

SEÇÃO: BIOQUÍMICA, BIOLOGIA CELULAR e GENÉTICA

001 - ANÁLISE CITOQUÍMICA DE LINHAGENS SELVAGENS DE *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* PROVENIENTES DE DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL

FALCO, J. R. P.; ROCHA, C. L. M. S. C.; PAMPHILE, J. A. Análise citoquímica de linhagens selvagens de *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* provenientes de diferentes regiões do Brasil. *Arq. Apadec*, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

Departamento de Biologia Celular e Genética / UEM. e-mail: jrpfalco@uem.br

O estudo da variabilidade do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* tem sido realizado durante os últimos anos, abordando-se caracteres morfológicos, bioquímicos, moleculares e citológicos. Esses estudos têm apontado uma grande variabilidade natural nessa espécie. A análise citoquímica desse fungo filamentosos vem trazer uma nova abordagem da biologia do mesmo. Uma técnica relevante, que tem sido inicialmente empregada em células animais e de insetos, é a determinação da concentração crítica de eletrólitos (CEC). A CEC para ácidos nucleicos em complexos de nucleoproteínas tem sido definida como sendo a concentração de cátion inorgânico na qual a metacromasia, causada pela coloração do ácido nucleico com azul de toluidina (cor violeta), é abolida com o aparecimento de uma coloração esverdeada. A CEC de diferentes complexos DNA-proteína ocorre em diferentes concentrações de Mg^{2+} . Com a detecção da CEC pode-se inferir a respeito do estado de compactação do DNA de diferentes linhagens em uma determinada condição de cultivo. Em função desse fato, o objetivo do presente trabalho foi a análise citoquímica de diferentes linhagens selvagens de *M. anisopliae* usando-se a determinação da concentração crítica de eletrólitos. O material biológico utilizado constituiu-se pelas linhagens selvagens E9, MT e Al, isoladas nos Estados de Espírito Santo, Mato Grosso e Alagoas, respectivamente. As linhagens foram cultivadas em meio completo, a 28°C durante cerca de 7 a 10 dias. Os conídios foram coletados, transferidos para solução salina a 0,09% e espalhados sob lâminas histológicas. Após secagem do líquido para aderência das células à lâmina, foram fixadas em etanol:ácido acético (3:1-v/v) durante 2 min., lavadas em etanol 70% durante 5 min. e coradas por 20 min. com azul de toluidina 0,025% em tampão McIlvaine pH 4,0, contendo $MgCl_2$ em diferentes concentrações (0; 0,02; 0,05; 0,08; 0,10; 0,12; 0,15 e 0,20M). Após secarem, as lâminas foram clareadas em Xilol durante 15 min. e montadas com entellan para observação ao microscópio ótico comum. Pelos resultados obtidos, nas condições empregadas, poderíamos inferir que as linhagens selvagens Al e MT apresentam um mesmo grau de condensação e uma cromatina mais condensada do que a linhagem selvagem E9. Diferenças de CEC indicam variabilidade nos complexos DNA-proteína, bem como de possíveis diferenças nos estados de expressão gênica.

002 - AVALIAÇÃO DO EFEITO MUTAGÊNICO DO XENICAL (ORLISTAT), USADO COMO CONTROLADOR DA OBESIDADE, EM CÉLULAS DA MEDULA ÓSSEA DE RATOS WISTAR (*Rattus norvegicus*), TRATADOS *in vivo* POR GAVAGEM.

LOPES, E.F.; VICENTINI, V.E.P. - Avaliação do efeito mutagênico do Xenical (Orlistat), usado como controlador da obesidade, em células da medula óssea de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), tratados *in vivo* por gavagem. *Arq. Apadec*, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

Universidade Estadual de Maringá (UEM) e-mail: eraldoflopes@cell.com.br

A obesidade é um mal comum em todo mundo, devido ao grande consumo de produtos industrializados e, principalmente, à vida sedentária a que o homem moderno se submete. O excesso de peso, confirmado pelo índice de massa corpórea, provoca diversas doenças, como problemas cardiovasculares e diabetes. O Xenical, foi o primeiro medicamento lançado no mercado farmacêutico, como controlador da obesidade, sem agir diretamente no sistema nervoso central. Sua ação se faz em nível gastrointestinal através da inibição da enzima lipase, responsável pela quebra das moléculas de gordura ingeridas, que uma vez inibida, não há absorção de gorduras pelo organismo. Devido ao fato deste produto ter alcançado um alto índice de vendas logo nos primeiros meses após seu lançamento, levanta-se a preocupação em se avaliar seus possíveis efeitos mutagênicos. Mutação é toda alteração no material genético, expressa ou não em um determinado organismo, que difere uma ou mais regiões de seu DNA daquele considerado normal para a espécie. Para avaliar o efeito mutagênico do Xenical, foi realizado um experimento, utilizando-se como sistema teste células da medula óssea de ratos Wistar, tratados *in vivo* via gavagem, tratamento agudo (24h). Foram utilizados cinco grupos de seis animais cada (três machos e três fêmeas), um grupo controle negativo (tratamento com água), um grupo controle positivo com ciclofosfamida (substância clastogênica) e mais três grupos com as respectivas concentrações do fármaco, 0,2; 0,4 e 0,6 mg/ml de água. A análise foi feita em 100 metáfases por animal (600 por grupo), avaliando aberrações cromossômicas, mais a contagem de 10.000 células por grupo, para obtenção do índice mitótico, os valores obtidos foram comparados entre si pelo teste do qui-quadrado. No teste realizado não houve alterações, estatisticamente significativas, na análise das aberrações cromossômicas, bem como no índice de divisão celular dos animais, o controle positivo validou o teste.

003 - AVALIAÇÃO DE ISOESTERASES EM TECIDOS DE CAULES E EM CALOS DE *Cereus peruvianus* (CACTACEAE).

SILVA, G.A.R.¹, KRAPIEC, P.V.¹, MANGOLIN, C.A.², MACHADO, M.F.P.S.². - Avaliação de isoesterases em tecidos de caules e em caldos de *Cereus peruvianus* (Cactaceae). *Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.*

¹Acadêmicas do Curso de Ciências Biológicas; ²Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade. Estadual de Maringá - Maringá - PR. e-mail: camangolin@uem.br

O propósito da presente investigação foi padronizar as condições para a análise de isoenzimas a- e b-esterases, para estudar a expressão diferencial destas isozimas, e para detectar polimorfismos genéticos em tecidos de calos cultivados *in vitro* e em caules de plantas da espécie *Cereus peruvianus*. As isoesterases foram extraídas de 300 mg de tecidos de calos jovens (5 meses), calos em cultura prolongada (12 anos), caules de plantas obtidas de sementes produzidas por plantas naturalmente cultivadas, e caules de plantas obtidas de sementes produzidas por plantas regeneradas a partir da cultura de calos (somaclones). Estes tecidos foram macerados com 30 ml de solução de extração; as amostras foram centrifugadas por 30 minutos com 25.000 rpm a 3 °C. As esterases foram separadas em géis de poliacrilamida (12 %) utilizando tampão Tris-HCl 0,37 M, pH 8,8, por 5 h a 4 °C com 200 V. O tampão usado nas cubas foi Tris-glicina, 0,1 M pH 8,3. As esterases foram identificadas utilizando-se tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 6,2 e como substrato foram utilizadas 30 mg de a-naftil acetato e 20 mg de b-naftil acetato com 60 mg de *Fast Blue RR Salt*. Foi possível detectar um total de 24 isoesterases nos calos e nos caules, das quais somente 4 parecem ser comuns a ambos tecidos. As demais isozimas apresentaram expressão diferencial, polimorfismos de preferência por a ou b-substratos e a/b-substratos, e variações alélicas foram seguramente observadas em pelo menos 3 *loci*. A expressão diferencial nos tecidos analisados parece ser produto da expressão de *locus* específicos em calos jovens, calos de cultura prolongada, e de caules, indicando que as a e b-esterases estão envolvidas com processos fisiológicos específicos e temporal na morfogênese de tecidos vegetais. O número de *loci* poderá ser decidido utilizando inibidores específicos para a e b-esterases.

Financiamento: UEM

004 - OBTENÇÃO DE DNA LIVRE DE POLISSACARÍDEOS A PARTIR DE TECIDOS DE CAULES DE *Cereus peruvianus* (CACTACEAE).

SILVA, G.A.R.¹, KRAPIEC, P.V.¹, MANGOLIN, C.A.², MACHADO, M.F.P.S.². - Obtenção de DNA livre de polissacarídeos a partir de tecidos de caules de *Cereus peruvianus* (Cactaceae). *Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.*

¹Acadêmicas do Curso de Ciências Biológicas; ²Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade. Estadual de Maringá - Maringá - PR. e-mail: camangolin@uem.br

As dificuldades enfrentadas para a análise de moléculas de plantas conduziu o presente estudo a testar e adequar protocolos para extrair DNA de tecidos de caules de plantas adultas de *Cereus peruvianus*, que foram regeneradas a partir de tecidos de calos. Existe o interesse em obter DNA destes somaclones, livre de contaminantes (polissacarídeos e polifenóis), para analisar o genoma das mesmas, que apresentam diferentes morfologias de caules. Pedacos de caules (200 mg) foram triturados com nitrogênio líquido e homogeneizados com 300 mL do tampão Tris-HCl 200 mM pH 8,0; EDTA 50 mM pH 8,0; NaCl 2,2 M; CTAB 2%; e sulfito de sódio 0,06%. Em seguida, foram adicionados 100 mL de N-lauroyl-sarcosine 5%, 100 mL de PVP 10%, e 100 mL de CTAB 20%. As amostras foram incubadas por 30-60 minutos a 65 °C. O DNA foi extraído adicionando igual volume de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1). As amostras foram centrifugadas com 3.000xg por 10 minutos em 20 °C. A fase aquosa foi recuperada e a esta foi adicionado igual volume de isopropanol, seguido por 100 mL de NaCl 6 M. Esta mistura foi incubada a -20 °C *overnight*. O DNA foi pescado, transferido para um tubo contendo 100 mL de etanol 70% e centrifugado, o sobrenadante foi descartado; depois de seco em temperatura ambiente, foi ressuspenso em 50-100 mL de TE. A quantidade de DNA das amostras, calculada em gel de agarose 0,8%, variou de 4 a 15 ng/mL e a produção de DNA por amostra variou de 2 a 3,8 ng/mg de peso fresco de caule. As evidências do presente estudo são de que protocolos usados para extrair DNA de diferentes espécies de cactos, não foram eficientes quando aplicados aos caules de *C. peruvianus*. É possível que isto seja devido a uma maior complexidade dos heteropolissacarídeos produzidos por esta espécie.

Financiamento: UEM

005 - ANÁLISE GENÉTICA DAS ESPÉCIES *Pseudoplatystoma corruscans* (PISCES, SILURIFORMES) E *Pseudoplatystoma fasciatum* REALIZADA COM MARCADORES MOLECULARES SPAR.

BIGNOTTO, T.S.; GALDINO, J.C.; MANIGLIA, T.; PRIOLI, A.J.; PRIOLI, S.M.A.P.; PRIOLI, L.M. - Análise genética das espécies *Pseudoplatystoma corruscans* (Pisces, siluriformes) e *Pseudoplatystoma fasciatum* realizada com marcadores moleculares SPAR. *Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.*

Universidade Estadual de Maringá. Maringá-PR. e-mail: thabignotto@bol.com.br

O pintado e o cachara são peixes que migram por grandes distâncias, habitam as principais bacias hidrográficas da

América do Sul e representam um alto valor no setor de pesca do país. Com a construção de usina hidrelétricas, as rotas de migração foram interrompidas e ocorreram modificações de hábitos e diminuição da pesca. O cruzamento interespecífico pode ocorrer em cativeiro, indicando baixa divergência genética entre as duas espécies. O objetivo deste trabalho envolveu a obtenção de marcadores moleculares SPAR que possibilitassem a detecção da divergência genética entre o pintado e o cachara e ainda permitissem a identificação de híbridos naturais. A coleta dos peixes se deu nas regiões do rio Cuiabá e Manso. Foram coletadas 30 nadadeiras adiposas do pintado e 30 do cachara, sendo posteriormente preservadas em álcool. A extração do DNA total foi efetuada com protocolo baseado em Fenol/Clorofórmio. O DNA foi quantificado por comparação com DNA do fago I com concentração conhecida. Dez primers SPAR foram testados, sendo selecionados aqueles que produziram maior polimorfismo ((GGAC)₃T e (GGAC)₃C). Na técnica SPAR são amplificadas seqüências presentes entre blocos de microssatélites, que são eficientes para a detecção de diferenças genéticas entre espécies próximas. Após a amplificação, as amostras foram submetidas a um gel de agarose 1,4% em um campo eletroforético que separa os diferentes fragmentos de DNA. Como resultado houve a visualização de perfis eletroforéticos semelhantes, com algumas bandas monomórficas nas duas espécies, sugerindo alto grau de parentesco. Por outro lado, foram encontradas bandas exclusivas de pintado e de cachara indicando divergência genética entre as espécies. Não foi encontrado nenhum indivíduo que apresentasse, simultaneamente, bandas exclusivas de pintado e de cachara. Portanto, não foram obtidas evidências de ocorrência de híbrido natural na região.

006 - EXTRAÇÃO, ISOLAMENTO E BIOAUTOGRAFIA DE EXTRATOS ALCALOÍDICOS DE *Aspidosperma ramiflorum* MUELL. ARG.

FERREIRA¹, A.; OLIVEIRA², A.J.B. - Extração, isolamento e bioautografia de extratos alcalóides de *Aspidosperma ramiflorum* Muell.Arg. Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

Departamento de Farmácia e Farmacologia, Univ. Estadual de Maringá – Maringá – PR. ¹Acadêmico de iniciação científica do curso de Farmácia; ²Docente, Orientador de iniciação científica e-mail: afixander@hotmail.com

A *Aspidosperma ramiflorum* Muell. Arg., conhecida vulgarmente como “Guatambu” é uma árvore de grande porte podendo alcançar de 12-30 m de altura, nativa das florestas do sudeste do Brasil. Alguns alcalóides indólicos foram isolados de suas cascas e galhos. O extrato dos galhos apresentou atividade antimicrobiana contra bactérias Gram negativas. Este trabalho tem como objetivo avaliar o perfil extrativo de alcalóides a partir de diferentes órgãos vegetais, isolar, comparar e realizar o teste para avaliação antimicrobiana (bioautografia). As matérias-primas vegetais utilizadas foram folhas, galhos, raízes, cascas e sementes. O material depois de seco foi pulverizado, pesado (1g, feito em triplicata) e a seguir extraído por refluxo com Etanol 70° e a seguir submetida a uma extração ácido base com o objetivo de se obter os extratos ricos em alcalóides. A seguir utilizou-se a cromatografia em camada delgada (CCD) para a separação das frações alcaloídicas de interesse, utilizando-se como eluente uma mistura de clorofórmio-metanol em atmosfera de amônia. Na bioautografia utilizou-se como microorganismo teste o *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, o meio de cultura foi o ágar Miller-Hinton e a técnica utilizada foi a “pour plate”. O antimicrobiano utilizado como controle foi a amicacina. Os extratos com maior concentração de alcalóides foram os das raízes (0,1395g, 13,9%), folhas (0,1347g, 14,47%), sementes (0,0709, 7,1%), cascas (0,0671, 6,71%) e galhos (0,0478, 4,78%). A separação ácido base dos extratos alcaloídicos mostrou-se eficiente, facilitando a preparação das amostras para aplicação em CCD. O teste bioautográfico permitiu detectar quais os extratos apresentavam uma maior atividade antimicrobiana, e também evidenciar quais substâncias nos extratos eram responsáveis por esta atividade antimicrobiana.

007 - ANÁLISE GENÉTICA DE *Pseudoplatystoma corruscans* E *Pseudoplatystoma fasciatum* (PISCES; SILURIFORMES) REALIZADA COM MARCADORES MOLECULARES SPAR.

BIGNOTTO, T.S.; GALDINO, J.C.; MANIGLIA, T.; PRIOLI, A.J.; PRIOLI, S.M.A.P.; PRIOLI, L.M. - Análise genética de *Pseudoplatystoma corruscans* e *Pseudoplatystoma fasciatum* (Pisces; Siluriformes) realizada com marcadores moleculares spar. Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

Universidade Estadual de Maringá – Maringá – PR e-mail: thabignotto@bol.com.br

Pseudoplatystoma corruscans (pintado) e *Pseudoplatystoma fasciatum* (cachara) são peixes que migram por grandes distâncias, habitam as principais bacias hidrográficas da América do Sul e representam um alto valor no setor de pesca do Brasil. Com a construção de usinas hidrelétricas, as rotas de migração foram interrompidas e ocorreram drásticas modificações de hábitos e diminuição da pesca. O cruzamento interespecífico pode ocorrer em cativeiro, indicando baixa divergência genética entre as duas espécies. O objetivo deste trabalho foi obter marcadores moleculares SPAR que possibilitassem a detecção da divergência genética entre o pintado e o cachara, e ainda permitissem a identificação de híbridos naturais. A coleta dos peixes ocorreu nos rios Cuiabá e Manso, no Mato Grosso. Foram coletadas nadadeiras

adiposas de 30 pintados e 30 cacharas, as quais foram preservadas em álcool. Amostras de DNA total foram extraídas utilizando-se método de rotina baseado em fenol/clorofórmio. O DNA foi quantificado por comparação com DNA do fago I com concentração conhecida. Entre dez *primers* SPAR testados, foram selecionados (GGAC)₃T e (GGAC)₃C, porque produziram maior número de locos polimórficos. Na técnica SPAR são amplificadas seqüências presentes entre blocos de microssatélites, que são eficientes para a detecção de diferenças genéticas entre espécies próximas. Após amplificação, os fragmentos de DNA foram separados em eletroforese de gel de agarose (1,4%). Foram obtidos perfis eletroforéticos semelhantes, com algumas bandas monomórficas comuns às duas espécies, sugerindo alto grau de parentesco entre elas. Por outro lado, foram encontradas bandas exclusivas de pintado e de cachara, indicando divergência genética entre as espécies. Não foi encontrado nenhum indivíduo que apresentasse, simultaneamente, bandas exclusivas de pintado e de cachara. Portanto, não foram obtidas evidências de ocorrência de híbrido natural na região. Apoio: Nupelia, CNPq/PIBIC, UEM

008 - DETECÇÃO DE ESTRUTURAS ALTERNATIVAS DO DNA À JUSANTE DO GENE AMPLIFICADO *BhC4-1* DO PUFE DE DNA C4 DE *Bradysia hygida*.

REIS, T. F.; FIORINI, A.; FERNANDEZ, M.A. - Detecção de estruturas alternativas do DNA à Jusante do Gene amplificado *Bh C4-1* do Pufe de DNA C4 de *Bradysia hygida*. Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

Departamento de Biologia Celular e Genética- Universidade Estadual de Maringá- Maringá - PR. e-mail: mafernandez@uem.br

A molécula de DNA pode apresentar alterações em sua estrutura ocasionadas por fatores extrínsecos como interação com proteínas e/ou pela seqüência intrínseca de nucleotídeos, que dentre outras formas podem originar curvaturas, denominadas regiões *bent*. A presença de sítios *bent* intrínsecos dá-se pela ocorrência de regiões ricas em adeninas com repetição a cada 10pb ou múltiplos dele. Regiões com sítios *bent* são geralmente encontradas em seqüências promotoras e regulatórias em genes de eucariotos. Recentemente, nosso laboratório descreveu dez sítios de DNA *bent* intrínsecos na região promotora do gene *BhC4-1*. Neste trabalho nosso objetivo foi verificar a presença de estruturas alternativas na unidade de transcrição e na região à jusante do gene amplificado *BhC4-1*. O estudo da migração dos fragmentos foi realizado através de géis de agarose e poliacrilamida com e sem brometo de etídeo. Fragmentos com alterações conformacionais apresentam migração alterada em géis de poliacrilamida sem brometo de etídeo, pois este possui poros regulares que dificultam a passagem de fragmentos com estruturas diferenciadas, sendo possível o estudo da forma dos fragmentos. Para comprovar a forma desses fragmentos como sendo curvas, foi utilizado o brometo de etídeo, o qual é um agente intercalante e anula essas estruturas ricas em A/T. Os géis de agarose formam uma malha irregular e foi usado somente para a obtenção do tamanho molecular dos fragmentos. Os resultados obtidos sugerem a existência, além dos sítios de DNA *bent* localizados no fragmento, de estruturas alternativas que não são anuladas com o uso do brometo de etídeo. O estudo e identificação dessa(s) outra(s) estrutura(s) é o próximo objetivo de estudo. Um método de verificação inclui a análise de novos géis onde os fragmentos terão sua corrida eletroforética realizada sob variações de temperatura, onde essas estruturas devam ter sua forma anulada.

Apoio Financeiro: Fundação Araucária; CNPq, CAPES, The Third World Academy of Sciences (TWAS).

009 - INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DO MEDICAMENTO VITEX, USADO NO TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS HORMONAIS FEMININOS

FERRARI, G. P.; VICENTINI, V. E. P. - Investigação da atividade mutagênica do medicamento Vitex, usado no tratamento de distúrbios hormonais femininos. Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Estadual de Maringá - PR. e-mail: gisele_ferrari@hotmail.com

Originária da Grécia e Itália, Vitex é uma planta conhecida desde a antiguidade, cuja bebida a base de suas sementes era usada para reduzir febres, cefaléia e promover a menstruação. Pesquisas clínicas, iniciadas na década de 50, estudaram os efeitos de Vitex no restabelecimento do equilíbrio dos níveis hormonais da glândula pituitária. Seu mecanismo de ação está relacionado com seu efeito estrogênico cujo sítio primário de atuação é o lóbulo anterior da glândula hipófise, inibindo o FSH, hormônio folículo estimulante, e aumentando a secreção de LH, hormônio luteinizante. A partir destas descobertas, Vitex tem sido tradicionalmente utilizado no tratamento de distúrbios hormonais femininos, na menopausa e climatério, por promover o restabelecimento do equilíbrio hormonal. Em busca desse equilíbrio, houve aumento no consumo de medicamentos como o Vitex, fazendo-se necessário a realização de testes de mutagenicidade, para saber se podem ou não acarretar alterações cromossômicas celulares. Foram feitos testes com ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), de aproximadamente 100g de peso corpóreo, para avaliar um possível efeito mutagênico do medicamento sobre as células da medula óssea. Os animais foram divididos em 3 grupos, ao primeiro foi dado água (controle negativo), o segundo foi tratado com ciclofosfamida (controle positivo) e o terceiro foi tratado com o medicamento Vitex. Os animais receberam três concentrações: 1,06; 2,12; 4,24 mg/ml. Para o teste foram usados seis ratos, três de cada sexo e tratados por 1 dia (tratamento agudo - 24 horas), via gavagem. O teste avaliou os efeitos da droga em nível

cromossômico e sobre o ciclo de divisão celular. Foram analisadas 600 metáfases por grupo e o cálculo do índice mitótico foi de 10.000 células. Nos ratos tratados com Vitex não foram observadas alterações cromossômicas, estatisticamente significativas, pelo teste do Qui-quadrado e nem nos resultados do índice mitótico, comparado com os resultados para os ratos do controle negativo.

010 - CONCENTRAÇÃO CRÍTICA DE ELETRÓLITOS (CEC) NA CROMATINA DE *Aspergillus (=Emericela) nidulans*

FALCO, J. R. P.; ALEIXO, D. L. & ROCHA, C. L. M. S. C. Concentração crítica de eletrólitos (CEC) na cromatina de *Aspergillus (=emericela) nidulans*. Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

Departamento de Biologia Celular e Genética / UEM. jrpfalco@uem.br

Aspergillus nidulans é um fungo de grande importância em estudos genéticos. A dexametasona é conhecida como ativador de transcrição. Neste sentido, esporos de *A. nidulans* foram cultivados sobre membranas de diálise em meio completo sólido contendo dexametasona. Foi efetuado um grupo controle sem a dexametasona no meio. Após 12 horas de incubação a 37°C, as membranas de diálise, contendo as hifas, foram retiradas e fixadas em etanol:ácido acético (3:1-v/v) durante dois minutos. Em seguida, foram lavadas em etanol 70% durante 5 min. e coradas por 20 min. com azul de toluidina 0,025% em tampão McIlvaine pH 4,0, contendo MgCl₂ em diferentes concentrações (0; 0,02; 0,05; 0,08; 0,10; 0,12; 0,15 e 0,20M), a fim de se determinar a concentração crítica de eletrólitos (CEC) e de se comparar o efeito da dexametasona nos valores de CEC, e conseqüentemente na estrutura da cromatina. Após coloração, as membranas foram clareadas em Xilol durante 15 min. e montadas em lâminas histológicas com entellan e observadas ao microscópio ótico comum. Observou-se diferenças nos valores de CEC da cromatina dos núcleos das hifas entre o grupo controle (sem dexametasona) e o grupo tratado, indicando alterações na estrutura da cromatina destas células (pequeno relaxamento da cromatina em reflexo a ação da dexametazona). Alterações no padrão de desenvolvimento das hifas também foi alterado pela presença da dexametazona.

Auxílio financeiro: UEM.

011 - INVESTIGAÇÃO DO EFEITO MUTAGÊNICO DO MEDICAMENTO VITA MAX, USADO NO COMBATE AOS RADICAIS LIVRES, EM RATOS WISTAR.

SILVA, M.F.P.T.B.; VICENTINI, V.E.P. Investigação do efeito mutagênico do medicamento vita max, usado no combate aos radicais livres, em ratos wistar. Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá, Maringá- PR e-mail: mfbaldez@bol.com.br

A qualidade da alimentação pode apresentar ou não deficiências de nutrientes importantes para o organismo, exigindo a elaboração de drogas para uma dieta equilibrada.. Um suplemento muito utilizado é o Vita Max, produzido com os antioxidantes betacaroteno, vitamina C, E e selênio, a fim de combater os radicais livres. Estes são necessários para determinados processos fisiológicos, porém, em doses elevadas, são tóxicos ao organismo provocando alterações químicas, destruindo a integridade das células. Os agentes antioxidantes, têm a função de combater o estresse oxidativo e o dano tecidual. O Vita Max é indicado para adultos e idosos, com carências de betacaroteno, vitamina C, E ou selênio, por pessoas sob estresse, fumantes, que usam freqüentemente bebidas alcoólicas ou bebem muito café, que apresentam baixa resistência imunológica ou sofram exposição à radiação, mulheres que usam anticoncepcionais orais ou estejam entrando na menopausa. Verificando o possível efeito em nível cromossômico e sobre o ciclo de divisão celular, nas células da medula óssea, foram realizados testes com ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), de aproximadamente 100 gramas de peso corpóreo, divididos em três grupos, um com água (controle negativo), um com ciclofosfamida (controle positivo) e um com Vita Max. Os animais receberam três concentrações: 0,1; 0,2 e 0,3 ml do conteúdo da cápsula gelatinosa. No teste foram usados três ratos de cada sexo, tratados por sete dias (tratamento subcrônico), via gavagem. Foram analisadas 600 metáfases por grupo e o cálculo do índice mitótico feito de 10.000 células. Os resultados obtidos foram comparados entre si e com o controle, pelo teste do Qui-quadrado, não apresentando alterações cromossômicas, nem no ciclo de divisão celular, estatisticamente significativas.

012 - PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DA ENZIMA GALACTOSE OXIDASE DE *Fusarium SPP.*

TURRA, A.F.; ARROTEIA, C.C.; TESSMANN, I.P.B. Produção e caracterização parcial da enzima galactose oxidase de *Fusarium spp.* Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

Departamento de Bioquímica; Universidade Estadual de Maringá - Maringá - PR e-mail: ipbtessmann@uem.br

A enzima galactose oxidase (GOase) (D-galactose: O₂ oxidoreductase, EC 1.1.3.9) é um membro da família de oxidases contendo um radical cobre. A GOase catalisa a oxidação de muitos álcoois, incluindo açúcares, em seus

aldeídos correspondentes, com concomitante redução de oxigênio molecular para peróxido de hidrogênio. Estudos enzimáticos da GOase têm estado em evidência devido às suas aplicações analíticas e de síntese de carboidratos, ao seu mecanismo catalítico não usual e à sua aplicação, recentemente descrita, na detecção precoce do câncer. A produção de GOase extracelular tem sido detectada em poucas espécies de fungos filamentosos, incluindo *Fusarium graminearum* e *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*). A maioria dos estudos com a GOase (secreção, purificação e caracterização) tem sido feita com o *F. graminearum* NRRL-2903 e com a enzima produzida por ele. Este microorganismo foi isolado na região sul do Brasil como um micoparasita do basidiomiceto *Polyporus circinatus*. Considerando as diversas aplicações da GOase, o achado de um novo isolado de *Fusarium* com maior capacidade secretória ou com secreção de uma proteína com maior e/ou melhor atividade seria de grande importância. Previamente, quatro isolados de *Fusarium* foram identificados como produtores da GOase em nosso laboratório: três *F. graminearum* e um *Fusarium acuminatum*. No presente trabalho, foi realizado um levantamento comparativo inicial da produção de GOase pelos isolados produtores, incluindo o *F. graminearum* NRRL 2903, e uma caracterização parcial das enzimas produzidas. Para isso, uma curva de crescimento e de produção da enzima foi executada e as proteínas foram analisadas por gel de SDS-PAGE não desnaturante. Os resultados mostram os níveis de produção de GOase pelos isolados e o peso molecular aproximado das diferentes proteínas com atividade de GOase. Estudos posteriores serão realizados para caracterizar a enzima de cada isolado. Agência de Fomento: CNPq

013 - EFEITOS METABÓLICOS DA GLIBENCLAMIDA SOBRE O METABOLISMO DA ALANINA NO FÍGADO DE RATOS DIABÉTICOS.

OLIVEIRA, D.S.; MARTINI, M.C.; BRACHT A.; SUZUKI-KEMMELMEIER F. - Efeitos metabólicos da glibenclamida sobre o metabolismo da alanina no fígado de ratos diabéticos. *Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.*

Departamento de Bioquímica; Universidade Estadual de Maringá - Maringá - PR e-mail: fskemmelmeier@uem.br

As sulfoniluréias são um grupo de drogas com efeito hipoglicêmico comumente usadas no tratamento da diabetes tipo II. A glibenclamida, uma sulfoniluréia de segunda geração, aumenta a secreção de insulina pelas células b-pancreáticas e inibe a gliconeogênese no fígado de rato. Neste trabalho foram avaliados os efeitos da glibenclamida sobre o metabolismo de carboidratos no fígado de ratos controles alimentados e a inter-relação entre o destino do esqueleto carbonado e nitrogenado no fígado de ratos controles e diabéticos. O sistema experimental foi o fígado de rato em perfusão monovascular *in situ*, não-recirculante. O líquido de perfusão foi o tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH=7,4) saturado com mistura de O₂ e CO₂ (95:5%). No fígado de ratos controles alimentados a glibenclamida em concentrações crescentes causou uma ativação dose-dependente na glicólise e glicogenólise, relacionada com variação no consumo de oxigênio. Em fígado de ratos controles e diabéticos em jejum, observou-se uma inibição da gliconeogênese a partir da alanina por ação da glibenclamida 100µM. Nas mesmas condições a droga inibiu a ureagênese resultando num aumento na liberação de amônia em fígado de ratos controles e diabéticos. Com a infusão da alanina 2,5mM a produção de glutamina foi mais acentuada em fígado de ratos controles, indicando uma atividade maior da glutaminase no fígado de ratos diabéticos. A glibenclamida inibiu a produção de glutamina no fígado de ratos controles. Em relação ao consumo de oxigênio, ocorreu uma inibição após a infusão da droga em fígados de ratos controles e diabéticos.

014 - ENSAIO DE MUTAGENICIDADE ENVOLVENDO CULTURA DE CÉLULAS CHO - K₁ SOB AÇÃO DO ANTIINFLAMATÓRIO CELEBRA (CELECOXIB)

SOUZA, V.H.E.¹; MANTOVANI, M.S.²; VICENTINI, V.E.P.¹ - Ensaio de mutagenicidade envolvendo cultura de células CHO - K₁ sob ação do antiinflamatório celebra (celecoxib). *Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.*

¹Universidade Estadual de Maringá - Maringá - PR ² Universidade Estadual de Londrina - Londrina - PR e-mail: enumo_bio@ig.com.br

Uma das grandes descobertas da indústria farmacêutica para o tratamento de doenças reumáticas é o antiinflamatório Celebra (celecoxib). Este composto age como inibidor específico da ciclooxigenase-2. Esta enzima é induzida em resposta a estímulos inflamatórios, levando à síntese de prostaglandinas, causando inflamação, edema e dor. O celecoxib age bloqueando as prostaglandinas, via inibição da ciclooxigenase. É notável a crescente procura pelo Celebra, devido aos seu menor índice de efeitos colaterais em comparação aos outros antiinflamatórios convencionais, por isso, ressalta-se a importância sobre estudos que possam verificar o seu possível efeito mutagênico. Neste trabalho verificou-se o efeito do Celebra sobre as células de ovário de hamster chinês (CHO-k1), utilizando o teste de aberrações cromossômicas e avaliação do índice mitótico. As células foram cultivadas em frascos descartáveis de 25cm², em meio HAM-F10+DMEM (1:1) suplementado com 10% de soro bovino fetal em estufa a 37°C. As concentrações utilizadas de Celebra foram de 0,0572; 0,286 e 0,572mg/ml de meio de cultura. As soluções foram aplicadas em tratamentos contínuos de 14h. O MMS 10⁻⁴ (metilmetanosulfonato 10⁻⁴ M) foi utilizado como agente indutor de danos. As células foram colhidas com solução de tripsina (0,025%), hipotonizadas 20 minutos com citrato de sódio a 1% e fixadas com metanol-ácido acético

(3:1). Foram analisadas 300 metáfases por tratamento em três repetições. A análise estatística foi realizada com o teste do χ^2 . Pelos resultados obtidos ($CO^- = 1,66\%$; $CO^+ = 9\%$; [1]=1%; [2]=3%; [3]=3%) verificou-se que o Celebra, nas concentrações, tipo e tempo de tratamento utilizados, não causou aumento no número de alterações cromossômicas, nem no índice de divisão celular.

015 - AVALIAÇÃO DA AÇÃO MUTAGÊNICA DO MEDICAMENTO GINKGO, TRATAMENTO AGUDO EM RATOS WISTAR.

TOLEDO, F.; VICENTINI, V.E.P. avaliação da ação mutagênica do medicamento Ginkgo, tratamento agudo em ratos Wistar. *Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.*

Universidade Estadual de Maringá - Maringá - PR.

O uso de plantas medicinais pela população mundial tem sido muito significativo nos últimos tempos. Muitas pesquisas estão sendo feitas para avaliar a eficácia das substâncias presentes nas plantas com fins terapêuticos. A má notícia é que uma parte dessas ervas medicinais, que em princípio podem ser consideradas terapêuticas, também podem causar efeitos indesejados, tóxicos e até mutagênicos. Devido a este fato, foi realizado o teste de mutagenicidade com a planta *Ginkgo biloba* por ser esta considerada medicinal e de amplo uso popular. As partes utilizadas são as folhas e as sementes. O Ginkgo tem ação preventiva e curativa contra as agressões endógenas e exógenas. Possui ação antiinflamatória e previne o envelhecimento. É estimulante da circulação sanguínea e permite a diminuição das desordens da memória, distúrbios de atenção, diminuição da capacidade auditiva e casos de vertigens. Para a análise desses efeitos, que indicam as modificações ocorridas no material genético celular, foi realizado um experimento usando como sistema teste animal, as células da medula óssea de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), tratados *in vivo* via gavagem, em tratamento agudo (24 horas). Foram utilizados cinco grupos de seis animais (3 machos e 3 fêmeas), tratados com uma solução em três concentrações da planta: 0,94; 1,88 e 2,83 mg/ml, e mais dois grupos controle, um positivo (tratado com ciclofosfamida) e outro negativo (com água). Para a análise do cálculo do índice mitótico foram observadas 100 metáfases por animal, totalizando 600 metáfases por grupo, avaliando aberrações cromossômicas com contagem de 5000 células por sexo, totalizando 10000 células por grupo. Neste experimento não foi observada alteração cromossômica estatisticamente significativa pelo teste do qui-quadrado, e nem no ciclo de divisão celular das células dos animais tratados com o medicamento Ginkgo em relação aos resultados obtidos para os controles.

016 - INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA DO MEDICAMENTO VITEX, USADO NO TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS HORMONAIIS FEMININOS

FERRARI, G. P.; VICENTINI, V. E. P. Investigação da atividade mutagênica do medicamento vitex, usado no tratamento de distúrbios hormonais femininos. *Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.*

Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Estadual de Maringá. gisele_ferrari@hotmail.com

Originária da Grécia e Itália, Vitex é uma planta conhecida desde a antiguidade, cuja bebida a base de suas sementes era usada para reduzir febres, cefaléia e promover a menstruação. Pesquisas clínicas, iniciadas na década de 50, estudaram os efeitos de Vitex no restabelecimento do equilíbrio dos níveis hormonais da glândula pituitária. Seu mecanismo de ação está relacionado com seu efeito estrogênico cujo sítio primário de atuação é o lóbulo anterior da glândula hipófise, inibindo o FSH, hormônio folículo estimulante, e aumentando a secreção de LH, hormônio luteinizante. A partir destas descobertas, Vitex tem sido tradicionalmente utilizado no tratamento de distúrbios hormonais femininos, na menopausa e climatério, por promover o restabelecimento do equilíbrio hormonal. Em busca desse equilíbrio, houve aumento no consumo de medicamentos como o Vitex, fazendo-se necessário a realização de testes de mutagenicidade, para saber se podem ou não acarretar alterações cromossômicas celulares. Foram feitos testes com ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), de aproximadamente 100g de peso corpóreo, para avaliar um possível efeito mutagênico do medicamento sobre as células da medula óssea. Os animais foram divididos em 3 grupos, ao primeiro foi dado água (controle negativo), o segundo foi tratado com ciclofosfamida (controle positivo) e o terceiro foi tratado com o medicamento Vitex. Os animais receberam três concentrações: 1,06; 2,12; 4,24 mg/ml. Para o teste foram usados seis ratos, três de cada sexo e tratados por 1 dia (tratamento agudo - 24 horas), via gavagem. O teste avaliou os efeitos da droga em nível cromossômico e sobre o ciclo de divisão celular. Foram analisadas 600 metáfases por grupo e o cálculo do índice mitótico foi de 10.000 células. Nos ratos tratados com Vitex não foram observadas alterações cromossômicas, estatisticamente significativas, pelo teste do Qui-quadrado e nem nos resultados do índice mitótico, comparado com os resultados para os ratos do controle negativo.

017 - ESTUDO DA AÇÃO MUTAGÊNICA DO ANTIINFLAMATÓRIO VIOXX, INDICADO NO TRATAMENTO DOS SINTOMAS DA ARTRITE, EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE RAIZ DE *Allium cepa*.

CANTAGALLI, L. B.; VICENTINI, V. E. P. estudo da ação mutagênica do antiinflamatório vioxx, indicado no tratamento dos sintomas da artrite, em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa*. *Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.*

Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Estadual de Maringá- UEM. e-mail: arbvepv@wnet.com.br

O Vioxx (rofecoxib, MSD) é um antiinflamatório inibidor específico da COX-2, enzima responsável pela produção de substâncias denominadas prostaglandinas, causadoras de inflamação. Por possuir ação específica, ao contrário dos antigos antiinflamatórios, tem ação mínima sobre os sistemas gástricos, intestinal, urinário e sobre as plaquetas. O Vioxx é indicado no tratamento de dores agudas e inflamações como no caso da artrite. A artrite é uma doença inflamatória, que atinge as articulações distais, causando dor, inchaço, calor e vermelhidão local. Devido ao fato da população idosa ter crescido, a procura de medicamentos para tratar esse tipo de doença vinculada também cresceu, tornando-se necessário testar o potencial mutagênico da droga em nível celular. Para este teste foram coletadas amostras de raízes de cebola no tempo de 0h, após 24h de tratamento e de recuperação em água. Foi feito também um grupo controle que permaneceu durante todo o tempo em água. As soluções tratamento foram feitas diluindo o conteúdo do comprimido em água nas seguintes concentrações: 0,018, 0,036 e 0,071mg/ml. Foram analisadas 1.000 células por bulbo, totalizando 5.000 por grupo de 5 cebolas, para o cálculo dos índices mitóticos e avaliação dos danos cromossômicos e citológicos ocorridos. A análise foi feita pelo teste do Qui-quadrado. Em todos os tratamentos feitos por 24h com as três concentrações do Vioxx houve uma diminuição da divisão celular, que foi normalizada pela recuperação. Não houveram alterações estatisticamente significativas nos índices de divisão celular, em relação aos dados obtidos para os respectivos controles no tempo de 0h. Também não houve diferença nos resultados após 24h de recuperação em água, em relação aos dados obtidos para o controle (0h) e o tratamento (24h), nas três concentrações do Vioxx.

17A - POLIMORFISMOS ISOENZIMÁTICOS DE FOSFATASE ÁCIDA EM TÉRMITAS SUBTERRÂNEOS DE MARINGÁ, PR

LOPES, D.A; RUVOLLO-TAKASUSUKI, M.C.C.; LAPENTA, A.S. Polimorfismos isoenzimáticos de fosfatase ácida em térmitas subterrâneos de Maringá, PR. *Arq. Apadec, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.*

Departamento de Biologia Celular e Genética – Universidade Estadual de Maringá. denise_uem@yahoo.com.br

Os térmitas estão amplamente difundidos no solo úmido das florestas, savanas e até em regiões áridas. Sua biomassa se aproxima a 10g/m². A abundância desses insetos está associada com a organização social e simbiose com microrganismos. Por apresentarem uma complexa organização social a estrutura de populações dos térmitas ainda não está completamente esclarecida. O estudo da variabilidade genética estimando-se o grau de polimorfismos isoenzimáticos presentes nos diferentes grupos de organismos, pode ser empregado para se entender a sua estrutura de população. Assim, o objetivo desse trabalho foi de estimar a variabilidade genética da fosfatase ácida (ACP) em térmitas subterrâneos de Maringá. Foram analisados eletroforéticamente soldados e operárias de 6 ninhos de térmitas subterrâneos da família Termitidae, das subfamílias Apicotermatinae e Nasutitermitinae (*Cornitermes cumulans* e *Diversitermes diversimiles*) coletados no Campus da Universidade Estadual de Maringá. Animais de cada ninho foram homogeneizados individualmente em 20µl de 2-mercaptoetanol 0,1% e submetidos a eletroforese em sentido horizontal em géis de amido de milho (14%) penetrose 50. O sistema tampão utilizado foi o Tris-HCl pH 7,5. Para a coloração foi empregado o substrato a-naftol fosfato (0,03g) em 0,5mL de cloreto de magnésio 1 M, tampão acetato de sódio 0,05M pH 5,5 e 0,04g de fast Garnet. As isozimas de fosfatase ácida apresentaram um alto grau de polimorfismo (66,7%), pois dos 6 locos observados 4 foram polimórficos. Não foram observadas variantes para os locos ACP-4 e ACP-5. Foram detectados 3 alelos para a ACP-2, ACP-3 e ACP-6; e 2 alelos para a ACP-1. O alelo de menor frequência ACP-2^c (0,055) e o de maior frequência foi ACP-3^a (0,76). A Heterozigosidade Média para essas isozimas foi de 0,1285, que pode ser considerada alta. O índice de fixação foi estimado em -0,7932 indicando que há excesso de heterozigotos, e provavelmente não há endocruzamentos.

17B - CARACTERIZAÇÃO DAS ESTERASES EM *Sitophilus sp* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE).

RISSATO, D.F.; LAPENTA, A.S. Caracterização das esterases em *Sitophilus sp* (Coleoptera: Curculionidae). *Arq. Apadec*, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

Dep. De Biologia Celular e Genética, DBC. Universidade Estadual de Maringá-UEM. aslapenta@uem.br

O *Sitophilus sp* é uma das maiores pragas de grãos sadios armazenados. Com ampla distribuição por todo o mundo, causa grandes prejuízos principalmente para estoques de milho, trigo e arroz, uma vez que larvas e adultos se alimentam de grãos. As esterases focalizadas neste trabalho, compreendem um grupo de enzimas que desempenham importantes funções nos insetos, dentre elas a regulação dos níveis de hormônio juvenil e a resistência a inseticidas. O presente trabalho tem por objetivo determinar os padrões de esterases em adultos deste inseto e verificar a existência de polimorfismo para esse sistema isoenzimático. Para tanto, foi empregada a técnica de eletroforese em gel vertical de poliacrilamida (11%) em um sistema descontínuo. Para obtenção das amostras, adultos foram homogeneizados em 25 ml de tampão Tris-HCl 0,1 M pH 8,8 com glicerol a 10% e centrifugados durante 30 minutos a 25000 rpm. Para identificação das esterases foram utilizados como corante o Fast Blue RR Salt e como substratos para a enzima o a- naftil acetato e o b- naftil acetato juntos e separadamente para verificar diferenças na afinidade por estes substratos. Em uma análise preliminar foi verificada a presença de 4 regiões esterásicas, denominadas como EST-1, EST-2, EST-3 e EST-4. Essas esterases provavelmente estão codificadas em 4 *loci* gênicos, sendo que, com exceção da EST-1, todas apresentam locos monomórficos. As enzimas EST-2 e EST-3 apresentam hidrólise preferencial pelo substrato a- naftil acetato, mas são capazes de hidrolisar o b- naftil acetato na ausência deste. As demais enzimas, são ab-esterases, isto é, hidrolisam ambos os substratos. As EST-1, 3 e 4, se encontram em todos os indivíduos analisados, enquanto a EST-2 encontra-se ausente em alguns deles. Esses resultados servirão de subsídios para análises futuras do envolvimento dessas enzimas na resistência aos inseticidas.

SEÇÃO: ENSINO

018 - PROJETO: RECICLAR É PRECISO

FREITAS, P.¹; PEREIRA, L.C.M.S.¹; OBARA, A.T.². - Projeto: Reciclar é Preciso. *Arq. Apadec*, Vol. 6 (Suplemento). Jul-dez., 2002.

¹Acadêmicas do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá - Maringá - PR. ²Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá - Maringá - PR. e-mail: atobara@uem.br.

O Projeto "RECICLAR É PRECISO" foi desenvolvido com alunos da 5ª série do ensino fundamental do Colégio Rodrigues Alves (Maringá - PR), durante o estágio supervisionado da disciplina Prática de Ensino de Ciências e Biologia II, do Curso de Ciências Biológicas, na Universidade Estadual de Maringá. O projeto teve como objetivo principal sensibilizar os alunos com relação à gestão inadequada do lixo e, também, desenvolver nos mesmos, atitudes e habilidades de ação e responsabilidade na resolução dos problemas decorrentes do lixo. Para desenvolver os conteúdos relacionados à temática foi utilizada uma metodologia participativa, onde os alunos colaboraram ativamente no processo de elaboração do projeto. Num primeiro momento, foram apresentados alguns filmes ("Boca de Lixo"; Dom Quixote - Reciclagem de Lixo; Lixo e Desperdício; O Planeta de Pipsqueak; Vira plástico; Reciclar) que desencadearam questionamentos, opiniões e vivências dos alunos sobre a questão do lixo. Numa segunda etapa, os alunos foram orientados a confeccionar cartazes e maquetes para desenvolver uma campanha educativa com as outras turmas da escola. Com base num questionário sobre os principais conceitos trabalhados, aplicado no início e no final do projeto, foi possível verificar uma porcentagem de acertos de 29,5% no primeiro questionário e de 83% no segundo questionário, evidenciando que os principais conceitos foram construídos pelos alunos. Na avaliação geral do projeto, concluímos que para que nosso trabalho alcance os objetivos propostos, deverá haver um comprometimento maior de toda comunidade escolar, dando continuidade às propostas iniciais, pois a mudança de atitudes e a participação efetiva dos alunos só será possível a partir de ações e reflexões coletivas.