLA, 2001. 104p. (Dissertação – Mestrado em Ciência dos Alimentos).

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Programa e resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.253.

Apoio Financeiro: CAPES

*Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada***ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS PARA BIOSSORÇÃO DE METAIS EM EFLUENTES DE CURTUME**Blauth, L. P.¹, Mendes, C. D. S.², Gelinski, J. N. L.³¹Universidade Estadual "Júlio de Mesquita Filho" UNESP, Instituto de Química – Campus Araraquara, Departamento de Bioquímica e Química Tecnológica; ²Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S/A; ³Universidade do Oeste de Santa Catarina* pricilablauth@iq.unesp.br**Palavras-chave:** biossorção, efluentes, cromo hexavalente

INTRODUÇÃO: A contaminação das águas residuárias com vários metais pesados tóxicos e não biodegradáveis, atribuem diversos problemas a saúde do homem por consequência disso, precisam ser descontaminadas, atingindo os padrões permitidos para dispor o mesmo no meio ambiente. O cromo (Cr), é um metal pesado, que se encontra em grande quantidade nos efluentes de indústrias de curtume e têxtil [1], podendo apresentar-se na sua forma trivalente e hexavalente porém, o último é o mais tóxico, e tem reportado muitos casos de câncer no trato digestivo e no pulmão [2]. As águas residuárias dos curtumes e da indústria têxtil não somente apresentam altas concentrações desse metal pesado como também apresentam quantidades significativas de sais solúveis.

A maioria dos métodos convencionais como a precipitação, redução do Cr(VI) para Cr(III) pela transferência de íons, são muito usadas para diminuir o problema da contaminação por esses metais, porém não é uma prática ecologicamente correta. No entanto a utilização de microrganismos para remoção de metais pesados tem sido muito explorada nos últimos anos, como uma alternativa que apresenta várias vantagens em relação aos processos convencionais [3-4] usando desde biomassa de algas marinhas até fungos e bactérias. Este trabalho teve como objetivo isolar alguns microrganismos presentes em efluente de curtume, avaliando assim sua tolerância em relação ao Cr (VI) e também a caracterização desse efluente avaliando os parâmetros estabelecidos pela resolução 357/2005 para lançamento dos mesmos em corpos hídricos.

MATERIAIS E MÉTODOS: Foram coletadas amostras de efluentes de curtume no município de Caçador (SC), do tanque homogeneizador e reator biológico para análises físico-químicas e microbiológicas, sendo que para a última, as amostras foram coletadas em frascos estéreis de 500mL e analisadas no tempo máximo de 24 horas como recomenda o APHA, 1998. Os parâmetros físico-químicos analisados nas amostras foram: pH, sólidos solúveis totais (SST), demanda química de Oxigênio (DQO), cor, turbidez, condutividade, resíduo mineral, temperatura, nitrito e nitrato, oxigênio dissolvido, sulfeto, ferro, alumínio, cobre, cromo total, Cr (VI), zinco e manganês de acordo com método recomendado pelo APHA, 1998. As análises de coliformes totais e *Escherichia coli* foram feitas através do kit Colilert™, foram utilizados 10 mL da amostra e diluídos em 90 mL de água estéril, acrescidos do reagente Colilert™ até total dissolução. A mistura foi adicionada a uma cartela do kit, e incubada a 37[±]1 por 24 horas (APHA, 1998). Foram feitas diluições decimais em séries das amostras de efluente de curtume e semeando-se 0,1 mL em placas de petri contendo ágar de contagem total- PCA (MERCK™) com Cloranfenicol (OXOID™) em diferentes concentrações: 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 30µg/mL. As placas foram incubadas a 37[±]1°C por 48 horas. Após 48 horas, foram realizadas as contagens de colônias. Colônias com características estéticas diferentes foram isoladas e transferidas para Caldo de Infusão cérebro-coração-BHI (OXOID™) para posterior morfologia de Gram [6] As culturas isoladas com morfologia Gram positivas e negativas foram submetidas ao MIC pela inoculação em fase exponencial de crescimento em caldo BHI (Caldo Infusão de Coração) com diferentes concentrações de Cr (VI): 0, 2,5, 5, 10, 15, 20, 25, 30mg/L e incubadas a 37[±]1°C por 24 a 48 horas. A concentração mínima inibitória foi indicada pelo crescimento (turbidez), que foi

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS AUTOCTONES PARA TRATAMENTO DE EFLUENTE OLEOSO

Queissada D.D.*, Silva, F. T., Paiva T.C.B.

Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena-USP, Lorena, SP
queissada@gmail.com

Palavras-chave: Isolamento, biotratamento, efluente oleoso.

INTRODUÇÃO: O aumento da poluição de corpos receptores por efluentes oleosos tem motivado a pesquisa e o desenvolvimento por alternativas tecnológicas no setor industrial em pró do ambiente. Os objetivos deste trabalho foram caracterizar química, física e biologicamente um efluente oleoso industrial, isolar microrganismos autóctones deste efluente, efetuar tratamentos com os microrganismos isolados em diferentes condições de pH e temperatura.

MATERIAL E MÉTODOS: Para a caracterização do efluente foi determinado a Demanda Química de Oxigênio (DQO), oxigênio dissolvido (OD), o pH, a concentração de sólidos totais (ST) e a Cor do efluente, pré e pós-tratamento, para posterior seleção de microrganismos. A cor foi medida de acordo com metodologia padrão CPPA (1997), a determinação de DQO e a concentração ST no efluente foi realizada pelo método padrão APHA (1992) e o OD foi determinado pelo método de Winkler (APHA/WWA, 1998). O isolamento dos microrganismos oriundos do efluente foi realizado seguindo o processo de diluição em série em placas de petri. Foram usados dois meios nutritivos diferentes, o meio Agar Nutriente para o isolamento de bactérias e o meio Batata Dextrose Agar (BDA) para o isolamento de fungos. As colônias que se desenvolveram durante o isolamento foram quantificadas em unidades formadoras de colônia (UFC) e purificadas em tubos de ensaio contendo Agar Nutriente ou BDA. O tratamento do efluente foi realizado em erlenmeyers de 125 mL contendo 65 mL de efluente bruto inoculado com 10⁸ esporos do microrganismo, e o processo foi realizado em shaker durante 120 h, 150 rpm, 15°C e pH 5, 7 e 9.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os resultados da caracterização do efluente original evidenciaram que o mesmo se apresentou extremamente ácido com pH 1,7; uma alta coloração de 1.495 unidades de cor (UC), DQO elevada de 9.146,56 mgO₂/L; oxigênio dissolvido de 2,54 mg/L e 15.666 mg/L de sólidos totais. O isolamento de microrganismos do efluente foi de 4,4 UFC, mostrando uma baixa população devido, possivelmente, à alta acidez e uma provável taxa elevada de toxicidade do mesmo. Entretanto, ocorreu uma alta diversidade sendo isolados seis fungos (F I – F VI) filamentosos possivelmente diferentes. Após o tratamento em erlenmeyers utilizando F I, com pH 5, ocorreu redução de cor (76,77%) e da DQO (5,1 %) em relação ao efluente original. Quando o pH foi alterado para 7, a redução de cor foi mais intensa diminuindo (82,5 %), já a DQO não sofreu nenhuma mudança significativa. Com o pH elevado para 9, a cor reduziu mais ainda chegando a 88,18% de redução já a DQO sofreu um aumento de 42,3% em relação a DQO original, possivelmente pela formação de compostos ocorridos com a alteração do pH e ainda por uma provável inibição do metabolismo fungíco. Em todos os testes o pH não sofreu nenhuma alteração expressiva em relação ao tempo 0 h.

CONCLUSÕES: Com relação aos resultados obtidos até agora, o microrganismo testado (F I) conseguiu uma boa redução de cor do efluente porém a redução de DQO não foi satisfatória, por isso testes com outras temperaturas deverão ocorrer para buscar o melhor resultado do mesmo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

APHA - American Public Health Association. **Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales**. Greenberg AE (Ed), Diaz de Santos, SA, Madrid, Espanha, 1992.

APHA-AWWA – **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. American Public Health Association – American Water Works Association, 20° Ed Washington DC, 1998.

CPPA - Canadian Pulp and Paper Association, **Standard Testing Methods**, H1. Canada, 1993.

APOIO FINANCEIRO: FAPESP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE BACTERIANA ASSOCIADA AOS MANGUEZAIS DO ESTADO DE SÃO PAULO

Santos, V.C.^{1*}, Dias, A.², Ferreira, A.¹, Quecine, M.C.¹, Marcon, J.¹, Lacava, P.T.¹, Araújo, W.L.¹, Azevedo, J.L.¹, Melo, I.S.², Pizzirani-Kleiner, A.A.¹

¹Departamento de Genética, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, ESALQ/USP, Av.: Pádua Dias, 11 Caixa Postal 9, Piracicaba-SP- Brasil CEP 13418-900 ;

²Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental, EMBRAPA, Rodovia SP 340 - Km 127,5 Caixa Postal 69, Jaguariúna - SP - Brasil - CEP: 13820-000

*vcsantos@esalq.usp.br

Palavras-chave: Mangue, DGGE, atividade enzimática

INTRODUÇÃO: Apesar de serem muito ricos em matéria orgânica, os ecossistemas de mangue sofrem por deficiência de alguns nutrientes, especialmente o nitrogênio e o fósforo, que são indispensáveis ao crescimento das plantas. Entretanto, a atividade microbiana é responsável pelas principais transformações de nutrientes dentro deste ecossistema e os microrganismos desempenham importante papel na ciclagem de nutrientes dentro do manguezal. O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade bacteriana da rizosfera e endófitica do ecossistema mangue por isolamento e DGGE (Gradiente Desnaturante em Gel de Eletroforese). Além da avaliação da produção de enzimas, como um potencial biotecnológico a ser explorado.

MATERIAL E MÉTODOS: A comunidade bacteriana isolada do mangue foi analisada por isolamento e por DGGE, método descrito por Muyzer et al (1993), realizado no sistema DGGE-1001 (C.B.S., Scientific Company, INC., USA). Os produtos de PCR foram colocados em gel vertical de poliacrilamida 6% com gradiente desnaturante de uréia/formamida de 45-65%. As bactérias também foram avaliadas quanto a produção de enzimas como: amilase, esterase, lipase, protease, pectinase e celulase. Os isolados foram crescidos em meios e soluções específicas para a avaliação da produção enzimática.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os grupos bacterianos predominantes encontrados foram *Vibrio*, *Microbacterium* e *Bacillus*. As análises por DGGE mostraram similaridade de comunidades bacterianas de rizosfera e endófitica. Estes resultados preliminares sugerem que a técnica de DGGE é um protocolo praticável para avaliar a complexa comunidade bacteriana de manguezais, incluindo bactérias não cultiváveis. Os isolados bacterianos apresentaram as seguintes atividades: proteolítica (69%), aminolítica (56%), lipolítica (9%), esterase (47%), pectinolítica (75%). Atividade celulolítica não foi detectada.

CONCLUSÕES: As análises de comunidades bacteriana por isolamento e DGGE mostrou-se promissora para o estudo de diversidade bacteriana em manguezais. Os isolados bacterianos obtidos demonstraram potencial biotecnológico para a produção de enzimas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

MUYZER, G., DE WAAL, E.C., UITTERLINDEN, A.G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, 59: 695-700, 1993.

Apoio Financeiro: FAPESP (BIOTA)

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE BACTÉRIAS ISOLADAS DE CAVERNAS DA REGIÃO DE ALTINÓPOLIS.

*Gervasio, I.M.¹, Carvalho, M.A.², Teixeira, J.R.², Cardoso, P.G. – Orientadora, Schwan, R.F. - Co-Orientadora.

Universidade Federal de Lavras - Departamento de Biologia – Setor de Microbiologia
Lavras – MG.

*ivager24@yahoo.Com.br

Palavras – chave: leveduras, bactérias, cavernas.

Introdução: Os Microrganismos apresentam uma imensa diversidade genética e desempenham funções únicas e cruciais na manutenção de ecossistemas. O ambiente microbiológico cavernícola no Brasil é pouco conhecido e os benefícios científicos esperados de um maior conhecimento sobre esses microrganismos, inclui além de uma melhor compreensão das funções exercidas pelas comunidades microbianas a descoberta de microrganismos potencialmente exploráveis em processos biotecnológicos.

Objetivo: Isolar e caracterizar morfologicamente bactérias de diferentes cavernas da região de Altinópolis-SP.

Materiais e métodos: Placas contendo meios de cultivo YEPG e Agar Nutriente foram expostas no interior das cavernas onde cresceram microorganismos, esses microorganismos foram isolados no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Lavras, prevalecendo o maior números de bactérias.

Resultados e discussão: As bactérias foram caracterizadas quanto à forma, arranjo e Gram. Após avaliação dos morfotipos foram retirados exemplares de colônias para proceder à purificação quanto à forma.

Conclusão: A população microbiana isolada das cavernas apresentou uma grande Diversidade morfológica, entre os microrganismos isolados das diferentes cavernas da região de Altinópolis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A. et al. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9.ed. Maryland: Williams & Wilkins 1994.

Machado, A.B. & Ferreira, R.L. 2005. Invertebrados. *In: Biodiversidade em Minas Gerais: um Atlas para sua Conservação*. Fundação Biodiversitas.

Apoio: Universidade Federal de Lavras, FAPEMIG.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

LEVEDURA BIODEGRADADORA DE BIODIESEL

Oliveira D. M.^{1*}, Angelis, D. F.²
Departamento de Microbiologia - Avenida 24-A nº 1515 - Bela Vista
C.P. 199 - CEP 13506-900 - Rio Claro - SP.
* danilla_allinad@yahoo.com.br

Palavras-chave: Levedura, lipolítica, petróleo, efluente.

INTRODUÇÃO: Os efluentes industriais quando submetidos a tratamentos biológicos exibem uma microbiota altamente diversificada, composta por bactérias, leveduras, fungos, algas e protozoários. Entretanto em alguns efluentes predominam alguns grupos que o próprio tratamento seleciona. Esta seleção pode manter uma certa diversidade como é o caso do efluente da refinaria onde predominam bactérias. Neste ambiente com diversidade bacteriológica (NOUTO et al., 2006) isolou-se uma linhagem de levedura formadora de pseudomicélio capaz de metabolizar hidrocarbonetos e lipídeos. Esta levedura é o microrganismo estudado.

MATERIAL E MÉTODOS: A levedura foi isolada do efluente após o plaqueamento em meio Sabouraud e foi mantida em laboratório no mesmo meio. Posteriormente foi cultivada em meio para cultivo de microrganismo lipolítico (AARONSON, 1970). Neste meio acrescentou-se, além do inóculo de levedura, óleos: biodiesel (B), diesel novo (DN), diesel velho (DV) e óleo de soja (OS).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Constatou-se a presença da levedura apenas uma vez em 21 plaqueamentos quinzenais do efluente tratado. Morfologicamente a levedura revelou crescimento na forma de pseudomicélio, quando cultivada em "corn meal" (LODDER, 1971). Nos frascos contendo óleos verificou-se que a levedura tem propriedade biodegradadora de óleos e que após 24 horas todos os meios apresentavam início de emulsificação. Após 10 dias a superfície do meio B apresentou quando agitado uma camada flutuante de biomassa e ausência de óleo; no OS permanência de óleo residual; no DN formou-se uma emulsão de levedura e óleo, indicando biodegradação mais eficiente que em DV.

CONCLUSÕES: A levedura isolada é capaz de biodegradar preferencialmente biodiesel e está em etapa de identificação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

NOUTO et al., 2006

AARONSON, S., Experimental Microbial Ecology -- New York : Academic Press ; 1970 1970

LODDER, S. The Yeasts – A taxonomic Study. North Holland. Plubish Print Company, 1971

Apoio Financeiro: Cnpq

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

SOBREVIVENCIA DE XANTHOMONAS CAMPESTRIS APÓS SER SUBMETIDA Á IRRADIAÇÃO POR LUZ ULTRAVIOLETA.

Pigatto, G.^{1*} & Oliva-Neto, P. de.*

Laboratório de Biotecnologia Industrial - Departamento de Ciências Biológicas – Unesp – Assis - SP.

* giaquarios@hotmail.com

Palavras-chave: Xantana, Irradiação UV e Produção de goma.

INTRODUÇÃO: A goma xantana é um exopolissacarídeo produzido pelas linhagens de *Xanthomonas campestris*, sendo uma bactéria fitopatogênica. Exibe uma grande importância industrial por ser de ampla utilização, agindo como agente de suspensão, estabilizante, emulsificante, formação de soluções viscosas, perfurações de poços de petróleo entre outros.

MATERIAL E MÉTODOS: A bactéria foi ativada através de um inóculo congelado utilizando o meio formulado quatro descrito por SILVA e OLIVA-NETO (2004) com a temperatura de 27°C na estufa. Após a fase de ativação ocorreu a inoculação das mesmas em placas de petri com 5ml de solução fisiológica a 0,9% de NaCl e irradiadas posteriormente em diferentes tempos, sendo: 0, 120, 240, 480 e 600 segundos, com diluições de 10⁻¹ até 10⁻⁶ em água peptonada também em placas. O plaqueamento realizado foi a partir das placas com diluições em 10⁻¹, 10⁻³, 10⁻⁵ e 10⁻⁶.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Em comparação com as colônias que não foram irradiadas e as que foram, houve uma porcentagem reducional desta significativa de acordo com o aumento do tempo da irradiação. Os tempos 120, 240, 480 e 600 segundos obtiveram as seguintes reduções: 90,8%; 96,7%; 98,9% e 99,2% respectivamente, mas não houve perda total de colônias em nenhuma placa irradiada.

CONCLUSÕES: A técnica utilizada provocou a morte parcial de *X.campestris*. As colônias sobreviventes serão de importante utilidade para posteriores estudos relacionados com a produção e rendimento do biopolímero.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

DA SILVA, C. R. R; OLIVA-NETO, P. in: **Estudo das condições de produção de xantana através de diferentes formulações de meio de cultura.** Trabalho de conclusão de curso, Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, UNESP, 2004.

OLIVEIRA, L. H. S; OLIVA-NETO, P. **Isolamento e caracterização de bactérias produtoras de goma xantana.** Dissertação de Mestrado. UNESP Campus de Rio Claro – SP, p.193, 2002.

RODRIGUEZ, H.; AGUILAR, L. **Detection of *Xanthomonas campestris* mutants with increased xanthan production.** Department of Microbiology, Department of Biochemistry, Cuban Research Institute on Sugarcane By-Products, Havana, November, 1996.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

MICROBIOTA DO FERMENTADO DE KEFIR

Magalhães, K.T.¹, Dias, M.^{2*}, Carvalho, M.A.³, Schwan, R.F.⁴

¹Mestranda em Microbiologia Agrícola – Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras, MG

²Graduanda em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras, MG

³Graduanda em Química - Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras, MG

⁴Coordenadora do curso de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola – Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras, MG

*e-mail: mitaili_dias@hotmail.com

Palavras-chave: Kefir, microbiota, propriedades probióticas.

INTRODUÇÃO: Kefir é um produto fermentado com possíveis propriedades probióticas, bastante consumido no Brasil. O kefir contém bactérias do ácido lático e acético, leveduras e seus metabólitos. O objetivo deste trabalho foi analisar morfológicamente os componentes microbianos dos grãos de kefir.

MATERIAL E MÉTODOS: O fermentado foi obtido da mistura de 250g de grãos de kefir em 2250mL de leite integral pasteurizado (YPÊ – Lavras, MG), incubado a 21°C por 24h. Após este período, foram retiradas amostras do líquido para diluições decimais seriadas. Alíquotas dessas diluições foram plaqueadas em ágar nutriente (para bactérias mesófilas), MRS (para lactobacilos), M17 (para lactococos), meio 254 (DSMZ) (para acetobactérias), meio Edwards modified (OXOID) (para streptococos), meio LUSM (Benkerroum et al., 1993) (para leuconostoc) (todos acrescidos de nistatina) e meio YEPG (para leveduras) (acrescido de cloranfenicol) e incubadas a 28°C por 48h.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Após 48h de incubação foram observadas as populações de $1,5 \times 10^7$ UFC/mL de bactérias mesófilas, $2,8 \times 10^{10}$ UFC/mL de lactobacilos, $1,5 \times 10^7$ UFC/mL de lactococos, $1,9 \times 10^7$ UFC/mL de bactérias acéticas, $3,2 \times 10^7$ UFC/mL de streptococos, $2,6 \times 10^{10}$ UFC/mL de leuconostoc, $1,2 \times 10^8$ UFC/mL de leveduras. A população bacteriana nos meios ágar nutriente, 254 (DSMZ) e Edwards modified (OXOID) foi semelhante quanto ao aspecto morfológico, apresentando somente 1 morfotipo. Nos meios M17 e LUSM foram detectados 2 morfotipos bacterianos e no meio MRS 3 morfotipos aparentemente distintos de bactérias foram observados e isolados para posterior caracterização. No meio YEPG observou 2 morfotipos diferentes de leveduras, confirmando a observação feita por outros autores onde relatam a existência de bactérias e leveduras presentes nos grãos.

CONCLUSÃO: O kefir analisado apresentou uma complexa microbiota representada por possível simbiose entre bactérias e leveduras, sendo que as primeiras parecem apresentar uma possível aplicação probiótica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

WITTHUHN, R.C., SCHOEMAN, T., BRITZ, T.J. Isolation and characterization of the microbial population of different South African kefir grains. *International Journal of Dairy technology.*, 1. 57: 33-37, 2004.

Apoio Financeiro: CAPES, FAPEMIG, Cooperativa Agrícola Alto Rio Grande LTDA (YPÊ) – Lavras, MG

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

MONITORAMENTO E ANÁLISE TOXICOLÓGICA DA BIODEGRADAÇÃO DE ÓLEO LUBRIFICANTE AUTOMOTIVO

Domingues, R.F.^{1,2}, Bidoia, E.^{1,3}

¹Av. 24^a, 151513506-900, Rio Claro - SP

²e-mail: renatureza@ig.com.br; ³ederio@rc.unesp.br

Palavras-chave: Óleo lubrificante automotivo, biodegradação, toxicidade

INTRODUÇÃO: Atividades relacionadas à indústria de petróleo envolvem grandes riscos ambientais, face à possibilidade de contaminação. A remediação biológica, quando comparada aos processos físicos e químicos, é considerada a mais segura, eficiente e menos agressiva, pois se utiliza de microrganismos nativos tais como bactérias, fungos e algas. Óleos lubrificantes são de difícil biodegradação e podem ocasionar sérios problemas ambientais quando não adequadamente dispostos. Além de bloquear a passagem de ar e luz, sua composição aromática pode causar intoxicação, complicações circulatórias, tumores e bioacumulação. O presente projeto apresenta a evolução da biodegradação de óleos automotivos (mineral, sintético e usado) e a diminuição da toxicidade do solo contaminado após tratamento.

MATERIAL E MÉTODOS: Utilizou-se do Respirômetro de Bartha & Pramer (CETESB, 1990) para acompanhar a biodegradação. A toxicidade do solo foi medida utilizando sementes de rúcula (*Eruca sativa*) baseando-se em NAVARRETE, 2006. Também, foi avaliado o destino do efluente oleoso restante nas embalagens dos postos de combustíveis de Rio Claro, SP, e obteve-se uma estimativa de óleo descartado no esgoto urbano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A taxa de CO₂ produzida foi maior no óleo usado (401,940 mg). O ensaio contendo solo contaminado por óleo sintético apresentou o segundo maior nível de CO₂ acumulado (242,670 mg) seguido pelo solo contaminado por óleo mineral (124,380 mg). Entretanto, o solo contaminado por óleo usado permaneceu tóxico no se que refere à germinação de sementes de rúcula devido a grande presença de metais pesados provenientes do desgaste dos motores. Cerca de 3.342,35 L de óleo lubrificante são descartados por dia no meio ambiente na cidade de Rio Claro/SP.

CONCLUSÕES: O óleo usado apresenta maior biodegradabilidade do que os demais, porém mantém-se alta a sua toxicidade. O óleo sintético é mais biodegradável do que o mineral. Muitas embalagens apresentam óleo residual capaz de contaminar grandes volumes de água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CETESB, Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. "Solos – Determinação da Biodegradação de resíduos – Método respirométrico de Bartha". São Paulo: Norma Técnica L6350, 15p., 1990.

NAVARRETE, A.A. Algas na desintoxicação do solo de landfarming de refinaria de petróleo. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, 100 p., 2006.

Apoio Financeiro: PIBIC/CNPq e Integrante do PRH-ANP/FINEP/MCT-CTPETRO, PRH-05, Universidade Estadual Paulista - UNESP-Rio Claro/SP.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**OBTENÇÃO DE ISOLADOS ENDOFITICOS E PATOGÊNICOS DE
THEOBROMA GRANDIFLORUM (WILD) EX SPRENG SCHUM E
THEOBROMA SUBINCANUM MARTIUS PRODUTORES DE JASMONATOS.**

* Maia, M. L. S¹; Galvão, R. M. S²; Pereira, J. O.²

¹Mestranda em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras – MG - ²Laboratório de Genética do Instituto de Ciências Biológicas - ICB da Universidade Federal do Amazonas - AM

marciadelorena@hotmail.com

Palavras-chave: Jasmonatos, *Theobroma*, Fungos.

Introdução: Fungos são microrganismos que podem ser isolados de quase todos os ambientes e incluindo também tecidos animais e vegetais. Quando isolados de tecidos vegetais sem causar danos aparentes, são denominados fungos endofíticos e quando causam lesões e doenças nas suas plantas hospedeiras são denominados fungos patogênicos. Muitos destes microrganismos podem produzir substâncias de interesse para o homem como antibióticos, enzimas, hormônios e indutores do crescimento de plantas, como o Ácido Jasmônico ou Jasmonatos.

Objetivos: Os objetivos deste trabalho foram isolar fungos endofíticos e patogênicos das espécies amazônicas *Theobroma grandiflorum* (cupuaçu) e *Theobroma subincanum* (cupuí) e caracterizá-los quanto a produção de Jasmonatos.

Materiais e métodos: Para a obtenção dos fungos endofíticos foram utilizadas folhas e frutos sadios de cupuaçu e de cupuí, tendo sido aplicada a metodologia de isolamento de endofíticos segundo Petrini (1986) e Pereira (1993). Folhas e frutos que apresentavam lesões visíveis foram utilizadas com o intuito de isolar os fungos patogênicos. Fragmentos das colônias fúngicas puras foram inoculados em meio de cultura líquida BD (infusão de batata + dextrose) para cultivo estático, sendo os extratos filtrados após dez dias e as amostras eluidas em placa de sílica para detecção da produção de Ácido Jasmônico através da Cromatografia de Camada Delgada Comparativa (CCDC).

Resultados e discussão: Foram isolados os gêneros *Aspergillus* sp., *Botryodiplodia* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Pestalotiopsis* sp. e *Phomopsis* sp., dentre as quais apenas uma, *Botryodiplodia* sp. Mostrou-se capaz de produzir o Ácido Jasmônico.

Conclusão: A riqueza dos fungos endofíticos e dos fungos patogênicos é equivalente e a afinidade desses microrganismos pelos hospedeiros é evidente, já que deles foram isolados os mesmos gêneros de fungos, sendo *Botryodiplodia* o único produtor do Ácido Jasmônico dentre os isolados associados a *Theobroma*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, W.L., LIMA, A. O. de S., AZEVEDO, J. L., MARCON, J., SOBRAL, J. K., LACAVA, P. T. Manual de isolamento de microrganismos endofíticos. ESALQ/USP, p.18, 2002.

PEREIRA, J. O. Fungos endófitos de hospedeiros tropicais *Stylosanthes guianensis* e *Musa cavendishii*. Piracicaba – Tese de Doutorado, p.63,1993.

PETRINI, O. & MULLER, E. HAUPR – Und Nebenfruchtformen Europaischer Pilze. *Mycologia Helvetica*, Basel, 1:501-627, 1986.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, UFAM, FAPEMIG.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

OOMYCETOS PATOGENICOS EM ORQUIDÁRIOS COMERCIAIS DA REGIÃO DE ARARAS, SP.

Guimarães, C. G.^{1*}, Moraes, C. P.¹, Belotto, E. M.¹, Diogo, J.A.¹, Marteline, M.A.¹, Ronconi, C. C.²
¹ UNIARARAS. Rua Maximiliano Baruto, no. 500, Jardim Universitário, CEP: 13607-339 – Araras/SP.

² Orquidácea - Produtores de Orquídeas. Estrada Municipal de Itapema, 4415. Caixa Postal: 06. CEP: 08900-970 - Guararema/SP.

*e-mail: chrisdrichris@yahoo.com.br

Palavras-Chaves: Orchidaceae, produção vegetal, fitopatologia

INTRODUÇÃO: Orquídeas são flores importantes para o agronegócio florícola mundial. Para estabelecimento de protocolos fitossanitários eficazes nestas plantas, realizou-se a identificação de Oomycetos em 15 orquidários comerciais da região de Araras, SP.

MATERIAL E MÉTODOS: Em 2006 foram realizadas inspeções em plantas de 15 orquidários para recolhimento de material biológico com aparentes sintomas de enfermidades. As amostras foram identificadas, organizadas filogeneticamente e fotografadas. Porções de tecidos foram acondicionadas em câmara úmida, para incubação por 24 a 48 horas a temperatura ambiente. Os meios para Oomycetes foram preparados colocando fragmentos de tecido em meio ½ MS. A identificação se realizou com base na literatura após obtenção das informações obtidas na incubação e análise microscópica dos cultivos puros.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Foram identificados *Phytophthora cactorum* para *Cattleya amethystoglossa*, *Sophrocattleya* "Irmã Dulce" e *Sc.* "Alma Kee" e *Pythium ultimum* em *Arundina graminifolia*, *Coelogyne flacida* e *Coelogyne massangeana*, fato considerado normal devido à branda legislação nacional relacionada a fitossanidade em plantas ornamentais.

CONCLUSÕES: O controle fitossanitário em orquidários comerciais na Região de Araras, SP. é ineficiente, em virtude da escassez e difícil acesso à literatura especializada para controle dos fitopatógenos pelos produtores, fato evidenciado pela presença de *P. cactorum* e *P. ultimum* em nove viveiros analisados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

TRUJILLO, G. & HERNÁNDEZ, Y. 1999. Bacterial spot in orchid. *Fitopatologia Venezolana*. v.12, n.1.p.4-8.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

Otimização da Reação de Polimerase em Cadeia para Amplificação do Gene *ccaR* de Mutante de *Streptomyces clavuligerus*Lima, V.A.¹; Cruz-Hernández, I.L.²; Vasconcelos, E.S.²; Silveira, R.S.³; Hokka, C.O.²; Henrique-Silva, F.³¹pgiloni@gmail.com^{1,2}Universidade Federal de São Carlos - Departamento de Engenharia Química³Universidade Federal de São Carlos - Departamento de Genética e Evolução**Palavras-chave:** PCR, gene *ccaR*, *Streptomyces clavuligerus*.

INTRODUÇÃO: Antibióticos beta-lactâmicos são produzidos por fungos filamentosos e bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. *Streptomyces clavuligerus* produz o antibiótico beta-lactâmico cefamicina C (7-metóxi-3'-carbamoildeacetilcefalosporina C) e o ácido clavulânico, inibidor da enzima beta-lactamase. Os genes que codificam a biossíntese da cefamicina C e do ácido clavulânico estão agrupados em forma de cluster no genoma e são denominados super *cluster* β-lactâmico. O gene regulador *ccaR* (*cephamicycyn clavulanic acid regulator*), localizado no super *cluster*, controla ambas as biossínteses, a do ácido clavulânico e a da cefamicina C (Santamarta, I., 2002). A importância do gene *ccaR* e suas características intrínsecas em linhagem selvagem e de mutantes de *Streptomyces clavuligerus*, são os motivos desta pesquisa.

MATERIAL E MÉTODOS: Os microrganismos foram cultivados em meio de cultura ISP-1 e ISP-2 (ISP – International Streptomyces Project). Os mutantes foram obtidos por irradiação ultravioleta (UV) e por agente mutagênico químico, o metilmetano sulfonato (MMS), segundo os protocolos estabelecidos por Cruz-Hernández, I. L., 2005. Os mutantes obtidos foram selecionados por suas características morfológicas diferenciadas da linhagem selvagem que caracteriza-se por apresentar cadeia de esporos flexuosa, superfície dos esporos lisa, coloração do micélio verde-grisália escura quando a esporulação é abundante e coloração do lado inverso da colônia de amarelo a amarelo-grisálea (Willian *et al*, 1994). A produção de ácido clavulânico foi detectada em meio de cultivo de suas respectivas fermentações em meio de cultura ISP-1, conforme os procedimentos propostos por Araújo (1996). Os mutantes obtidos nesta fase foram repicados e estocados em criotubos. Estes mutantes foram colados em tubos de microcentrifuga, congelados em nitrogênio líquido e triturados. O DNA genômico foi extraído utilizando solução de TNES (Tris 250 mM, pH 7,5; NaCl 0,2M; EDTA 100mM; SDS 2%) para lise celular. A mistura de PCR (Polymerase Chain Reaction), com volume final de 50 µL, continha 5 µL de DNA genômico, Taq polimerase (1,25U ou 0,5 µL), 5 µL de tampão (Tris-HCl pH 8,5 e 500 mM KCl), 2 µL de MgCl₂ 50 mM, 1 µL solução estoque de dNTPs 1,25 mM, 10 µL de cada iniciador (direto e reverso) e 7,5 µL de água deionizada (Favarin, 2005). Os oligonucleotídeos usados como iniciadores foram: o reverso, *ccaR*-2 (AAGGTACCCCGCCGTTGTGAGAAGA), e o direto *ccaR*-4 (GGGGGTAGGGAGGGGAGAGT). Quatro programas para a reação PCR foram

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

utilizados com o objetivo de se investigar a melhor temperatura de anelamento dos iniciadores. O programa, com suas variações utilizados para a reação de PCR foi: 1) desnaturação inicial 95°C/5 minutos, 35 ciclos de 95°C/1 minuto, 50°C ou (53,3 °C/ 56,5°C e 59,7°C)/1 minuto e 72°C/3 minutos, e com extensão final de 72°C/15 minutos. Foram feitas também, quatro diluições de DNA para estas reações de PCR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Quatro mutantes foram analisados; 13a, 17a, e UV70 obtidos pelo tratamento com UV, e o MMS54, obtidos pelo tratamento com o mutagênico químico, metilmetano sulfonato.

Extraíu-se 100 ng de DNA genômico dos mutantes 17a, MMS54 e 150 ng de DNA dos mutantes 13a, e UV70, visualizados em gel de agarose 0,8%. A metodologia proposta para a extração do DNA genômico foi adequada e eficaz. O uso da referida técnica possibilitou a extração do DNA sem a intervenção do fenol, reagente químico tóxico e inadequado para as práticas laboratoriais. A padronização da PCR requer processamento criterioso das amostras para evitar intercorrências que podem interferir nos resultados dos testes. Dos programas de PCR testados, os que apresentaram os melhores resultados foram nas temperaturas de 56,5 e 59,7 °C, e com diluição de 1:20 do DNA. Demonstrando assim, que temperaturas maiores de anelamento e frações diluídas de DNA favorecem a especificidade da amplificação gênica. O resultado da reação foi avaliado por eletroforese em gel de agarose 0,8% e um fragmento de 1150 pb foi amplificado. Um teste de mapeamento de restrição com as enzimas BamHI e XbaI também foi feito para se comprovar a amplificação do gene *ccaR*.

CONCLUSÕES: O fragmento esperado de 1150 pb foi amplificado na temperatura de anelamento de 59,7°C, com diluição de 1:20 de DNA, na reação de PCR e no teste de mapeamento por restrição. A clonagem gênica do *ccaR* em vetor de propagação PTZ em *E. coli* DH5α e o seu seqüenciamento serão as nossas próximas investigações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Araujo, M.L.G.C. Estudo cinético do processo de produção da cefalosporina C com células livres e imobilizadas de *Cephalosporium acremonium* ATCC 48272. São Carlos. Tese (Doutorado em Engenharia Bioquímica)- **Universidade Federal de São Carlos**. 189p. 1996.
- Cruz-Hernández, I. L. ; Araujo, M.L.G.C.; Freitas, T.; Badino Jr., A.C. ; Hokka, C.O. ; Salvato, F.; Pradella, J.G.C. Obtenção de mutantes de *Streptomyces clavuligerus* com melhor capacidade de produção de ácido clavulânico . In: **Simpósio Nacional de Fermentações**, 2005, Recife. Anais do XV Simpósio Nacional de fermentações, 2005.
- Favarin, E. C. *Streptomyces* Associados a Formigas da Tribo Attini e Seus Efeitos Sobre os Fungos *Escovopsis weberi* e Outros Microrganismos. Rio Claro (SP). Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas. **UNESP Rio Claro – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**. 61 páginas. 2005.
- Santamarta, I.; Rodríguez-García, A.; Pérez-Redondo, R.; Martín, J. F e Liras, P. Ccar Is an Autoregulatory Protein That Binds to the *ccaR* and *cefD-cmcI* Promoters of the Cephamycin C-Clavulanic Acid Cluster in *Streptomyces clavuligerus*. **Journal of Bacteriology**. v.184(11), p.3106-3113. 2002.
- Williams, S. T.; Sharpe, M. E.; Holt, J.,G. **Bergey's manual of Systematic Bacteriology**. - Editorial Board. 1994.

Apoio Financeiro: FAPESP (Proc.: 05/55079-4).

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

PERFIL DE RESISTÊNCIA DE AMOSTRAS DE *Streptococcus agalactiae* ISOLADAS DE PEIXES AOS ANTIBIÓTICOS FLORFENICOL E BICICLOMICINA

Godoy D.T.^{1*}, Mian G.F.¹, Zanolo R.², Figueiredo H.C.P.¹.

¹ AQUAVET - Laboratório de Doenças de Animais Aquáticos, Departamento de Medicina Veterinária, UFLA, MG/BR, 37200-000-Lavras, MG.; ² Schering - Plough Saúde Animal, SP, BR - 06714-050 – Cotia, SP.

* danielatg@hotmail.com

Palavras-chave: *Streptococcus agalactiae*; MIC; Antibióticos.

INTRODUÇÃO: O *Streptococcus agalactiae* é a principal causa de surtos de encefalite no Brasil e em outros países, com altas taxas de mortalidade, principalmente em cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em tanque-rede. Não existem vacinas disponíveis até o momento e o uso de antibióticos é a principal medida de controle. O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração inibitória mínima (MIC) de florfenicol e biciclomicina para amostras de *S. agalactiae* isoladas de tilápia do Nilo.

MATERIAIS E MÉTODOS: Foram utilizadas 35 amostras provenientes de cinco estados brasileiros – MG, ES, BA, PR, SP, de nove propriedades distintas. A metodologia utilizada para determinação do MIC foi a microdiluição em caldo, de acordo com "Method for Broth Dilution Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals", estabelecido pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2006). Os testes foram incubados em 28°C e foram utilizadas diluições seriadas de base dois para os antibióticos florfenicol (64-0,06 µg/ml) e biciclomicina (200-0,195 µg/ml).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Ainda não existe um critério padronizado de interpretação destes resultados como já existe para mamíferos. Foi considerado como critério de interpretação dos valores de MIC a frequência de distribuição dos resultados. Sendo classificadas como wild type WT, população bacteriana originalmente susceptível; ou não wild type NWT, população com mecanismos de resistência ao antibiótico. Os valores de MIC para florfenicol e biciclomicina variaram de 1 µg/ml a 16 µg/ml e 3,12 µg/ml a 12,5 µg/ml, respectivamente. Todas as amostras foram classificadas como WT para BCM e FLO.

CONCLUSÃO: Ambos os antibióticos apresentam bom potencial para o uso em piscicultura, contudo, deve-se monitorar o aparecimento de populações resistentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CLSI/NCCLS (Clinical and Laboratory Standards Institute/ National Committee for Clinical and Laboratory Standards). Methods for Broth Dilution Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals; Approved Guideline. **CLSI/NCCLS Document M49-A**, CLSI/NCCLS, Wayne, Pa. 2006.

FIGUEIREDO, H.C.P., CARNEIRO, D.O., FARIA, F.C., COSTA, G.M. *Streptococcus agalactiae* associado à meningoencefalite e infecção sistêmica em tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.4, p.678-680, 2006.

MILLER, R.A. & REIMSCHUESSEL, R. Epidemiologic cutoff values for antimicrobial agents against *Aeromonas salmonicida* isolates determined by frequency distributions of minimal inhibitory concentration and diameter of zone of inhibition data. **Am. J Vet. Res.** 67, 1837-1843. 2006.

Apoio Financeiro: Schering – Plough Saúde Animal e CAPES.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

PESQUISA DE METALO β -LACTAMASES EM *Pseudomonas aeruginosa* DE EFLUENTE HOSPITALAR E ÁGUA SUPERFICIAL EM PASSO FUNDO, RS

Fuentefria, D.B.¹., Einsfeld, A.F.¹, Spindler, A.¹, Corção, G.^{2*}

¹Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, UFRGS; ²Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia, UFRGS, Rua Sarmiento Leite, 500, CEP 90050-170, Porto Alegre, RS *corcao@ufrgs.br

Palavras-chave: Metallo- β -lactamase, *P. aeruginosa*, efluente hospitalar

INTRODUÇÃO: Cepas produtoras de Metallo β -lactamases (MBLs) estabelecem um substancial desafio para a terapia antimicrobiana, trazendo ao cenário atual a necessidade de identificá-las no efluente hospitalar e avaliar o impacto da sua disseminação em corpos hídricos. Este estudo visa avaliar a presença e a disseminação de cepas de *P. aeruginosa* produtoras de MBLs no esgoto hospitalar e em amostras de água superficial.

MATERIAL E MÉTODOS: As amostras de esgoto hospitalar e água superficial foram coletadas em Passo Fundo, RS. Os isolados foram identificados através de testes bioquímicos e da PCR do DNAr 16S. A susceptibilidade dos isolados foi avaliada por disco-difusão e a triagem fenotípica da produção de MBLs pelo teste de aproximação de discos. A confirmação fenotípica da produção de MBL foi realizada pelo Etest® M β L. A presença dos genes bla_{VIM}, bla_{IMP} e bla_{SPM} foi verificada através da PCR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Foram avaliados 198 isolados de *P. aeruginosa*. Destes, 116 isolados foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados e 73 mostraram susceptibilidade reduzida aos carbapenêmicos. 89 isolados apresentaram triagem de MBL positiva. O gene bla_{VIM} foi encontrado em 25 isolados. Os genes bla_{SPM} e bla_{IMP} não foram detectados. Há poucos estudos sobre a microbiota do esgoto hospitalar e sua transferência para o corpo hídrico que recebe o esgoto. A presença desses patógenos e de altos níveis de resistência em amostras de água superficial pode torná-las importantes sítios de contaminação humana e disseminação de genes de resistência.

CONCLUSÕES: Cepas de *P. aeruginosa* produtoras de MBLs estão sendo lançadas no ambiente aquático, provavelmente através do esgoto hospitalar não tratado, potencializando o risco de infecção humana por patógenos resistentes.

REFERÊNCIAS

WALSH, T.R. et al. Metallo-beta-Lactamases: the Quite Before the Storm. Clin Microbiol Rev., 18(2):306-325, 2005.

Apoio Financeiro: CAPES-PROF

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

PESQUISA E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS RESISTENTES A ALTAS CONCENTRAÇÕES DE AMÔNIA ISOLADAS DO TRATAMENTO BIOLÓGICO DO EFLUENTE DE REFINÁRIA DE PETRÓLEO

Angelis, D.F.^{1*}, Borges, A.K.P.², Santos, S.N.³, Beretta, A.L. Z.², Mariano, A.P.¹ & FURLAN, L. T.⁴

¹Departamento de Bioquímica e Microbiologia da UNESP/Rio Claro – Av. 24-A, 1515, B. Bela Vista, CEP 15.506-900 Rio Claro, SP;

²UFT – Universidade Federal do Tocantins – Rua 3, Qd 17, B. Jardim dos Ipês Caixa Postal 136, CEP 77500-000 Porto Nacional –TO;

³ Centro Universitário Hermínio Ometto UNIARARAS/Araras, SP;

⁴PETROBRAS, REPLAN - Refinaria de Paulínia, SP

*e-mail: dangelis@rc.unesp.br

Palavras-chave: Caracterização, Bactérias Heterotróficas, Efluente

INTRODUÇÃO: As bactérias exibem a maior amplitude de diversidade genética na Terra. Supõe-se que menos de 5% das bactérias existentes foram descritas e são conhecidas. Este trabalho objetivou a caracterização de bactérias resistentes a altas concentrações de amônia isoladas do tratamento biológico do efluente de refinaria de petróleo REPLAN, Paulínia, SP.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram realizadas coletas de amostras na entrada do efluente da estação de tratamento biológico, localizado na Latitude (S) 22° 44' 18" e Longitude (W) 47° 07' 17", REPLAN, Município de Paulínia, SP, de acordo com procedimento padrão. Nestas adicionou-se sulfato de amônia nas seguintes concentrações 50 mg.L⁻¹, 65 mg.L⁻¹, 110 mg.L⁻¹. Posteriormente analisou-se as bactérias heterotróficas (UFC/mL) pela técnica: "Pour Plate", segundo (APHA, 1998). Após a contagem as bactérias, foram isoladas utilizando meios seletivos e provas bioquímicas. As culturas isoladas foram classificadas de acordo com o Manual de Bacteriologia Determinativa de Bergey (HOLT et al, 1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Quanto à diversidade de bactérias que mais se desenvolveram enquadraram-se em 11 gêneros: *Deinobacter sp*, *Pseudomonas sp*, *Methylococcus sp*, *Ancylobacter sp*, *Alcaligenes sp*, *Azobacter sp*, *Planococcus sp*, *Enterococcus sp*, *Flavobacterium sp*, *Spirillum sp* e *Micrococcus sp* com distribuição homogênea em todas as amostras de concentração variável de amônia. Bactérias pertencentes a estes gêneros podem estar presentes em outros ambientes. Contudo, os gêneros *Methylococcus*, *Ancylobacter* e *Planococcus* mostraram-se específicas para o efluente.

CONCLUSÕES: Encontram-se no efluente da refinaria uma biota seletiva, especializada e adaptada a biodegradação. Houve maior diversidade e predominância de colônias brancas gomosas (*Ancylobacter sp*) quando o efluente foi mais tóxico. Na concentração de amônia de 65 mg.L⁻¹ a diversidade foi menor, com crescimento de colônias gomosas pigmentadas de amarelo (*Flavobacterium sp*, *Spirillum sp*, *Alcaligenes sp* e *Azobacter sp*). Outras pigmentações também foram observadas como colônias de coloração laranja (*Deinobacter sp* e *Planococcus sp*) âmbar (*Methylococcus sp*) e creme (*Enterococcus sp* e *Pseudomonas sp*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20. ed. Washington: American Public Health Association, AWWA, WPCF, 1998. 1569p.

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. Standard Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787p.

Apoio Financeiro: REPLAN/Paulínia, SP, FUNDUNESP & UFT.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

pH DE RESÍDUOS DA BIODEGRADAÇÃO DE ÓLEO LUBRIFICANTE AUTOMOTIVOLopes, P. R. M.^{1,*}, Bidoia, E. D.¹¹ Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Instituto de Biociências, Depto de Bioquímica e Microbiologia, Av. 24A, 1515, CEP 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil.

* panato@rc.unesp.br

Palavras-chave: pH, biodegradação, óleo lubrificante automotivo

INTRODUÇÃO: Os resíduos industriais constituem grande desafio para os pesquisadores preocupados com o futuro da humanidade. Devido às normas de conduta ambiental aceitas atualmente, a indústria passou a assumir uma postura mais evolutiva em relação ao manejo ambiental saudável. Isso resultou na implementação do conceito de desenvolvimento sustentável com a diminuição da geração de resíduos e a reciclagem dos mesmos como, por exemplo, o re-refino do óleo lubrificante usado. O presente trabalho mediu o valor do pH para os resíduos de frascos de Bartha após 105 dias de biodegradação de óleo lubrificante automotivo em meio aquoso.

MATERIAL E MÉTODOS: Os respirômetros de Bartha eram divididos em cinco ensaios: E0 (sem surfactante Tween 80[®]); E1 (ensaio controle com surfactante Tween 80[®]); E2 (óleo semi-sintético); E3 (óleo mineral) e E4 (óleo usado), os quais permaneceram em incubação por um período de 105 dias a 28°C. Posteriormente, os resíduos obtidos passaram por um medidor de pH *Digimed DMPH-2*, onde se observou em uma escala crescente os valores do pH na seguinte ordem: E1 (4,30) < E4 (5,34) < E2 (5,94) < E3 (6,02) < E0 (7,10).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O valor de pH de E0 igual a 7,10 pode ser explicado pela baixa taxa de biodegradação, ocorrida devido à reduzida quantidade de matéria orgânica presente no respirômetro. Os valores menores de E3 e E2, (6,02 e 5,94, respectivamente), revelaram que, quanto maior o nível de metabolismo microbiano encontrado, mais ácida será a solução. Tal acidez pode advir de ácidos alifáticos resultantes da biodegradação do efluente e da aeração ineficiente nos respirômetros, concentrando o CO₂ da respiração dos microrganismos na própria solução. Conseqüentemente, tem-se o E4 com pH igual a 5,34, em razão da maior biodegradabilidade do óleo usado, por apresentar cadeias moleculares menores em função de sua queima no motor do veículo. O valor de pH de E1 foi igual a 4,30. Primeiramente, sabe-se que este tratamento era constituído somente por inóculo aquoso, água destilada e o surfactante, assim tem-se que grande parte do CO₂ foi proveniente da biodegradação do surfactante, já que não existia qualquer hidrocarboneto em E1.

CONCLUSÕES: Portanto, a decomposição dos óleos lubrificantes e do surfactante pode originar alguns ácidos e, sendo este facilmente assimilável pelos microrganismos como fonte de carbono, a acidez aumentou mais rapidamente no ensaio portando o Tween 80[®] (E1).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:ATLAS, R. M. Biorremediation of petroleum pollutants. *International Biodeterioration and Biodegradation*. Edinburg, v.35, n.1, p.317-327. 1995.CETESB, Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. *Norma Técnica L6.350*. Solos – Determinação da Biodegradação de resíduos – Método respirométrico de Bartha. 15p. São Paulo. 1990.PAUL, E. A.; CLARK, F. E. *Soil Microbiology and Biochemistry*. 2ND ed. San Diego: Academic Press, 1996.**Apoio Financeiro:** PRH-ANP/FINEP/MCT-CTPETRO, PRH-05, Universidade Estadual Paulista - UNESP-Rio Claro/SP.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO

Lopes, R. A.^{1*}, Angelis, D. F.¹, & Contiero J.¹

¹Departamento de Bioquímica e Microbiologia – IB – Unesp - Rio Claro/SP.

1. Departamento de Bioquímica e Microbiologia - IB -Unesp - Campus de rio claro Av. 24A, 1515

* e - mail: ajalopes@ig.com.br

Palavras-chave: ácido lático, bactérias lácticas, fermentação.

INTRODUÇÃO: O ácido lático é produzido durante o metabolismo fermentativo de carboidratos por bactérias lácticas. Esse processo anaeróbio gera 2 moles de ácido lático partindo-se de 1 mol de glicose. Existem dois isômeros ópticos de ácido lático: L(+) – ácido lático e o D(-) – ácido lático que podem ser obtidos separadamente ou uma mistura racêmica (D e L) em diferentes proporções. As bactérias lácticas requerem nutrientes complexos para o seu ótimo crescimento, devido à habilidade limitada para sintetizar vitaminas, aminoácidos, sais minerais, ácidos graxos, entre outros. Considerando-se os custos dos nutrientes requeridos pelas bactérias lácticas, tornou-se necessário buscar fontes alternativas para compor o meio de cultivo visando obtenção de maiores teores de ácido lático.

MATERIAL E MÉTODOS: Neste estudo foram avaliados 3 meios de cultivo: CSN a base de caldo – de – cana (10 °Brix), Meio de Cuba (2% glicose) e Meio Padrão (4% de sacarose). Para cada meio utilizou-se 4 frascos sendo 1 deles o controle e os demais contendo as bactérias. Empregou-se duas linhagens *Lactobacillus delbrueckii* 103.10.2 e a BB (bactéria não identificada) submetidas a dois tipos de fermentação: estática (28 ± 2 °C) e agitada (150 rpm, temperatura de 29 ± 2 °C) por 72 h, enriquecidos ou não com extrato de tomate em diferentes concentrações (0,5%, 2%, 4%, 4% + 4% de extrato de levedura) e água de cozimento de milho verde. O ácido lático produzido foi quantificado enzimaticamente (Accutrend Lactate ®) e a acidez total por titulometria. Acompanhou-se o consumo de glicose pelo método de glicose oxidase.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Verificou-se que 32,77 g L⁻¹ de ácido lático foram obtidos em 72 h de fermentação (agitada) pela linhagem BB, no Meio Padrão com 4% de extrato de tomate sendo consumidos 10,80 g L⁻¹ de glicose. No tratamento com água de milho o valor máximo alcançado deste ácido em 72 h pela mesma bactéria foi de 15,45 g L⁻¹ em CSN 10. *L. delbrueckii* produziu 27,90 g L⁻¹ em Meio Padrão com 0,5% de extrato de tomate consumindo 7,8 g L⁻¹ de glicose (72 h).

CONCLUSÕES: A produção de ácido lático é maior com agitação e enriquecimento com as duas linhagens de bactérias estudadas; o tratamento com água de milho mostrou - se pouco eficiente, a produção de ácido lático foi maior com agitação e meio enriquecido com extrato de tomate.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

WEE, J.Y.; KIM, N.J. & RYU, W.H. Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. *Food Technol Biotechnol.*, **44**(2): 163-172, 2006.

NARAYANAN, N.; ROYCHOUDHURY, K.P. & SRIVASTAVA, A. L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization. *Electronic Journal of Biotechnology*, **7** (2): 167 – 179, 2004.

Apoio Financeiro: CAPES

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

PRODUÇÃO DE ASTAXANTINA POR *Mucor javanicus* A PARTIR DE MILHOCINABarbosa, A.B.^{1,2}; Lima, J. M. N.^{2,4}; Campos-Takaki, G.M.^{2,3*}; Alves da Silva, C.A.^{2,3}; Okada, K.^{2,4}

¹Aluna do Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais; ²Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais (NPCIAMB); ³Curso de Química em Meio Ambiente; ⁴Curso de Biologia. - Universidade Católica de Pernambuco, Rua do Príncipe, 526. Boa Vista. Recife-PE. CEP 50.050-900. E-mail: takaki@yahoo.com.br

Palavras-chave: Astaxantina, *Mucor javanicus*, Substrato de baixo custo.

INTRODUÇÃO: A astaxantina (3,3'- dihidroxi - 4, 4'- diceto - β - caroteno), é um antioxidante que pode ser obtido por via microbiológica, pela *Phaffia rhodozyma*, utilizando meios de produção convencionais. A milhocina é um subproduto do processamento do milho, sendo composta por 40% de sólidos totais, proteína, ácido lático, açúcares e íons metálicos, aminoácidos, vitaminas e outros compostos em pequenas quantidades (FONTANA *et al.*, 2000 e AKHTAR *et al.*, 1997). Vários estudos foram realizados adicionando a milhocina ao caldo de cana verificando que sua presença pode duplicar ou triplicar o teor de carotenóides totais (FONTANA *et al.*, 2000). Neste trabalho, foi estudada a influência da milhocina na composição do meio de produção da astaxantina.

MATERIAL E MÉTODOS: Microrganismo: *Mucor javanicus* (UCP – 69). Padronização do inóculo: 10⁷ esporos/mL. O pré-inóculo foi preparado utilizando 5 mL da suspensão do meio contendo 10% de milhocina, durante 24 h, à 25°C, 150 rpm. A produção de astaxantina foi realizada utilizando 10 mL do pré-inóculo em frascos, contendo 100 mL do meio de milhocina nas concentrações de 5, 7 e 10%, sendo mantidos a 120 rpm, 24°C. A influência do tempo também foi avaliada, as amostras foram crescidas durante 96 h, com retirada de pontos a cada 24 h, após 48 h de crescimento. O crescimento foi realizado com iluminação do tipo "Leds" (Light Emitting Diodes) de cor azul, adicionada ao shaker durante todo o processo fermentativo. Ao término do processo as culturas foram filtradas num filtro de nylon, sendo a massa celular lavada com água destilada e liofilizada. Para a extração dos carotenóides, o material liofilizado foi extraído em Hexano/metanol (1:1, v/v), centrifugado a 2000 rpm, 10 minutos. A fração contendo a astaxantina ficou retida no hexano, sendo a seguir analisada por espectroscopia UV- visível, 470 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Foram testadas 7 condições diferentes no cultivo da astaxantina utilizando diferentes concentrações do resíduo industrial milhocina. Os resultados comprovaram um aumento considerável na produção de astaxantina.

CONCLUSÕES: A utilização de um resíduo como a milhocina, que é considerado um subproduto da indústria de alimentos, na composição do meio de produção da astaxantina, demonstra ser uma fonte extremamente favorável para a produção desse carotenóide, por permitir um modo de produção mais econômico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AKHTAR, M.; LENTZ, M. J.; R. BLANCHETTE, A.; KIRK, T. K. Corn steep liquor lowers the amount of inoculum for biopulping. **TAPPI JOURNAL**. Vol. 80, nº. 6, p. 161-164, JUNE 1997.
FONTANA, J. D.; Mendes, S. V.; Persike, D. S.; Peracetta, L. F.; Passos, M. Carotenóides Cores Atraentes e Ação Biológica. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**. V. 13, p. 40-45, 2000.

Apoio Financeiro: PROMATA/FACEPE, FINEP, CNPq.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE POR PSEUDOMONAS FLUORESCENS UTILIZANDO PETRÓLEO COMO SUBSTRATO

Casullo Araújo, H.W.^{1,6}, Silva, T.A.L.^{2,5,6}, Jara, A. M. A. T.^{3,6}, Ceballos, B.S.O.⁴, Tambourgi⁵, E.B. Takaki, G.M.C.⁶

¹Doutorado RENORBIO. ²Mestrado em Engenharia química - UNICAMP, São Paulo, SP
³Mestrado MDPA –UNICAP. ⁴Departamento de Biologia, UEPB, Paraíba, PB. ⁵ Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. ⁶Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais, (NPCIAMB), Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP, Rua Nunes Machado, nº 42, Bloco J, térreo, Boa Vista, Recife, PE, Brasil, CEP: 50050-590.

*e-mail: takaki@unicap.br

Palavras-chave: *Pseudomonas fluorescens*, Biosurfactante, Tensão superficial.

INTRODUÇÃO: A poluição ambiental por derivados de petróleo é um problema de escala mundial. Crescendo assim o estímulo aos estudos de aplicação de microrganismos no tratamento destes resíduos de forma que não altere a qualidade de vida da população, que está intrinsecamente ligada à qualidade ambiental (VANCE-HARROP et al., 2003; URUM, et al., 2004). Os biosurfactantes constituem uma das principais classes de surfactantes naturais produzidos por microrganismos. Os surfactantes alteram o comportamento interfacial, possibilitando a redução na tensão superficial e interfacial e a formação de microemulsões onde os hidrocarbonetos possam se solubilizar em água ou vice-versa (VAN HAMME et al., 2006). O presente trabalho teve por objetivo produzir agentes surfactantes microbianos utilizando o petróleo como substrato, na alternativa da produção de polímeros coadjuvantes dos processos de redução da poluição ambiental.

MATERIAL E MÉTODOS: A bactéria *Pseudomonas fluorescens* foi mantida em meio Luria Bertani (LB). O substrato utilizado foi proveniente do estado de Mossoró (RN). A cultura foi incubada em meio líquido LB sob agitação orbital de 150 rpm, a 37°C por 16 horas, para obtenção do pré-inóculo. As fermentações foram realizadas durante 60 horas de incubação, partindo de um inóculo inicial de 10⁷ UFC/ml. O crescimento foi monitorado por "pour plate" e o pH por potenciometria. A determinação da tensão superficial foi realizada utilizando um tensiômetro (KSV-Sigma 70) e procedeu-se com o estudo da eficiência do biosurfactante, nos períodos de 24h e 60h, nas concentrações de 4% e 8% dos substratos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A máxima produção de biomassa ocorreu após as 24 horas de crescimento. A redução da tensão superficial foi observada durante as 60 horas de cultivo, indicando excelentes propriedades superficiais do biosurfactante, na concentração de 4%, onde a tensão foi reduzida de 70mN/m para 30,04 mN/m.

CONCLUSÕES: Os resultados obtidos demonstraram a capacidade do microrganismo em se desenvolver e produzir agente surfactante eficiente, quando cultivado em presença de petróleo, demonstrado através da redução da tensão superficial, possibilitando estudos futuros para aplicação em processos de descontaminação ambiental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

URUM, K.; PEKDEMIR, T.; COPUR, M. Surfactants treatment of crude contaminated soils. **Journal of Colloid and Interface Science** vol. 276, p. 456-464. 2004.

VANCE-HARROP, M.H.; GUSMÃO, N.B; CAMPOS-TAKAKI, G.M. New bioemulsifiers produced by *Candida lipolytica* using d-glucose and babassu oil as carbon sources. **Brazilian Journal of Microbiology**, vol.34. p.120-123. 2003.

VAN HAMME, J.D.; SINGH, A.W.O.P. Surfactants in microbiology and biotechnology: part I. Physiological aspects, **Biotechnology Advances**, doi: 10.1016. 2006.

Apoio Financeiro: CNPq, FINEP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

PRODUÇÃO DE TNF- α EM CAMUNDONGOS GENETICAMENTE SELECIONADOS PARA BOA (HIGH) E MÁ (LOW) RESPOSTA A ANTICORPOS, EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM A LEPTOSPIRA SOROVAR *pomona*.

Haanwinckel, M.C.S.^{1,2*}, Cavalheiro, J.S.,^{1,2} Oliveira, S.L.^{1,2}

¹Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem-Faculdade de Medicina

²Departamento de Micro-Imunologia- Instituto de Biociências

UNESP-Botucatu-SP -18618-970. Tel: (14) 3811-6058

email: crishane@ibb.unesp.br

Palavras-chave: Leptospira. Camundongos Biozzi. TNF- α .

INTRODUÇÃO: O presente estudo teve por objetivo avaliar a produção da citocina TNF- α em soros e homogenatos de células esplênicas, pulmonares e hepáticas em camundongos selecionados para a boa (High- I_{V-A}) e má (Low- I_{V-A}) resposta a anticorpos infectados com a *Leptospira sorovar pomona*.

MATERIAL E MÉTODOS: Linhagem tumoral de fibroblastos murinos denominada L929 que é sensível ao TNF- α , foi utilizada no ensaio biológico para detecção dessa citocina, sendo que a produção foi estimulada ou não "in vitro" pela adição de LPS. A presença de leptospira nos animais foi confirmada pela recuperação do agente em meio de cultivo de Fletcher através da técnica de diluições seriadas (Santa Rosa, 1970). Os experimentos foram realizados em triplicata e para comparação de médias de variâncias na produção TNF- α utilizou-se o teste T Student-Newman-Keuls de comparações múltiplas ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A produção média de TNF- α no soro foi de 7762 ± 2670 pg/ml e 10243 ± 3613 pg/ml, na linhagem High e Low respectivamente, diferenças inter-linhagens (High x Low) apenas no 21º dia com $L_{IV-A} > H_{IV-A}$. Em células esplênicas a média foi de 18524 ± 6511 pg/ml e 13950 ± 2.618 pg/ml para High e Low respectivamente, a linhagem H_{IV-A} produziu mais TNF- α que a linhagem L_{IV-A} no 4º e 35º dias, o mesmo observado em células do pulmão. Em células hepáticas a produção média de TNF- α foi de 22445 ± 4.893 pg/ml para High e 21758 ± 5.748 pg/ml para Low, sendo que diferenças interlinhagens foram observadas apenas no 35º dia ($H_{IV-A} > L_{IV-A}$). A leptospira esteve presente no fígado dos animais L_{IV-A} até o 21º dia pós-inoculação, enquanto que nos animais H_{IV-A} foram recuperadas leptospirosas até o 14º dia. No pulmão não foi isolado o agente infeccioso em nenhuma das linhagens. Esses resultados demonstram que o TNF- α foi coadjuvante na contenção do processo infeccioso em ambas linhagens sendo que a análise em células hepáticas na linhagem H_{IV-A} evidencia a importância dessa citocina na contenção do processo infeccioso, resultados concordantes com Marinho et al (2003).

CONCLUSÕES: As linhagens da seleção IV-A foram eficientes em controlar o processo infeccioso, entretanto, na linhagem H_{IV-A} este controle foi mais precoce. A produção de TNF- α parece ter sido coadjuvante no controle da infecção leptospirica em ambas linhagens.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

MARINHO M, LANGONI H, OLIVEIRA S L, CARREIRA R, PERRI S H V, LUVIZOTO M C. Resposta humoral, recuperação bacteriana e lesões histológicas em camundongos geneticamente selecionados para bons e maus respondedores de anticorpos e balb/c, frente à infecção por *Leptospira interrogans* sorovar icterohaemorrhagiae. **Pesq. Vet. Bras.**, 23: 5-12. 2003.

SANTA ROSA C A. Diagnóstico Laboratorial das Leptospiroses. **Rev. Microbiol.**, 1: 97-109. 1970.

Apoio Financeiro: CNPq- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

PROJETO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS UTILIZANDO O PROCESSO DE LODOS ATIVADOS POR BATELADA PARA UMA CIDADE DO PORTE DE CORUMBATAÍ - SP.

Zampin, Ivan Carlos¹; Lombardo, Magda Adelaide²; Oliveira, Fatima Bento de³

¹Doutorando Pós-Graduação em Geografia Unesp, Rio Claro-SP e Aluno de Especialização em Tratamento de Efluentes Industriais- Unicamp, Limeira-SP.

²Professora Doutora do Departamento de Planejamento – DEPLAN – Unesp – RC.

³Professora: Rede Estadual de Educação

Palavras Chave: Tratamento de Esgotos, Lodos Ativados, Batelada.

INTRODUÇÃO

A problemática dos lançamentos de esgotos em estado bruto, ou seja, em natura em córregos, rios, lagos, são debatidos pela sociedade de forma muito agressiva em dias atuais, pois é visto que traz uma série de prejuízos em varias ordens a saber, ambientais, sanitários, saúde e econômicos. Seguindo esta análise é verificada a possibilidade de escolher dentre vários processos de tratamento de esgotos conhecidos, o de tratamento por lodos ativados por batelada, apresentando-se realmente como um processo muito interessante em vários aspectos pelos seguintes fatores: a área para a instalação pode ser menor que grande parte dos tratamentos convencionais; sua operação é considerada de fáceis tarefas, ou seja, grande flexibilidade; alta eficiência na remoção dos agentes poluidores e por ultimo, um fator de peso é a questão do custo beneficio.

MATERIAL E MÉTODOS.

O material para desenvolver a proposta do projeto, consiste na construção dos tanques e caixas que apresentará por si só as etapas de decantação primária, oxidação biológica e decantação secundária. Onde a questão principal está na operação de seqüências de tempo, ainda contando que os tanques, incorporam também a unidade de digestão do lodo.

O método consiste no enchimento, que é a entrada do esgoto bruto ou decantado, no reator, que passa para o estado de reação, que é composta pela mistura da massa líquida contida no reator e somado a aeração, em seguida apresenta-se a sedimentação e separação dos elementos sólidos em suspensão desse esgoto tratado, posteriormente tem-se o esvaziamento que é a saída do esgoto tratado do reator considerando para finalizar o repouso que se faz com o ajuste de ciclos e remoção do lodo excedente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Os resultados que são previstos na obtenção das análises químicas e físicas do efluente bruto X o tratado por meio deste processo mostra através de cálculos que recebendo 360 m³ / dia de vazão e que a cada 8 horas se completa um ciclo de operação, se tem finalmente uma vazão média de lodo descarregada nos leitos de secagem de 2,8 m³/ dia, atendendo desta forma a realidade em que o projeto foi proposto.

Conclusão.

Para a instalação de uma estação com estas características se tem que analisar alguns itens importantes nesta empreitada, principalmente a disponibilidade de áreas, a vazão, a necessidade de eficiência elevada na remoção de DBO e baixa emissão de odores, formando assim, diante destes aspectos apresentados e as relativas simplicidades do processo, a notoriedade, que este sistema de tratamento de lodos ativados por batelada é eficiente e terá um crescimento muito acentuado de sua utilização no Brasil.

Referências Bibliográficas.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS-ABNT. Projetos de Estações de Tratamento de Esgotos – NBR 570 – Rio de Janeiro - 1989.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS-ABNT. Elaboração de Projetos de Redes Coletoras de Esgotos – NBR – 9649 – Rio de Janeiro – 1986.

VON SPERLING, M. – Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – Volume IV – Lodos Ativados. Belo Horizonte: UFMG – 1997.

AZEVEDO NETTO, J.M.; HESPANHOL, I. – Sistemas de Esgotos Sanitários. São Paulo: CETESB, 1977.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

PROPRIEDADES DO BIOSURFACTANTE PRODUZIDO POR *Candida sphaerica* UCP 0995 CULTIVADA EM RESÍDUOS INDUSTRIAIS

Souza-Sobrinho, H.B.^{1,2}; Luna, J. M.^{2,3}; Rufino, R.D.^{2,4}; Farias, C.B.B.²;Gusmão, C.A.B.²;Salgueiro, A.A.^{2,5}; Sarubbo, L.A.^{2,5}

¹Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco; ²Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco; ³Doutorado em Ciências Biológicas, UFPE; ⁴Doutorado em Biologia de Fungos, UFPE; ⁵Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Católica de Pernambuco, Rua Nunes Machado, n. 42-Bloco J, térreo, Boa Vista, Recife-PE, CEP: 50050-590

Palavras-chave: biossurfactante, *Candida sphaerica*, tensão superficial, CMC

INTRODUÇÃO - Os surfactantes são poderosos agentes anfipáticos com aplicação em vários segmentos industriais, como as indústrias petrolíferas alimentícias, e farmacêuticas, entre outras (RON; ROSENBERG, 2002). Muitos tipos de surfactantes quimicamente sintetizados são hoje utilizados, embora o desenvolvimento de produtos alternativos, biodegradáveis e menos tóxicos, como os chamados biossurfactantes, agentes obtidos por bactérias, fungos e leveduras, são componentes mais compatíveis com o meio ambiente e aplicações desses compostos (MAKKAR; CAMEOTRA, 2002). Este trabalho teve como objetivo avaliar a tensão superficial e a CMC do biossurfactante de *Candida sphaerica* cultivada em substratos de baixo custo.

MATERIAL E MÉTODOS - A *Candida sphaerica* 0995 foi cultivada em água destilada suplementada com 5% do resíduo de refinaria de óleo vegetal de soja e 2,5% de milhocina como substratos durante 144 horas a 27°C a 150 rpm. A tensão superficial e a CMC foram medidas em tensiômetro automático, Modelo Sigma 70 (Filand) utilizando o anel de NUOY. A CMC foi determinada a partir solução de concentração de biossurfactante isolado, extraído do líquido livre de células com metanol (1:1, v/v).

RESULTADOS E DISCUSSÃO - A tensão superficial e a CMC do biossurfactante de *Candida sphaerica* foi avaliada a partir do isolamento do biossurfactante contido no líquido metabólico livre de células após 144h. A CMC foi de aproximadamente de 0,8% e a concentração micelar crítica foi de 0,841 mg/L. A tensão superficial nesse ponto foi de 28 mN/m, mostrando uma redução a partir de 71mN/m. Esse resultados demonstraram valores afetivos comparados a literatura para biossurfactantes produzidos por outras leveduras..

CONCLUSÕES - O biossurfactante produzido mostrou eficiência e efetividade, considerando a CMC reduzida e o baixo valor de tensão superficial atingido. Considerando a utilização de um meio de baixo custo e as propriedades tensoativas, o biopolímero apresenta potencial de aplicação biotecnológica no meio ambiente a na indústria petrolífera.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

RON, E.Z.; ROSENBERG, E. Biosurfactants and oil bioremediation, **Current Opinion in Biotechnology**, v.13, p. 249-252, 2002.
MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S. An update on the use of uncoventional substrates for biosurfactant production and their new applications. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, p. 428-434, 2002.

APOIO FINANCEIRO: UNICAP e FINEP.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

PURIFICAÇÃO PARCIAL DE PROTEASES DE DOIS ISOLADOS DE *Bacillus* sp

Vilela, D.C.M.¹, Dias, D.R.^{1,2*} & Schwan, R. F.¹

¹ Departamento de Biologia; ² Departamento de Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras, Campus Universitário, Lavras-MG, 37200-000.

* diasdr@unilavras.edu.br

Palavras-chave: *Bacillus*, protease alcalina, meios de cultivo.

INTRODUÇÃO: A tecnologia enzimática hoje é empregada em diversos setores. A busca por produtos biodegradáveis, que não agridam o meio ambiente, impulsionou o crescimento da aplicação de enzimas na indústria. Associadas à proteção do meio ambiente, outras características justificam o grande interesse pelo uso de enzimas, como a sua alta especificidade e seu processo de obtenção mais econômico. Objetivou-se com este trabalho avaliar a atividade de proteases alcalinas de dois isolados de *Bacillus* sp. em 3 meios de cultivo após a pré-purificação protéica.

MATERIAL E MÉTODOS: O experimento foi conduzido no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras. Após o cultivo de isolados de *B. subtilis* (ATCC 6633) e uma cepa selvagem (*Bacillus* spp.) nos seguintes tratamentos, em duplicata, CN (caldo nutriente), CN+0,01% de caseinato de sódio e CN+0,01% de soro de leite em pó, foi realizada nos extratos enzimáticos, recolhidos depois de 72 h de cultivo, a 28 °C e sob agitação, a pré-purificação protéica por saturação com sulfato de amônio na fração de 60%. Foi utilizada membrana de diálise capaz de reter moléculas com massa molecular superior a 20 KDa. A diálise ocorreu a 4 °C, utilizando solução tampão Tris-HCl 50mM, pH 9,0, durante 48 h, sendo o tampão renovado a cada 24 h. No precipitado obtido, foram avaliadas a atividade proteolítica e proteínas totais (Bradford) em cada tratamento. Além disso, foi realizada a eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE, a fim de se obter o perfil protéico de cada amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O isolado *Bacillus* spp. apresentou maior atividade proteolítica em todos os meios de cultivo testados ao ser comparado com o isolado ATCC 6633. Para ambos os isolados o meio de cultivo caldo nutriente foi o que propiciou maiores atividades proteolíticas, sendo 217,96 U/mg para *B. spp* e 49,73 U/mg para ATCC 6633. A corrida eletroforética da amostra oriunda do *B. subtilis* ATCC apresentou diversas bandas de equivalência, entre elas valores próximos a 28 KDa, faixa na qual se encontram as proteases.

CONCLUSÕES: Nas condições testadas o isolado selvagem de *Bacillus* apresentou maior atividade de protease alcalina quando comparado à cepa padrão ATCC 6633. Não houve diferenças significativas entre os meios adicionados de caseinato e soro de leite, podendo ser este uma via alternativa para utilização deste efluente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ÇALIK, P., BILIR, E., ÇALIK, G. & OZDAMAR, T.H. Influence of pH conditions on metabolic regulations in serine alkaline protease production by *Bacillus licheniformis*. **Enz. Microbial Technol.**, 31 (5): 685-697, 2002.

KUMAR, C. C.; Purification and characterization of a thermostable alkaline protease from alkalophilic *Bacillus pumilus*. **Appl. Microbiol.**, 34: 13-17, 2002.

Apoio Financeiro:

CNPQ

Pro lacteos (Contagem, MG)

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

REAPROVEITAMENTO DO SORO DE LEITE NA PRODUÇÃO DE BACITRACINA POR *Bacillus licheniformis*

Rocha da Silva, J.R.¹ Oliveira, R.A.V.², Campos Takaki, G.M.^{3,4} & Alves da Silva, C.A.^{3,4*}

¹ Aluno do Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais, ² Aluno de Iniciação Científica do CNPq, ³ Curso de Química, Centro de Ciência e Tecnologia, 4 Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB) - Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), R. do Príncipe, 526, Boa Vista, Recife-PE, CEP: 50050-900, calves@unicap.br

Palavras-chave: Bacitracina, *Bacillus licheniformis*, soro de leite.

INTRODUÇÃO: O gênero *Bacillus* é atualmente considerado como um dos maiores produtores de substâncias antibióticas, apresentando diversas espécies encontradas na natureza, e algumas como participantes da biota intestinal humana e animal (CHANTAWANNAKUL, *et al.*, 2002) A Bacitracina é um antibiótico produzido por *Bacillus subtilis* ou *Bacillus licheniformis*, sendo quimicamente constituído por um grupo de vários polipeptídeos. Caracteriza-se por possuir efeito sobre bactérias Gram-positivas, e seu mecanismo de ação consiste na interferência da biossíntese da parede celular bacteriana (FENG, *et al.*, 2001). O soro é um subproduto da fabricação do queijo, caseína e outros produtos de leite acidificado. Estudos comprovam que aproximadamente 75% a 85% do volume do leite destinado ao processamento de queijos geram o soro, com uma elevada demanda de O₂, cujos valores oscilam entre 30 a 60 g de O₂/litro (SILVA AND BOLINI, 2006).

MATERIAL E MÉTODOS: Foi utilizada uma cultura de *Bacillus licheniformis* (UCP 1036), utilizando o meio descrito por HENDLIN (1949), como meio padrão L-Ácido glutâmico 10g; K₂HPO₄ 1g; KH₂PO₄ 0,5g; MgSO₄ – 7H₂O 0,2g; MnSO₄ – 7H₂O 0,01g; FeSO₄ – 7H₂O 0,01g; Água destilada 1000ml. O ácido glutâmico foi substituindo pelo soro de leite nas concentrações de 5 e 10 %. A produção foi realizada em shaker orbital a 150 rpm, 28 °C, durante 96 horas, com acompanhamento diário. Durante os ensaios foi verificado o crescimento celular, a variação do pH e a produção do antibiótico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Verifica-se que a produção do antibiótico ocorreu no período após 40 horas de crescimento celular, quando o microrganismo começou a produzir a bacitracina, tanto no meio padrão, como nos meios contendo o soro de leite. Não houve uma variação significativa nos valores de pH apresentados pelo meio contendo ácido glutâmico e soro de leite (5 e 10%), que tiveram valores iniciais de 7,0 e terminaram o processo com valores alcalinos, em torno de 9,0. Esses resultados demonstram que possivelmente existe uma relação entre um meio alcalino e a produção da bacitracina.

CONCLUSÕES: Estudos envolvendo utilização de resíduos, como o soro de leite, para produção de bioprodutos têm sido bastante promissores, indicando assim uma nova alternativa econômica e ambiental para esses rejeitos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CHANTAWANNAKUL, P., ONCHAROEN, A., KLANBUT, K., CHUKEATIROTE, E.; LUMYONG, S. – Characterization of Proteases of *Bacillus subtilis* strain 38 isolated from Traditionally Fermented Soybean in Northern Thailand, *ScienceAsia*, v 28, 241-245, 2002.

FENG, Y. Y., YANG, W. B., ONG, S. L., HU, J. Y.; NG, W. J. – Fermentation of Starch for Enhanced Alkaline Protease Production by Constructing an Alkalophilic *Bacillus pumilus* Strain, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v 57, 153-160, 2001.

SILVA, K. and BOLINI, H.M.A. – Avaliação Sensorial de Sorvete Formulado com Produto de Soro Ácido de Leite Bovino, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26(1), 116-122, 2006.

APOIO FINANCEIRO: CNPq/ FINEP/ UNICAP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

REDES NEURAIS ARTIFICIAIS APLICADAS AO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOSSURFACTANTE POR *Candida lipolytica*

Albuquerque, C.D.C.^{1,3} *, Fileti, A.M.F.², Campos-Takaki, G.M.³

¹ Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais/DEI/UNICAP, Recife, PE, Brasil.

² Faculdade de Engenharia Química/LACAP/UNICAMP, Campinas, SP, Brasil.

³ Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais/DQMA/UNICAP, Recife, PE, Brasil.

Rua Nunes Machado, 42 Boa Vista 50050-590 Recife PE,

*e-mail:cdaisy@unicap.br

Palavras-chave: *softsensor*, redes neurais artificiais, bioemulsificante, *Candida lipolytica*

INTRODUÇÃO: As dificuldades no monitoramento *on-line* da concentração de biomassa e da atividade de emulsificação complicam o controle em tempo real do processo de produção de biossurfactante por *Candida lipolytica* UCP 988. Este trabalho trata do desenvolvimento de *softsensors* baseados em redes neurais para estimação e predição *on line* da concentração da biomassa e da atividade de emulsificação do biossurfactante produzido por *Candida lipolytica* UCP 988.

MATERIAL E MÉTODOS: No treinamento das redes neurais empregou-se o algoritmo de retropropagação baseado em Levenberg-Marquardt, em conjunção com regularização bayesiana. Os conjuntos de treinamento e teste foram compostos por dados experimentais, suavizados e expandidos por interpolação, visando aumentar o potencial de ajuste dos modelos neurais desenvolvidos. Várias topologias com uma camada oculta foram testadas, usando como entradas pH, temperatura, taxa de agitação, oxigênio dissolvido, densidade ótica e valores passados da concentração da biomassa e da atividade de emulsificação, entres outras variáveis. A raiz do erro quadrado médio (RMSE) e o coeficiente de determinação global (R_g^2) foram usados para comparar os desempenhos dos modelos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os resultados obtidos mostram que os *softsensors* projetados fornecem estimações e predições *on-line* da concentração de biomassa e da atividade de emulsificação dentro de um intervalo de $\pm 5\%$ dos valores experimentais. Coeficientes de determinação superiores a 0.90 foram obtidos para concentração de biomassa e atividade de emulsificação, evidenciando a qualidade do ajuste dos valores estimados e preditos pelos *softsensors* neurais com os dados experimentais dos conjuntos de treinamento e teste.

CONCLUSÕES: Os protótipos de *softsensors* baseados em redes neurais artificiais apresentaram bom desempenho na estimação e previsão em tempo real de biomassa e de atividade de emulsificação no processo de produção de bioemulsificante por *Candida lipolytica*. Os desempenhos dos *softsensors* dependem tanto da qualidade e quantidade dos dados experimentais quanto do algoritmo de estimação associado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALBUQUERQUE, C.D.C; FILETI, AM.F.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Neural Network Based Software Sensors: Application to Biosurfactant Production by *Candida lipolytica*. In: Antonio Mendez-Vilas (ed.) **Modern Multidisciplinary Applied Microbiology: Exploiting Microbes and Their Interactions**, Weinheim: Wiley-VCH, jul. 2006. p.628-632.

LINKO, S.; LUOPA, J.; ZHU, Y.-H. Neural network as software sensors in enzyme production. **J. Biotechnol.**, **52**:257-266, 1997.

Apoio Financeiro: UNICAP, UNICAMP, FINEP/CT-PETRO, CNPq e CNPq /CT-PETRO.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

REMOÇÃO NATURAL DE COLIFORMES TOTAIS E *Escherichia coli* EM UM SISTEMA ALTERNATIVO EMPREGADO NO TRATAMENTO DE ESGOTOS

BAGNASCO, L. E.¹, BARBOSA, M.¹, CORAUCCI FILHO, B.¹, MELLO, L. S. C. M. de¹,
NAKAMURA, M. S.¹, SENNA, P. R. C. B.¹ & TONETTI, A. L.^{1*}

¹FEC – UNICAMP

Avenida Albert Einstein, 951, Cidade Universitária “Zeferino Vaz”,
Barão Geraldo, Campinas, SP, 13083-852.

* altonetti@yahoo.com.br

Palavras-chave: Filtro Anaeróbio; Filtro de areia; Remoção de coliformes.

INTRODUÇÃO: O IBGE (2000) constatou que 84% dos municípios brasileiros lançam os esgotos diretamente nos rios e 58% não possuem qualquer tipo de rede coletora. Esse quadro contribui para prejudicar a saúde pública da população envolvida e degradar o ambiente. Visando minimizar esse problema de forma eficiente e com baixo custo, a UNICAMP tem desenvolvido uma série de pesquisas que buscam a elaboração de métodos que tratem os esgotos de forma alternativa e eficiente.

MATERIAL E MÉTODOS: Construiu-se um filtro anaeróbio com recheio de bambu e o associou a um filtro de areia, tendo-se em vista a avaliação da remoção natural de coliformes totais e *Escherichia coli* no efluente final desse sistema. Todas as análises seguiram os procedimentos sugeridos pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (AWWA, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: O esgoto bruto e o efluente dos filtros anaeróbios apresentaram resultados muito próximos para as concentrações de coliformes totais e *E. coli*, demonstrando que os filtros anaeróbios empregados não foram eficazes em diminuir a concentração desses microrganismos a níveis inferiores aos exigidos pela legislação brasileira, a CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005), necessitando de um sistema de pós-tratamento. O reator empregado como pós-tratamento foi o filtro de areia, o qual sofreu uma aplicação diária de 50 L.m⁻² do efluente do filtro anaeróbio. O efluente final apresentou resultados muito satisfatórios, estando adequados à legislação do Rio Grande do Sul, único Estado que impõe limites para a emissão de efluente quanto a coliformes fecais (RIO GRANDE DO SUL, 1989); o máximo permitido por essa legislação estadual é de 3x10³ NMP.100 mL⁻¹.

CONCLUSÕES: Conclui-se que a associação do filtro anaeróbio e do filtro de areia é suficiente para a remoção dos coliformes totais e *E. coli* presentes no esgoto bruto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AWWA – APHS. *Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater*. 20a. ed., New York, 1998.

BRASIL, MMA. **Resolução CONAMA Nº. 357/2005**. Brasília, 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 12 mar 2007.

IBGE. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico. 2000. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 11 mar 2007.

RIO GRANDE DO SUL, SSMA. **PORTARIA 05/89**. 1989.

Apoio Financeiro: FAPESP; CNPq.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

***Rhizopus arrhizus*: COMPORTAMENTO FRENTE A SUBSTRATOS PARA OXIDORREDUTASES**

Marinho, P.H.C.^{1,3*}, Souza, P.M.^{2,3}, Nascimento, A.E.³ & Campos-Takaki, G.M.³

¹Doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Rua Nelson Chaves s/n, Cidade Universitária, Recife - PE; ²Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco; ³Universidade Católica de Pernambuco, Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais. Rua Nunes Machado, 42, Boa Vista - Recife, PE
*petruskhomero@bol.com.br

Palavras-chave: Biorremediação, Oxidorredutases, *Rhizopus arrhizus*

INTRODUÇÃO: Com o avanço da ciência diversos compostos têm sido sintetizados industrialmente; conseqüentemente novos resíduos são introduzidos no ambiente. Nos ecossistemas, a biodegradação de compostos xenobióticos, por populações naturais de microrganismos, representa um dos mecanismos primários pelos quais os compostos poluentes são eliminados do ambiente. A degradação desses compostos tem uma estreita relação com a atividade de oxidorredutases (Pointing, 2001). Dessa forma, a identificação da atividade desse grupo de enzimas, em microrganismos, é essencial para a degradação de compostos xenobióticos. O presente trabalho avaliou a habilidade de crescimento de *Rhizopus arrhizus*, fungo filamentoso utilizado como modelo para vários fenômenos biológicos.

MATERIAL E MÉTODOS: O isolado de *Rhizopus arrhizus* foi cultivado em meios de cultura, contendo diferentes substratos para oxidorredutases: Vermelho Remazol, Preto Remazol, Amarelo Remazol, ABTS, Ácido Tânico e Ácido Gálico foram utilizados para os testes. O crescimento do fungo foi estimado através do diâmetro da colônia, à temperatura de 28°C, durante 5 dias. As amostras foram coletadas a cada 24 horas. Os ensaios foram realizados em triplicata, onde os resultados corresponderam à média aritmética das triplicatas. O controle foi obtido com a estimativa de crescimento em meio Batata Dextrose Agar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os resultados obtidos para o crescimento radial das colônias de *Rhizopus arrhizus*, nas condições testadas, permitiram verificar expansão das colônias durante as primeiras 48h, em todos os meios de cultura. Em relação ao diâmetro da colônia do isolado, foi observado um crescimento entre 4,3 e 7,8 cm, durante os intervalos de 24 e 48h respectivamente, nos meios contendo Vermelho, Preto, Amarelo Remazol e ABTS. Por outro lado, o crescimento em presença de Ácido Gálico e Ácido Tânico foi menor quando comparado com os outros meios, entre 2,8 e 7,6 cm, nos intervalos de 24 e 48 h, respectivamente. Adicionalmente, o crescimento do isolado nos Amarelo Remazol, Preto Remazol e Vermelho Remazol induziu alteração de cor dos meios, e a reação de Bavendamm foi observada em Ácido Gálico. A literatura revela que a adaptação de um microrganismo a um novo substrato pode ocorrer por inúmeros mecanismos (Tuomela *et al.*, 2000). Dessa forma, os resultados obtidos revelam que o isolado testado exibe habilidades que podem ser exploradas para a expressão de enzimas degradativas de compostos recalcitrantes para biorremediação.

CONCLUSÕES: O isolado de *Rhizopus arrhizus* demonstrou potencial para ser introduzido em processos de biorremediação, reforçando a idéia de que algumas espécies constituem mecanismos de resistência ao composto alvo e a condições ambientais adversas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

POINTING, S.B. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.57, p.20-33, 2001.

Apoio Financeiro: UNICAP, CAPES, CNPq e FINEP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**SCREENING DE FUNGOS FILAMENTOSOS, DEGRADADORES DE
HIDROCARBONETOS COMPLEXOS**

Satow, M.M.^{1*}, Attili-Angelis, D.¹, Angelis, D.F.^{1*}

¹Av. 24-A, 1515, B. Vista-IB-Unesp-RC, * marcela.satow@gmail.com

Palavras-chave: fungos filamentosos; naftaleno; fenol.

INTRODUÇÃO: Acidentes com hidrocarbonetos derivados do petróleo têm causado muitos prejuízos ao meio ambiente. A técnica de biorremediação objetiva a recuperação da área contaminada empregando microrganismos. Os fungos filamentosos e seus metabólitos têm sido utilizados em escala crescente graças ao seu alto potencial biodegradativo. Para tanto, o isolamento de microrganismos e a identificação destes são etapas essenciais. O objetivo deste trabalho foi isolar e identificar linhagens de fungos filamentosos degradadores de fenol e naftaleno provenientes do solo de landfarming da Refinaria de Petróleo de Paulínia.

MATERIAL E MÉTODOS: Amostras de solo de landfarming foram incubadas em solução de enriquecimento durante uma semana. Uma alíquota da suspensão de solo foi então plaqueada em meio mineral sólido e incubada em câmaras plásticas sob atmosfera de fenol ou naftaleno à temperatura ambiente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Dezesete cepas fúngicas foram isoladas e identificadas, representantes dos gêneros *Trichoderma* (*T. harzianum* e *T. pseudokoningii*), *Penicillium* (*P. purpurogenum*) e *Fusarium* (*F. oxysporum*). Os testes de Guaiacum e Bavendamm utilizados para observar a produção de oxidases das culturas revelaram que três cepas do gênero *Trichoderma* e quatro de *Penicillium* destacaram-se na formação do halo no meio de ácido gálico, enquanto as culturas de *Fusarium* mostraram uma reação positiva mais rápida no teste de Guaiacum. Os fungos isolados pertencem ao grupo dos Hyphomycetes, representantes de reprodução assexuada, com capacidade para uma grande produção de esporos. As espécies encontradas têm destaque para aplicação em biotecnologia pelas suas habilidades em se adaptar a substratos poluídos e biodegradar hidrocarbonetos aromáticos mediante numerosas vias metabólicas.

CONCLUSÕES: O método utilizado resultou no isolamento de poucos gêneros e espécies, porém com relatos de produção de enzimas. Isto indica a eficiência e a seletividade do método. As culturas isoladas são potencialmente interessantes para estudos futuros que visem sua utilização na degradação de hidrocarbonetos complexos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CONCEIÇÃO, D.M.; ATTILI-ANGELIS, D.; BIDOIA, E.D., ANGELIS, D.F. Fungos filamentosos isolados do rio Atibaia, SP, e da refinaria de petróleo biodegradadores de compostos fenólicos. *Arq. Inst. Biol. (Online)*, v.71, p.99 - 106, 2004.

PRENAFETA-BOLDÚ, F.X. Growth of fungi on volatile aromatic hydrocarbons: Environmental perspectives. 2002.

VICENTE, V. A., ATTILI-ANGELIS, D., QUEIROZ-TELLES FILHO, F. *et al.* Isolamento de fungos herpotriqueláceos do ambiente. *Braz. J. Microbiol.*, jan./mar. 2001, vol.32, no.1, p.47-51.

Apoio Financeiro: FUNDUNESP; REPLAN

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

SELEÇÃO DE MICROORGANISMOS COM PROPRIEDADES INIBITORIAS

CONTRA *Lactobacillus fermentum*

Andreotti, D.Z*¹; Taraboulsi-Júnior, F.A¹; Madeira-Junior, J.¹; Silva, A.R.¹; Oliva-Neto, P.¹

¹Laboratório de Microbiologia, UNESP – Assis - SP.

Av. Dom Antônio, 2100, CEP 19806-300

Email: dzandreotti@gmail.com

Palavras-chave: *Lactobacillus fermentum*, antibióticos, microorganismos

INTRODUÇÃO: A contaminação bacteriana por *Lactobacillus fermentum* é freqüente na produção de etanol, causando queda no rendimento. Portanto, é necessária a produção de um antibiótico eficiente contra esse contaminante.

MATERIAL E MÉTODOS: Para a produção de extrato, inoculou-se os microorganismos, dentre eles fungos bactérias e leveduras, em meio líquido em meio líquido a 150 rpm e 28°C. Os extratos foram filtrados, centrifugados, passados em membranas "Millipore" ou autoclavados após 72, 96 e 120h de crescimento. Para o teste de inibição, colocou-se em frascos MRS concentrado, o extrato e a bactéria. Mediu-se a curva de crescimento em espectrofotômetro a 600 nm, retirando-se alíquotas em determinados horários e mantendo-se os frascos a 90 rpm e 32°C (PIRT, 1975). Para a Concentração Mínima Inibitória (CMI) utilizou-se tubos com 4 mL de MRS, acrescentado da bactéria padronizada (JONES et al, 1981) e a solução de extrato concentrado por secagem a 50°C, sendo esse filtrado ou autoclavado. Concentrações decrescentes foram testadas até que o crescimento cessasse. (PREGNOLATTO et al, 1985). Para o teste de aflatoxina, impregnou-se tiras de papel Whatmann com silicato de sódio a 2% e secou-se a 100°C. Acrescentou-se a fração clorofórmica dos extratos concentrados nas tiras de papel. A isso adicionou-se uma solução de água-éter-cetona-metanol até 12 cm da base do papel. Secou-se e revelou-se na luz UV.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os extratos que apresentaram inibição significativa em 8 horas ($p < 0,05$) foram: MA 18-1C (55%), MA 15-2 (66,00%), MA 05-1 (68,86%), MA 08-1B (69,78%), MA 10-1C (77%), MA 14-1 (63%), MA 19-2B (59,85%). No teste de CMI nenhum microorganismo apresentou inibição total do crescimento. Foi identificada aflatoxina em todas as linhagens.

CONCLUSÕES: Os testes revelaram apenas antibióticos que promovem entre 50 e 80% de inibição. Não foi possível inibir totalmente a bactéria com os testes de CMI, pela possível degradação do agente inibitório pelo método de secagem. No caso da presença de aflatoxina é necessário quantificá-la e estabelecer a relação da mesma com a inibição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

JONES, R. P.; PAMMENT, N.; GREENFIELD, P. F. Alcohol fermentation by yeasts the effect of environmental and other variables. **Process Biochemistry**, v.16, p. 42-49, 1981.

PREGNOLATTO W, PREGNOLATTO N.P, **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, Métodos Químicos e Físicos para análise de alimentos**, São Paulo:IAL, vol 1, 3ª edição, 1985.

PIRT, S. J. Principle of microbe and cell cultivation, **Blackwell Scientific Publications.**, London, 1975, p. 4-5.

Apoio Financeiro: FAPESP.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

Solubilização de níquel e cobre mediante lixiviação bacteriana de rejeitos mineiros em frascos agitados

*Muñoz N.A., Bevilaqua D., Garcia O. Jr.

Departamento de Bioquímica e Tecnologia Química, Instituto de Química, UNESP, Araraquara, SP

*(alexamb@iq.unesp.br)

Palavras-chave: biolixiviação, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, níquel, sulfetos.

INTRODUÇÃO: Resíduos e rejeitos de explorações mineiras podem se converter em fontes secundárias para recuperação de metais valiosos. Neste trabalho se avaliou o crescimento da cepa de *Acidithiobacillus ferroxidans*-LR sobre dois tipos de rejeito de concentrado de níquel (rejeito do forno "flash" e rejeito do processo de flotação). Também foi avaliado o efeito na solubilização de níquel e cobre mediante experimentos em frascos agitados (*batch*).

MATERIAL E MÉTODOS: Cultivos bacterianos com e sem ferro ferroso como fonte de energia externa e os rejeitos minerais foram controlados durante todo o processo mediante alguns parâmetros físico-químicos como pH, Eh, concentração de Ni e Cu total em solução. Simultaneamente, realizaram-se lixiviações químicas convencionais com ácido sulfúrico para comparar o efeito produzido sobre os resíduos em duas condições de pH (0,5 e 1,0).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os sistemas de lixiviação apresentaram um aumento no pH em todas as condições testadas enquanto que o Eh apresentou um aumento significativo nos ensaios contendo rejeito de flotação e a bactéria, devido à presença de sulfetos metálicos que podem ser oxidados pelas bactérias. A solubilização dos metais de interesse foi influenciada por estes dois parâmetros.

CONCLUSÕES: Os resultados obtidos mostram que a lixiviação microbiana apresentou melhores porcentagens de solubilização dos metais nos sistemas contendo o rejeito de flotação, enquanto que a lixiviação ácida foi melhor nos sistemas com o rejeito do forno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

GIAVENO A. & DONATI E. Bioleaching of heazlewoodite by *Thiobacillus* spp. **Process Biochem** **36**: 955-962, 2001.

BOJINOVA D. & VELKOVA R.G. Bioleaching of Metals from Mineral Waste Product. **Acta Biotechnol** **21**:275-282, 2001.

BEVILAQUA D., LEITE A. L. L. C., GARCIA JR O., TUOVINEN O.H. Oxidation of chalcopyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks. **Process Biochem** **38**: 587-592. 2002.

YANTING XIE, YANBIN XU, LAN YAN, RUDONG YANG. Recovery of nickel, copper and cobalt from low-grade Ni-Cu sulfide tailings. **Hydrometallurgy** **80**:54- 58, 2005.

Apoio Financeiro: VOTORANTIM METAIS

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

SURFACTANTE PRODUZIDO POR *CANDIDA SPHAERICA* COM HABILIDADE DE EMULSIFICAÇÃO E REDUÇÃO DA TENSÃO SUPERFICIAL

Luna, J.M.^{1,4}, Rufino, R.D.^{2,4}, Sarubbo, A. S. ^{3,4} & G.M.C. Takaki ^{3,4}

¹Doutoranda em Ciências Biológicas, UFPE, Recife, PE, Brasil. ²Doutoranda em Micologia, UFPE, ³Departamento de Química e Meio Ambiente, Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP); ⁴Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB), UNICAP, Rua Nunes Machado, n. 42, Bloco J, Boa Vista, CEP: 50 900-000, Recife-PE,
*Juliana_mouraluna@yahoo.com.br

Palavras-chave: *Candida sphaerica*, biossurfactante

INTRODUÇÃO: A produção mundial de surfactantes excede três milhões de toneladas por ano sendo a grande maioria dos surfactantes disponíveis sintetizados a partir de derivados de petróleo. Com o advento da biotecnologia e as novas legislações de controle ambiental têm incentivado a pesquisa por surfactantes naturais como alternativa aos produtos já existentes (NITSCHKE & PASTORE, 2002). Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo produzir e avaliar o potencial do biossurfactante de *Candida sphaerica* cultivada em meio de baixo custo.

MATERIAL E MÉTODOS: A *Candida sphaerica* UCP 995 foi cultivada em meio contendo 8% resíduo de refinaria e 9% de milho durante 144 horas de cultivo à 28°C e 150 rpm. A atividade de emulsificação foi realizada segundo Cooper e Goldenberg (1987). Vários substratos foram testados: óleo de milho, óleo de algodão e n-hexadecano. A tensão superficial foi medida de acordo com a metodologia descrita por Kuyukina e colaboradores (2001), em tensiômetro automático (Modelo Sigma 70, KSV Ltd. Finland) utilizando o anel de NUOY.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Testes de atividade de emulsificação revelaram a eficiência deste biossurfactante em emulsificar diferentes substratos. A determinação da tensão superficial no líquido metabólico livre de células contendo o biossurfactante foi capaz de reduzir a tensão superficial da água de 72mN/m para valores em torno de 24,70mN/m.

CONCLUSÕES: Os resultados obtidos demonstraram habilidade do microrganismo na produção de biomoléculas com propriedades redutoras da tensão superficial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Cooper, D.G. & Goldenberg, B.G. Surface active agents from two *Bacillus* species. Applied Environmental Microbiology; 53, 224-229, 1987.

Kuyukina, M.S.; Ivshina, I.B.; Philp, J.C.; Christofi, N.; Dunbar, S.A. & Ritchkova, MI. Recovery of *Rhodococcus* biosurfactants using methyl tertiary-butyl ether extraction. Journal of Microbiological Methods; 46, 109-120, 2001.

Nitschke, M. & Pastore, G. M. Biosurfactantes: propriedades e aplicações. Química Nova. 25, 772-776; 2002.

Apoio Financeiro: CNPq, FACEPE, FINEP e CAPES

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

**TÉCNICAS MOLECULARES PARA A CARACTERIZAÇÃO DE
SACCHAROMYCES CEREVISIAE ASSOCIADAS À PRODUÇÃO DE
CACHAÇA.**

Pereira, G.V.M¹; Bernadi, T.L²; Ramos, C.L²; Rachid, C.T.C.C²; Cardoso, P.G²; Schwan, R.F²;
¹Graduando em Engenharia de Alimentos, bolsista de iniciação científica CNPq, Universidade
Federal de Lavras ²Departamento de Biologia Universidade Federal de Lavras – MG.
gilbertovincius@gmail.com

Palavras-chave: PCR, PFGE, *Saccharomyces cerevisiae*.

Introdução: As leveduras, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*, são os microrganismos responsáveis pela conversão dos açúcares presentes no caldo de cana de açúcar em etanol e CO₂ durante o processo fermentativo para produção de cachaça. A identificação e caracterização de leveduras são de grande importância para os processos de fermentação, uma vez que, a qualidade das bebidas depende da composição, dinâmica e frequência dos microrganismos presentes. O objetivo deste trabalho foi utilizar as técnicas moleculares de PCR e PFGE na caracterização de leveduras isoladas de alambiques do Sul de Minas Gerais.

Material e métodos: Foram analisadas por PCR e PFGE 106 leveduras isoladas de 10 diferentes alambiques.

Resultados e discussão: Dos 106 isolados, 36 apresentou produto de amplificação por PCR utilizando o par de *primers* SCREC 114, que amplifica uma sequência de nucleotídeos presente somente no genoma de *S. cerevisiae*. A caracterização pela técnica de PFGE mostrou 9 diferentes perfis, onde 2 foram semelhantes ao marcador *S. cerevisiae*.

Conclusões: Foi verificado que as técnicas de PCR e PFGE mostraram-se eficientes na caracterização de leveduras *S. cerevisiae*, uma vez que, a maioria dos isolados considerados *S. cerevisiae* por PCR, teve perfil de cromossomos semelhante ao marcador, podendo ser utilizadas isoladas ou associadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Blanco, P.; Ramilo, A.; Cerdeira, M.; Orriolos, I. Genetic diversity of wine *Saccharomyces cerevisiae* strains in an experimental winery from Galicia (NW Spain). **Antonie van Leeuwenhoek**, v.89, p.351-357, 2005.

González, S.S.; Barrio, E.; Gafner, J.; Querol, A. Natural hybrids from *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bayanus* and *Saccharomyces kudriavzevii* in wine fermentations. **FEMS Yeast research**, v.6, p.1221-1234, 2006.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPEMIG.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

TRIAGEM DA PRODUÇÃO DE METALO- β -LACTAMASES EM *Acinetobacter* spp. ISOLADOS DE EFLUENTE HOSPITALAR DE PORTO ALEGRE - RS.

Einsfeld Ferreira, A.^{1*}, Rosa da Cunha, G.², Fuentesfria, D. B.¹ & Corção, G.³

¹Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente - UFRGS; ²Acadêmico de Farmácia -UFRGS; ³Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia, UFRGS, Rua Sarmiento Leite, 500, CEP 90050-170, Porto Alegre, RS
*einsfeld@gmail.com

Palavras-chave: Metallo- β -lactamases, *Acinetobacter* spp., efluente hospitalar.

INTRODUÇÃO: O gênero *Acinetobacter* tem emergido como um importante patógeno nosocomial que apresenta, não apenas resistência intrínseca a muitos antibióticos, como também uma grande habilidade de desenvolver novos mecanismos de resistência, como a produção de metalo- β -lactamases. Os hospitais, como ambientes altamente seletivos, podem estar contribuindo, através do efluente, para a disseminação de bactérias multi-resistentes e a transferência de genes de resistência, como das metalo- β -lactamases, para bactérias do ambiente. Por esta razão o objetivo deste trabalho foi de verificar a presença do gênero *Acinetobacter* em efluente hospitalar e determinar o perfil de resistência a antimicrobianos e a produção de metalo- β -lactamases.

MATERIAL E MÉTODOS: Amostras de efluente hospitalar foram coletadas em dois hospitais de Porto Alegre-RS e os isolados de *Acinetobacter* spp. foram identificados por provas bioquímicas e a confirmação do gênero foi realizada por amplificação do DNAr 16S. Com estes isolados foi determinado o perfil de sensibilidade a antimicrobianos, utilizando a técnica de disco-difusão com 11 antibióticos e a triagem para produção de metalo- β -lactamases, utilizando a técnica de aproximação de discos. Neste teste foram utilizados os antibióticos imipenem e ceftazidima e os substratos EDTA e 2-MPA como inibidores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Um total de 166 isolados de *Acinetobacter* spp. foram obtidos dos efluentes dos dois hospitais. Destes isolados 7% foram resistentes a imipenem e meropenem, sendo que todos os isolados foram encontrados em um hospital. Foram detectados 41% de isolados resistentes a 4 antibióticos ou mais, sendo que 20 isolados foram resistentes a 7 antibióticos e 4 resistentes a 9 antibióticos dos 11 testados, todos pertencentes ao mesmo hospital. Nenhum isolado apresentou resistência a polimixina B e 5% dos isolados foram sensíveis a todos os antibióticos testados. No teste de triagem para produção de metalo- β -lactamases foi encontrado 2% de isolados positivos para o teste utilizando imipenem com EDTA como inibidor e 16% de isolados positivos para o teste com ceftazidima e 2-MPA como inibidor.

CONCLUSÕES: Com base nos resultados obtidos podemos observar que isolados de gênero *Acinetobacter* estão presentes no efluente hospitalar e que alguns apresentam perfil de multi-resistência e são positivos para produção de metalo- β -lactamases. Estes isolados que estão sendo lançados em corpos d'água, podem causar a disseminação de genes de resistência entre as bactérias do ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

WALSH, TR *et al.* Metallo-beta-Lactamases: the Quite Before the Storm. Clin Microbiol Rev., 18:306-325, 2005.

Apoio Financeiro: CAPES-PROF

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

USO DE CEPAS SELECIONADAS DE *Saccharomyces cerevisiae* NA PRODUÇÃO DE CACHAÇA

CAMPOS, C.R., SCHWAN, R. F.
Departamento de Biologia – UFLA, 37.200-000 Lavras – MG.
rschwan@ufla.br, cassiamicro@bol.com.br

Palavras-chave: cachaça, cepa selecionada, *Saccharomyces cerevisiae*

INTRODUÇÃO: Diversas bebidas são produzidas através da inoculação de cultura 'starter', como vinho, cerveja, uísque, saquê e cachaça. A cachaça é a bebida mais consumida no país e a terceira mais consumida no mundo. A bebida é resultante da destilação do caldo de cana-de-açúcar fermentado e apresenta um conteúdo em etanol de 38% (v/v) e 48% (v/v) à 20 °C. A eficiência do processo de produção de cachaça pode ser melhorado, pelo uso de cepas selecionadas que possibilitam uma fermentação ativa durante toda a safra, com redução de microrganismos contaminantes e um maior rendimento em bebida. O incremento na qualidade da cachaça e o aumento na eficiência do processo produtivo serão alcançados através da seleção de uma ou mais cepas de leveduras, uma vez que a qualidade da bebida está relacionada à ecologia microbiana e sua população durante a fermentação, determinando o rendimento e a formação de compostos secundários em proporções relativas, Schwan et al., 2001; Vicente et al., 2006.

MATERIAL E MÉTODOS: Isolados de *Saccharomyces cerevisiae* da região do Sul de Lavras foram submetidos ao sistema de bateladas consecutivas sendo avaliado a população microbiana, e os componentes químicos da bebida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A cepa selecionada apresentou características inerentes a produção da bebida, dentro dos padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura e uma produção padronizada. Dados semelhantes foram encontrados em vinhos e uísques, por Hammes et al., 2005; Mercado et al., 2007. Atualmente 150 produtores nacionais utilizam esta cepa como cultura 'starter', verificando melhoria quanto aos níveis de acidez e álcoois superiores, como também uma diminuição do período de multiplicação (pé-de-cuba), uma padronização no processo de obtenção da bebida durante toda a safra e melhoria no rendimento.

CONCLUSÕES: Com a utilização de fermento selecionado, a etapa de obtenção do pé-de-cuba foi reduzida, originando uma bebida padronizada, com produção de metabólitos secundários de interesse em bebidas por agregar características de sabor/aroma dentro dos padrões do Ministério da Agricultura, conferindo uma bebida agradável ao paladar e sem deixar indícios de caráter desagradável como a ressaca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- HAMMES, W. P., BRANDT, M. J., FRANCIS, K. L., ROSENHEIM, J., SEITTER, M. F. H., VOGELMANN, S. A. Microbial ecology of cereal fermentations. **Food Science & Technology**, vol. 16, p. 4-11, 2005.
- MERCADO, L., DALCERO, A., MASUELLI, R., COMBINA, M. Diversity of *Saccharomyces* strains on grapes and winery surfaces: Analysis of their contribution to fermentative flora of Malbec wine from Mendoza (Argentina) during two consecutive years. **Food Microbiology**, vol. 24, p. 403-412, 2007.
- SCHWAN, R. F., MENDONÇA, A., SILVA, J. J., RODRIGUES, V. WHEALS, A. E. Microbiology and physiology of cachaça (aguardente) fermentations. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 1, p. 1-8, 2001.
- VICENTE, M. A., FIETTO, L. G., CASTRO, I. M., SANTOS, A. N. G., COUTRIM, M. X., BRANDÃO, R. L. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains producing higher levels of flavoring compounds for production of "cachaça" the Brazilian sugarcane spirit. **International Journal of Food Microbiology**. vol. 108, p. 51-59, 2006.

Apoio Financeiro: FAPEMIG, CAPES, CNPq.

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

USO DE POLIQUILGERM® NO CONTROLE DE *Lactobacillus fermentum*, CONTAMINANTE DA FERMENTAÇÃO ETANÓLICABertoletti, A.C.D.^{1*}, Angelis, D.F.¹, Santos, A. M.¹, Chierice, G.O.², Claro Neto, S.².¹Unesp, Depto. de Bioquímica e Microbiologia - IB, Av. 24-A, 1515 - Bela Vista - 13506-900 Rio Claro/SP. ²USP, Instituto de Química, Av. Trab. São-carlense, 400 - 13560-970 São Carlos/SP.

*E-mail: aribertoletti@yahoo.com.br

Palavras-chave: Poliquilgerm®, Fermentação, *Lactobacillus fermentum*

INTRODUÇÃO: O óleo extraído das sementes de *Ricinus communis* L. (mamona) é um triglicerídeo rico em ácidos graxos, com a presença dominante do ácido ricinoléico, 89,5%. Este ácido graxo confere ao óleo de mamona características peculiares. Mediante processos de transesterificação do óleo foi desenvolvido o Poliquilgerm® (POL), produto que segundo estudos apresenta ação antimicrobiana. Como verificado em casos: no campo odontológico; *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Outras pesquisas estão sendo desenvolvidas para comprovar a ação germicida do POL. Desta forma este trabalho teve como objetivo testar "in vitro" o POL no controle de *L. fermentum*, uma das bactérias predominantes nas contaminações de dornas de fermentação e sobre *S. cerevisiae*, buscando assim minimizar as perdas na produção de álcool, visto que a contaminação é um problema frequente das indústrias sucro-alcooleiras.

MATERIAL E MÉTODOS: Utilizaram-se culturas puras e mistas de *S. cerevisiae* e *L. fermentum*. As culturas foram ativadas por inoculação duas vezes consecutivas com intervalos de 24 horas, em meio de caldo de cana clarificado a 10°Brix enriquecido com 0,5% de peptona e 0,5% de extrato de levedura (CSN). O POL foi aplicado nas concentrações: 0; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0 e 2%. Analisou-se o efeito do POL mediante dosagem de ácido láctico, em lactímetro, após 24hs de tempo de contato. Verificou-se ainda a viabilidade da levedura através de teste de fermentação com tubos de Dühran. O experimento totalizou 4 repetições em triplicata de cada tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os resultados dos tratamentos com as diferentes concentrações de POL e do controle foram comparados verificando-se significativa diminuição de ácido láctico na cultura de *L. fermentum* e de *L. fermentum* mais *S. cerevisiae*. A inibição foi em média cerca de 90% de produção de ácido láctico na concentração de 2%, indicando ainda diminuição na população da bactéria. A levedura durante a fermentação manteve a viabilidade.

CONCLUSÕES: Analisando os dados, concluiu-se que o POL apresenta ação biocida sobre *L. fermentum*. Pois, a diminuição na produção de ácido láctico atingiu cerca de 90%, podendo ser efetivo no controle deste contaminante nas dornas de fermentação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: -BERTOLETTI, A.C.D.; CHIERICE, G. O. ; SANTOS, A. M. ; ANGELIS, D. F. ; CLARO-NETO, S. Viabilidade de *Candida albicans* CCT 0776 in vitro sob atividade antimicrobiana do poliquilgerm derivado do óleo de *Ricinus communis* L. (mamona). In: Encontro de Biólogos do CRBio-1, 15, 2004, São Pedro, **Anais...** p. 142, 20.

-CHIERICE, G.O.; CLARO NETO, S. Aplicação Industrial do Óleo. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. **O Agronegócio da Mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa, 2001. p. 89-120.

-FERREIRA, C.M., ROSA, O.P.S.; TORRES, S.A.; FERREIRA, F.B.A.; BERNARDINELLI, N. **Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria**. Brazilian Dental Journal, Ribeirão Preto, 2002. vol. 13, nº.2, p.118-122. ISSN 0103-6440.

-MESSETTI, M.A. SANTOS, A. M.; ANGELIS, D. F. ; CLARO NETO, S. ; CHIERICE, G. O.; DALFRE, I. A. B. . **Viabilidade de *Escherichia coli* CCT 1457 in vitro sob atividade do Poliquilgerm derivado do óleo de *Ricinus communis* L. (mamona)**. In: Workshop Internacional de Microbiologia Ambiental, 2005, Campinas, Unicamp. CD-ROM

Apoio Financeiro: CNPq

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

UTILIZAÇÃO DE MEIO DE BAIXO CUSTO PARA PRODUÇÃO DE AMILASE POR *Bacillus licheniformis*Oliveira, D.P.¹ Andrade, R.N.S.², Okada, K.^{3,5} & Alves da Silva, C.A.^{4,5*}

¹ Aluno do Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais, ² Aluno de Pibic Júnior
³ Curso de Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, ⁴ Curso de Química, Centro de
 Centro de Ciência e Tecnologia, ⁵ Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB) -
 Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), R. do Príncipe, 526, Boa Vista, Recife-PE,
 CEP: 50050-900, calves@unicap.br

Palavras-chave: amilase, *Bacillus licheniformis*, Produção enzimática.

INTRODUÇÃO: As enzimas microbianas representam uma série de vantagens sobre as de origem animal e vegetal, principalmente pela sua grande versatilidade. As amilases (endo-1,4 α -D-glucano glucosidase, E.C. 3.2.1.1) são enzimas extracelulares que clivam as ligações glicosídicas α -D 1,4 do amido. Essas enzimas são essenciais para a conversão do amido em oligossacarídeos (PERDERSON E NIELSEN, 2000) e extensivamente usadas nas indústrias de liquefação do amido, do papel, de detergentes, de alimentos, de fármacos e do açúcar (VAN DER MAAREL *et al.*, 2002; PANDEY E NINGAM, 2000). O gênero *Bacillus* é atualmente considerado como um dos maiores produtores de enzimas industriais, incluindo espécies encontradas na natureza (solo, água e ar), e algumas como participante da biota intestinal (CHANTAWANNAKUL, *et al.*, 2002). A utilização de meios de produção considerados econômicos têm sido um grande desafio para as indústrias que utilizam e produzem essas enzimas. Os meios sintéticos são os mais utilizados na fermentação submersa das amilases. Foram realizados estudos na produção de amilase, substituindo a fonte de amido por água de arroz em diferentes concentrações.

MATERIAL E MÉTODOS: Foi utilizado o *Bacillus licheniformis* (UCP 1009). O meio de produção da amilase (g/L): peptona 5.0, extrato de carne 1.0, amido solúvel 5.0; pH 7.0. No meio econômico foi substituído o amido solúvel pela água de arroz nas concentrações 5.0 e 10 g/L. A produção ocorreu em Erlenmeyers contendo 250 ml do meio de cultura, 37 °C, shaker orbital, 150 rpm, durante 96h. As amostras coletadas foram centrifugadas (10.000 rpm, 15 min), à 5 °C. A avaliação quantitativa da produção de amilase foi realizada utilizando a dosagem de açúcares redutores (DNS) (MILLER, 1959).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os resultados obtidos nos ensaios realizados revelaram que a utilização do amido solúvel presente na água de arroz, produziu um percentual de amilase em torno 80%, quando comparado ao meio original contendo amido solúvel.

CONCLUSÕES: A utilização de resíduos principalmente os oriundos de indústrias alimentícias, como o amido presente na água de arroz, na composição de meios de cultura, tem sido uma alternativa promissora para produção de enzimas microbianas, principalmente pelo baixo custo da formulação e produção desses bioprodutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CHANTAWANNAKUL, P., ONCHAROEN, A., KLANBUT, K., CHUKEATIROTE, E.; LUMYONG, S. – Characterization of Proteases of *Bacillus subtilis* strain 38 isolated from Traditionally Fermented Soybean in Northern Thailand, *ScienceAsia*, v 28, 241-245, 2002.

MILLER, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analyt. Chem.*, 31, 426-428.

PANDEY A, NINGAM P. Advances in microbial amylases. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 20; 31:135-56, 2000.

VAN DER MAAREL, M. J., VAN DER VEEN, B., UITDEHAAG, J. C., LEEMHUIS, H., DIJKHUIZEN, L. Properties and Applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *J. Biotechnol.*, 94: 137-55, 2002.

APOIO FINANCEIRO: CNPq/ FINEP/FACEPE/ UNICAP

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

UTILIZAÇÃO DE SURFACTANTE PRODUZIDO POR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, NA DESCONTAMINAÇÃO DE AMBIENTES POLUÍDOS COM HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO

Benincasa, M.¹, Magalhães, W.V.², Pereira, D.M.M.^{2*}

1UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP;

2UNESP, Avenida Dom Antônio, 2100, Assis, SP.

*e-mail: deborahpe@uol.com.br

Palavras-chave: biorremediação; surfactante; resíduos agroindustriais.

INTRODUÇÃO:

A Biorremediação, processo natural no qual microorganismos modificam e quebram contaminantes, em compostos menos tóxicos, tem sido usada como nova tecnologia na restauração de ambientes poluídos. Para solucionar o problema da limitada biodegradabilidade de poluentes hidrofóbicos, têm sido utilizados surfactantes e emulsificantes visando aumentar a biodisponibilidade para absorção por microorganismos. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da adição de solução de biosurfactante ramnolipídico, produzido por *Pseudomonas aeruginosa* cultivadas em descarte de refinarias de petróleo, na biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo em solos contaminados.

MATERIAL E MÉTODOS:

Inoculou-se uma suspensão celular de *P. aeruginosa* em meio mineral salino, cuja fonte de carbono provinha de resíduos agroindustriais. Ramnolipídeos foram produzidos por fermentação, em um bioreator durante 60h à 30°C e separados do caldo contendo as células, por centrifugação. Amostras de 50g de solo, em recipientes de alumínio (400 mL) à 28°C, foram divididas em 3 grupos: solo contaminado + 200 mL de água destilada (S2A), ou de solução de biosurfactante bruto (S2BS1) e solo estéril + 200 mL de água destilada (S2EA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O solo coletado apresentou concentração ($c_{inicial}$) de 2740 ppm de TPH (Hidrocarbonetos Totais de Petróleo). Análises após 80 dias mostraram que parte da redução do TPH foi devido a processos abióticos (c_{final} = 531,4 g/L para S2EA) e parte devido ao metabolismo dos microorganismos (c_{final} = 63,6 g/L para S2BS1 e 1040,0 g/L para S2A). A adição de biosurfactante resultou em remoção de até 98%.

CONCLUSÕES:

A produção de biosurfactante ramnolipídico a partir de fontes renováveis como resíduos de indústrias alimentícias combina minimização de descartes com produção econômica de biosurfactante. A adição desse produto na forma de solução bruta aumentou a biodegradação de hidrocarbonetos de petróleo, representando uma potencial alternativa na biorremediação de solos contaminados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

HABA, E., ESPUNY, M.J., BUSQUETES, M., MANRESA, A. Screening and production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste frying oil. **J. Appl Microbiol.**, 88: 379-387, 2000.

ABALOS, A., VIÑAS, M., SABATÉ, J., MANRESA, A., SOLANAS, A.M. Enhanced biodegradation of Casablanca crude oil by a microbial consortium in presence of a rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10. **Biodegradation**, 15: 249-260, 2004.

Apoio Financeiro: FAPESP e IFS (International Foundation for Science - Suécia).

Resumos apresentados no III Simpósio em Microbiologia Aplicada

UTILIZAÇÃO DOS VALORES DE CUTOFF NA INTERPRETAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE AEROMONAS MÓVEIS PARA DIFERENTES ANTIBIÓTICOS

Mian G.F.^{1*}, Godoy D.T.¹, Zanol R.², Figueiredo H.C.P.¹.

¹AQUAVET - Laboratório de Doenças de Animais Aquáticos, Departamento de Medicina Veterinária, UFLA, MG/BR, 37200-000-Lavras, MG.; ²Schering - Plough Saúde Animal, SP, BR - 06714-050 – Cotia, SP..

* glauciamian@yahoo.com.br

Palavras-chave: Aeromonas móveis, antibióticos, cutoff.

INTRODUÇÃO: As aeromonas móveis são os principais patógenos em sistemas de cultivo intensivo para diferentes espécies de peixes tropicais, levando à altas taxas de mortalidade dos peixes acometidos. O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração inibitória mínima (MIC) para florfenicol (FLO), biciclomicina (BCM), oxitetraciclina (OTA) e ácido oxolínico (OXA) para amostras de aeromonas móveis isoladas de água de cultivo e caso clínico (septicemia hemorrágica).

MATERIAIS E MÉTODOS: Foram selecionadas 120 amostras, sendo 94 de *Aeromonas hydrophila*, 16 de *A. caviae* e 10 de *A. sobria*, provenientes de cinco estados brasileiros – MG, RJ, RS, MS, SP – onze propriedades distintas e diferentes espécies de peixes – *Oreochromis niloticus*, *Brycon orbignyanus*, *Pseudoplatistoma corruscans*, *Rhamdia quelen*. A metodologia utilizada para determinação do MIC foi a microdiluição em caldo, de acordo com "Method for Broth Dilution Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals", estabelecido pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2006). Os testes foram incubados em 28°C e foram utilizadas diluições seriadas de base dois para os antibióticos – florfenicol (64-0,06 µg/ml), biciclomicina (200-0,195 µg/ml), oxitetraciclina (500-0,0037 µg/ml), ácido oxolínico (50-0,00037 µg/ml).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A distribuição de frequência dos valores de MIC pode ser usada para delinear valores de cutoff epidemiológicos. Sendo assim, os isolados serão classificados como wild type WT, população bacteriana originalmente susceptível; ou não wild type NWT, população com mecanismos de resistência ao antibiótico. Para o florfenicol temos WT ≤ 4 µg/ml (98%), biciclomicina WT ≤ 6,25 µg/ml (96%), oxitetraciclina WT ≤ 0,97 µg/ml (83%), ácido oxolínico WT ≤ 0,048 µg/ml (89%).

CONCLUSÃO: Os quatro antibióticos testados apresentam bom potencial para uso em piscicultura, sendo que o FLO e BCM foram às drogas com melhor eficácia *in vitro*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CLSI/NCCLS (Clinical and Laboratory Standards Institute/ National Committee for Clinical and Laboratory Standards). Methods for Broth Dilution Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals; Approved Guideline. **CLSI/NCCLS Document M49-A**, CLSI/NCCLS, Wayne, Pa. 2006.

MILLER, R.A. & REIMSCHUESSEL, R. Epidemiologic cutoff values for antimicrobial agents against *Aeromonas salmonicida* isolates determined by frequency distributions of minimal inhibitory concentration and diameter of zone of inhibition data. **Am. J Vet. Res.** 67, 1837-1843. 2006.

Apoio Financeiro: Schering – Plough Saúde Animal e CAPES.