

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
PPGBIOTEC

BIOTECNOLOGIA E MICROBIOLOGIA NA EDUCAÇÃO BÁSICA:
DESENVOLVIMENTO DE FERRAMENTAS PEDAGÓGICAS PARA
CONSCIENTIZAÇÃO SOBRE O IMPACTO DO ÓLEO DIESEL NA
DIVERSIDADE MICROBIANA DO SOLO

EMERSON DA SILVA OLIVEIRA

MANAUS

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
PPGBIOTEC

BIOTECNOLOGIA E MICROBIOLOGIA NA EDUCAÇÃO BÁSICA:
DESENVOLVIMENTO DE FERRAMENTAS PEDAGÓGICAS PARA
CONSCIENTIZAÇÃO SOBRE O IMPACTO DO ÓLEO DIESEL NA DIVERSIDADE
MICROBIANA DO SOLO

EMERSON DA SILVA OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia

ORIENTADOR: PROF^o. DR. EDMAR VAZ DE ANDRADE
COORIENTADORA: PROF^a. DR^a. ISABELLE BEZERRA CORDEIRO

MANAUS

2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

-
- O48b Oliveira, Emerson da Silva
 Biotecnologia e microbiologia na Educação Básica: desenvolvimento de
 ferramentas pedagógicas para conscientização sobre o impacto do óleo
 diesel na diversidade microbiana do solo / Emerson da Silva Oliveira. -
 2025.
 91 f. : il., color. ; 31 cm.
- Orientador(a): Edmar Vaz de Andrade.
 Coorientador(a): Isabelle Bezerra Cordeiro.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa
 de Pós-Graduação em Biotecnologia, Manaus, 2025.
1. Metodologias educacionais. 2. Impacto de hidrocarbonetos. 3.
 Diversidade bacteriana. 4. Biodegradação. I. Andrade, Edmar Vaz de. II.
 Cordeiro, Isabelle Bezerra. III. Universidade Federal do Amazonas.
 Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. IV. Título
-

EMERSON DA SILVA OLIVEIRA

BIOTECNOLOGIA E MICROBIOLOGIA NA EDUCAÇÃO BÁSICA:
DESENVOLVIMENTO DE FERRAMENTAS PEDAGÓGICAS PARA
CONSCIENTIZAÇÃO SOBRE O IMPACTO DO ÓLEO DIESEL NA DIVERSIDADE
MICROBIANA DO SOLO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia

Aprovado em 26 de junho de 2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Edmar Vaz de Andrade
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Edson Junior do Carmo
Universidade Federal do Amazonas

Profa. Dra. Maria Inês Braga de Oliveira
Universidade Federal do Amazonas

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por todas as coisas realizadas e planejadas para minha vida, bem como a Nossa Senhora, que roga por mim, nos momentos de aflição e desespero.

À minha família, em especial a minha amada mãe, Denise Laura Santos da Silva, e meu amado pai, Guaraci Lavor de Oliveira, que me ajudaram de todas as formas possíveis, dando total apoio aos meus objetivos. Também aos meus amados irmãos, sobrinhos, tios/tias e primos/primas que estão sempre ajudando e torcendo por mim.

Ao meu magnífico orientador, Dr. Edmar Vaz de Andrade, que demonstrou um apoio incondicional a essa conquista, além de ser como um segundo pai e amigo, aconselhando e acalmando este ser desesperado.

À minha querida e alegre coorientadora, Dr^a. Isabelle Bezerra Cordeiro por todos os ensinamentos e ajuda crucial nas etapas deste projeto.

Ao amigo e irmão de formação, Matheus Montefusco, que me incentivou e ajudou de todas as formas para que eu chegasse nesse nível acadêmico.

Aos amigos de laboratório, Betina Raquel e Luciano Alfaia por estarem comigo na execução e no apoio deste projeto. Aos amigos Genilton Cardenes, Waldomiro, André Vinícius, João Paulo, Paulo Ricardo e demais membros do laboratório de Proteômica da Ufam, por todo apoio necessário durante a execução deste trabalho e pela profunda amizade.

Ao Colégio Amazonense Dom Pedro II e seus funcionários que fizeram minha acolhida e auxiliaram-me na execução deste.

De modo saudoso e sentimental, aos meus avós José Dantas da Silva (*in memoriam*) e Anita Santos da Silva (*in memoriam*), que, em vida, sempre me incentivaram a seguir estudando e me esforçando no que fizer.

"Não deixe que ninguém tire a sua esperança."
Papa Francisco

RESUMO

A educação básica segue um tradicionalismo que, em muitos casos, impossibilita o avanço dos alunos em questões de formação e profissionalização. Uma das alternativas mais presentes neste novo modelo é o ensino profissionalizante e tecnológico, cuja principal modalidade é a dinamização dos conteúdos com o que se tem nos mais diversos mercados de trabalho. O ensino de microbiologia nas escolas públicas de ensino médio é frequentemente, negligenciado pela complexidade dos assuntos, mas principalmente, pela falta de alternativas didáticas experimentais que norteiam uma visão profissional. Diante dos fatos, este estudo tem como objetivo desenvolver metodologias didáticas para a educação básica utilizando como modelo o impacto do óleo diesel sobre a diversidade microbiana de solo. Para compreender o impacto do combustível, foi coletada amostra de solo no município de Iranduba e transportado ao Laboratório de Proteômica da UFAM, a fim de verificar a diversidade microbiana do solo. Tal solo foi submetido a tratamentos com solução PBS e solução PBS + 5% de óleo diesel. Observou-se que o diesel interferiu na diversidade bacteriana, o que nos leva a entender que o ambiente fica alterado e que o microbioma do solo é diretamente afetado pelos compostos químicos presentes. Ao mesmo tempo, visando a transposição didática e o processo de transformar o conhecimento científico em conhecimento escolar, alternativas pedagógicas baseadas em metodologias ativas de aprendizagem foram aplicadas com os alunos do 3º do ensino médio, seguindo a temática: microbiologia básica, combustíveis fósseis e biorremediação. Os estudantes apresentaram um grande interesse pela temática, na qual 96,4% dos alunos participantes classificaram as atividades com conceito “ótimo/bom”. Tais alunos ainda tiveram a oportunidade de conhecer os Laboratórios de Biofísica e o de Proteômica da Ufam, no intuito de incentivá-los a seguir a formação no nível superior. O presente estudo contribuiu com a formação de cidadãos que entendam o impacto dos combustíveis fósseis na natureza, principalmente na diversidade microbiana, além de conscientizar sobre a importância econômica do óleo diesel e os efeitos negativos do descarte de forma errada ou acidental, gera efeitos negativos à diversidade microbiana, que é fundamental para a ciclagem de nutrientes e ao meio ambiente. Aliado a essa conscientização, espera-se que o desenvolvimento de ferramentas pedagógicas proporcionou aos escolares um maior aprendizado e incorporação dos conceitos básicos.

Palavras chaves: Metodologias educacionais, Impactos de hidrocarbonetos, Diversidade bacteriana.

ABSTRACT

Basic education still follows a traditionalist model that, in many cases, hinders students' progress in terms of training and professional development. One of the most prominent alternatives in this new educational approach is vocational and technological education, which emphasizes the integration of academic content with real-world applications across various job markets. Microbiology teaching in public high schools is often neglected, primarily due to the complexity of the subject matter and the lack of experimental teaching alternatives that provide a professional perspective. In light of this, the present study aims to develop didactic methodologies for basic education using the impact of diesel oil on soil microbial diversity as a model. To assess the fuel's impact, a soil sample was collected in the municipality of Iranduba and transported to the Proteomics Laboratory at UFAM to analyze its microbial diversity. The soil was treated with PBS solution and PBS solution containing 5% diesel oil. It was observed that diesel interfered with bacterial diversity, indicating that the environment is altered and that the soil microbiome is directly affected by the chemical compounds present. Simultaneously, to enable didactic transposition and the transformation of scientific knowledge into school-level knowledge, pedagogical alternatives based on active learning methodologies were applied with 12th-grade students. The activities followed themes such as basic microbiology, fossil fuels, and bioremediation. The students showed great interest in the topic, with 96.4% of participants rating the activities as “excellent/good.” These students also had the opportunity to visit the Biophysics and Proteomics Laboratories at UFAM, with the goal of encouraging them to pursue higher education. This study contributed to the formation of citizens who understand the environmental impact of fossil fuels, particularly on microbial diversity, and raised awareness of the economic importance of diesel oil and the negative effects of improper or accidental disposal, which harms microbial diversity—essential for nutrient cycling and environmental balance. In addition to raising awareness, it is expected that the development of pedagogical tools enhanced students' learning and the assimilation of basic concepts.

Keywords: Educational methodologies, Hydrocarbon impacts, Bacterial diversity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Nenhuma entrada de sumário foi encontrada.	
FIGURA 2 – Fluxograma das etapas experimentais realizadas para diversidade bacteriana e diversidade bacteriana cultivável	29
FIGURA 3 – Desenho experimental das etapas realizadas nas amostras de solo tratadas com PBS e com PBS + 5% de diesel	29
FIGURA 4 – Esquema representativo do vetor de clonagem pGEM-T	33
FIGURA 5 – Estratégia pedagógica das atividades realizadas com os alunos do Colégio Amazonense Dom Pedro	38
FIGURA 6 – Efeito do óleo diesel no rendimento de DNA total de solo	40
FIGURA 7 – Padronização dos procedimentos para extração de DNA total do solo	41
FIGURA 8 – Validação das bibliotecas de DNA para amplificação do gene 16S rRNA (DBT e DBC)	42
FIGURA 9 – Perfil eletroforético da amplificação adicional do gene 16S rRNA por PCR das extrações do solo, da diversidade bacteriana total (DBT) e diversidade bacteriana cultivável (DBC).	43
FIGURA 10 – Placas com transformantes e recombinantes para DBC-PBS e DBC diesel	44
FIGURA 11 – Perfil eletroforético da extração plasmidial para DBT	45
FIGURA 12 – Perfil eletroforético da extração plasmidial para DBC	46
FIGURA 13 – Perfil eletroforético do sistema de digestão para DBC e DBT	47
FIGURA 14 – Árvore filogenética das bactérias identificadas	50
FIGURA 15 – Gráficos de barra da frequência relativa dos termos taxonômicos para o subgrupo das amostras DBT-Total; DBT-PBS; DBT-D; DBC-PBS e DBC-D	51
FIGURA 16 – Representação em grafos de variantes de sequência de amplicon (ASV's) únicas e compartilhadas. Dados filtrados de acordo com a taxa de incidência e prevalência	53
FIGURA 17 – Efeito do óleo diesel sobre a diversidade bacteriana de solo. Diluição 10^{-8} DBC e DBC-D (A); diluição 10^{-9} DBC e DBC-D (B)	53
FIGURA 18 – Repique de placas grid 50 cultivadas em 24h. Colônias da DBC (P1 e P2); colônias da DBC-D (P3 e P4)	54
FIGURA 19 – 1- Colônias que cresceram em meio LB e meio BH/5% de óleo diesel; 2 – Colônias que cresceram em meio LB, mas não cresceram em meio BH; 3 - colônias sem crescimento bacteriano nos meios LB e BH (3)	55
FIGURA 20 – Micrografia das colônias que cresceram nos meios LB e BH + 5% de óleo diesel	55
FIGURA 21 – Análise da degradação de diesel com indicador DCPIP	56
FIGURA 22 – Palestra sobre os combustíveis fósseis, microbiologia e biorremediação para os alunos do 3º ano do ensino médio	57
FIGURA 23 – Aplicação do questionário utilizando a ferramenta <i>PLICKERS</i> (1 e 2)	58

FIGURA 24 – Estudantes jogando o baralho das formas bacterianas	59
FIGURA 25 – Estudantes jogando o jogo do tabuleiro	59
FIGURA 26 – Nesse sentido, como você avalia essa temática?	60
FIGURA 27 – Qual a relevância das discussões para sua formação?	60
FIGURA 28 – A atividade introduziu novos conceitos a sua formação?	61
FIGURA 29 – Qual a importância do tema para a formação do aluno?	61
FIGURA 30 – Impacto do óleo diesel na diversidade bacteriano do solo teve sua avaliação geral.	62
FIGURA 31 – Visita dos alunos participantes aos laboratórios de Biofísica	63
FIGURA 32 – Visita dos alunos participantes aos laboratórios de Proteômica	63
FIGURA 33 – Avaliação dos alunos quanto a apresentação dos laboratórios	64
FIGURA 34 – Referente as aulas sobre vidrarias e Pipetagem	64
FIGURA 35 – Referente a metodologia aplicada no Laboratório de Biofísica	65
FIGURA 36 – Referente a aula de plaqueamento no laboratório	65
FIGURA 37 – Relevância da atividade com o tema: O impacto do óleo diesel na diversidade bacteriana do solo.	66
FIGURA 38 – Referente a metodologia aplicada no Laboratório de Proteômica	66
FIGURA 39 – Introdução de novos conceitos a partir das visitas aos laboratórios da Ufam	67
FIGURA 40 – Quanto a motivação dos alunos ao visitarem os laboratórios	67
FIGURA 41 – Material de apoio ao docente e discente do ensino médio, com a temática do projeto e uma introdução aos principais pontos de abordagem do nosso trabalho	68

LISTAS DE TABELAS

TABELA 1 - Reação de PCR para amplificação do gene 16S rRNA a partir do DNA genômico proveniente das amostras DBC e DBC-D.	31
TABELA 2 – Parâmetros de ciclagem para a amplificação do gene 16S rRNA das amostras DBC e DBC-D por PCR	32
TABELA 3 – Sistema de digestão para o vetor pGEMT+16S	35
TABELA 4 – Quantificação da amplificação do DNA das amostras SOLO, DBT, DBT-D, DBC e DBC-D. T	42
TABELA 5 – Total de colônias transformantes e recombinantes	44
TABELA 6 – Total de colônias transformantes e recombinantes para DBT	45
TABELA 7 – Quantificação de resultado de extração de DNA plasmidial DBT.	46
TABELA 8 – Quantificação de resultado de extração de DNA plasmidial DBC	47
TABELA 9 – Resultado do sequenciamento da DBT PBS	48
TABELA 10 – Resultado do sequenciamento da DBT diesel	49
TABELA 11 – Resultado do sequenciamento da DBC diesel.	49
TABELA 12 – Contagem das UFC's em 0,25 g de solo sob os tratamentos com solução PBS e PBS+5% de óleo diesel	53
TABELA 13 – Caracterização morfológica das colônias isoladas	55

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 EDUCAÇÃO BÁSICA E A EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA	17
2.2 IMPORTÂNCIA DA EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA NO CONTEXTO DO AMAZONAS	18
2.3 MÉTODOS DIDÁTICOS E INOVAÇÃO PARA MELHOR FORMAÇÃO DOS DISCENTES	18
2.4 O ENSINO DE MICROBIOLOGIA E A BIORREMEDIAÇÃO	20
2.5 MÉTODOS DE DESCONTAMINAÇÃO PARA PRODUTOS DO PETRÓLEO	21
2.6 A IMPORTÂNCIA DOS COMBUSTÍVEIS FÓSSEIS E DO DIESEL	24
2.7 USO DE MICRORGANISMOS EM BIORREMEDIAÇÃO	25
3. OBJETIVOS	28
3.1 GERAL	28
3.2 ESPECÍFICOS	28
4 MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 COLETA DE SOLO	29
4.2 ANÁLISE DA DIVERSIDADE MICROBIANA	29
4.2.1 TRATAMENTO DO SOLO (DBT E DBC)	30
4.2.2 VALIDAÇÃO DAS BIBLIOTECAS OBTIDAS	31
4.2.2.1 AMPLIFICAÇÃO DA REGIÃO GÊNICA CODIFICADORA DO 16S rRNA	31
4.2.2.2 CLONAGEM DE 16S rRNA NO VETOR pGEM-T	32
4.2.2.3 TRANSFORMAÇÃO BACTERIANA POR ELETROPORAÇÃO	34
4.2.2.4 EXTRAÇÃO DNA PLASMIDIAL	34
4.2.2.5 ANÁLISE DA VARIABILIDADE DOS CLONES POR PERFIL DE RESTRIÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA	34
4.2.3 ANÁLISE DA VARIABILIDADE DAS BIBLIOTECAS POR NGS – ILLUMINA	36
4.2.4 MORFOLOGIA DAS LINHAGENS HIDROCARBONOCCLÁSTICAS	36
4.2.5 ANÁLISE DA DEGRADAÇÃO DO DIESEL COM INDICADOR DCPIP	37
4.3 APLICAÇÃO DE METODOLOGIA VOLTADA PARA O PÚBLICO DO ENSINO MÉDIO	38

4.3.1 REALIZAÇÃO DE PALESTRAS E ATIVIDADES PRÁTICAS EDUCATIVAS NA ESCOLA E NOS LABORATÓRIOS	38
4.3.2 IMPLEMENTAÇÃO DE FERRAMENTAS PEDAGÓGICAS PARA APOIO AO ENSINO DE MICROBIOLOGIA	39
5 RESULTADOS	40
5.1 PADRONIZAÇÃO EXPERIMENTAL PARA OBTENÇÃO DE DNA DE SOLO (DBT E DBC)	40
5.2 VALIDAÇÃO DA BIBLIOTECA	42
5.2.1 AMPLIFICAÇÃO DA REGIÃO GÊNICA 16S rRNA (DBT E DBC)	42
5.2.2 CLONAGEM DO GENE 16S rRNA NO VETOR PGEM-T	43
5.2.3 EXTRAÇÃO DO DNA PLASMIDIAL DA DBT	45
5.2.4 EXTRAÇÃO DO DNA PLASMIDIAL DA DBC	46
5.2.5 ANÁLISE DA VARIABILIDADE POR PERFIL DE RESTRIÇÃO	47
5.2.6 ANÁLISE DA VARIABILIDADE POR SEQUENCIAMENTO DA REGIÃO GÊNICA 16S rRNA (DBT E DBC)	48
5.3 ANÁLISE DA VARIABILIDADE POR SEQUENCIAMENTO DA REGIÃO GÊNICA 16S rRNA (DBT E DBC) POR NGS	51
5.4 SELEÇÃO DE BACTÉRIAS HIDROCARBONOCLÁSTICAS	52
5.5 ANÁLISE DA DEGRADAÇÃO DE DIESEL COM O INDICADOR DCPIP	56
5.6 RESULTADO DA EXPERIÊNCIA COM O ENSINO MÉDIO	57
6 DISCUSSÃO	69
7 CONCLUSÃO	73
8 REFERÊNCIAS	74
9 APÊNDICES	80

1. INTRODUÇÃO

A educação está em constante aprimoramento e métodos que otimizam a aprendizagem vêm sendo desenvolvidos. No contexto da inovação educacional, nota-se que a biodiversidade amazônica representa um vasto campo para o desenvolvimento de ferramentas pedagógicas nas etapas da formação educacional. Tal modelo se associa à sustentabilidade e estabilidade deste bioma, representando um equilíbrio entre a sociedade e o meio ambiente. É notório que nesses novos tempos, a floresta Amazônica vem sendo atacada e devastada e, infelizmente, muito ocorre devido às sérias problemáticas que norteiam as questões ambientais e de manutenção de um importante bioma chamado Amazônico.

Diante das constantes e destacadas problemáticas, bem como as deficiências no que tange à educação pública, o presente trabalho teve como objetivos desenvolver metodologias didáticas para a educação básica utilizando como modelo o impacto do óleo diesel sobre a diversidade microbiana de solo. E com esses temas em estudo (metodologias pedagógicas e meio ambiente) contribuir mutuamente para o desenvolvimento da compreensão e aprimoramento de cada um dos temas de estudo, a fim de propor novos planos educacionais a médio e longo prazo.

No Amazonas, o uso de combustíveis é indispensável devido às locomoções por um estado com ampla extensão territorial. São muitos meios de transportes que existem e que utilizam dos mais diferentes compostos, dentre os quais o óleo diesel é destacado. Vale ressaltar que estamos falando da região com maior bacia hidrográfica do mundo, sendo recortada por rios e, por esse motivo, o transporte fluvial é o predominante na região.

No eixo central do estudo, buscou-se observar o efeito do combustível sobre a diversidade microbiana, em amostras de solo coletadas e cultivadas em laboratório, onde a diversidade bacteriana cultivável foi observada no antes e após a exposição ao óleo diesel. Por meio dos resultados, em conjunto com discentes do ensino médio, associamos a importância de se manter o ambiente equilibrado e destacar a importância deste para os assuntos que envolviam microbiologia e meio ambiente. Outro importante aspecto, foi que este estudo, realizado no laboratório, possibilitou o isolamento de novas cepas bacterianas resistentes aos componentes tóxicos do óleo diesel. Estas estirpes enriqueceram a coleção de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos derivadas de combustíveis fósseis em análise pelo grupo de pesquisa Proteômica e Bioprospecção no Amazonas/UFAM.

Estudos mostram que o uso de microrganismos tem sido apresentado como uma excelente alternativa para a recuperação de ambientes contaminados. E foi por meio destas afirmações que buscamos elucidar alternativas metodológicas educacionais à exposição de microrganismos presentes na região Amazônica e com alta capacidade de degradação de compostos hidrocarbonados, a ponto de representar um impacto positivo para o desenvolvimento de ferramentas para a recuperação de ambientes contaminados por petróleo e derivados.

É de importante explanação que, como as colônias bacterianas possuem baixo tempo de geração, também formas e cores distintas facilmente visualizadas, essa pesquisa sobre o impacto destes poluentes na diversidade microbiana realizada no laboratório, incrementou ferramentas metodológicas direcionadas para o ensino, proporcionando a ampliação de conhecimentos na área de microbiologia e biodegradação, já que possibilitou utilizá-lo como ferramenta pedagógica, aprimorando, portanto, os métodos didáticos utilizados.

Ademais, esse trabalho demonstrou relevância, em virtude da grande necessidade de preservação do meio ambiente, já que promoveu a compreensão dos impactos causados pelo óleo diesel. A pandemia intensificou uma defasagem educacional nos ensinos de biologia, cada dia mais visível. Neste projeto, buscou-se promover o desenvolvimento de ferramentas didáticas visando integrar o ensino em suas diferentes vertentes, em uma visão omnilateral. Teve como base a demonstração experimental dos efeitos do óleo diesel sobre a comunidade bacteriana, promovendo um novo alento às questões ambientais e que envolve a recuperação e manutenção do equilíbrio na biodiversidade Amazônica.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 EDUCAÇÃO BÁSICA E A EDUCAÇÃO PROFISSIONAL TECNOLÓGICA

O sistema educacional é marcado pelas circunstâncias sociais e históricas do contexto no qual se insere, influenciando e sendo influenciado. No que concerne à educação profissional e tecnológica (EPT), sua estrutura vem sendo aperfeiçoada para atender às necessidades sociais e empresariais, preparar profissionais que possam estabelecer novas relações e empregar seus conhecimentos de forma criativa e inovadora (PETEROSSY E MENINO, 2017; CORDÃO E MORAES, 2020). Tal fato mostra que as alternativas implementadas por esse modelo, proporcionam uma maior autonomia de conhecimento, favorecendo o crescimento dos discentes e maior dedicação por parte do docente.

O Ministério da Educação (2020) aponta que a modalidade educacional EPT, prevista na Lei nº 9.394/1996, contribui para inserção e atuação no mundo do trabalho e na vida em sociedade. Ou seja, no cenário de desemprego, ela é reconhecida como um caminho para obtenção de uma oportunidade de emprego, manutenção ou recolocação no mercado.

Cordão e Moraes (2020) abordam que a educação, historicamente, teve diversas influências ao longo do tempo. Entre elas, formação para atender o modelo de desenvolvimento econômico e produtivo, formação com foco no mercado de trabalho, formação humanista e formação contínua do trabalhador. Cordão e Moraes (2020) reforçam ainda que como a organização do trabalho no país é baseada em um modelo colonialista e escravocrata, cuja alfabetização era restrita às elites, a EPT foi vista como de menor importância por muito tempo. Dado o fato de que a EPT promove uma nova ideia metodológica nos ensinamentos, ela merece reconhecimento pela simples ideia de proporcionar uma alternativa a mais, a um mercado de trabalho muito mais seletivo e perfeccionista.

2.2 IMPORTÂNCIA DA EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA NO CONTEXTO DO AMAZONAS

É importante ressaltar que a revolução industrial impôs ao mercado de trabalho um nível mínimo de qualificação geral, influenciando diretamente o currículo da escola elementar. Esse período determinou a exigência de qualificações específicas, surgindo, assim, cursos profissionalizantes para atender a essa necessidade, os quais foram estabelecidos sobre uma base comum às escolas de formação geral e às escolas profissionais, evidenciando a separação entre instrução e trabalho produtivo (SOUZA, 2012). Segundo Moura (2007, p.8), a revolução

industrial trouxe mudanças significativas no que tange à estrutura educacional, proporcionando um novo olhar a respeito da educação voltada a tecnologia e a formação do profissional do amanhã.

Na lei de diretrizes e bases (LDB) da educação nacional (BRASIL, 1996), a educação brasileira foi estruturada em dois níveis – educação básica e educação superior, sendo, pois, a educação profissional apenas uma modalidade de ensino no qual, no artigo 40 do capítulo III, estabelece que a educação profissional será desenvolvida em articulação com o ensino regular ou por diferentes estratégias de educação continuada, em instituições especializadas ou no ambiente de trabalho. Ou seja, a educação profissional está estabelecida na LDB de forma bastante implícita. Porém, vale ressaltar que o Decreto nº 5.154/04 trouxe significativa contribuição, a possibilidade de integrar o ensino médio à educação profissional técnica de nível médio.

Para Sousa (2012), a educação profissional técnica de nível médio está fincada em princípios norteadores para sua efetivação, articulando a formação e a preparação para o trabalho, objetivando uma formação omnilateral do indivíduo, tendo como base o trabalho como princípio educativo, indissociável da relação teórico-prática, levando em consideração a especificidade de cada educando. Ofertando assim uma formação que atenda a sua necessidade.

A formação omnilateral, por sua vez, evidencia o trabalho em seu papel formativo que, quando ligado à instrução, supera o seu sentido ontológico e vai além, traz nesse processo o caráter político discutido por Marx em seu sentido histórico, sinalizando um profundo processo que engloba o trabalho em seu sentido social e político. Nesse sentido, a proposta acaba sendo uma possibilidade de articulação entre trabalho e formação humana, superando assim a percepção de sociedade de classe, já que o trabalho passa a ser visto como princípio educativo (ARAÚJO; RODRIGUES, 2010).

Nessa mesma perspectiva omnilateral, a formação deve superar a educação adaptativa ao modelo de produção econômica vigente pois, a educação do capital, que forma para o mercado de trabalho e para a valorização do capital, é antagônica aos processos de valorização humana (ARAÚJO; RODRIGUES, 2010). Segundo Manacorda (2010) a omnilateralidade nada mais é do que o desenvolvimento total, completo, multilateral, em todos os sentidos, das faculdades e das forças produtivas, das necessidades e da capacidade da sua satisfação.

A concepção de integração requer o currículo integrado para a efetivação. Nessa perspectiva, Ramos (2009) propõe que para alcançar os objetivos, é necessária uma construção

coletiva tendo princípios como a integração dos conhecimentos gerais e específicos, considerando-os em sua totalidade, em uma visão da interdisciplinaridade, trabalhando um currículo integrado relacionado à práxis humana, reconhecendo desse modo o homem como um ser histórico-social.

Quanto aos cursos superiores de nível tecnológicos, estes seguem as Diretrizes Curriculares Nacionais (BRASIL, 2002), na qual estabelece que, o curso superior de tecnologia deve contemplar a formação de um profissional apto a desenvolver, de forma plena e inovadora, atividades em uma determinada área profissional, devendo ter formação específica para aplicação e desenvolvimento de pesquisa e inovação tecnológica; difusão de tecnologias; gestão de processos de produção de bens e serviços; desenvolvimento da capacidade empreendedora; manutenção das suas competências em sintonia com o mundo do trabalho e desenvolvimento no contexto das respectivas áreas profissionais.

Assim, torna-se extremamente viável a implantação e os ajustes educacionais nos modelos desenvolvidos no Amazonas, já que em muito se trata de uma educação tradicional, na qual não aprimora as qualidades dos estudantes e muito menos os prepara para uma vida mais complexa fora do ambiente escolar. Isso se reflete, segundo Manacorda (2010), na luta por uma formação omnilateral que se sobressai a uma escola unitária, visando uma educação que busca propiciar ao educando o acesso aos conhecimentos construídos historicamente pela sociedade, dando alternativas de escolhas para a construção de uma formação para a vida, constituindo a sua autonomia por meio dessa integração.

2.3 MÉTODOS DIDÁTICOS E INOVAÇÃO PARA MELHOR FORMAÇÃO DOS DISCENTES.

É totalmente compreensível que os métodos a serem adotados demandam muito do tipo de formação dos docentes e, até mesmo, a melhor forma como apresentam os conteúdos. Partindo de uma premissa analítica, Pantoja (2019) relata que se pode compreender a educação com a requisição de uma aprendizagem significativa, na qual seja contextualizada e orientada para o uso das tecnologias, sendo assim, favorável ao uso intensivo dos recursos da inteligência e que gere habilidades para resolver problemas e conduzir projetos nos diversos segmentos do setor produtivo. Como contraponto, Pantoja (2019) reforça que, para alcançar tais objetivos, o saber voltado à EPT deve estar cada vez mais distante da aprendizagem tradicional, uma vez que deverá estar fundamentada em metodologias ativas nas quais o aluno seja o protagonista do ensino.

Os cursos superiores de tecnologia têm características específicas por ter o objetivo de propiciar um conhecimento que permita a interação de forma direta com as empresas, formar profissionais com currículos especializados, que integre a teoria e prática, capaz de operacionalizar na prática funções de forma significativa. O grande complicador está no tempo, pois toda essa formação deve ser realizada em um período de dois anos. Para tanto, a formação do professor dos Cursos Superiores de Tecnologia deve perpassar por uma mobilização dos saberes nas ações dos docentes, desde a inicial e necessariamente à continuada, o que deve ser constituída por diversos saberes que vão se aperfeiçoando na docência, saberes variados aos conhecimentos pedagógicos inerentes ao fazer profissional docente (NASCIMENTO, 2013).

Moura (2006) relata que a formação dos docentes gira em torno de dois grandes eixos – um refere-se à área específica do conhecimento e o outro concerne à formação didático-político-pedagógica e às especificidades inerentes ao âmbito da EPT. Tais eixos promovem assim, uma melhor articulação entre a teoria e a prática, voltados a essa modalidade de ensino.

A escola, nessa perspectiva, tem o grande desafio de integrar os diversos saberes na prática, auxiliando o professor na busca de um domínio e integração para proporcionar ao educando uma formação omnilateral, um sujeito que em seu desenvolvimento profissional alcance todas as dimensões em seu âmbito: intelectual, físico, emocional, social e cultural, ensinando-os ainda para o mundo do trabalho em uma perspectiva crítico – reflexiva (PANTOJA, 2019).

Os saberes que permeiam a formação de professores exigem uma reflexão sobre o ato complexo de ensinar, já que ultrapassa qualquer domínio de conteúdo, abarcando inúmeros outros saberes. Tal afirmação deve se interligar aos planos em que a equipe pedagógica e a própria escola delineiam e para tanto, devemos levar em conta o contexto complexo e real no qual o ensino evolui, senão os saberes isolados corresponderão à formalização de um ofício que não existe (GAUTHIER, 2013).

Para Kuenzer (2007), o profissional de EPT deverá ter uma formação que contemple três dimensões. Primeiramente, é necessário conhecer o contexto de atuação profissional e como ele se apresenta; na segunda dimensão sublinha a importância de se ter clareza das especificidades da educação profissional em questão; e, como um terceiro ponto, ainda salienta que é preciso levar em conta as pesquisas já realizadas sobre a pedagogia do trabalho para então serem consideradas nos programas de formação de professores da EPT.

Machado (2008) defende que o perfil do professor para atuar na educação profissional e tecnológica requer uma compreensão do mundo do trabalho e um olhar sensível para entender as relações que envolvem as modalidades, níveis e instâncias educacionais, conhecimento da sua profissão, de suas técnicas, bases tecnológicas e valores do trabalho, bem como dos limites e possibilidades do trabalho que o docente realiza e precisa realizar.

Para Pantoja (2019), o educador, nesse contexto educacional, necessita assumir uma postura crítica reflexiva, certo da sua responsabilidade social. Sua prática deve estar pautada em conhecimento específico de sua área, em uma perspectiva político-pedagógica, relacionando essas esferas em um único processo de formação, que forneça aos professores os meios de um pensamento autônomo que facilite as dinâmicas de autoformação participada. Atrelada a esses fatores, o ensino de microbiologia deve estar diretamente voltado a essas perspectivas, porém a ausência de laboratórios nos espaços educacionais, deixam este ensino cada vez menos interessante.

2.4 O ENSINO DE MICROBIOLOGIA E A BIORREMEDIAÇÃO

A ciência é uma estrutura de conhecimento que representa a compreensão atual dos sistemas e processos naturais pelo qual esse conhecimento foi estabelecido, a ser continuamente aumentado, refinado e revisto. Ao aprender ciência, é preciso entender tanto a estrutura do conhecimento quanto o processo pelo qual esse conhecimento é estabelecido, ampliado, refinado e revisto (National Research Council, 2007). Os projetos de ciência poderão constituir uma estratégia de ensino, ou seja, uma organização ou arranjo sequencial de ações, ou atividades de ensino, que serão utilizadas durante um intervalo de tempo e com a finalidade de conduzir os alunos a realizarem determinadas aprendizagens (Heintschel, 1986).

Lehmann et al. (2008), descreveram uma nova abordagem para o desenvolvimento sustentável em estudos de engenharia: a aprendizagem baseada em problemas e projetos. Tal fato promove o núcleo dessa abordagem, que tem suas origens na Universidade de Aalborg na Dinamarca, sendo foco usar o professor como o facilitador do processo de aprendizagem, ajudando os estudantes a aplicarem o conhecimento teórico a problemas práticos. E isso está associado também ao ensino, não somente de Microbiologia, mas, em geral.

Para Kimura (2013), o ensino da microbiologia carece de propostas inovadoras para incrementar o ensino exaustivamente expositivo que é observado em muitas escolas. A carência de aulas onde a microbiologia está diretamente relacionada ao cotidiano estudantil tende a

comprometer a aprendizagem desse conteúdo. Essa autora reforça ainda que, faz-se necessário o desenvolvimento de estratégias que auxiliem o professor na tarefa de estimular os estudantes para o conhecimento dos microrganismos, bem como sua relação com a vida cotidiana que possibilita o despertar do aluno para a conscientização da aplicabilidade desta ciência.

Em 2011, Berbel já alertava sobre a necessidade de uma modificação nas metodologias de ensino utilizadas na educação pública para o uso de novas abordagens metodológicas, preocupadas em desenvolver o pensamento crítico dos estudantes. As metodologias ativas, segundo este autor, fazem que o estudante consiga desenvolver sua capacidade de buscar de forma autônoma o conhecimento, e utilizar procedimentos básicos de investigação para construção do conhecimento científico, visando à constituição de cidadãos ativos, bem instruídos e capacitados para o desenvolvimento de uma lógica científica na resolução de problemas e a aplicação do conhecimento adquirido para o benefício mútuo.

Como forma de incentivar o conhecimento das técnicas de biorremediação em sala de aula, os autores Afzal et al. (2017), incluem esse método como uma produção de menor custo, de fácil disponibilidade para tratar grandes volumes de águas residuais devido a cinética rápida e alta seletividade em termos de remoção e recuperação de metais específicos. Já que na biorremediação, segundo Andrade et al. (2010), a limpeza pode ocorrer *in situ*, ou seja, no próprio local, o que elimina o transporte de resíduos perigosos e custos de responsabilidade; conta com os processos de biodegradação endógenos que podem ser mais rápidos e menos onerosos. Assim, a biorremediação torna-se ampla e requer uma maior dedicação, além da disponibilidade em ser abordada e discutida em sala de aula. Há outros métodos que podem ser utilizados para descontaminar ambientes posteriormente contaminados por produtos do petróleo.

2.5 MÉTODOS DE DESCONTAMINAÇÃO PARA PRODUTOS DO PETRÓLEO

Para o processo de descontaminação de determinado substrato derivado ou constituído por petróleo, é necessário realizar métodos de extração desse produto ou dos derivados com o auxílio de técnicas que são tradicionais ou atuais, como a biorremediação. Vale ressaltar que essas técnicas já são utilizadas há tempos e por isso é importante compreender os fundamentos delas.

Um dos métodos utilizados é a biodegradação, com a utilização de uma população ou comunidade de microrganismos capazes de metabolizar a molécula original bem como os

respectivos produtos gerados. Segundo Gaylarde et al. (2005), não existem, na biosfera atual, rotas enzimáticas catabólicas capazes de degradar todos os compostos novos que a cultura humana sintetizou durante os últimos 100 anos. Alguns xenobióticos podem ser biodegradados por microrganismos que possuam enzimas capazes de catabolizar moléculas específicas, ou mesmo pela ação de consórcios microbianos, em que cada espécie atua individualmente sobre diferentes etapas do processo de biodegradação.

Para Crapez et al. (2002), a maior parte dos compostos de petróleo é biodegradável, no entanto, o restante (de 10 % a 40 %), em estado bruto ou refinado, é recalcitrante. Mesmo tratando-se de uma porção menor, deve-se ressaltar que isto representa toneladas de poluentes impactando ecossistemas e sendo bioacumulados e biomagnificados na cadeia trófica. O destino destes compostos, após um derrame, irá depender da interação, entre vários fatores, podendo se destacar a degradação microbiana.

A foto-oxidação é um dos principais métodos de associação à degradação e mudança composicional do óleo bruto uma vez este é lançado no meio ambiente. A radiação solar que corresponde à faixa do ultravioleta (≈ 190 a 400 nm), seguida da faixa de luz visível (≈ 440 a 700 nm) é responsável por modificar as propriedades físicas e químicas dos hidrocarbonetos que compõem o óleo bruto (THOMINETTE et al., 1984). Santos et al., (2015) apresentam dois mecanismos que levam à degradação foto-oxidativa de óleos brutos, que são: mecanismos de reação em cadeia de radicais livres e oxigênio singlete.

As reações em cadeias de radicais livres ocorrem apenas na presença de hidrogênios subtraídos dos hidrocarbonetos presentes no óleo, os quais foram inicialmente sensibilizados pela radiação solar. O radical hidrocarboneto resultante dessa sensibilização reage com o oxigênio formando espécies radicalares muito reativas, os quais sofrem outras reações, gerando por fim compostos oxigenados, tais como aldeídos, cetonas e ácidos (SANTOS et al., 2015).

Outro método importante de descontaminação, sendo este o mais atual, é a biorremediação, que é uma técnica de remediação biológica bastante empregada para amenizar ou eliminar os impactos gerados por contaminantes hidrocarbonetos de cadeias longas e de difícil remoção em maioria, o petróleo e derivados. Dentre os processos utilizados na técnica de biorremediação podem ser citadas a bioventilação, bioaumentação e bioestimulação (QUINTELHA, 2019).

Mesmo com um cenário de utilização favorável, o Brasil ainda continua realizando estudos, com poucas aplicações efetivas ou em larga escala, se comparado a países que possuem

números expressivos de trabalhos e patentes relacionados a esta área, além de possuir uma baixa produtividade científica na temática.

Existem diversos tipos de biorremediação e cada técnica é aplicada à necessidade do problema, ao tipo de contaminante e ao ambiente impactado. O sucesso da biorremediação independe do local da aplicação da técnica (“*in situ*” ou em “*ex situ*”), mas requer controle do processo (BOHRER, 2012).

Uma das técnicas de biorremediação mais utilizadas é a injeção mecânica, que, segundo Tomassoni et al. (2014), baseia-se na adição de oxigênio no solo impactado para aumentar ou estimular o crescimento microbiano natural ou introduzido. A quantidade de oxigênio molecular, segundo o mesmo autor, está relacionada com o potencial de biodegradação de diferentes compostos. Essa técnica tem como características a minimização da extração de vapores, o emprego de equipamentos simples e de fácil aplicabilidade em locais de difícil acesso e com limitação da baixa taxa de umidade. Esse método é eficiente no tratamento de qualquer contaminante degradável em meio aeróbico, particularmente na remediação de solos contaminados por hidrocarbonetos de petróleo. É utilizada principalmente para tratar biodegradação aeróbia de contaminantes, como os compostos orgânicos voláteis e não-clorado, sendo mais recomendada para locais onde ocorreu a liberação de compostos com peso molecular médio (diesel) (LIMA, 2010; EPA, 2006).

A bioaugmentação é outra técnica na qual ocorre pela adição de microrganismos específicos em regiões impactadas, adaptados em laboratório às condições ambientais. Ao usar essa técnica, faz-se a avaliação dos microrganismos presentes no ambiente, identificando-se os degradadores de óleo. Em seguida, a partir de biorreatores, estimula-se em laboratório o crescimento microbiano das espécies de interesse e, posteriormente, injeta-se um conjunto de microrganismos no local contaminado com o objetivo de estimular ou acelerar a biodegradação com a intensificação da população microbiana e, também, a otimização do ambiente contaminado. Essa técnica é usada quando o local contaminado não apresenta uma carga microbiana adequada para que o processo ocorra de forma satisfatória (LIMA, 2010).

A bioestimulação é a aceleração da reprodução microbiana e de suas atividades metabólicas, pela adição de oxigênio, água e nutrientes ao meio ambiente contaminado (ROSA, 2001). A bioestimulação de populações de microrganismos autóctones com o objetivo de aumentar as taxas de biodegradação é frequentemente empregada em projetos de biorremediação. Para se utilizar o processo de bioestimulação, deve-se demonstrar que existe

no local contaminado uma população de microrganismos capaz de biodegradar os contaminantes presentes e que as condições ambientais são insuficientes para se obter altas taxas de atividade microbiológica (LIMA, 2010). Importante destacar que o petróleo e seus derivados são contaminantes altamente agressivos, porém são produtos que ainda apresentam um poder econômico em diversos países, tornando-o necessário para o mercado energético.

2.6 A IMPORTÂNCIA DOS COMBUSTÍVEIS FÓSSEIS E DO DIESEL

Entende-se atualmente que, boa parte da população mundial ainda necessita de um determinado tipo de energia para dar funcionalidades a maquinários que servem de movimentação e que favorecem a geração de empregos, talvez até certos confortos ou comodismos à sociedade atual. Tal suprimento deriva de combustíveis fósseis que são uma das principais fontes energéticas onde o petróleo é o mais conhecido. Hannick (2005), estabelece que os combustíveis fósseis podem ser definidos como depósitos de hidrocarbonetos a partir da decomposição de uma grande quantidade de matéria orgânica que foi comprimida durante anos. Segundo este autor, há outras definições que abordam sobre o conjunto de carbono presente nesse combustível, mas que todas norteiam o mesmo significado.

Os combustíveis fósseis são encontrados em três tipos: carvão, gás natural e petróleo. Este último foi caracterizado principalmente como um líquido escuro e de cheiro marcante composto por petróleo bruto, gás natural em solução e hidrocarbonetos com uma grande proporção de carbono (CALHAU et al., 2011; SUZUKI; REZENDE, 2013; FIGUEIRAL, 2011). E um dos importantes combustíveis, derivados do petróleo, é o diesel que apresenta maior utilidade atualmente, muito pelo fato de que, segundo Soares e colaboradores (2017), é o principal componente utilizado no transporte rodoviário de passageiros, produtos industriais e na produção agrícola no Brasil, com uma finalidade energética nos motores de combustão.

O óleo diesel é composto principalmente por uma mistura complexa de hidrocarbonetos parafínicos, naftênicos, olefínicos e aromáticos, variando de 8 a 28 átomos de carbono e, em menor concentração substâncias contendo oxigênio, nitrogênio, enxofre e metais (AMARAL et al. 2016; Nespeca et al. 2018). O volume comercializado em 2019 foi de aproximadamente 57,3 milhões de m³ de diesel (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2020). Tal complexidade gera danos ao meio, quando derramados de forma incorreta. Uma das alternativas de reduzir esses danos está com a utilização de agentes biodegradadores.

2.7 USO DE MICRORGANISMOS EM BIORREMEDIAÇÃO

A contaminação proveniente de compostos hidrocarbonetos gera impactos severos ao meio ambiente, e a melhor forma de mitigar esses impactos é implementar técnicas viáveis, menos agressivas e mais econômicas. Sabe-se que o uso de microrganismos como ferramentas para a remediação de ambientes contaminados é chamado de biorremediação que, segundo Varjani (2017), apresenta alguns gêneros, conhecidos da literatura, que são capazes de degradar solos contaminados, tais como: *Rhodococcus* spp., *Stenotrophomonas* sp., *Halassolituus* sp., *Aspergillus* sp., *Candida* sp., *Penicillium* sp., *Pseudozima* sp., *Acinetobacter* sp., *Archaeoglobus fulgidus*, *Aromatoleum aromaticum*, *Bacillus* spp., *Halomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhodococcus* sp., e *Sphingobacterium* sp.

Entre as biotecnologias utilizadas para a recuperação de áreas contaminadas, os microrganismos eficientes (EM), do inglês *Efficient Microorganisms*, foi uma tecnologia desenvolvida pelo Dr. Teruo Higa da Universidade de Ryukus de Tóquio no Japão - consistem em um consórcio de microrganismos que, quando coexistem, apresentam um efeito sinérgico com intensidade maior que a soma dos membros individuais, podendo, entre tantas aplicações, solucionar problemas ambientais. (Bonfim et al. 2011; Higa & Paar, 2013)

Cotta et al. (2020), endossam que a biorremediação também é uma alternativa atraente para descontaminação de solos, demonstrando assim sua ampla utilização. Varjani e colaboradores (2017), reforçam que este processo pode ser realizado por meio de um ou mais consórcios microbianos, indígenas ou não, para a degradação de contaminantes orgânicos poluentes.

A biodegradação de poluentes de hidrocarbonetos de petróleo emprega as atividades catalíticas enzimáticas para aumentar a taxa de degradação de poluentes e o processo de biodegradação. Assim, os microrganismos obtêm energia ou assimilam os hidrocarbonetos de petróleo na biomassa celular (VARJANI et al., 2017). Desta forma, ganham energia durante a degradação do poluente e obtêm carbono, um componente essencial de todos os constituintes celulares. Portanto, o processo é energeticamente favorável (ABBASIAN et al., 2015). Tais agentes atenuam, degradam ou reduzem os poluentes orgânicos perigosos para compostos inofensivos como CO₂, CH₄, H₂O e biomassa sem afetar negativamente o meio ambiente (RON, ROSENBERG, 2014).

Os microrganismos desempenham um papel essencial em importantes ciclos biogeoquímicos em quase todos os ambientes e formam a espinha dorsal da maioria dos ecossistemas (VARJANI et al., 2017). Os microrganismos respondem de forma diferente a

vários tipos de estresse e podem adquirir aptidão em ambientes poluídos. Adicionalmente, este processo pode ser otimizado pela aplicação de técnicas de engenharia genética (MEGHARAJ et al., 2011).

Para ocorrer a biodegradação de hidrocarbonetos é indispensável que haja a ocorrência de uma reação de oxirredução em que os hidrocarbonetos são oxidados por serem doadores de elétrons, com isso os aceptores de elétrons são reduzidos. Vários compostos podem atuar como aceptores de elétrons, incluindo o oxigênio molecular (O_2), nitrato (NO_3^-), óxido de ferro (Fe_2O_3), sulfato (SO_4) (MARIANO et al., 2007).

Segundo Guerin (2000), convém manter o solo saturado e a taxa de umidade para que haja maior eficiência no processo de biorremediação. O teor de umidade aumenta a degradação de poluentes, além de favorecer o transporte de poluentes e dos produtos degradados (MICHELS et al., 2000).

A temperatura afeta o estado físico dos hidrocarbonetos presentes no local poluído e os microrganismos que os consomem (CHANDRA et al., 2013). Além disso, afeta a taxa de crescimento e metabolismo microbiano, solubilidade dos gases, matriz do solo, estado físico e químico de contaminantes (MEGHARAJ et al., 2011). No processo de biorremediação, é de extrema importância, pois o calor que é gerado pelo metabolismo microbiano é aprisionado na matriz do solo em biodegradação (MEGHARAJ et al., 2011).

Quanto aos possíveis resultados de patentes, houve o aumento a partir da década de 1990, principalmente sobre as que envolvem os produtos de biorremediação, sendo explicado pelos acidentes ambientais envolvendo petróleo, sobretudo o que ocorreu no Golfo Pérsico durante a guerra do Golfo, em 1991. O impacto ambiental resultante do derramamento do petróleo no mar foi avaliado por vários estudos que visaram, sobretudo, a biorremediação dos compostos liberados pelo derrame (BAYAT et al., 2015; HASSANSHAHIAN et al., 2012).

A Ambiem Ltda Brasil de Lauro de Freitas-BA (2017) elaborou um produto, o EM-1®, um líquido em suspensão homogênea de cor marrom e odor agridoce, com uma massa específica média de $1,02 \text{ g/cm}^3$, com o pH variando de 3,0 a 3,5 e uma concentração superior a $4 \times 10^3 \text{ UFC/mL}$. Esse produto é oriundo do processo de biorremediação, capaz de eliminar odores e promover a decomposição rápida de matéria orgânica por meio de fermentação, ao acelerar a quebra de compostos como proteínas, açúcares, gorduras, minerais e até mesmo fibras, com exclusão competitiva de microrganismos que provocam ineficiência do sistema. A empresa ressalta ainda que outra forma do produto agir é por meio da produção de substâncias

bioativas benéficas que promovem enzimas, ácidos orgânicos, aminoácidos e antioxidantes melhorando a saúde do meio. Esse consórcio de EM, facultativamente, pode atuar aerobiamente ou anaerobicamente.

Porém, se observar o mapeamento patentário (Fig 02 e 03) realizado por Macedo et al. (2015) no período de 1982 a 2012 revelou que os Estados Unidos, a China e o Japão são os países a apresentar o maior número de patentes publicadas relacionadas às tecnologias na área de biorremediação. Os dados obtidos por Macedo et al. (2015) já indicavam que o Brasil não aparecia entre os dez principais países depositantes. Isso talvez explique o motivo de não haver muita procura por essa tecnologia no mercado brasileiro. Dado se confirma em uma pesquisa feita em 2023, pela World Intellectual Property Organization (WIPO).

Figura 1 - Países com maior número de patentes registradas.

Origin	2022	2023 Estimate
Total	277,632	272,600
China	70,017	69,610
United States of America	58,823	55,678
Japan	50,351	48,879
Republic of Korea	22,023	22,288
Germany	17,469	16,916
France	7,761	7,916
United Kingdom	5,716	5,586
Switzerland	5,446	5,382
Sweden	4,481	4,323
Netherlands (Kingdom of		

Fonte: World Intellectual Property Organization (WIPO), 2023

Diante das problemáticas existentes no ensino básico, esse trabalho está entrelaçado a compreensão da defasagem educacional nos ensinamentos de biologia, bem como proporcionar um novo desenvolvimento e aplicação de ferramentas didáticas que visam integrar o ensino em suas diferentes vertentes, tendo como base a demonstração experimental dos efeitos do óleo diesel sobre a comunidade bacteriana, e seus efeitos diretos no equilíbrio da Biodiversidade Amazônica.

3. OBJETIVOS

3.1 GERAL

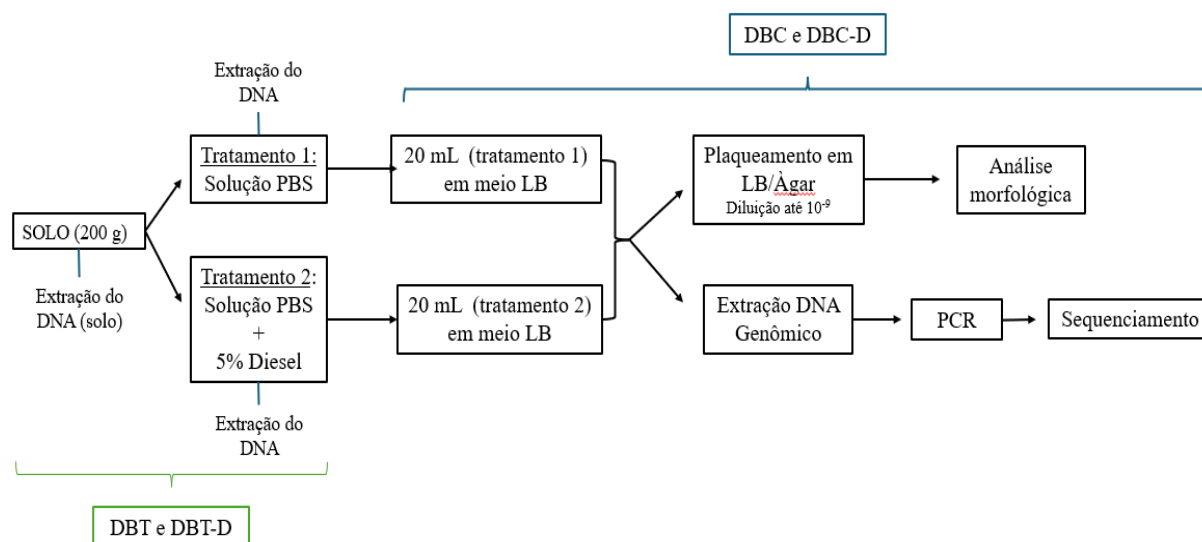
Desenvolver e aplicar metodologias didáticas interdisciplinares voltadas à Educação Básica, utilizando o impacto do óleo diesel sobre a diversidade microbiana do solo como modelo temático para promover a compreensão sobre contaminação ambiental, biodiversidade e sustentabilidade

3.2 ESPECÍFICOS

- Comparar a diversidade bacteriana total e cultivável de solo antes e após exposição ao óleo diesel.
- Obter um consórcio bacteriano degradador de óleo diesel a partir da microbiota de solo.
- Realizar palestras e oficinas de práticas educativas com discentes do ensino médio, elaboradas de acordo com a proposta curricular, utilizando a microbiologia básica e o impacto do óleo diesel sobre a diversidade bacteriana como modelo.
- Produzir um material didático abordando sobre a microbiologia básica, os combustíveis fósseis e o impacto do óleo diesel na diversidade bacteriana, que será disponibilizado para que possa ser aproveitado pelos discentes e docentes da educação básica e EPT.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Figura 2: Fluxograma das etapas experimentais realizadas para diversidade bacteriana total e diversidade bacteriana cultivável.



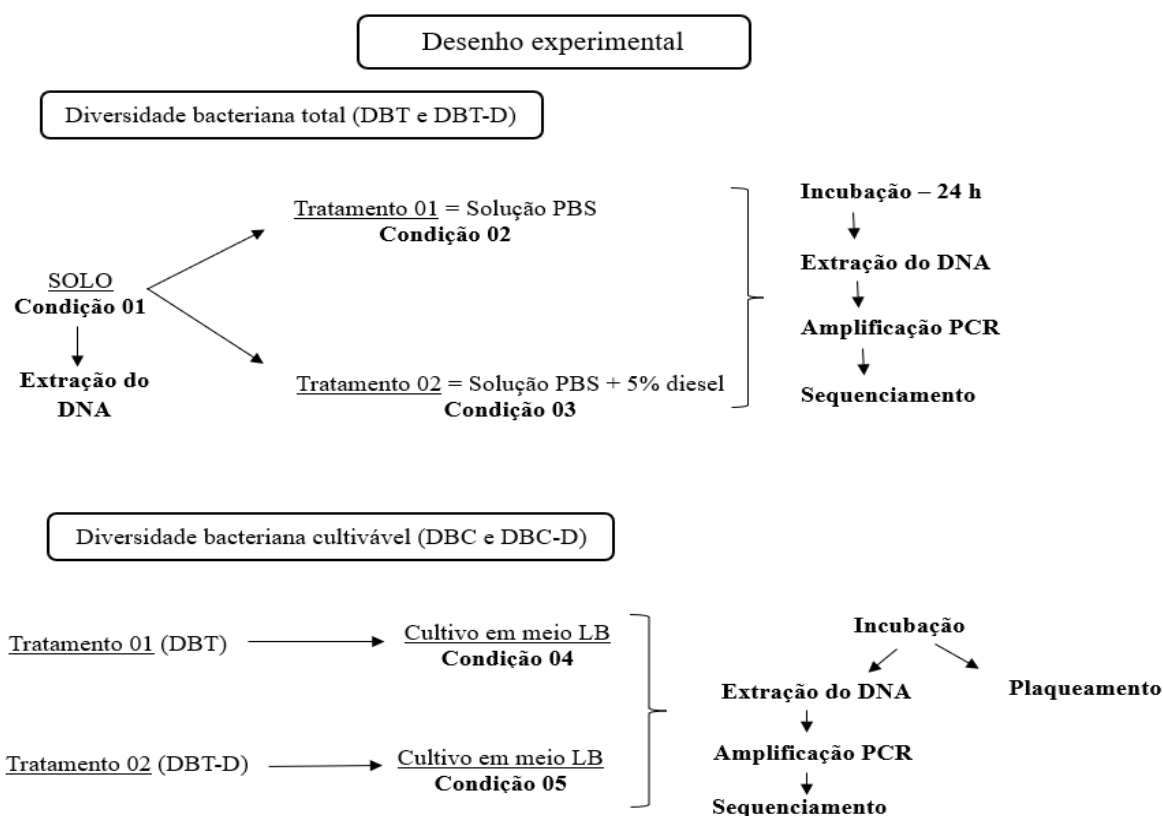
Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

4.1 COLETA DE SOLO

As amostras de solo foram coletadas em uma área situada no município de Iranduba-AM (3°15'51.6"S 60°10'40.1"W). Tal escolha foi fundamentada no baixo nível de interferência humana sobre o solo, já que se trata de uma área habitada, mas que não há qualquer tráfego de veículos; além de buscar garantias de um solo sem contato com diesel ou outros compostos. Coletou-se em dois pontos selecionados aleatoriamente, e, para tal coleta, foi retirado cerca de, aproximadamente, 200 g de solo, livre de folhas e demais detritos vegetais, na profundidade aproximada de 10 cm. Este substrato foi acondicionado em sacos plásticos *Ziplock*, mantidos em caixa de isopor contendo *gelox* e levados imediatamente para o Laboratório de Proteômica-Universidade Federal do Amazonas, onde foram armazenados a temperatura de 4° C.

4.2 ANÁLISE DA DIVERSIDADE MICROBIANA

Figura 3: Desenho experimental das etapas realizadas na amostra de solo tratado com PBS e com PBS + 5% de diesel.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

4.2.1 TRATAMENTO DO SOLO (DBT e DBC)

Extração de DNA total (DBT) – Bibliotecas de diversidade total

O solo foi utilizado para extração de DNA total em três condições distintas: 1) sem nenhum tratamento prévio (DBT), 2) tratado com 2 mL de PBS (DBT/PBS) e, 3) tratado com 1,9 mL de PBS e 100 µL de óleo diesel (DBT/D) (para concentração final 5%). Para ambos os tratamentos (2 e 3) o solo foi incubado em tubos de vidro sob agitação de 150 rpm/30° C por 24 h; estas amostras foram utilizadas tanto para a extração de DNA total quanto para o isolamento de bactérias cultiváveis. Para todos os procedimentos foram utilizados 0,25 g do solo. Para a padronização, dois *kits* comerciais para extração de DNA ambiental de solo foram testados: o kit *TIANamp Soil DNA Kit*, (TIANGEN) e o kit *Fast DNA™ SPIN Kit for Soil* (MPBio Biologia Molecular). O período de armazenamento do solo (recém coletado e com dois meses de armazenamento a 4° C) também foi avaliado. Na padronização, o efeito do óleo diesel no rendimento de extração de DNA foi avaliado nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5%. A extração de DNA total foi realizada conforme instruções dos fabricantes. Os DNAs extraídos foram armazenados a -20° C. A qualidade do DNA foi analisada por eletroforese em gel de agarose 0,8 %.

Extração de DNA de bactérias cultiváveis (DBC) – Biblioteca da diversidade cultivável

Para observar a diversidade bacteriana cultivável, a partir do solo tratado com PBS e com PBS/diesel descritos no item anterior, 20 µL foram transferidos para tubos de vidro contendo 2 mL de meio Luria Bertani (LB) mantidos sob agitação de 150 rpm/30° C por 24 h. As culturas, identificadas respectivamente por DBC/PBS e DBC/D, foram utilizadas para extração de DNA e para análise de morfologia de bactérias.

O DNA genômico de bactérias cultiváveis foi obtido utilizando o kit *Bacteria DNA Preparation kit* (Cellco), conforme instruções do fabricante. Após a extração, os DNAs extraídos foram armazenados a -20° C. A qualidade do DNA foi analisada por eletroforese em gel de agarose 0,8 %.

4.2.2 VALIDAÇÃO DAS BIBLIOTECAS OBTIDAS

4.2.2.1 AMPLIFICAÇÃO DA REGIÃO GÊNICA CODIFICADORA DO 16S rRNA

A realização da amplificação da região gênica codificadora do rRNA 16S (região V3-V4; 465 pb) se deu pela reação em cadeia da polimerase (PCR), na qual utilizou-se o par de iniciadores referentes a região de interesse (16S 400 F: 5'-ACTCCTACGGRAGGCAGCAG - 3'; 16S 400 R: 5'GGGACTACCAGGGTATCTAAT -3'). Foram utilizados o DNA genômico das amostras extraídas da diversidade bacteriana total (DBT e DBT-D) e do cultivo bacteriano DBC e DBC-D. O produto de amplificação foi analisado por eletroforese em gel de agarose 0,8 %. A composição e as condições das reações estão descritas nas tabelas 1:

Tabela 1 - Reação de PCR para amplificação do gene 16S rRNA a partir do DNA genômico proveniente das amostras DBC e DBC-D.

Reagentes do sistema	Quantidade adicionada para cada amostra
Água deionizada	15,8 µL
Tampão 10 X com MgCl ₂	2,5 µL
dNTPs (2,5mM)	2,5 µL
Iniciador Foward (5 pmoles/µL)	1,0 µL
Iniciador Reverso (5 pmoles/µL)	1,0 µL
Taq polymerase (5U/µL)	0,2 µL
DNA (10 a 30 ng/µL)	2,0 µL
Volume total	25 µL

Tabela 2 - Parâmetros de ciclagem para a amplificação do gene 16S rRNA das amostras DBC e DBC-D por PCR.

Passo	Temperatura (° C)	Evento	Tempo
1	94° C	Desnaturação inicial	2 min
2	94° C	Desnaturação	40 seg
3	58° C	Anelamento dos iniciadores ao DNA molde	40 seg
4	72° C	Elongação pela DNA polimerase	2 min
5	72° C	Elongação final pela DNA polimerase	5 min
6	4° C	Término da reação	Tempo indeterminado
25 ciclos dos passos 2,3 e 4.			

4.2.2.2 CLONAGEM DE 16S rRNA NO VETOR pGEM-T

Para cada biblioteca de diversidade gerada, os amplicons foram purificados a partir de gel de agarose utilizando o ReliaPrep da Promega, conforme instruções do fabricante. Cada amplicon foi então quantificado em fluorômetro Qubit e utilizado para clonagem no vetor pGEM-T Easy (Promega), conforme instruções da fabricantes, utilizando-se a proporção 3:1 (inserto:vetor).

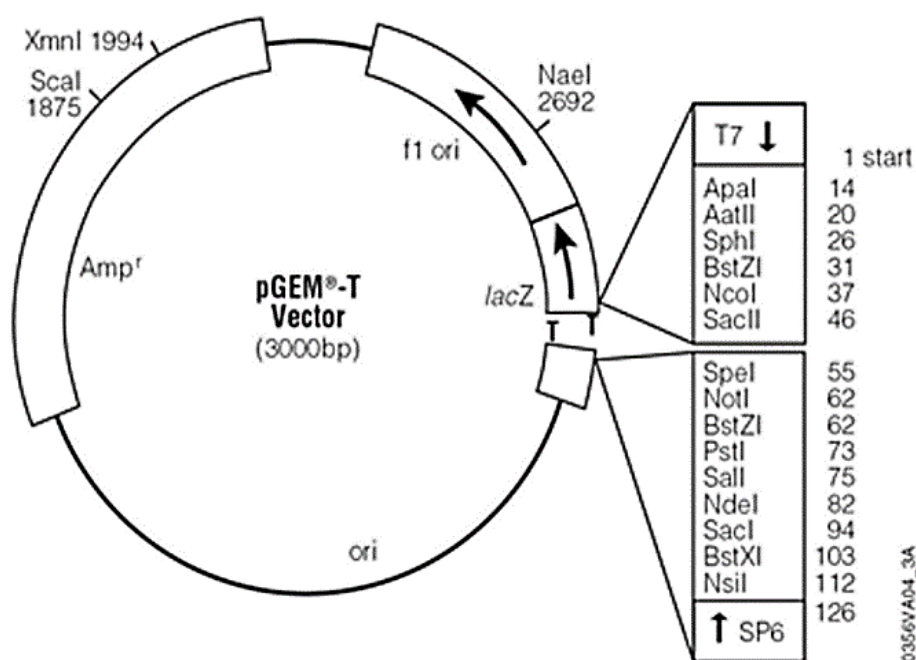
A purificação dos amplicons foi realizada utilizando a reação de PCR, onde esta foi submetida a passagem em uma minicoluna para a retirada de todas as impurezas que pudessem interferir em processos posteriores. Em primeiro momento, 25 µL da reação foi adicionada em uma minicoluna inserida em um tubo de coleta, o sistema foi centrifugado por 30 segundos, a coluna foi removida para o conteúdo restante no interior do tubo ser descartado. Posteriormente, adicionou-se 200 µL de solução de lavagem na minicoluna e o material foi centrifugado por 15

segundos. Deu-se continuidade ao processo de lavagem através da adição de 300 μ L de tampão B e uma nova centrifugação por 15 segundos. A minicoluna foi retirada do tubo e o conteúdo deste foi descartado. Em seguida a minicoluna foi novamente colocada sobre o tubo de coleta e foi repetida a última lavagem. Por fim a minicoluna foi submetida a uma nova centrifugação por 1 minuto e posteriormente transferida para o tubo de eluição. Adicionou-se 15 μ L de água livre de nuclease em seu centro e posteriormente centrifugou-a por 30 segundos. O conteúdo restante no tubo de eluição consistiu no DNA genômico purificado.

Ligação dos fragmentos ao vetor pGEM-T

Os genes provenientes da amplificação do gene 16S rRNA, purificados, foram inseridos ao vetor pGEM-T (Figura 4), que é um vetor específico para clonagem de produtos de PCR que foram amplificados por enzimas termoestáveis, as quais acrescentam um nucleotídeo de adenosina nas extremidades 3'OH dos amplicons. Dessa forma, o vetor tem como características principais a sua comercialização na forma linear, a presença de um nucleotídeo de timina nas suas extremidades 3'OH, um sítio *polylinker* inserido no gene que produz a enzima β -galactosidase (*LacZ*), onde o gene a ser clonado será inserido, inativando a expressão do gene, além de uma origem de replicação (*ori*) f1 e uma região com gene de resistência a Ampicilina (*AmpR*).

FIGURA 4: Esquema representativo do Vetor de clonagem pGEM-T



4.2.2.3 TRANSFORMAÇÃO BACTERIANA POR ELETROPORAÇÃO

Para este processo, foram utilizados 100 μL de células eletrocompetentes de *E. coli* da linhagem XL1-Blue, que é uma cepa conhecida por ser uma ótima hospedeira para clonagem que utiliza vetor de plasmídeo ou lâmbda, pois elas não possuem uma endonuclease, o que faz com que haja uma maior qualidade de DNA e são deficientes de recombinação, permitindo que se tenha uma melhor estabilidade do inserto. De cada biblioteca da diversidade foram utilizados 2 μL do sistema de ligação pGEM-T/16S rRNA para a transformação.

Estes foram colocados em um tubo de 1,5 mL, misturando com movimentos circulares para que não houvesse estresse das células e danos na sua membrana. O conteúdo do tubo foi transferido para uma cubeta, a qual foi inserida no eletroporador, este equipamento emite um pulso elétrico, de até 1900 volts por cerca de 2 milissegundos, permitindo que haja um aumento na permeabilidade da membrana.

O volume da cubeta foi transferido para um tubo de 1,5 mL. A cubeta foi lavada com 600 μL de meio LB, tendo o cuidado de colocar o meio em uma extremidade da abertura da cubeta e retirando lentamente na extremidade oposta, repetindo o processo três vezes. Estes tubos foram incubados por 1 hora na estufa a 37° C.

Após o término da incubação, foi preparado o meio seletivo, constituído de 120 mL de meio LB ágar, 240 μL de X-gal, 240 μL de ampicilina e 60 μL de IPTG, o qual foi distribuído em seis placas de Petri. Foram retiradas as alíquotas de 200 μL e 300 μL do sistema de transformação e cultivados no meio seletivo.

Foram preparadas três para DBT e DBC. As placas foram incubadas na estufa por ~ 22h a 37° C.

4.2.2.4 EXTRAÇÃO DE DNA PLASMIDIAL

As colônias selecionadas durante o processo de transformação bacteriana foram cultivadas em 5 mL de meio LB durante 24 h e usadas para extração plasmidial. Foi utilizado o *Fast-n-Easy Plasmid Mini-Prep* da Cellco®, de acordo com as instruções do fabricante. A quantificação de DNA foi realizada a partir de método fluorimétrico, por meio do *Qubit*®.

4.2.2.5 ANÁLISE DA VARIABILIDADE DOS CLONES POR PERFIL DE RESTRIÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA

Para o sistema de digestão das amostras (DBC/PBS = 10 clones; DBC/PBS com diesel = 10 clones; DBT/PBS = 6 clones; DBT/PBS com diesel = 5 clones), foi realizada com os seguintes componentes (Tabela 3):

Tabela 3 - Sistema de digestão para o vetor pGEMT+16S

	Quantidade para 1 amostra	Mix (31 amostras + 1)
DNA	5,0 µL	-
Tampão 10X	1,0 µL	32 µL
EcoRI	0,5 µL	16 µL
H₂O	3,5 µL	112 µL
Total	10,0 µL	160 µL

O mix foi preparado para as amostras adicionando em um tubo de 1,5 µL, o tampão, a água e por último a enzima, deixando o sistema em gelo. Nos microtubos identificados para cada amostra, foram adicionados 5,0 µL do DNA referente a amostra, depois foram adicionados 5,0 µL do mix em cada microtubo com o DNA plasmidial. Logo, os microtubos com o sistema de digestão foram incubados a 37° C por 2h e, em seguida, foi feita a eletroforese em gel de agarose a 1,5 %, com corrida de 70 V por 1 h 30. Logo após, foi feita a visualização no transiluminador.

Os clones obtidos de cada biblioteca foram avaliados quanto a variabilidade também por sequenciamento de DNA, utilizando a metodologia de Sanger. Os iniciadores utilizados foram o T7 (5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3') e o SP6 (5'-ATTGAATTTAGGTGACACTATAG-3'), que se anelam no vetor pGEM-T em regiões que flanqueiam o fragmento gênico clonado. Para cada clone foram realizadas duas reações de sequenciamento, uma com cada iniciador. Após análise por ferramentas de bioinformática, a qualidade das sequências geradas foi avaliada utilizando o domínio <http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph/>. Foram selecionadas as sequências equivalentes as amostras *Forward* (iniciador SP6) e *Reverse* (iniciador T7), para a obtenção dos contigs de cada amostra. Posteriormente, foi feito o alinhamento das sequências no banco de dados do NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

4.2.3 ANÁLISE DA VARIABILIDADE DAS BIBLIOTECAS POR NGS - ILLUMINA

Para este sequenciamento, foi utilizado o DNA total obtido de cada biblioteca de diversidade (DBT-PBS, DBT-PBS/D, DBC-PBS e DBC-PBS/D). O sequenciamento das bibliotecas, assim como análise por bioinformática, foram realizadas pela empresa BPI Biotecnologia considerando os seguintes parâmetros descritos a seguir. O relatório da qualidade do sequenciamento foi gerado pelo programa *FastQC* v0.11.9. O processamento das leituras (reads) brutas foi realizado utilizando o *software* Trimmomatic v0.39. As configurações foram ajustadas para importação de dados pair-end, remoção das 15 primeiras bases, remoção de reads com qualidade média inferior a Q20 (Phred Score, 1% de chance de erro) e comprimento mínimo de 230 pares de base. O processo de *merge* foi aplicado utilizando o programa FLASH v1.2.11. Os dados processados foram importados pelo programa QIIME 2 v2024.2.0. Foi aplicado algoritmo Dada2 para a etapa de *denoise-single*. Foi estabelecido profundidade de amostragem de 25000. A classificação taxonômica dos dados foi realizada utilizando a base de dados SILVA para 16S V3-V4 (silva138_AB_V3-V4_classifier) aplicando o procedimento classify-sklearn. A árvore filogenética foi construída com método align-to-tree-mafft-fasttree. A diversidade alfa foi avaliada utilizando estimativas dos índices: Ace, Chao1, Simpson, Faith's PD, Evenness, Shannon e o número de features observadas. Para a diversidade beta. Foram utilizadas as métricas: Bray-Curtis, Euclidean, Jaccard e as distâncias ponderadas e não ponderadas do Unifrac. A análise de rarefação e estimativas de parâmetros alfa forma realizadas com a profundidade de amostragem descrita. A análise de redes foi realizada utilizando o pacote igraph v2.1.4 para R. Os resultados foram processados utilizando a IDE Rstudio (versões Ocean Storm) para linguagem R (versão 4.4.1). Figuras e gráficos foram obtidos pela interface online view.qiime2.org ou gerados utilizando o pacote ggplot2 (metapacote tidyverse) para R.

4.2.4 MORFOLOGIA DAS LINHAGENS HIDROCARBONOCCLÁSTICAS

Das culturas referentes ao DBC e DBC-D, retirou-se uma alíquota de 100 µL e foram feitas diluições seriadas, em meio LB, na ordem de 10^{-1} até 10^{-9} . Das três últimas diluições, 100 µL foram semeados em placas de Petri (150 mm) contendo meio LB/água. As placas foram incubadas à 30° C por 24 h. Em seguida, foi feita a contagem da quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC). As colônias foram selecionadas de acordo com a sua morfologia. Coletou-se 100 colônias da DBC e 100 colônias da DBC-D, que foram transferidas, para novas placas contendo LB/água.

Após o período de cultivo das 200 colônias selecionadas (100 de DBC e 100 de DBC-D) retirou-se cinco colônias de cada morfotipo e fez um pré-inóculo em tubos de ensaio contendo 2 mL de meio LB e 2 mL de meio BH/diesel (5 %). Amostras que apresentaram crescimento simultâneo nos meios acima citados, foram selecionadas, e aquelas cujo crescimento foi observado apenas em meio LB, foram descartadas. Cada colônia selecionada foi então preservada em tubos de criopreservação contendo meio BH/ágar/diesel (5 %) e mantidas em temperatura ambiente.

As linhagens selecionadas por utilizar diesel como fonte de carbono foram novamente cultivadas em meio LB, para realizar a coloração de Gram. As colônias isoladas foram então fixadas por calor em lâminas de vidro (76x26 mm), seguido de coloração com violeta genciana por aproximadamente 15 s e logo após, lavagem com água destilada. Em seguida, as lâminas foram cobertas com lugol por 1 min, seguido de nova lavagem com água destilada. As lâminas foram então descoradas com acetona (50 % v/v), seguido por lavagem com água destilada. Para finalizar, foi feita coloração com fucsina por 30 s. As lâminas foram então lavadas com água destilada e secas à temperatura ambiente.

4.2.5 AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO DIESEL COM INDICADOR DCPIP

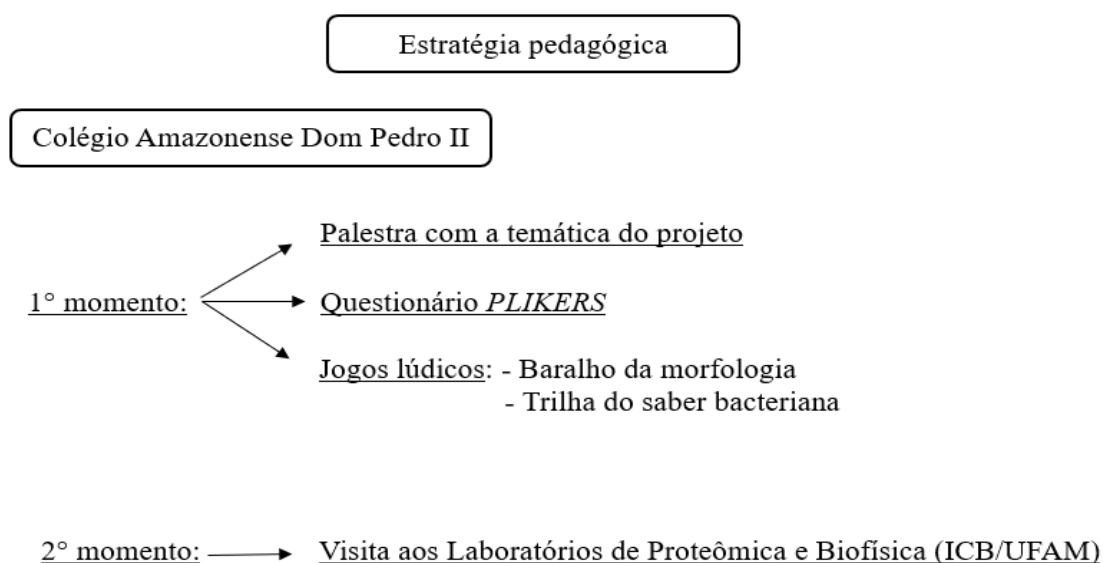
Para confirmar a capacidade dos consórcios bacterianos de utilizarem o diesel como fonte de carbono e energia empregou-se a técnica do indicador redox 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP) (Hanson et al., 1993). Para esta fase experimental, o pré-inóculo das colônias isoladas foram cultivados em 2 mL de BH/diesel 5% a 30 °C e 150 rpm, durante 48 h.

Em seguida, as células foram transferidas para um novo tubo contendo volume final de 2 mL de meio BH/diesel (5 % v/v) / DCPIP (0,1 g.L⁻¹). A OD₆₀₀ foi avaliada e o volume de inóculo ajustado para OD = 0,01 em 3 mL de BH/diesel 5% + DCPIP 0,1 mg/mL. Ao longo de 5 dias, o descoloramento do DCPIP foi avaliado quantitativamente a cada 24 h em espectrofotômetro (OD₆₀₀). Diariamente, foram coletados 100 µL da cultura que, diluídos em 900 µL de BH, foram centrifugados a 10.000 rpm por 5 min para remoção das células, sendo avaliado a densidade óptica do sobrenadante contendo o DCPIP. Como controle, foram usados BH/diesel + DCPIP sem células para cada uma das concentrações. Todas as condições foram realizadas em triplicata.

4.3 APLICAÇÃO DE METODOLOGIAS VOLTADAS PARA O PÚBLICO DO ENSINO MÉDIO

A alfabetização científica aborda a importância de iniciar os conceitos básicos da ciência na educação básica e, assim sendo, toda atividade realizada no laboratório teve como um dos objetivos, proporcionar a extensão destas na formação básica dos alunos do ensino médio.

Figura 5: Estratégia pedagógica das atividades realizadas com os alunos do Colégio Amazonense Dom Pedro.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

4.3.1 REALIZAÇÃO DE PALESTRA E ATIVIDADES PRÁTICAS EDUCATIVAS NA ESCOLA E NOS LABORATÓRIOS

Destacando a necessidade de implementar ferramentas metodológicas que abordem essa temática na educação básica, foi planejado traçar algumas estratégias que estejam relacionadas com o impacto do óleo diesel, quando descartados de forma incorreta. É de suma relevância, propor ideias que promovam a extensão dos estudos realizados no meio científico, mais precisamente, com os estudantes do ensino médio.

Como forma de trabalhar essa temática, realizamos uma palestra no Colégio Amazonense Dom Pedro II, situada no centro histórico de Manaus, com um quantitativo total de 35 alunos do ensino médio, do turno matutino.

O público-alvo incluiu alunos do 3º ano, uma vez que já foram contemplados com os assuntos de microbiologia básica e os impactos do óleo diesel na diversidade bacteriana, no

decorrer da educação básica. Inicialmente, foi feito um período de inscrição e 75 alunos se candidataram a participar das atividades, sem qualquer tipo de obrigação ou imposição.

Utilizou-se de uma metodologia didática definida de acordo com a análise dos componentes curriculares propostos na grade curricular do 3º ano do ensino médio, baseando-se nos pontos abordados na linha de pesquisa do projeto: combustíveis fósseis; microbiologia; biorremediação. O encontro foi embasado nos princípios científicos relativos ao delineamento experimental, conforme definido na metodologia da pesquisa experimental, assim como uma descrição dos resultados obtidos.

Além da palestra, a atividade contou com a implementação de um questionário didático (Apêndices IV) baseado no roteiro da palestra e que teve como foco, a aplicação de uma metodologia ativa que utiliza o *QRcode* como ferramenta de resposta às questões indagadas (*Plickers* – disponível em <https://get.plickers.com/>). Na busca de saber a opinião dos alunos, ao final da palestra e atividade, aplicou-se um questionário de avaliação (Apêndice V) contendo perguntas sobre a atividade executada. O levantamento contou com questões de caráter objetivo e anônimo.

Para completar a experiência e aprendizado sobre biorremediação e como as bactérias participam nesse processo, os estudantes visitaram o Laboratório de Proteômica e o Laboratório de Biofísica da UFAM, onde acompanharam as rotinas, os equipamentos presentes nestes espaços, bem como algumas aulas experimentais que direcionam as linhas de pesquisa abordadas nas palestras.

4.3.2 IMPLEMENTAÇÃO DE FERRAMENTAS PEDAGÓGICAS PARA APOIO AO ENSINO DE MICROBIOLOGIA.

Como forma de acrescentar ferramentas pedagógicas, foram produzidos e aplicados dois jogos lúdicos que estavam correlacionados aos temas trabalhados. O primeiro, baralho das formas bacterianas (APÊNDICE II), que segue a jogabilidade do famoso jogo de cartas, porém a formação dos pares se dava pela junção das imagens (desenho e lâminas das formas bacterianas) com as características específicas. É de se ressaltar que, como no jogo convencional, onde cada rodada constava com 4 jogadores que recebiam 6 cartas aleatórias e embaralhadas. No jogo havia cartas coringas que correspondiam aos meios de cultura, uma vez que estes estão associados ao crescimento bacteriano. O segundo, o jogo de tabuleiro (trilha) (APÊNDICE III), que seguiu um roteiro de ganho e perdas com o jogar dos dados. Em algumas casas, havia pontos que representavam o derramamento de óleos, em alusão ao impacto que ele

ocasiona ao meio ambiente; desenhos de bactérias – sendo estes dois um revés que faziam retornar a casas anteriores – e casas contendo meio de cultura – sendo estas casas um ponto de sorte, fazendo avançar casas.

Ao final, os participantes foram submetidos ao questionário avaliativo (APÊNDICE IV), no qual, de forma objetiva, avaliaram as práticas de ensino aplicadas. Estas informações serão úteis para o delineamento de novas metodologias e estratégias a serem desenvolvidas.

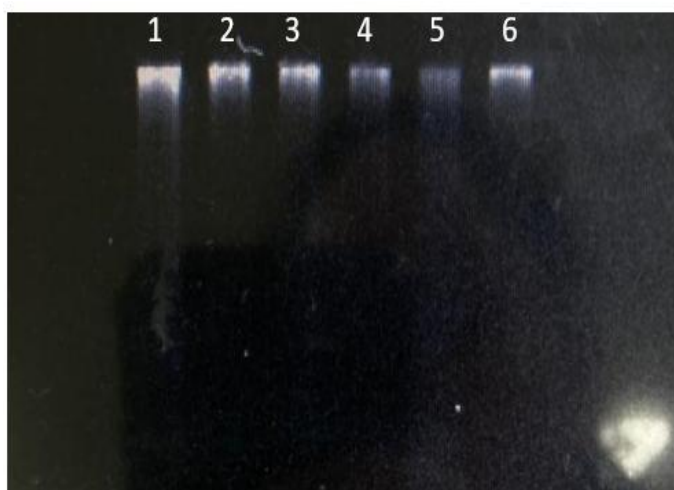
5 RESULTADOS

CAPÍTULO 1 - ANÁLISE DO EFEITO DE ÓLEO DIESEL SOBRE A DIVERSIDADE BACTERIANA DE SOLO

5.1 PADRONIZAÇÃO EXPERIMENTAL PARA OBTENÇÃO DE DNA DE SOLO (DBT E DBC)

O efeito do óleo diesel no rendimento de extração de DNA total de solo foi verificado e os resultados estão apresentados na figura 6. Comparado ao solo tratado com PBS, o rendimento de DNA total obtido a partir do solo tratado com diesel foi inferior, especialmente nas concentrações de 3 % e 4 %. Para o solo tratado com diesel a 5 %, obteve-se um rendimento comparável ao obtido para o solo tratado com PBS. Ressalta-se, que trata-se de um rendimento relativo estimado de acordo com o perfil e intensidade de banda observada no gel de agarose. Desta forma, a concentração de diesel a 5 % foi definida para os próximos experimentos.

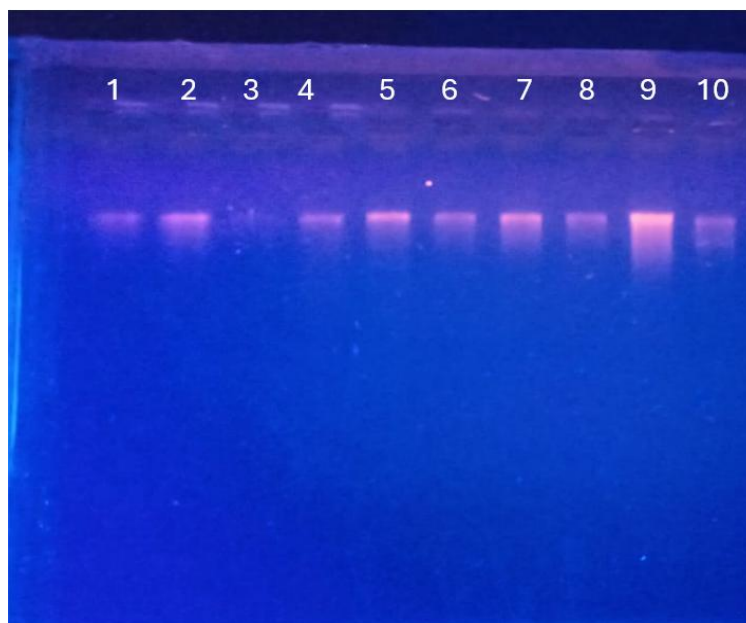
Figura 6: Efeito do óleo diesel no rendimento de DNA total nas amostras de solo do Iranduba.



Legenda: 1 – DBT (PBS); 2 – DBT (PBS e diesel 1%); 3 – DBT (PBS e diesel 2%); 4 – DBT (PBS e diesel 3%); 5 – DBT (PBS e diesel 4%); 6 – DBT (PBS e diesel 5%). A eletroforese foi realizada em um gel de agarose 0,8% em tampão TBE.

As condições referentes a estabilidade do solo e escolha de kit para extração de DNA total foram avaliadas e os resultados estão apresentados na figura 6. Quanto ao período de armazenamento do solo, para ambos os kits avaliados, para o solo recém coletado obteve-se melhor rendimento de DNA total quando comparado ao solo armazenado por dois meses a 4° C (Figura 7, poços 2 e 4). Desta forma, os demais experimentos foram realizados com o solo recém coletado. Quanto aos dois kits avaliados para extração de DNA total de solo tratado com PBS e com PBS/diesel, houve diferença quanto a intensidade das bandas visualizadas no gel (Figura 7). Estes resultados foram confirmados também por quantificação fluorimétrica (Qubit), sendo que somente para solo recém coletado e DNA extraído com kit TIANGEN teve rendimento de 12,4 ng/μL, as demais ficaram abaixo de 8 ng/μL. Nos poços 9 e 10 é mostrado o perfil de DNA total obtido a partir do cultivo de solo tratado com PBS ou com PBS/diesel, respectivamente. A partir destes resultados, as condições experimentais para extração de DNA total foram definidas como recém coletado. Quanto à extração de DNA total, o uso do kit TIANGEN proporcionou melhor rendimento. Para extração de DNA total cultivável foi avaliado apenas o kit Cellco.

Figura 7: Padronização dos procedimentos para extração de DNA total de solo.



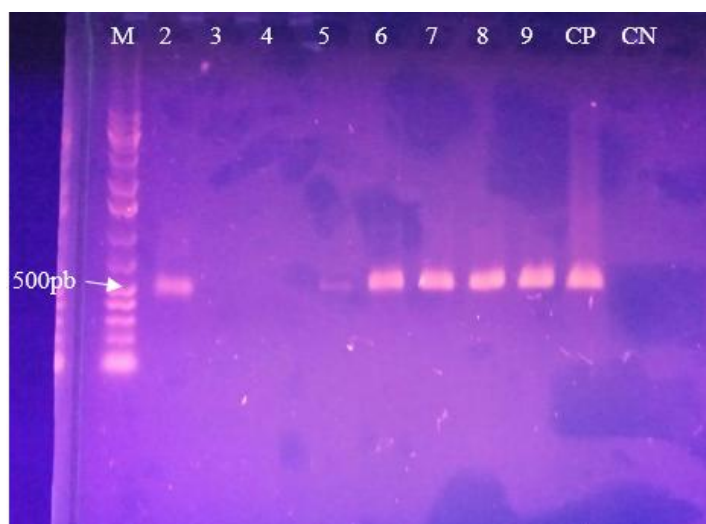
Legenda: 1 – DNA genômico de solo antigo (kit *TIANGEN*); 2 – DNA genômico de solo recém coletado (kit *TIANGEN*); 3 – DNA genômico de solo antigo (kit *MPBio Biologia Molecular*); 4 – DNA genômico de solo recém coletado (kit *MPBio Biologia Molecular*); 5- DBT/PBS (kit *MPBio Biologia Molecular*); 6 – DBT/D (kit *MPBio Biologia Molecular*); 7 – DBT/PBS (kit *TIANGEN*); 8 – DBT/D (kit *TIANGEN*); 9- DBC/PBS (Kit Cellco); 10- DBC/D (Kit Cellco);

5.2 VALIDAÇÃO DA BIBLIOTECA

5.2.1 AMPLIFICAÇÃO DA REGIÃO GÊNICA 16S rRNA (DBT e DBC)

Na figura 6 são apresentados os resultados obtidos por amplificação do gene 16S rRNA a partir das bibliotecas de DNA (DBT e DBC) de solo recém coletado. Observa-se que para as amostras (poços 3, 4 e 5) extraídas com o kit MPBio Biologia Molecular, não apresentaram amplificação. Tornando-se mais um ponto de definição quanto ao uso do kit TIAGEN, já que a amostra (poços 2, 6 e 7) extraída com este kit, apresentou amplificação. Os poços 8 e 9, referentes às amostras DBC e DBC-D, apresentaram amplificação, mostrando um tamanho de mais ou menos 500 pb.

Figura 8: Validação das bibliotecas de DNA para amplificação do gene 16S rRNA (DBT e DBC).



Legenda: M – Marcador molecular de 1Kb; 2 - DNA genômico de solo (kit *TIAGEN*); 3 – DNA genômico de solo (kit *MPBio Biologia Molecular*); 4 – DBT-PBS (kit *MPBio Biologia Molecular*); 5 – DBT-D (kit *MPBio Biologia Molecular*); 6 – DBT - PBS (kit *TIAGEN*); 7 – DBT-D (kit *TIAGEN*); 8- DBC-PBS (Kit *Cellco*); 9 - DBC-D (Kit *Cellco*); 11- Controle Positivo (DNA genômico bacteriano); 12 – Controle Negativo.

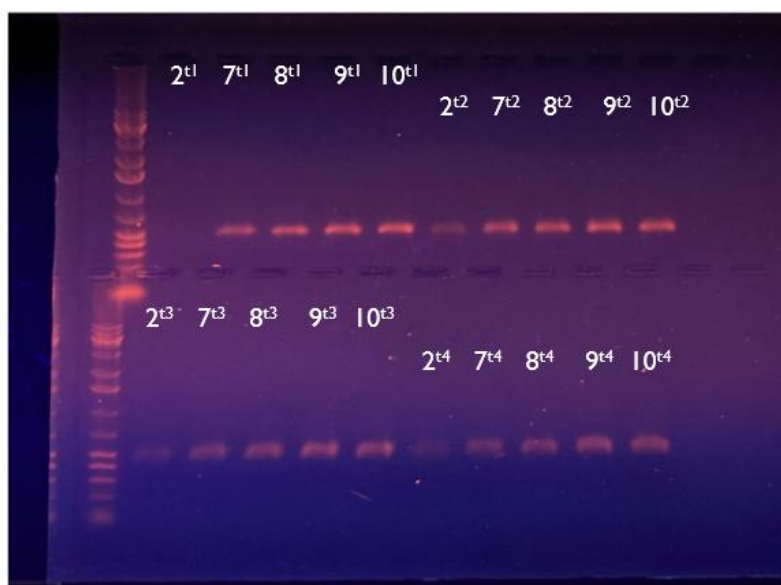
Tabela 4 - Quantificação da amplificação do DNA das amostras SOLO, DBT/PBS, DBT-D, DBC/PBS e DBC-D.

AMOSTRA	VALORES
Poço 2	12,5 ng/μL
Poço 07	32,0 ng/μL
Poço 08	39,2 ng/μL

Poço 09	48,2 ng/ μ L
Poço 10	38,8 ng/ μ L

A quantificação das amplificações não estava com valores seguros para seguir o sequenciamento, diante disso, foram feitas reações adicionais das amostras, a fim de garantir maior seguridade quanto aos resultados. Como consta na figura 9.

Figura 9: Perfil eletroforético da amplificação adicional do gene 16S rRNA por PCR das extrações do solo, da diversidade bacteriana total (DBT) e diversidade bacteriana cultivável (DBC).



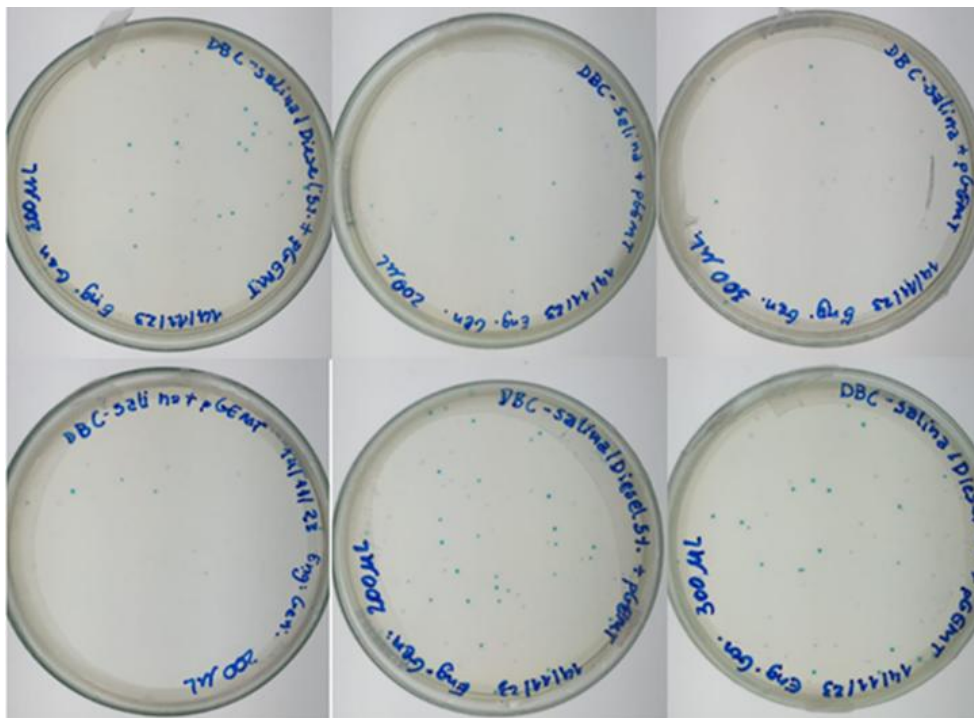
Legenda: As numerações são referentes às informações da amplificação do gene 16s (Figura 6); as informações t1, t2, t3 e t4 são referentes a quantidade de reações feitas (totalizando 4 reações adicionais).

5.2.2 CLONAGEM DO GENE 16S rRNA NO VETOR PGEM-T

Na figura 10 são apresentados os resultados obtidos pela transformação de bactérias com os sistemas de clonagem (gene 16S rRNA + pGEM-T). Após a incubação, foi feita a análise das placas (Figura 10) para contagem das colônias recombinantes, onde estas apresentavam coloração branca, pois, como o sítio múltiplo de clonagem (*polylinker*) está presente na região do gene da β -galactosidase, a inserção do gene 16S inativa o gene *LacZ*. As colônias que sofreram transformação, mas não tinham o gene da região 16S, apresentaram coloração azul. Porque este é um gene repórter, e a X-gal é utilizada em conjunto com o IPTG, que é um análogo da lactose, agindo como um indutor da β -galactosidase, onde ele se liga ao repressor e para que haja a inativação deste. A X-gal é hidrolisada pela β -galactosidase,

formando galactose + 5-bromo-4-cloro-3-indoxil, este na presença do oxigênio sofre a oxidação e é convertido em uma coloração azul.

Figura 10 - Placas com transformantes e recombinantes para DBC/PBS e DBC diesel.



Legenda: Colônias azuis indicam transformantes e colônias brancas indicam recombinantes.

Foi feita a contagem das colônias totais (transformantes e recombinantes) e chegou-se a resultado (Tabela 5):

Tabela 5 - Total de colônias transformantes e recombinantes

	DBC		DBT	
	PBS	Diesel	PBS	Diesel
Recombinantes	22	74	5	6
Transformantes	51	135	11	10

Para as amostras do DBT, no sistema de ligação durou 1 hora de incubação. E para o DBC foi feita a incubação *overnight*. O kit propunha essas duas metodologias, no entanto a DBC obteve um resultado superior de recombinantes. Logo, foi refeita metodologia do sistema de ligação para o grupo DBT, deixando incubado *overnight* também, e se obteve o seguinte resultado (Tabela 6):

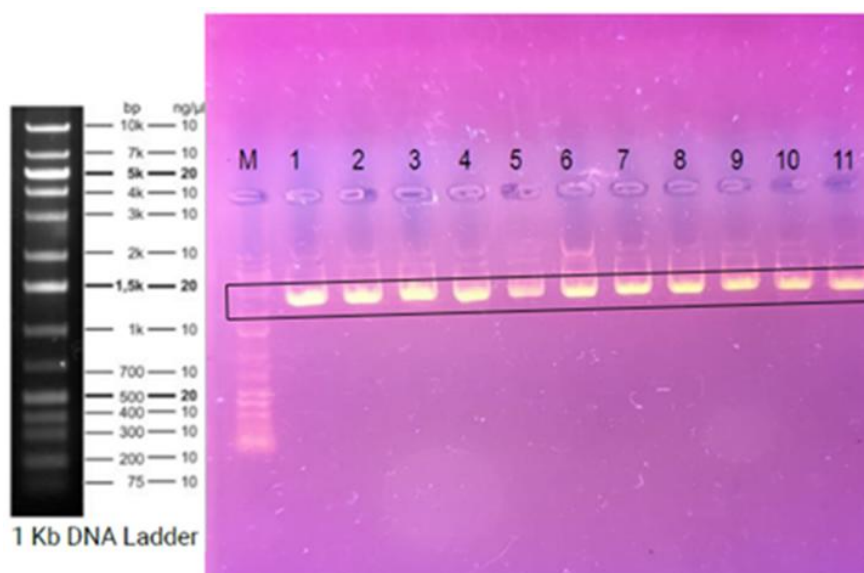
Tabela 6 - Total de colônias transformantes e recombinantes para DBT

	DBT	
	PBS	Diesel
Recombinantes	175	128
Transformantes	70	14

O cálculo de competência bacteriana realizado (com base na primeira transformação de DBT), para saber o número de CFUs (Unidades Formadoras de Colônias) totais no sistema de transformação por ng/DNA. Onde, obteve-se o resultado de $1,715 \times 10^5$ CFU/ng de DNA, ou seja, a eficiência de 10^5 .

5.2.3 EXTRAÇÃO DO DNA PLASMIDIAL DA DBT

Para a extração plasmidial do vetor, foi obtido o perfil eletroforético ilustrado na Figura 11. Onde, analisando o marcador molecular, é possível ver que as bandas estão na marca de mais ou menos 3,5 Kb, o que corresponde ao tamanho do vetor pGEM-T + inserto (16S rRNA).

Figura 11 - Perfil eletroforético da extração plasmidial para DBT.

Legenda: M – Marcador molecular de 1Kb; 1-6 – DBT/PBS; 7-11– DBT diesel;

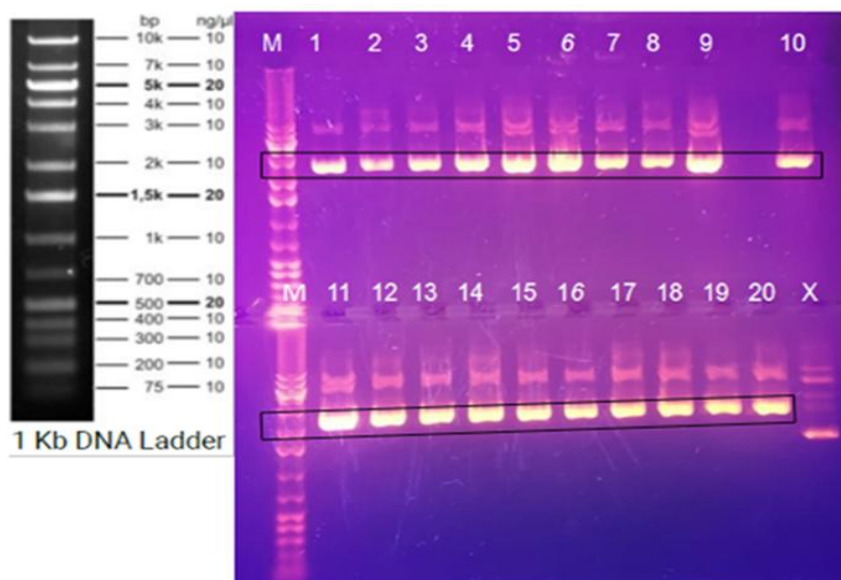
As amostras tiveram seu rendimento quantificado por meio do Qubit (Tabela 7), apenas a amostra 6 teve rendimento menor que 100ng/ μ L, e esta não foi usada para o sequenciamento.

Tabela 7 - Quantificação de resultado de extração de DNA plasmidial DBT.

PBS		Diesel	
Amostra	Rendimento	Amostra	Rendimento
1	105 ng/ μ L	7	106 ng/ μ L
2	105 ng/ μ L	8	106 ng/ μ L
3	102 ng/ μ L	9	102 ng/ μ L
4	102 ng/ μ L	10	100 ng/ μ L
5	102 ng/ μ L	11	95,2 ng/ μ L
6	27,6 ng/ μ L		

5.2.4 EXTRAÇÃO DO DNA PLASMIDIAL DA DBC.

Como resultado da extração plasmidial do DBC, tem-se o seguinte perfil eletroforético:

Figura 12 - Perfil eletroforético da extração Plasmidial para DBC.

Legenda: M – Marcador molecular de 1 Kb; 1-10 – DBC PBS; 11-20 – DBC diesel; X –Amostra externa.

Conforme é visto na Figura 12, observa-se que as bandas, tanto para DBC PBS quanto para DBC Diesel, o tamanho está por volta de 3s Kb, correspondendo ao tamanho do vetor pGEM-T + DNA exógeno.

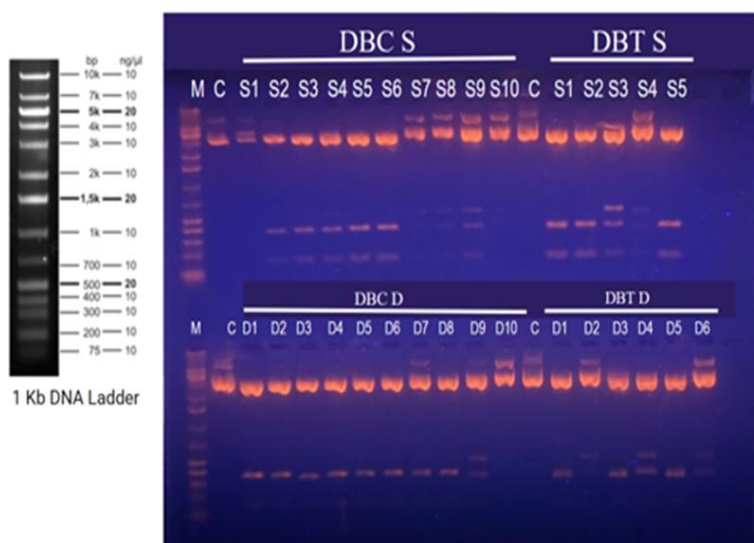
A maioria das amostras demonstrou um rendimento superior a 120 ng/ μ L, como evidenciado na Tabela 8. Importante ressaltar que a amostra 2 apresentou um rendimento de 66,2 ng/ μ L e, por conseguinte, não foi utilizada no sequenciamento.

Tabela 8 - Quantificação de resultado de extração de DNA plasmidial DBC

PBS		Diesel	
Amostra	Rendimento	Amostra	Rendimento
1	Acima de 120 ng/ μ L	11	Acima de 120 ng/ μ L
2	66,2 ng/ μ L	12	Acima de 120 ng/ μ L
3	110 ng/ μ L	13	Acima de 120 ng/ μ L
4	Acima de 120 ng/ μ L	14	Acima de 120 ng/ μ L
5	Acima de 120 ng/ μ L	15	Acima de 120 ng/ μ L
6	Acima de 120 ng/ μ L	16	Acima de 120 ng/ μ L
7	Acima de 120 ng/ μ L	17	Acima de 120 ng/ μ L
8	110 ng/ μ L	18	Acima de 120 ng/ μ L
9	Acima de 120 ng/ μ L	19	Acima de 120 ng/ μ L
10	Acima de 120 ng/ μ L	20	Acima de 120 ng/ μ L

5.2.5 ANÁLISE DA VARIABILIDADE POR PERFIL DE RESTRIÇÃO

Para o sistema de digestão, utilizando a enzima EcoRI, obteve-se o seguinte perfil eletroforético das amostras DBC (PBSe diesel) e DBT (PBS e diesel):

Figura 13 - Perfil eletroforético do sistema de digestão para DBC e DBT.

Legenda: M – Marcador molecular de 1 Kb; C – Controle; DBC/DBT S1-S10 – PBS ; DBC/DBT D1-D10 – diesel;

Podemos observar que o vetor pGEM-T foi cortado, onde é possível ver a banda correspondente na parte superior do gel correspondente ao controle, com tamanho de 3 Kb. Mais abaixo, na altura de 400 pb, é possível observar a banda para todas as amostras, com exceção da amostra S1 e S10 da DBC/PBS e a amostra D10 da DBC diesel, indicando que para essas não houve digestão. Também é possível observar que elas apresentam uma banda com tamanho menor que 200 pb, e algumas ainda apresentam uma banda maior que 500 pb. Possivelmente essas bactérias possuem mais um sítio de restrição para EcoRI na região 16S.

5.2.6 ANÁLISE DA VARIABILIDADE POR SEQUENCIAMENTO DA REGIÃO GÊNICA 16S rRNA (DBT E DBC)

As amostras tratadas com solução PBS e PBS e + 5% diesel foram sequenciadas, sendo feita a análise dos dados.

Ao conduzir o teste de qualidade, todas as amostras da DBT obtiveram uma boa qualidade das sequências (Tabela 9-10), permitindo a montagem dos *contigs*. No entanto, para as amostras da DBC, notamos uma baixa qualidade de sequenciamento, sendo que apenas duas amostras de DBC diesel (DBC D1 e DBC D5) apresentaram resultados satisfatórios (Tabela 11).

Tabela 9 – Resultado do sequenciamento da DBT PBS

Amostra	Gênero identificado
S1	<i>Paenibacillus</i>
S2	<i>Bacillus</i>
S3	<i>Enterobacter</i>
S4	<i>Clostridium</i>
S5	<i>Bacillus</i>

Para estas amostras o resultado do blast apontou como identidade superior a 99% para as amostras S1 e S4, para os gêneros *Paenibacillus* e *Clostridium*. Para as amostras S2 e S5, a identidade foi de 100% para o gênero *Bacillus* e para a amostra S3, identidade de 100% para o gênero *Enterobacter*.

Tabela 10 – Resultado do sequenciamento da DBT diesel

Amostra	Gênero identificado
D1	Não identificado
D2	Não identificado
D3	Não identificado
D4	Não identificado
D5	Não identificado

Para estas amostras não foi identificado nenhum dos gêneros bacterianos, ou seja, as sequências depositadas no banco de dados do NCBI não chegaram à identificação de gênero e espécie. Muitas das sequências depositadas são referentes a bactérias não-cultiváveis do solo, assim como as do presente estudo.

Mesmo obtendo altas porcentagens de identidade não se pode afirmar com certeza os gêneros, pois para inferir o gênero de uma bactéria com mais precisão deve-se sequenciar outras regiões ou preferencialmente o genoma completo.

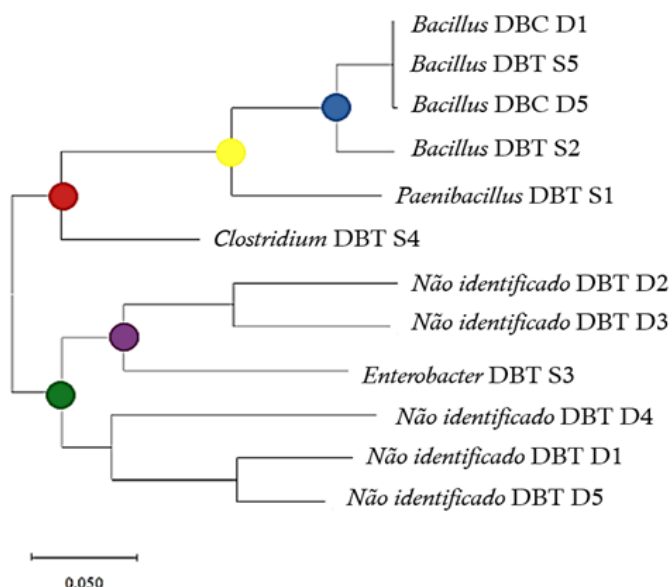
No resultado do blast, obteve-se uma identidade 100% para o gênero *Bacillus* para ambas as amostras de DBC diesel.

Tabela 11 – Resultado do sequenciamento da DBC diesel.

Amostra	Gênero identificado
D1	<i>Bacillus</i>
D5	<i>Bacillus</i>

Ainda para as amostras foi feito análise filogenética (Figura 14) utilizando o software MEGA, onde foi obtido o resultado:

Figura 14 - Árvore filogenética das bactérias identificadas.



Nota-se que há dois grandes clados, o que mostra uma separação dos gêneros, evolutivamente, em algum momento. Para o primeiro clado (vermelho), o gênero *Clostridium* encontra-se separado dos demais gêneros, que formam um segundo clado. Ainda, este clado subsequente (amarelo), mostra que o gênero *Paenibacillus* se separa do outro clado (azul) formado, constituído pelas bactérias do gênero *Bacillus*, para as amostras DBC SD1 e SD2, e das amostras DBT S2 e S5. Já este novo clado é separado em algum momento, onde o gênero *Bacillus* das amostras DBC D1 e D2 e DBT S2, formam um clado entre si.

No segundo grande clado (verde), temos uma divisão em dois grandes clados. O primeiro (roxo), constituído pelas amostras DBT S3 e DBT D2 e D3, onde a DBT S3, correspondente ao gênero *Enterobacter* se separa das demais. É interessante notar que apesar de todas as amostras da DBT diesel (DBT D) não terem sido identificadas, estas têm relação com este gênero de bactéria, mostrando que este grande clado tem um ancestral em comum. Embora não conclusivos quanto à diversidade, estes resultados foram essenciais para confirmar a viabilidade das bibliotecas obtidas para análise por sequenciamento de NGS.

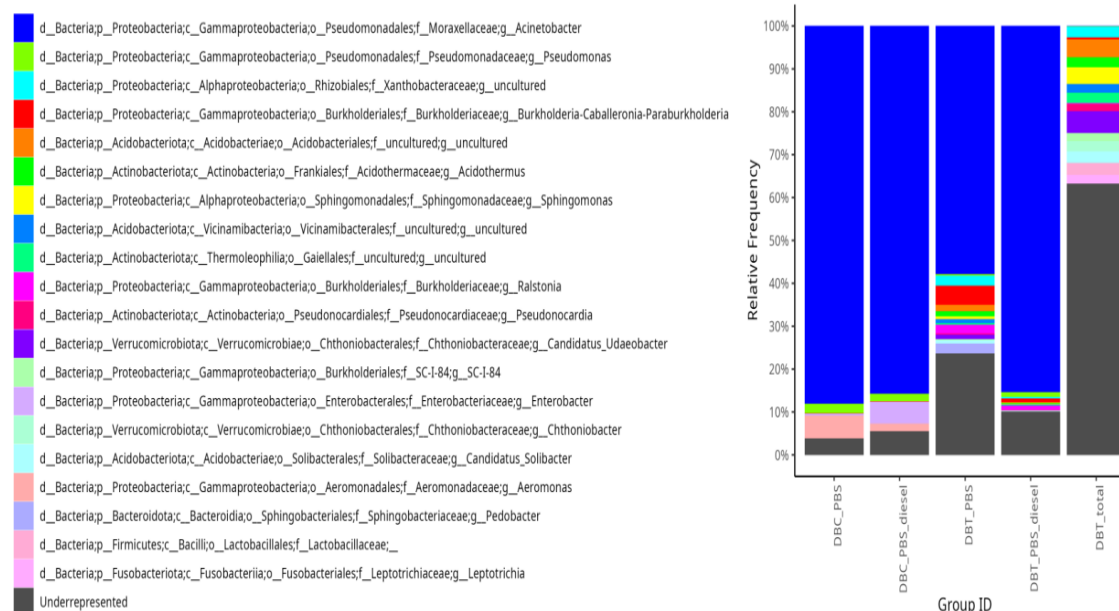
5.3 ANÁLISE DA VARIABILIDADE POR SEQUENCIAMENTO DA REGIÃO GÊNICA 16S rRNA (DBT E DBC) POR NGS

A diversidade genética das bibliotecas de DNA obtidos (DBT-Total; DBT-PBS; e DBT-D; DBC-PBS e DBC-D) foi determinada e os resultados apresentados nas figuras 15 e 16. Observa-se que o efeito do diesel na diversidade bacteriana é realmente evidenciado, por meio das amostras analisadas. A diversidade bacteriana total feita sem tratamento apresenta uma ampla diversidade de gênero. Destaca-se que preta compreende um grupo de gêneros sub-

representados, o que indica que há um número muito maior de táxons, porém com uma frequência relativa bem menor.

Figura 15 – Gráficos de barra da frequência relativa dos termos taxonômicos para o subgrupo

Subset: group_1; Taxon: 6-Genus; Group Sum

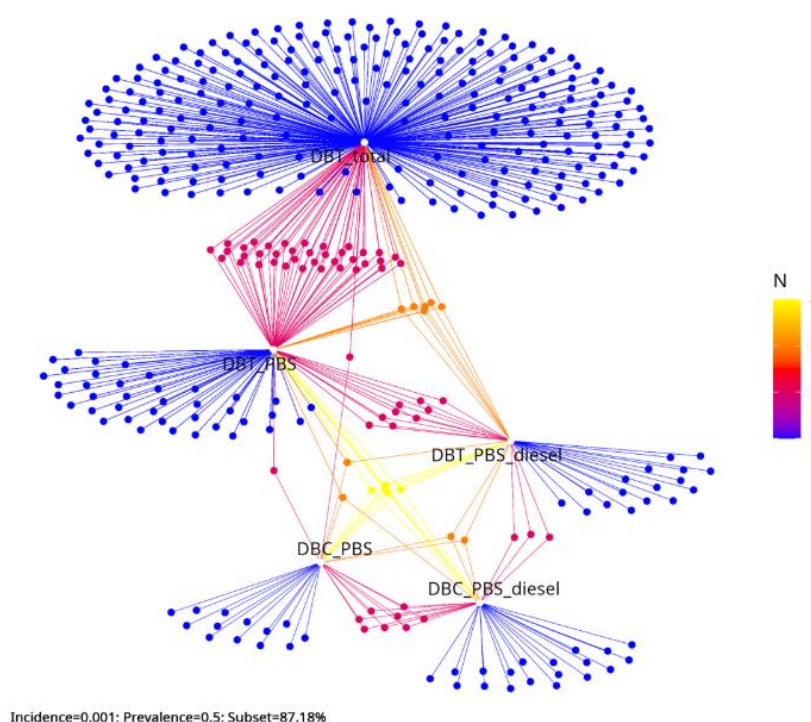


Legenda: DBT-Total: referente ao solo sem tratamento; DBT-PBS; referente ao solo tratado com solução PBS; DBT-PBS-D: refere-se ao solo tratado com solução PBS e 5% de Diesel; DBC-PBS; referente amostra cultivada com meio LB; DBC-PBS-D: refere-se a amostra cultivada com meio LB e 5% de Diesel;

As amostras do solo tratadas com solução PBS e PBS + 5% de óleo diesel (DBT-PBS e DBT-PBS-D) confirmou que o diesel proporciona um efeito negativo sobre a diversidade, uma vez que o sequenciamento apresentou uma redução de gêneros, como observado na figura 13. Quando se analisa o efeito sobre a diversidade bacteriana cultivável (DBC-PBS e DBC-PBS-D), a redução é ainda maior, tendo em vista que a representação dos gêneros se limita a grupos reduzidos, porém em frequências relativas maiores que as demais.

O gênero *Acinetobacter* foi o que apresentou uma ampla frequência relativa, o que corrobora com outros trabalhos que destacam esse gênero como sendo um grupo de bactérias que utilizam o diesel como fonte de carbono.

Figura 16 - Representação em grafos de variantes de sequência de amplicon (ASV's) únicas e compartilhadas. Dados filtrados de acordo com a taxa de incidência e prevalência.



Legenda: DBT-Total: referente ao solo sem tratamento; DBT-PBS; referente ao solo tratado com solução PBS; DBT-PBS-D: refere-se ao solo tratado com solução PBS e 5% de Diesel; DBC-PBS; referente amostra cultivada com meio LB; DBC-PBS-D: refere-se a amostra cultivada com meio LB e 5% de Diesel;

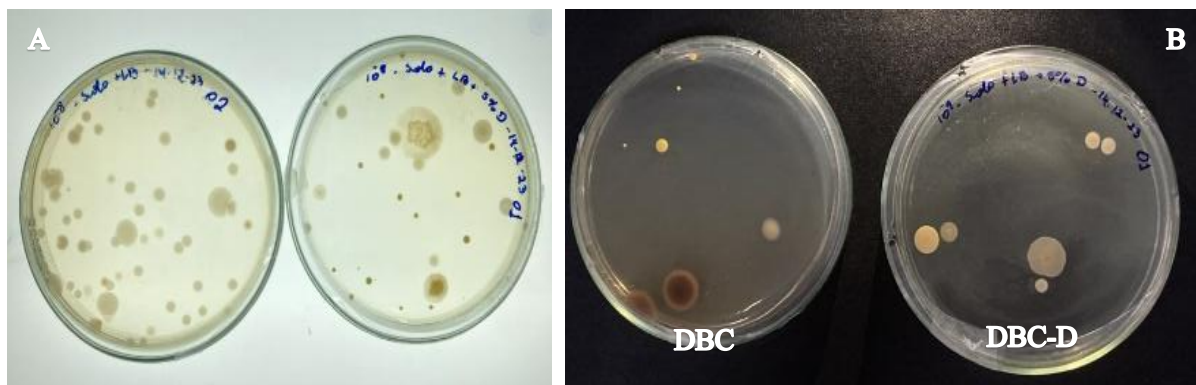
A representação dos grafos (Figura 16) confirma que o efeito do diesel é direto sobre a diversidade, já que se observa a diminuição na frequência relativa, a partir da presença do combustível. Mesmo em se tratando de uma única amostra de solo, com os mais diversos tratamentos, notou-se que a diminuição é consequência do tempo de tratamento, mas que nada interfere na confirmação de que o combustível gera uma seleção significativa sobre as linhagens presentes no solo.

5.4 SELEÇÃO DE BACTÉRIAS HIDROCARBONOCCLÁSTICAS

As placas semeadas (diluídas em 10^{-7} a 10^{-9}) apresentaram uma diferença quanto a presença do diesel, tal ocorrência nos leva a associar que o combustível, quando em contato com algumas bactérias, têm um efeito de redução no número de colônias. Observa-se, nas imagens abaixo (figura 17), uma leve diferença na quantidade de colônias e que na placa DBC com diluição 10^{-9} (figura 17, letra B, à esquerda), há a presença de colônias com pigmentação diferente e que elas não se fazem na placa DBC-D, o que nos leva a crer que a presença do diesel possa ter ação direta sobre esse morfotipo, uma vez que podem eliminar bactérias sensíveis e enriquecer a densidade daquelas que possuem resistência a presença do

contaminante, bem como, com capacidade de degradação do óleo diesel. (figura 17, letra B, à direita).

Figura 17: Efeito do óleo diesel sobre a diversidade bacteriana de solo. Diluição 10^{-8} DBC e DBC-D (A); diluição 10^{-9} DBC e DBC-D (B).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Tal condição pode ser agressiva e inibitória para o crescimento de algumas bactérias, mas, ao mesmo tempo, de grande relevância uma vez que, mesmo na presença do óleo diesel, temos a presença de colônias que conseguem se ajustar às condições ambientais e, até mesmo, utilizar o diesel como uma fonte importante de carbono. Todavia, a presença seletiva de bactérias deixa o ambiente fragilizado, já que elas participam de importantes ciclagens de nutrientes no solo.

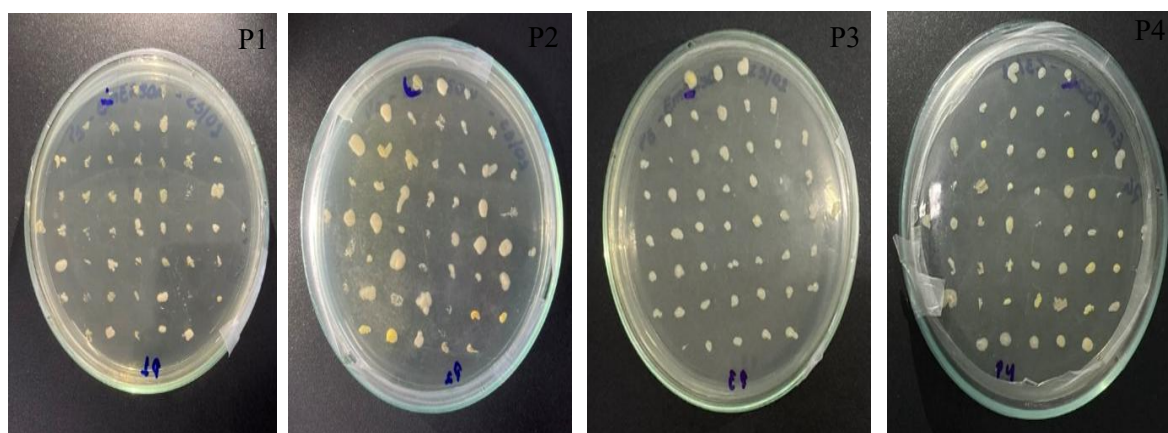
Tabela 12: Contagem das UFC's em 0,25 g de solo sob os tratamentos com solução PBS e PBS+5% de óleo diesel.

Tratamento	Bactérias presentes no solo
Solução PBS	$1,97 \times 10^{10}$ UFC/g
PBS + 5% de diesel	$1,39 \times 10^{10}$ UFC/g

Os resultados indicam uma leve alteração da presença do diesel na diversidade bacteriana, o que dá a entender que, mesmo diante de um certo impacto, o ambiente ainda utiliza de mecanismos capazes de reverter a situação agressiva que ele sofre. Sendo assim, uma exposição mais prolongada e com maior concentração de diesel pode ser menos tolerável e mais irreversível aos seres presentes no solo.

Para a identificação morfológica das bactérias, utilizamos a técnica de repique em placas grid 50 (Figura 18), selecionando 100 colônias da DBC e distribuindo em duas placas contendo meio LB/ágar. O mesmo procedimento serviu para as colônias da DBC-D.

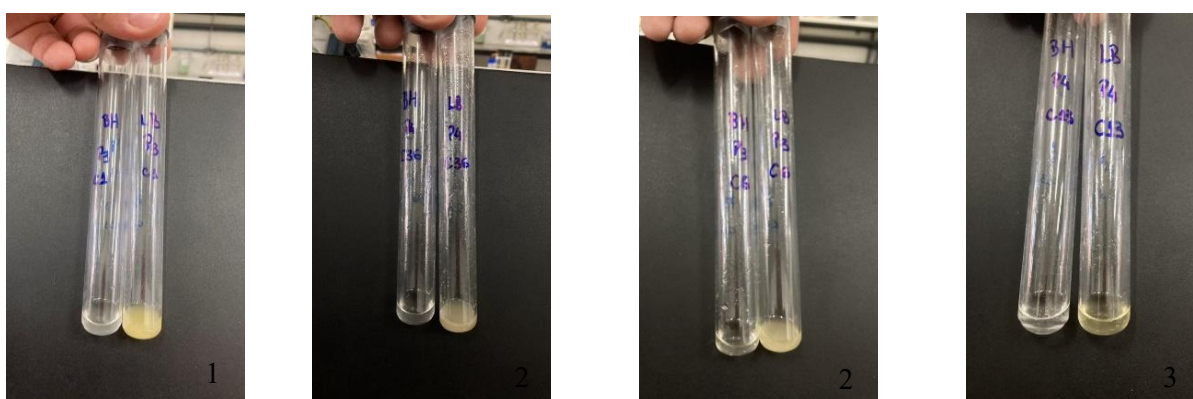
Figura 18: Repique de placas grid 50 cultivadas em 24h. Colônias da DBC (P1 e P2); colônias da DBC-D (P3 e P4).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Após o repique, fez-se então um pré-inóculo de 3 colônias de cada morfotipo, ao qual foram cultivadas nos meios LB e BH (Figura 19). Observou-se a presença de 8 morfotipos, e em seguida, o teste de Gram das colônias (Tabela 13) que cresceram nos respectivos meios foi realizado, simultaneamente. As que apresentaram crescimento somente em um meio ou não apresentaram crescimento foram descartadas, devido ao fato de não apresentar capacidade de crescimento e preservação para futuros estudos.

Figura 19: 1- Colônias que cresceram em meio LB e meio BH/5% de óleo diesel; 2 - Colônias que cresceram em meio LB, mas não cresceram em meio BH; 3 - colônias sem crescimento bacteriano nos meios LB e BH (3).



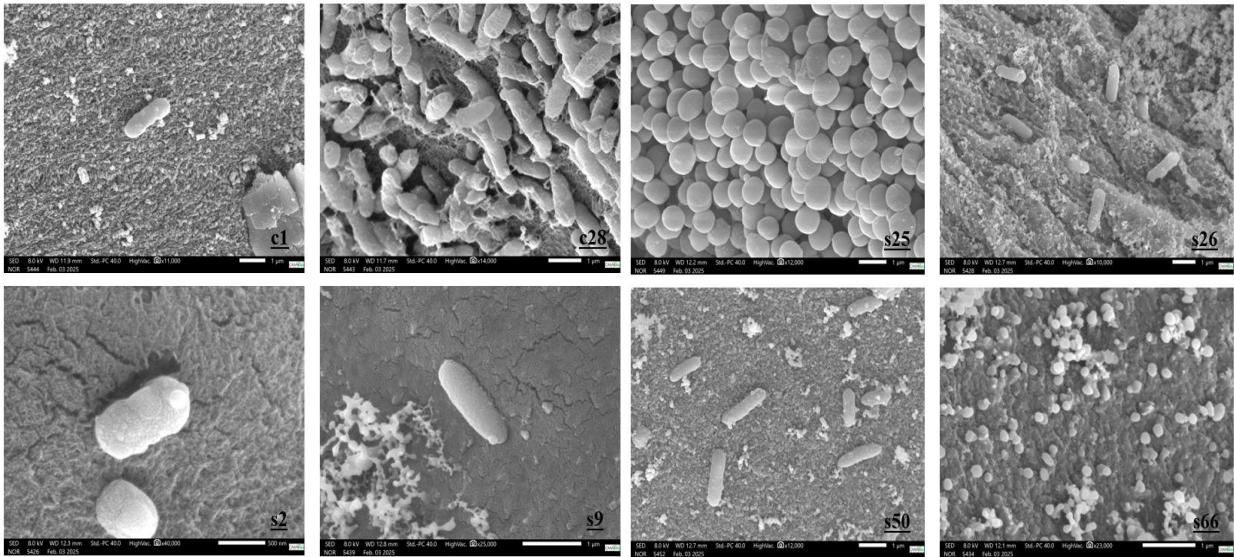
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Tabela 13: Caracterização morfológica das colônias isoladas.

	C1	C28	S2	S9	S25	S26	S50	S66
Morfologia	Bacilo	Bacilo	Cocobacilo	Bacilo	Cocos	Bacilo	Bacilo	Cocobacilo
Teste de Gram	+	-	+	+	-	-	+	-
Tamanho	Média	Grande	Média	Média	Pequena	Grande	Grande	Pequena
Forma	Irregular	Irregular	Irregular	Circular	Circular	Irregular	Irregular	Circular
Borda	Ondulada	Ondulada	Ondulada	Inteira	Inteira	Lobulada	Lobulada	Ondulada
Cor	Amarela	Não pig.	Branca	Não pig.	Amarela	Vermelha	Não pig.	Bege
Textura	Rugosa	Lisa	Rugosa	Lisa	Rugosa	Rugosa	Lisa	Rugosa

A tabela consta das características morfológicas das colônias, destacando que há uma distribuição equilibrada entre gram positivas e gram negativas. Quanto à morfologia, destaca-se que os bacilos estão em maior proporção, porém há a presença de cocos, como confirmado na micrografia das colônias (Figura 20).

Figura 20: Micrografia das colônias que cresceram nos meios LB e BH + 5% de óleo diesel.



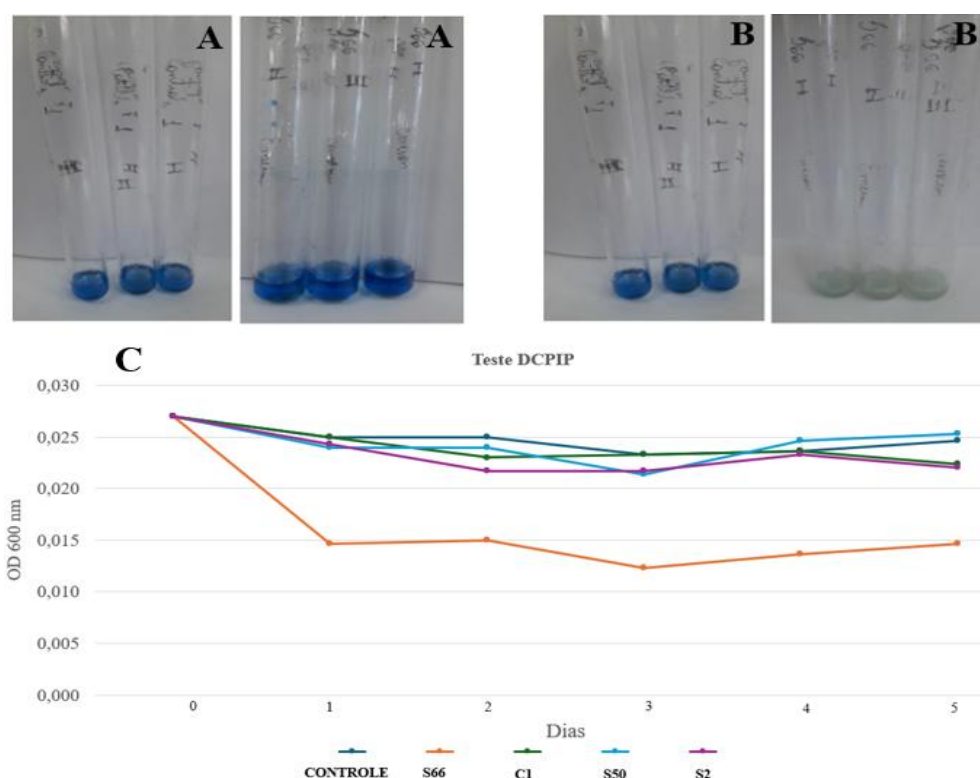
Legenda: 1 - Colônia C1; 2 – Colônia C28; 3 – Colônia S2; 4 – Colônia S9; 5 - Colônia S25; 6 - Colônia S26; 7 - Colônia S50; 8 - Colônia S66.

5.5 ANÁLISE DA DEGRADAÇÃO DE DIESEL COM O INDICADOR DCPIP

Das 08 colônias utilizadas no teste DCPIP, somente 04 apresentaram crescimento após 48h. Isso foi critério de seleção para dar continuidade e notou-se que as colônias S66, C1, S2 e S50 apresentaram resultados bem diferentes do esperado, dando destaque para a S66, em que está representado também a curva de redução do indicador redox utilizado, como pode ser observado na figura 21. Comparando visualmente os resultados é possível notar que a colônia S66 apresenta um padrão de descoloração (redução de DCPIP) mais elevado que os demais. Não foi verificado visualmente diferenças entre os consórcios entre as demais e o controle abiótico.

Ainda observado a figura 21 não é possível fazer distinção na descoloração apresentada no controle utilizado, bem como também não é possível diferenciar esse controle do seu correspondente nos tubos iniciais (0h de cultivo).

Figura 21: Análise da degradação de diesel com indicador DCPIP.



Legenda: A – Ensaio em escala piloto (0h); B – Ensaio em escala piloto (5 dias). C - Curva de redução de DCPIP. Controle (BH + DCPIP); S66, C1, S50, S2 – Respetivos colônias cultivadas em BH + Diesel + DCPIP.

O gráfico com a curva de redução do indicador DCPIP (figura 21 C) mostra a colônia S66 apresentando valores bem abaixo do controle, quanto as demais colônias, os valores estão variando entre o controle. Os valores mostrados indicam que o controle apresentou uma

descoloração natural ao longo do tempo de experimento, assim como as demais colônias, exceto a S66, que apresentou valores bem mais eficiente (0,16 nm/μL) em reduzir o DCPIP é quase a metade da descoloração natural que foi observada no controle (0,25 nm/μL). Podemos inferir, portanto, que esta colônia pode apresentar uma capacidade em crescer no meio de cultivo contendo diesel, e conseqüentemente degradar os hidrocarbonetos ali presentes. Testes posteriores serão realizados a fim de confirmar a capacidade das bactérias selecionadas em degradar o óleo diesel.

CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS PEDAGÓGICAS PARA O ENSINO MÉDIO E EPT

5.6 RESULTADOS DA EXPERIÊNCIA COM O ENSINO MÉDIO

A parte biotecnológica descrita no capítulo 1 foi fundamental para nortear os pontos trabalhados com os alunos da educação básica. Assim sendo, nossa atividade abordou uma palestra sobre os combustíveis fósseis, bem como a microbiologia básica e a biorremediação. Foi neste intuito que buscamos associar a temática do impacto do óleo diesel na diversidade bacteriana, em uma escola do ensino médio, onde o ensino de microbiologia está cada vez mais defasado.

Iniciamos nossa atividade com uma palestra (Figura 22), onde destacamos que os microrganismos vão além do que causar doenças. Abordamos pontos como a estrutura básica das bactérias, a morfologia bacteriana e, principalmente, esses seres como sendo remediadores de locais contaminados por óleo diesel

Figura 22: Palestra sobre os combustíveis fósseis, microbiologia e biorremediação para os alunos do 3º ano do ensino médio (1 e 2).



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Diante das abordagens que envolveram o ensino de microbiologia e a introdução deste projeto no ambiente do ensino-extensão, buscamos associar o tema do nosso trabalho na palestra e nas atividades complementares que são essenciais para a assimilação de conteúdo.

Figura 23: Aplicação do questionário utilizando a ferramenta *PLICKERS* (1 e 2); placas de petri, bem isoladas e vedadas, contendo colônias de amostras do solo tratado com óleo diesel (3) e com colônias produtoras de pigmentos (4).



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Em associação a palestra e questionário (*PLICKERS*), realizamos a aplicação de dois jogos lúdicos: O baralho das formas bacterianas (Figura 24), que compreende a mesma jogabilidade das cartas, formando pares que remetem às imagens a característica descrita. É de se ressaltar que, por ser um jogo simples, sua aplicação pode ser feita para os alunos das demais séries, desde que se tenha a abordagem dos assuntos (APÊNDICE IV).

Figura 24: Estudantes jogando o baralho das formas bacterianas (1, 2, 3)



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

E o jogo de tabuleiro (Figura 25) com o uso da temática impacto do óleo diesel na diversidade bacteriana, foi elaborado a fim de criar uma relação da temática com o avançar das casas, submetendo desafios, ao longo do caminho, e que, correlacionando com nosso trabalho, colocamos esses desafios como um impacto causado pelo derramamento do diesel (APÊNDICE III).

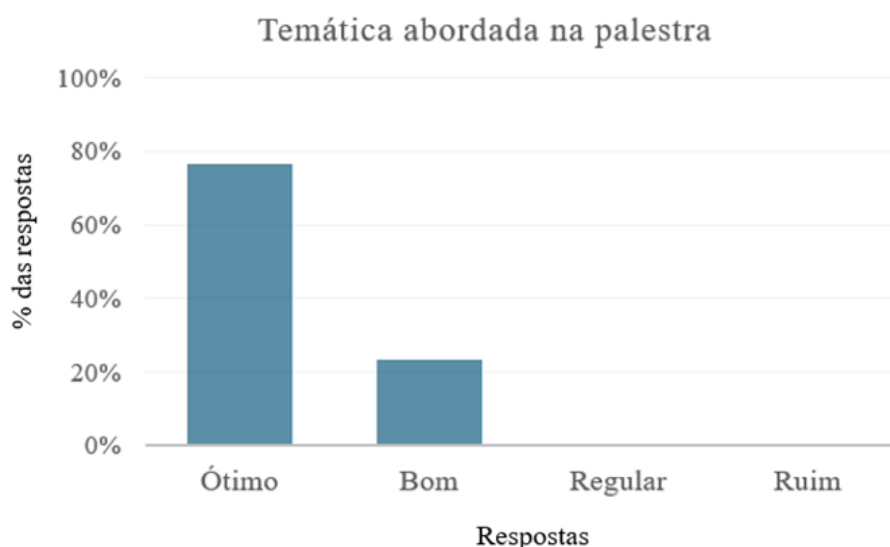
Figura 25: Estudantes jogando o jogo de tabuleiro (1, 2, 3)



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

O primeiro questionário é referente a temática do nosso projeto, aplicado na escola, e obtivemos os seguintes resultados:

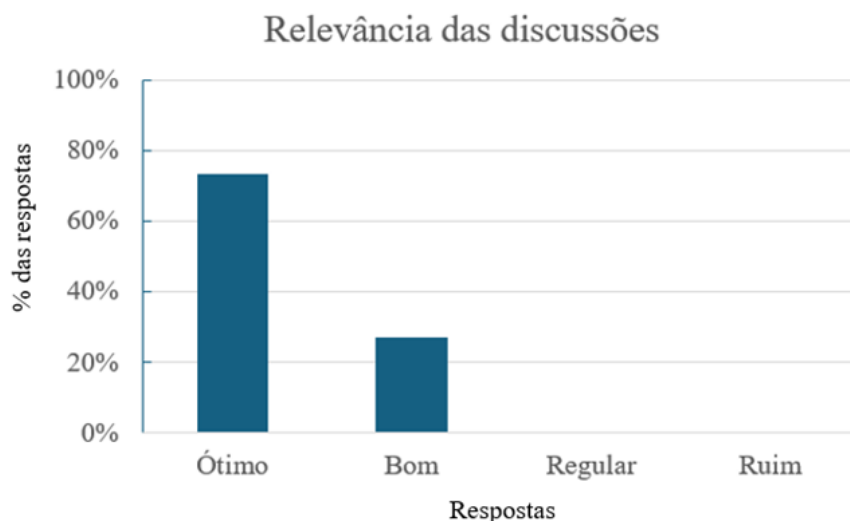
Figura 26: Nossa pesquisa explorou sobre o tema "Impacto do óleo diesel na diversidade bacteriano do solo". Nesse sentido, como você avalia essa temática?



Dos 30 alunos que participaram da atividade, 77% responderam que a temática era ótima. Isso nos leva a compreender o grau de importância destes assuntos em sala de aula. 23% dos alunos responderam como bom, uma vez que há diversos aspectos que podem ser novos e

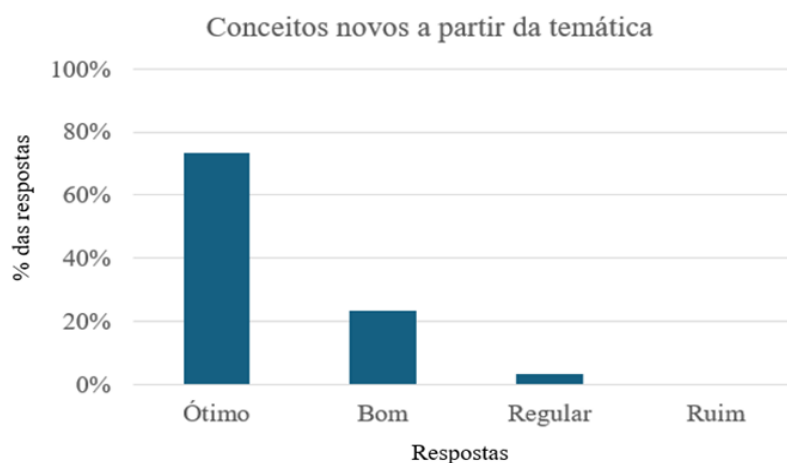
confusos, ao mesmo tempo. Por fim, destacamos a positividade e importância da temática, como algo inovador para a sociedade.

Figura 27: Nossa pesquisa explorou sobre o tema "Impacto do óleo diesel na diversidade bacteriana do solo". Sendo assim: Qual a relevância das discussões para sua formação?



O resultado nos mostra que para 73% dos alunos, o grau de relevância foi considerado ótimo, já que se trata de alunos do ensino médio, com nível de compreensão e entendimento já consideráveis. 27% dos alunos participantes responderam como bom, e isso ainda destaca que, mesmo com as afinidades nos assuntos, a relevância das discussões foi totalmente favorável a formação dos alunos.

Figura 28: Nossa pesquisa explorou sobre o tema "Impacto do óleo diesel na diversidade bacteriana do solo". A atividade introduziu novos conceitos a sua formação?



Para 73% dos alunos participantes, as atividades foram ótimas para a introdução de novos conceitos. Vale destacar que o ensino de microbiologia é algo bem superficial e quando

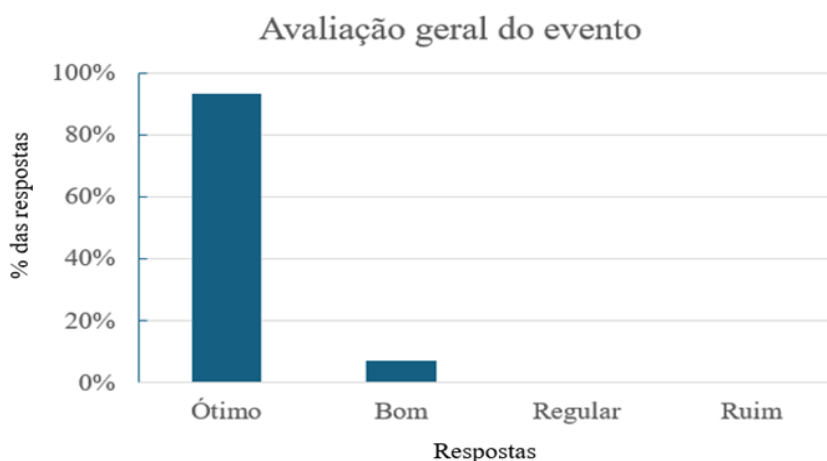
se inicia discussões neste sentido, a expectativa é sempre favorável. 23% dos alunos responderam como bom e apenas 3% responderam como regular.

Figura 29: Nossa pesquisa explorou sobre qual a importância do tema para a formação do aluno?



Para 83% dos alunos participantes, o tema foi ótimo para sua formação, já que introduziu novos conceitos, novas problemáticas que podem ser solucionadas a partir da biodegradação feita por bactérias. Além do mais, por se tratar de alunos do ensino médio, muitos ainda se procuram no mercado e ter uma grande aceitação é de crucial para a implementação dessas atividades nas escolas. 13% responderam como bom e, apenas 3% responderam como regular.

Figura 30: O tema Impacto do óleo diesel na diversidade bacteriano do solo teve sua avaliação geral.



Quanto à avaliação geral da atividade, 93% dos alunos participantes classificaram como ótima. Isso é de grande valor, pois é necessário tornar essas discussões muito mais recorrentes

e ter esse retorno dos alunos nos mostram que há muito a se acrescentar, porém estamos no caminho certo. 7% dos alunos classificaram como sendo bom.

É importante salientar que a aplicação de práticas educativas é fundamental para a compreensão de assuntos complexos e a falta de uma atividade experimental é o grande empecilho. Diversos fatores se somam a falta destas, tais como o tempo e a estrutura das instituições de ensino, porém, quando se acrescenta essa rotina, é nítido o valor que os discentes dão aos estudos e, principalmente, a sua formação acadêmica.

Sendo assim, como segunda etapa da nossa atividade, os alunos que participaram das atividades na escola, foram contemplados com um dia de visita aos laboratórios do Instituto de ciências biológicas da UFAM.

Figura 31: Visita dos alunos participantes aos laboratórios de Biofísica: Aula de Pipetagem (1) Instrumentação laboratorial (2, 3 e 4).



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

As visitas aos laboratórios acrescentaram essa amostragem científica que é quase inexistente na vida dos alunos de educação básica, e isso faz com que eles presenciem as atividades realizadas em um laboratório, bem como participem na formulação de seus conhecimentos científicos acerca de qualquer temática laboratorial.

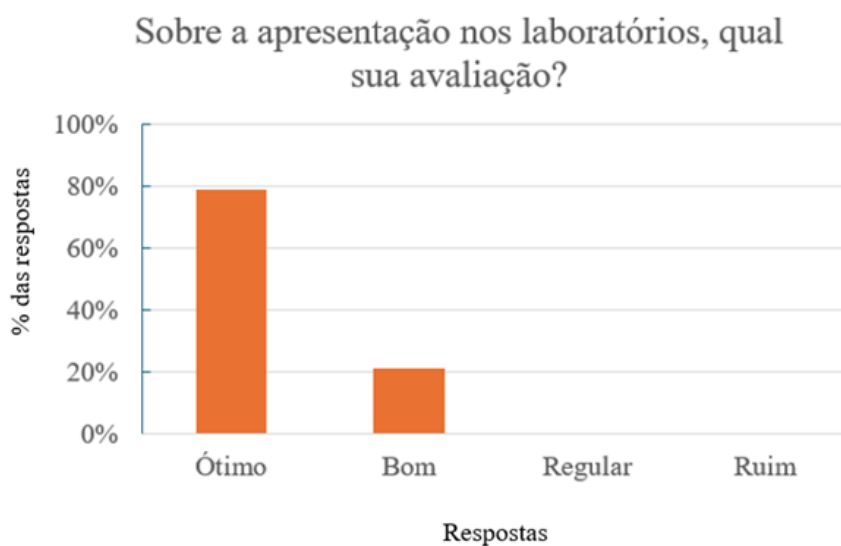
Figura 32: Visita dos alunos participantes aos laboratórios de Proteômica (1); Cultivo de colônias bacterianas presentes em solo, seguindo a temática do projeto (2);



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Ao final, os alunos responderam ao segundo questionário, referente a visita aos laboratórios, bem como aos assuntos trabalhados nos espaços. As respostas foram positivas e de grande valor para a sua continuidade.

Figura 33: Avaliação dos alunos quanto a apresentação dos laboratórios.



Dos 33 alunos participantes da visita, 79% classificaram como ótima a apresentação dos laboratórios e 21% classificaram como bom. Torna-se favorável discutir a importância da

alfabetização científica, pois os resultados nos destacam que a ausência dessas estruturas é sentida na formação dos alunos.

Figura 34: Referente as aulas sobre vidrarias e Pipetagem.



No Laboratório de Biofísica, os alunos participaram de uma introdução sobre as vidrarias e Pipetagem, e 94% dos alunos classificaram a aula como sendo ótima, isso reflete na importância dessas discussões e nas mostras dos materiais para os alunos.

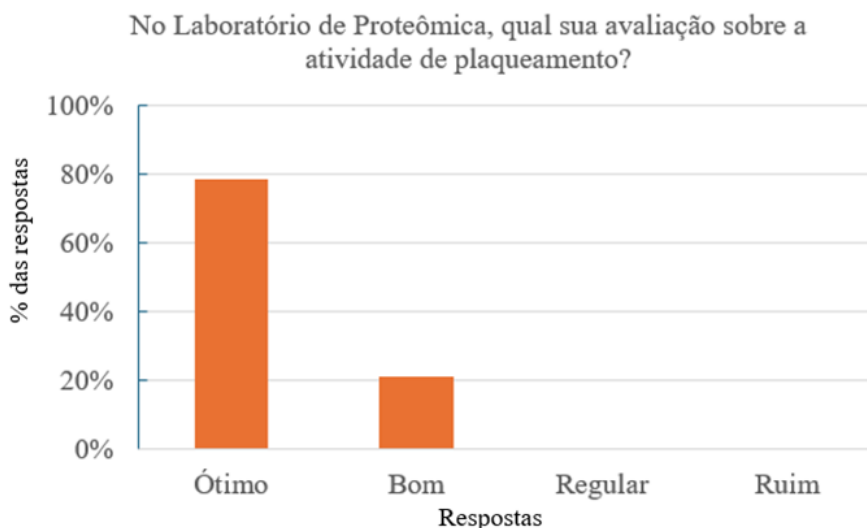
Figura 35: Referente a metodologia aplicada no Laboratório de Biofísica.



Sabe-se que a metodologia é peça fundamental para a compreensão dos assuntos e, diante disso, 91% dos alunos classificaram-na como sendo ótima. Torna-se evidente o sucesso

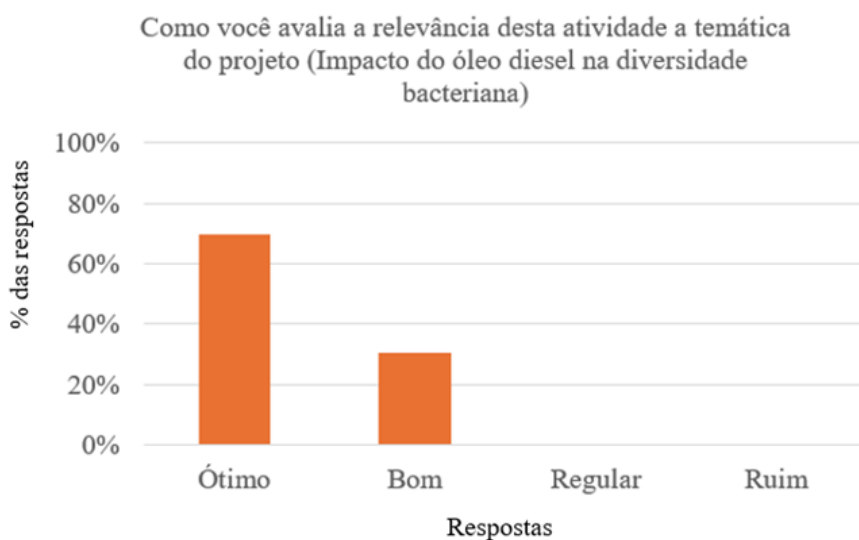
da atividade, já que 6% classificaram como sendo boa e apenas 3% como regular, isso é crucial para o entendimento do aluno.

Figura 36: Referente a aula de plaqueamento no laboratório.



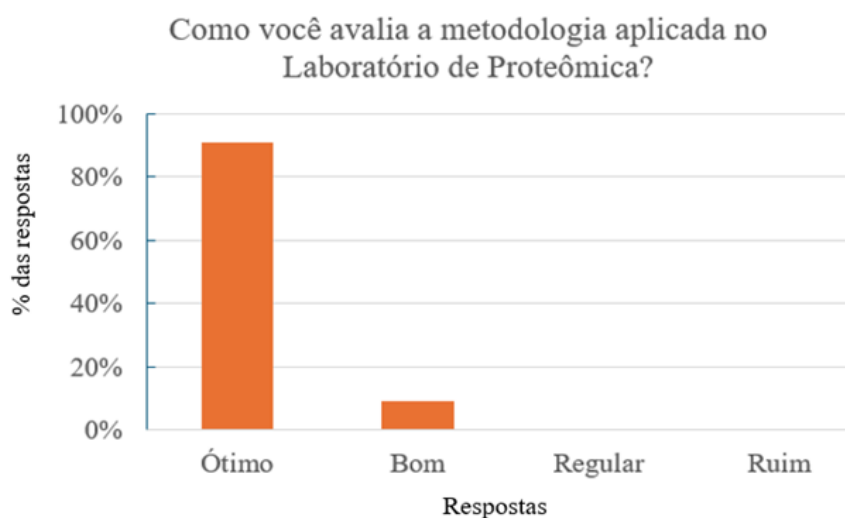
No Laboratório de Proteômica, os alunos participaram de uma aula sobre plaqueamento e cultivo de bactérias. Assunto importante para a temática do projeto e, dos 33 alunos participantes, 79% classificou a atividade como sendo ótima e 11% como sendo boa. Importante destacar que, mesmo sendo um assunto simples, muitos não tiveram contato com placas de Petri ou qualquer vidraria e quando se usa esses materiais, torna-se algo novo e muito significativo. Sendo assim, podemos considerar o sucesso desta atividade.

Figura 37: Relevância da atividade com o tema: O impacto do óleo diesel na diversidade bacteriana do solo.



Vale ressaltar que esta atividade de plaqueamento é simultânea ao que foi discutido nas atividades feitas na escola. Sendo assim, 70% dos alunos classificaram como ótimo e 30% classificaram como bom. Tais resultados mostram que estamos trilhando um caminho positivo, quanto a esta temática.

Figura 38: Referente a metodologia aplicada no Laboratório de Proteômica.

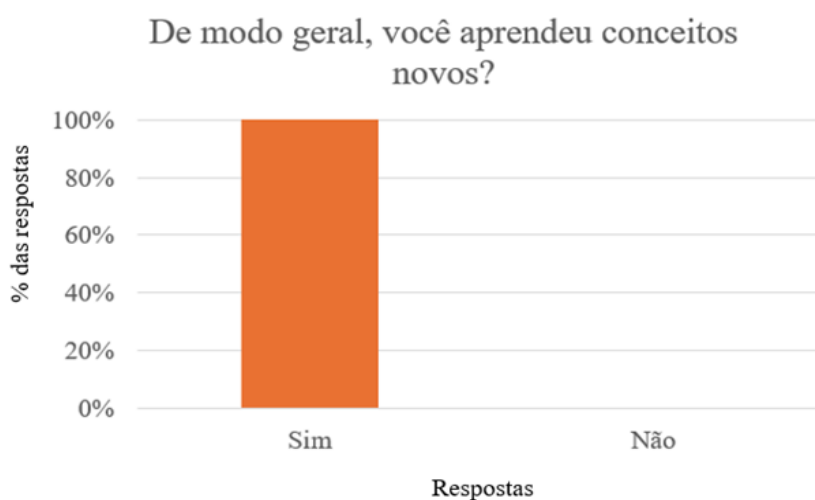


Assim

como no

Laboratório de Biofísica, entendemos que a resposta dos alunos quanto a metodologia aplicada é fundamental aos nossos objetivos, já que está diretamente associada à compreensão dos discentes quanto à temática. Logo, 91% dos alunos participantes classificaram a metodologia, aplicada no Laboratório de Proteômica, como ótima e 9% como sendo boa. Evidenciando assim, que os resultados foram positivos quanto a sensibilização dos alunos a respeito dos impactos que o óleo diesel causa, quando descartado ou derramado de forma incorreta.

Figura 39: Introdução de novos conceitos a partir das visitas aos laboratórios da Ufam.



Quanto à avaliação geral das nossas atividades nos laboratórios, 100% dos alunos responderam que sim, foi importante pois formulou novos conceitos a respeito das práticas dos laboratórios, bem como aos assuntos que foram abordados neste projeto e das atividades na escola.

Figura 40: Quanto a motivação dos alunos ao visitarem os laboratórios.



A

motivação dos alunos é peça primordial para sua formação e visitar lugares onde a ciência acontece, como os laboratórios, é algo novo e de altíssima importância. Sendo assim, 100% dos alunos se sentiram motivados aos estudos, a busca por ensino superior e a compreensão da temática do projeto.

O material didático é peça fundamental na formação dos alunos do ensino médio, sendo assim, elaboramos uma cartilha, que foi publicada pela Editora da Universidade Federal do Amazonas (EDUA/UFAM), para dar apoio aos estudos de microbiologia e compreender os impactos dos combustíveis fósseis na diversidade bacteriana.

Figura 41: Material de apoio ao docente e discente do ensino médio, com a temática do projeto e uma introdução aos principais pontos de abordagem do nosso trabalho.

O impacto do óleo diesel na diversidade bacteriana



<https://bit.ly/EDUA-ImpactoDiesel>

Emerson da Silva Oliveira
Betina Raquel de Oliveira Araújo
Luciano Alfaia de Oliveira
Genilton de Oliveira Cardenes
Isabelle Bezerra Cordeiro
Edmar Vaz de Andrade



ISBN: 978-65-5839-226-2

edua.ufam.edu.br

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tal documento vem com a finalidade de apoiar o professor e o aluno, do ensino médio, a respeito da problemática do diesel no solo. Na cartilha consta: 1 – Introdução aos combustíveis fósseis e seus impactos ao meio ambiente; 2 – Importância e caracterização das bactérias; 3 – Estrutura celular bacteriana; 4 – Impactos do óleo diesel na diversidade bacteriana; 5 – Avaliação da diversidade bacteriana.

6 DISCUSSÃO

CAPÍTULO 1 - ANÁLISE DO EFEITO DE ÓLEO DIESEL SOBRE A DIVERSIDADE BACTERIANA DE SOLO

Os resultados nos mostram que o diesel tem efeito direto sobre a diversidade bacteriana do solo: diminuindo a quantidade de linhagens, mas também possibilitando uma nova dinâmica na diversidade. Os microrganismos degradadores de hidrocarbonetos encontram-se com frequência no ambiente natural, e as liberações acidentais de hidrocarbonetos levam a um enriquecimento seletivo *in situ* desses organismos (Márquez-Rocha et al., 2001).

Os autores Hinchee e colaboradores (1995) mostraram que a biorremediação não prosseguiria substancialmente se a população de microrganismos nativos que podem degradar a contaminação alvo fosse menor que 105 unidades formadoras de colônias (UFC g⁻¹ do solo), talvez por esses motivos, não obtivemos tantas linhagens com possível ação de degradação do diesel, mas vale ressaltar que o estudo é promissor e pode apresentar mais linhagens com perfil biodegradador.

A fase de exposição inicial do solo a presença dos hidrocarbonetos, pode indicar a ocorrência de efeito tóxico do diesel sobre os microrganismos indígenas do solo (Hollender et al., 2003; Labud et al., 2007; Montagnolli et al., 2015) ou uma baixa abundância de populações microbianas degradadoras de hidrocarbonetos. Tal fato se associa também aos processos de aclimação, onde a temperatura e a aeração são efeitos cruciais, em se tratando de um ambiente artificial.

Essa exposição apresentou uma diferença na diversidade, onde a utilização do solo recém coletado nos proporciona uma maior informação a respeito da diversidade bacteriana, e isso é ponto de destaque em alguns trabalhos já feitos. Um desses é confirmado pelos registros de Herbes (1981), citado por Wilberg (2006), de que solos e microrganismos previamente expostos a contaminantes possuem menor período de aclimação do que aqueles sem prévia exposição., dando assim mais resultados a respeito dos processos de efeito dos hidrocarbonetos.

O sequenciamento nos destaca que a exposição do solo a concentração de 5% de diesel proporcionou um efeito direto na diversidade e o gênero *Acinetobacter* foi aquele que apresentou maior grau de relevância na presença do contaminante. Esse gênero é amplamente citado na literatura como potencial assimilador de hidrocarbonetos derivados de petróleo. Resultados obtidos por Mishra e colaboradores apontam, também, a eficiência da *Acinetobacter baumannii* como micro-organismo com grande potencial para biodegradação de hidrocarbonetos derivados de petróleo.

O filo Proteobacteria destacou-se nos dois tratamentos: com e sem diesel. Esse filo é muito citado em diversos trabalhos, onde os estudos de diversidade bacteriana em solos de áreas nas quais não ocorre interferência humana, mostram que este filo está presente nas comunidades bacterianas mais predominantes (Silveira et al. 2006). Resultados semelhantes podem ser observados ao avaliar solos que apresentam histórico de contaminação por hidrocarbonetos (Wunsche et al. 1995; Ozaki et al 2006).

O teste DCPIP apresentou a linhagem S66 como aquela que, possivelmente, utiliza o diesel como fonte de carbono. Kubota e colaboradores (2008) destacam o princípio deste teste é que durante a oxidação microbiana dos hidrocarbonetos ocorre transferências de elétrons. Assim, a presença de aceptores de elétrons, como o DCPIP, no meio de cultura pode ser utilizada para averiguar a presença de microrganismos que usam hidrocarbonetos como substrato, pela observação da mudança de cor do 2,6-diclorofenol indofenol de azul (oxidado) para incolor (reduzido).

Mesmo que alguns isolados não apresentando uma curva de degradação do diesel, a colônia S66 foi a que melhor desempenhou a função, podendo ser uma promissora linhagem que atue na degradação dos hidrocarbonetos. Leal e colaboradores (2022) descreveram que a rápida adaptação das bactérias ao meio contendo óleo diesel pode ser relacionada à origem destas linhagens, uma vez que essas foram isoladas de ambientes com histórico de contaminações por hidrocarbonetos de petróleo. Reforçam ainda que isso explicaria a ausência de efeito tóxico do óleo diesel e a rápida adaptação metabólica das bactérias para o catabolismo de hidrocarbonetos. Desta forma, estes microrganismos podem ser considerados candidatos em potencial para aplicação biotecnológica ao simplificar o processo de produção de inóculo.

CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS PEDAGÓGICAS PARA O ENSINO MÉDIO E EPT

O ensino de microbiologia, na educação brasileira, está predominantemente centrado na identificação dos diversos grupos de microrganismos e suas respectivas doenças, abordando apenas alguns vírus, bactérias e protozoários (Ministério da Educação, 2018). E mesmo estando presente na base curricular, a compreensão dos estudantes, quando o assunto é a microbiologia, enfrenta desafios relacionados à estrutura pedagógica vigente. Um dos exemplos é a metodologia tradicional de ensino, que é muito discutida quanto à sua eficácia real na assimilação de conceitos ou conteúdos específicos (Armellini, 2021).

No ano de 2020, a pandemia que assolou o mundo, apresentou a necessidade de destacar o estudo da microbiologia como ponto de entendimento ao que vivenciávamos e passamos a adotar como postura, após esse período. Para corroborar a essa afirmação, Oliveira e colaboradores (2024) destacam que a falta de compreensão, nos campos da microbiologia, levou a consequências graves, incluindo a disseminação de informações errôneas e medidas ineficazes para conter a propagação do vírus, resultando em perdas humanas significativas.

As inúmeras mudanças decorrentes da implementação do novo ensino médio, o estudo de microbiologia, na educação básica, ficou prejudicada. Tal decorrência se correlaciona com a falta de materiais didáticos e, até mesmo, da sua contemplação nas propostas curriculares vigentes. Em 2009, Farias & Bandeira, observaram que o ensino de microbiologia já enfrentava desafios devido a abordagem tradicional, baseada em uma memorização e, já comprovada em muitos estudos, como sendo uma forma ineficaz de assimilação do conhecimento. Tal ineficiência é destacada atualmente, com a ausência de materiais e, até mesmo, com a retirada dessa área, nos estudos de biologia.

As palestras e atividades realizadas na escola, entram em comum acordo com o que relatam Pedrancini e colaboradores (2008) onde lá, eles enfatizavam que abordagens educacionais que se limitam a transmitir conhecimento sem aplicabilidade e contexto, os conceitos são meramente memorizados temporariamente; ou seja, a utilização de recursos visuais, experimentos práticos e abordagens interdisciplinares pode facilitar a compreensão dos conceitos microbiológicos, tornando-os mais acessíveis e relevantes para a vida cotidiana. (OLIVEIRA, 2024).

É de se ressaltar que o processo de ensino aprendizagem é constante e primordial para a formação de um bom profissional, isso é o anseio de uma sociedade e do mercado de trabalho. Somado a isso, a alfabetização científica desempenha um papel crucial ao aproximar os conteúdos produzidos pela ciência tradicional, rompendo a barreira do mundo dos pesquisadores e seus laboratórios, como bem lembram os autores Oliveira e colaboradores (2024). Eles destacam ainda que a ciência desempenha um papel essencial no desenvolvimento de ideias, políticas públicas e na orientação de sociedades como um todo. Está profundamente enraizada em todos os aspectos da vida humana. É evidente que um indivíduo desprovido de conhecimentos científicos fica vulnerável a falsas informações e discursos vazios que, em grande escala, podem levar sociedades inteiras à decadência.

Observando a atenção dos alunos quanto às visitas aos laboratórios da UFAM, notou-se uma grande aceitação quanto ao espaço e, principalmente, nos assuntos abordados. Comprovando com o que Damasceno (2016) já relatava, onde o mesmo afirma que, durante o processo de ensino de ciências, as instituições de ensino negligenciam a utilização do laboratório por diversos motivos – falta de espaço físico, falta de tempo para o preparo de materiais, ausência de vidrarias e meios de cultura, profissionais habilitados para desenvolver aulas práticas – esquecendo-se de que os laboratórios despertam no aluno seu senso

investigativo, fazendo que ele reflita, julgue, colabore com o colega, seja mais participativo e atento ao conteúdo.

Ao mesmo tempo, é importante destacar que a extensão universitária é fundamental pois, ao reconhecer o compromisso social que a Universidade deve ter, afirma-se que as ações devem ser participativas, de modo a permitir o compartilhamento de desafios e de alternativas, para fomentar mudanças e democratizar o conhecimento (COELHO, 2014).

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados descritos neste trabalho conclui-se que o óleo diesel, mesmo diante da sua importância econômica, apresenta impactos à diversidade bacteriana, principalmente na manutenção de linhagens que podem ser necessárias ao ambiente.

O cultivo bacteriano com a presença de uma certa quantidade de diesel, apresentou um efeito que, mesmo sendo pequeno, é crucial para distinguir aquelas que tem uma possível resistência a toxicidade ou, até mesmo, utilizar o combustível como fonte importante de carbono, o que pode, futuramente, descobrir nelas, um potencial efeito biodegradador.

Todos os resultados servem para ampliar as discussões da importância da microbiologia em todas as esferas de ensino, uma vez que no ensino médio, esta área foi desconsiderada na contemplação da proposta curricular do ensino médio. O interesse do aluno é nítido e deve ser levado em conta para que seja implementada novas alternativas que atendam a esse estudo tão necessário e desafiador a alfabetização científica dos discentes.

O uso de metodologias ativas é de grande valia e, somado ao uso de jogos lúdicos, deixa os assuntos de microbiologia bem mais atrativos e interessantes, proporcionando um novo olhar a esta área que, antes, só era vista como aquela que estuda doenças causados por bactérias, fungos e vírus, e agora, por aquela que pode se associar a produção de medicamentos e alimentos bem como a recuperação ambiental.

8 REFERÊNCIAS

- ABBASIAN, F. et al. A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, New York, v. 176, n. 3, p. 670–699, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12010-015-1603-5>> Acesso em: 04 set. 2022.
- AFZAL, A. M. et al. **Assessment of heavy metal tolerance and biosorptive potential of *Klebsiella variicola* isolated from industrial effluents.** *Amb Express*, [s.l.], v. 7, n. 1, 29 set. 2017. Springer Nature.
- AMARAL, B. S.; NOVAES, F. J. M.; RAMOS, M. D. C. K. V.; NETO, F. R. D. A.; GIODA, A. **Comparative profile of pollutants generated by a stationary engine fueled with diesel, biodiesel, and ethanol.** *J. Aerosol Sci.* 2016, 100, 155.
- AMBIEN LTDA BRASIL.** Ficha técnica saneamento ambiental: tratamento de águas e efluentes, redução de custos, eliminação de odores e melhoria na eficiência e performance de tratamento. Lauro de Freitas: [s.n.], 2017. Disponível em: <<http://www.em-la.com>>. Acesso em: 02 set. 2022.
- ARMELLINI, B. R. C. Utilização do ensino híbrido no ensino médio e superior com uso do “Adote uma bactéria” como ferramenta para inserção das redes sociais no estudo de Microbiologia. 2021. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) –Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ANDRADE, J. A; AUGUSTO, F; JARDIM, I. C. S. F. **Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados.** *Eclética Química*. São Paulo, 35 (3), Set 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-46702010000300002>> Acessado em: 10 fev. 2023.
- ARAÚJO, R. M. de L.; RODRIGUES, D. do S. Referências sobre práticas formativas em Educação Profissional: o velho travestido de novo ante o efetivamente novo. **Boletim Técnico do Senac**, Rio de Janeiro, v.36, n.2, p.51-63, 2010.
- BARBOSA, F. H. F. BARBOSA, L. P. J. L. Alternativas metodológicas em Microbiologia: viabilizando atividades práticas. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, 10(2), 134-143, 2010
- BAYAT, Z.; HASSANSHAHIAN, M.; CAPPELLO, S. Immobilization of Microbes for Bioremediation of Crude Oil Polluted Environments: A Mini Review. **The open microbiology journal**, v. 9, p. 48–54, jul. 2015
- BERBEL, N. A. N. **As metodologias ativas e a promoção da autonomia de estudantes.** *Ciências Sociais e Humanas*, Londrina, v. 32, n. 1, p. 25-40, 2011.
- BRASIL.** Lei nº 9394. Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional. Brasília: 1996.
- BRASIL.** Lei nº 9394. Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional. Brasília: Resolução Nº 6, de 20 de setembro de 2012. Define as Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação Profissional Técnica de Nível Médio, 2012
- Boletim Mensal Dos Combustíveis Renováveis. **Ministério de Minas e energia, Secretaria de Petróleo, Gás Natural e Combustíveis.** Departamento de Renováveis. Ed., Dezembro de 2020. Disponível em www.mme.gov.br. Acesso em: Agosto de 2022.

BOHRER, R. E. G.; **Eletrobiorremediação e avaliação da atividade biológica de solos**. 2012. 104f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) –Universidade Federal de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2012.

BONFIM, F. P. G., et al. (2011). Caderno Dos Microrganismos Eficientes (EM): Instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM. Universidade Federal de Viçosa/Departamento de Fitotecnia. (2a ed.). 32 p.

CALHAU, M. F.; PEREIRA V. **Principais biocombustíveis e combustíveis fósseis, com breve abordagem ao projeto de conversão da refinaria de Sines do ponto de vista da higiene e segurança**. Dissertação (Mestrado em Energia e Bioenergia). Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.

CARVALHO, J. F. **Combustíveis fósseis e insustentabilidade**. Ciência e Cultura, São Paulo, v. 60, n. 3, p. 30-33, set. 2008.

CHANDRA, S. et al. Application of bioremediation technology in the environment contaminated with petroleum hydrocarbon. **Annals of Microbiology**, Milano, v. 63, n. 2, p. 417-431, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13213-012-0543-3>>. Acesso em: 01 set. 2022.

COELHO, F. M. G. **A arte das orientações técnicas no campo: concepções e métodos**. 2. ed. rev. ampl. Viçosa, MG: Suprema, p 188. 2014

CORDÃO, F. A.; MORAES, F. **Educação profissional no Brasil: síntese histórica e perspectivas**. São Paulo: Ed. Senac São Paulo, 2020. 236 p.

COTTA, J. A. DE O., LEMOS, G. S., LIMA, E. N. (2020). Ensaio ecotoxicológico de solo contaminado por diesel submetido à degradação pela espécie *Eisenia fetida*. **Research, Society and Development**, 9 (2), e106922122. Disponível em: <<https://doi.org/10.33448/rsd-v9i2.2122>>.

CRAPEZ, M. A. C.; BORGES, A.L.N.; BISPO, M. G. S. & PEREIRA, D. C. 2002. **Biorremediação: tratamento para derrames de petróleo**. Ciência Hoje, 30 (179), 32-37

DAMASCENO, P. S. **A importância das aulas de laboratório nas diversas áreas da Ciência: o desenvolvimento de competências**. Educacao.estadao.com.br.2022.

DEMATTÊ, J.A. .; GIASSON, E.; COUTO, E.G.; SAMUEL-ROSA, A.; DE CASTRO, S. S.; DALMOLIN, R.S.D.; BRILHA, J.; BOTELHO, R.G.M.; AZEVEDO, A; The Brazilian soil priorities. **GEODERMA REGIONAL**,v. 22, p. e00503, 2022.

EPA -Environmental ProtectionAgency (EUA). Design Document for Passive Bioventing. How To Evaluate Alternative Cleanup Technologies For Underground Storage Tank Sites: A Guide For Corrective Action Plan Reviewers, 2006 (EPA 510-B-94-003; EPA 510-B-95-007; and EPA 510-R-04-002). Disponível em: <http://www.epa.gov/swrust1/pubs/tum_ch3.pdf>. Acesso em: 02 de Set. de 2022.

FARIAS, M. E. BANDEIRA, K. O uso das analogias no ensino de ciências e de biologia. **Ensino, Saúde e Ambiente**, 2 (3) 2009

FIGUEIRAL, C. M. A. **Aplicação do conceito de combustão dual-fuel num motor diesel pesado**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica). Universidade de Coimbra, Coimbra, 96 p, 2011.

GAYLARDE, C. C., BELLINA, L. D. M., MANFIO, P. G. 2005. Biorremediação: Aspectos biológicos e técnicas da biorremediação de xenobióticos. **Meio Ambiente. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**. n. 34, 36-43.

GAUTHIER, Clermont et al. **Por uma teoria da Pedagogia**. Ijuí: Unijuí, 1998.

HANNICK, D. **The potential and challenges of growing short rotation coppice willow for energy purposes in the Republic of Ireland**. Dissertação (Mestrado em Environmental, health and Safety Management). Institute of Technology, Sligo, 2005.

HASSANSHAHIAN, M.; EMTIAZI, G.; CAPPELLO, S. **Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian Sea**. Marine Pollution Bulletin, v. 64, p. 7 – 12, jan. 2012.

HEINTSCHEL, R. Teachers teach thinking: A staff development program (the T-cubed Model). In: **11th Annual Conference of the National Council of States on Inservice Education**, Nashville, TN, 1986.

HINCHEE, R. E.; FREDRICKSON, J.; ALLEMAN, M. B. C. (Eds). **Bioremediation of chlorinated solvents**. Columbus, OH: Battelle Press, 1995. 221p.

HIGA, T. & PARR, J. F. **Microorganismos Benéficos y efectivos para una agricultura y medio ambiente sostenibles**. Maryland (USA): Centro internacional de Investigación de Agricultura Natural, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, v. 13. 2013.

KAVITHA, V. et al. Microbial biosurfactant mediated removal and/or solubilization of crude oil contamination from soil and aqueous phase: An approach with *Bacillus licheniformis* MTCC 5514, **International Biodeterioration e Biodegradation**, Essex, v. 94, n. 4, p. 24-30, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.04.028>>. Acesso em: 01 set. 2022.

KIMURA, A.H. et al. **Microbiologia para o ensino médio e técnico: contribuição da extensão ao ensino e aplicação da ciência**. Revista Conexão UEPG, Ponta Grossa, v. 9, n. 2, p. 254 -267, 2013.

KUBOTA, K.; KOMA, D.; MATSUMIYA, Y.; CHUNG, S-Y.; KUBO, M.; **Biodegradation** 2008, 19, 749

KUENZER, A. Z. **Ensino Médio: construindo uma proposta para os que vivem do trabalho**. São Paulo: Cortez, 2007.

LEAL, P. L. et al. **Atividade catabólica e biodegradação de hidrocarbonetos alcanos de óleo diesel por bactérias em culturas puras e em consórcio**. Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.8, n.4, p.26311-26324, apr.,2022. Disponível em: <DOI:10.34117/bjdv8n4-236>. Acesso em 29 dez. 2024.

LEHMANN, M, CHRISTENSEN, P, DU, X, & THRANE, M. Problem-oriented and project-based learning (POPBL) as an innovative learning strategy for sustainable development in engineering education. **European journal of engineering education**, 33(3), 283-295, 2008

LIMA, S. D., OLIVEIRA, A. F., GOLINA, R., LOPES, V. C. P., CAIXETA, D. S., LIMA Z. M. MORAIS, E. B. (2020) **ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF HYDROCARBON-DEGRADING BACTERIA FROM GAS STATION LEAKING-CONTAMINATED GROUNDWATER IN THE SOUTHERN AMAZON, BRAZIL**. Braz. J. Biol., vol. 80, no. 2 pp.354-361.

MACHADO, L.R.S. Diferenciais inovadores na formação de professores para a educação profissional. **Revista Brasileira da Educação Profissional e Tecnológica**, Brasília, v. 1, nº 1, 2008.

MACEDO, C.; ANGELI, R.; OLIVEIRA, S. D.; CARMO, F. L. **Mapeamento tecnológico dos processos de biorremediação: uma análise no contexto da biotecnologia sustentável**. Cadernos de Prospecção, v. 8, n. 3, p. 450-458, 2015.

MANACORDA, M. A. **Marx e a pedagogia moderna**. Campinas: Alínea, 2010.

MARIANO, A. P. et al. **Monitoramento de indicadores geoquímicos e avaliação de biodegradação em área contaminada com óleo diesel**. Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 296-304, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522007000300009>>. Acesso em: 01 set. 2022.

MARQUEZ, R. et al. **Biodegradation of diesel oil in soil by a microbial consortium**. Water, Air, and Soil Pollution, 128:313-320. 2001.

MEGHARAJ, M. et al. **Bioremediation approaches for organic pollutants: a critical perspective**. Environment International, Crete, v. 37, n. 8, p. 1362-1375, 2011, Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.06.003>>. Acesso em: 01 set. 2022.

MEYER, D. D. **Avaliação da biodegradabilidade em misturas de diesel e biodiesel (B0, B10 E B100) em dois solos com diferentes granulometrias**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2011.

MICHELS, J. et al. **Biologische verfahren zur bodensanierung**. Bonn: Grun-weise Reihe des BMBF, 2000. 1413 p.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. Cursos da Educação ProfissionalTécnica de Nível Médio.2020. Disponível em <<http://portal.mec.gov.br/cursos-da-ept/cursos-da-educacao-profissional-tecnica-de-nivel-medio>>. Acesso em 22/01/2023.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. Base Nacional Comum Curricular. Brasília: MEC, 2018.

MISHRA, S.; SARMA, P. M.; LAL, B.; **FEMS Microbiol. Lett.** 2004, 235, 323.

MONTAGNOLLI, R. N., P. R. M. LOPES E. D. BIDOIA. Screening the toxicity and biodegradability of petroleum hydrocarbons by a rapid colorimetric method. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 68(2): 342-353. 2015 DOI: <https://doi.org/10.1007/s00244-014-0112-9>.

MOURA, D. H. PROEJA: **formação técnica integrada ao Ensino Médio**. Ministério da Educação: Brasília, 2006.

MOURA, H. F. N, et al. Uma estratégia para avaliaçãoda percepção de docentes e discentes acerca dos métodos de ensino. *Revista Brasileira de Educação Médica* 46 (2) 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1981-5271v46.2-20210327>>. Acessado em: 01 dez. 2022

NASCIMENTO, L. A. do. **Saberes Docentes Profissionais de Nível Médio do IFPI: A Construção de uma Docência unificada**. São Leopoldo. 103f. 2013. Dissertação 74

National Research Council. Taking science to school: Learning and teaching science in grades K8. National Academies Press, 2007.

NESPECA, M. G.; HATANAKA, R. R.; FLUMIGNAN, D. L.; OLIVEIRA, J. E. D. **Rapid and Simultaneous Prediction of Eight Diesel Quality Parameters through ATR-FTIR Analysis.** J. Anal. Methods Chem. 2018, 1795624.

Ovigli, D. F. B., Silva, E. D. Microrganismos? Sim, na saúde e na doença! Aproximando universidade e escola pública. **I Simpósio Nacional de Ensino de Ciência e Tecnologia.** 2009

OLIVEIRA, L. da S. et al. Sequência didática pautada no ensino por investigação para aulas de microbiologia no Ensino Médio. Research, Society and Development, v. 13, n.1, e5913144674, 2024. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v13i1.44674>>. Acessado em: 18 Mar. 2024.

OZAKI, S.; KISHIMOTO, N. & FUJITA, T. **Isolation and phylogenetic characterization of microbial consortia able to degrade aromatic hydrocarbons at high rates.** Microbes Environ., 21:44-52, 2006.

PANTOJA, A. M. S. **PROPOSTA DE ENSINO BASEADA NAS METODOLOGIAS ATIVAS NO CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA.** Dissertação (Mestrado Profissional em Educação Profissional e Tecnológica). INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO AMAPÁ, Manaus, 2019.

PETEROSI, H. G.; MENINO, S. E. **A formação do formador.** São Paulo: Centro Paula Souza, 2017. Coleção Fundamentos e Práticas em Educação Profissional e Tecnológica. V. 10.

QUINTELLA, C. M., MATA, A. M. T., & LIMA, L. C. P. **Overview of bioremediation with technology assessment and emphasis on fungal bioremediation of oil contaminated soils.** Journal of Environmental Management, 241, 156–166.2019.

RAMOS, M. **Concepção do ensino médio integrado.** Disponível em: <http://forumeja.org.br/go/sites/forumeja.org.br/go/files/concepcao_do_ensino_medio_integrado5.pdf>. Acesso em: 09 Set. 2022.

RON, E. Z.; ROSENBERG, E. **Enhanced bioremediation of oil spills in the sea.** Current Opinion in Biotechnology, London, v. 27, n. 24, p. 191-194, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.02.004>>. Acesso em: 01 Set. 2022.

ROSA, A. P. **Processos de biorremediação na mitigação do impacto ambiental, devido a eventuais derrames de óleo na bacia de campos -experimentos laboratoriais.** 2001. 145f. Tese (Mestrado em Engenharia de Reservatório e Exploração de Petróleo), Universidade Estadual do Norte Fluminense, Macaé –RJ, 2001

SANTOS, J. M., et al., Chemical Aspects of Onshore Crude Oils from the Carmópolis Field, Sergipe-Alagoas Basin, **Brazil: A Case Study on the Industrial Process for Water–Oil Separation.** Energy&Fuels 2015, 29, 1315–1322.

SASSERON, L & CARVALHO. A. **Alfabetização científica: Uma revisão bibliográfica.** Revista Investigações em Ensino de Ciências, 16(1), 59-77. 2011.

SILVEIRA, E.L.; PEREIRA, R.M.; SCAQUITTO, D.C.; PEDRINHO, E.A.N.; VAL-MORAES, S.P.; WICKERT, E.; CARARETO-ALVES, L.M. & LEMOS, E.G.M. **Bacterial diversity of soil under eucalyptus assessed by 16S rDNA sequencing analysis.** Pesq. Agropec. Bras., 41:1507-1516, 2006.

SILVEIRA, K. A. Interações Microbiológicas à luz da Teoria Gaia: Simbiogênese na Microbiologia Ambiental. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v.12, n.1, p.94-106. 2024.

SOARES M. C. B. B.; LUCENA, A. F. P.; CUNHA, B. S. L.; SZKLO, A.; Schaeffer, R. **Diesel imports dependence in Brazil: A demand decomposition analysis**. Energy. Strategy. Rev. 2017, 18, 63.

SOUSA, J. R. **A formação humana omnilateral e a proposição da escola unitária de Antonio Gramsci: Uma análise à luz da ontologia marxiana**, 2012. 162 f. Dissertação (Mestrado em Educação) Faculdade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

Souza, F. das C. S., Medeiros Neta, O. M. de. **EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA NO BRASIL NO SÉCULO XXI: EXPANSÃO E LIMITES. Educação Profissional E Tecnológica Em Revista**, 5(2), 109-125. 2021. <https://doi.org/10.36524/profept.v5i2.1222>.

SUZUKI, E. V.; REZENDE, F. D. **Estudo da utilização da geração fotovoltaica para auxiliar a suprir a demanda crescente de energia elétrica no Brasil**. Monografia (Especialização). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

THOMINETTE, J. F.; VERDU, Photo-Oxidative Behaviour Of Crude Oils Relative To Sea Pollution: Part I. **Comparative study of various crude oils and model systems Marine**. Chemistry 1984, 15, 91-104

TOMASSONI, F. S., SANTOS R. CARPINSKI F.; F. S.; SILVEIRA, L **Técnica de biorremediação do solo**. 2014. Acta Iguazu, Cascavel, v.3, n.3, p. 46-56, 2014.

TORTORA, G. J., FUNKE, B. R, & CASE, C. L. **Microbiologia**. 10a ed. ArtMed, 934. 2012.

VARJANI, S. J. et al. Isolation and Screening for Hydrocarbon Utilizing Bacteria (HUB) from petroleum samples. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Kancheepuram, v. 2 n. 4, p. 48-60, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40064-016-3617-z>>. Acesso em: 02 Set. 2022.

VYGOTSKY, L. S. **A formação social da mente: o desenvolvimento dos processos psicológicos superiores**. 4ª ed. São Paulo: Martins Fontes, 1991.

WILBERG, D. Q. **A espécie *Trifolium repens* como bioindicadora de estado de Biorremediação do solo contaminado com óleo diesel**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná. 172p., 2006.

9 APÊNDICES

Apêndice I - Questionário para aplicação pós-palestra (Plickers)

- 1) **Microbiologia é o ramo da Biologia que estuda os microrganismos, como vírus, bactérias e fungos. Marque a alternativa correta, quando se fala sobre a diferença que podem ser observadas entre eles?**
- Vírus não são seres caracterizados como parasitas intracelulares.
 - As bactérias e os fungos são microrganismos que fazem parte do Reino Monera.
 - Os vírus são seres celulares
 - As bactérias são seres unicelulares e os fungos são seres uni ou pluricelulares
- 2) **Sabemos que as bactérias possuem uma grande variedade de formas e modos de vida, sendo que algumas vivem solitárias e outras formam colônias. Podemos classificar as bactérias de acordo com seu formato e agrupamento. Marque a alternativa que contém apenas formas de bactérias.**
- Cocos, espirilos e bacilos.
 - Cocos, vibriões e bacteriófagos.
 - Bacilos, cocos e flagelados.
 - Flagelados, ciliados e sarcodíneos.
- 3) **As bactérias são seres vivos diversificados e que podem desempenhar diferentes funções, como:**
- I. Participar de ciclos biogeoquímicos e, com isso, auxiliar na renovação de elementos químicos no ambiente.*
- II. Produzir alimentos.*
- III. Colaborar para o desenvolvimento da Biotecnologia e produção de medicamentos.*
- IV. Restaurar ambientes contaminados por meio da biorremediação no tratamento de poluentes.*
- Estão corretas as afirmativas:**
- I e II
 - III e IV
 - I, II e III
 - Todas as alternativas
- 4) **As bactérias são organismos que, apesar de estarem relacionadas com doenças nos seres humanos, são importantes para o planeta, uma vez que realizam decomposição. Além disso, as bactérias possuem importância econômica. Sobre o tema, marque a alternativa incorreta:**
- Algumas espécies de bactérias são utilizadas na fabricação de vinagre.
 - Existem bactérias que são utilizadas na fabricação de iogurte.

- c. A toxina botulínica é produzida por uma bactéria e é utilizada para tratamentos estéticos.
- d. Na área da saúde, as bactérias são utilizadas exclusivamente como antibióticos.

5) As três principais fontes de energia (petróleo, carvão mineral e gás natural) em todo o mundo são combustíveis fósseis. Juntas, essas três fontes correspondem a 80% de todo o consumo mundial de energia.

Essa configuração, a depender do critério de análise, pode ser considerada:

- a. positiva, pois esses recursos são abundantes e economicamente vantajosos para os países em desenvolvimento.
 - b. negativa, pois tais combustíveis são a principal forma de poluição dos recursos hídricos do planeta.
 - c. positiva, pois a substituição de outras fontes de energia por combustíveis favorece o combate ao aquecimento global.
 - d. negativa, pois os combustíveis fósseis são altamente poluentes e apresentam uma disponibilidade limitada.
- 6) “Constituído basicamente por hidrocarbonetos, o óleo diesel é um combustível fóssil obtido através da destilação do petróleo. Essa substância se encontra no estado físico líquido, com coloração amarelada, odor característico, além de apresentar baixo teor tóxico e ser pouco inflamável.”**

"Óleo Diesel" em: <https://brasilecola.uol.com.br/geografia/diesel.htm>

Quais são os dois hidrocarbonetos que compõem o Óleo Diesel?

- a. Carbono e hidrogênio.
 - b. Nitrogênio e hidrogênio.
 - c. Oxigênio e sais minerais.
 - d. Carbono e sedimentos.
- 7) O óleo diesel é um dos principais tipos de combustível usado para a geração de energia mecânica, principalmente nos motores diesel dos veículos automotores, pois oferece um maior rendimento e economia se comparado à gasolina convencional. Como é obtido o óleo diesel?**
- a. A partir da destilação do petróleo bruto em refinarias petrolíferas.
 - b. A partir da destilação do carvão mineral em refinarias petrolíferas.
 - c. A partir da destilação do etanol em refinarias petrolíferas.
 - d. A partir da destilação do biodiesel em refinarias petrolíferas.
- 8) Apesar de bastante eficiente, a intensa utilização do óleo diesel desencadeia vários problemas ambientais. A queima desse combustível libera gases poluentes na**

atmosfera e os acidentes com derramamento de óleo. Como forma de mitigar esses impactos, devemos adotar:

- a. A implantação de grandes usinas térmicas de eletricidade.
- b. A acentuação do uso de recursos finitos de energia elétrica.
- c. A substituição por fontes menos poluentes, como a lenha.
- d. A diminuição de uso de automóveis com motor a combustão.

9) A biorremediação é uma técnica que consiste da utilização de organismos vivos, sobretudo microrganismos, para degradar resíduos ambientais. Com relação à biorremediação, assinale a alternativa INCORRETA:

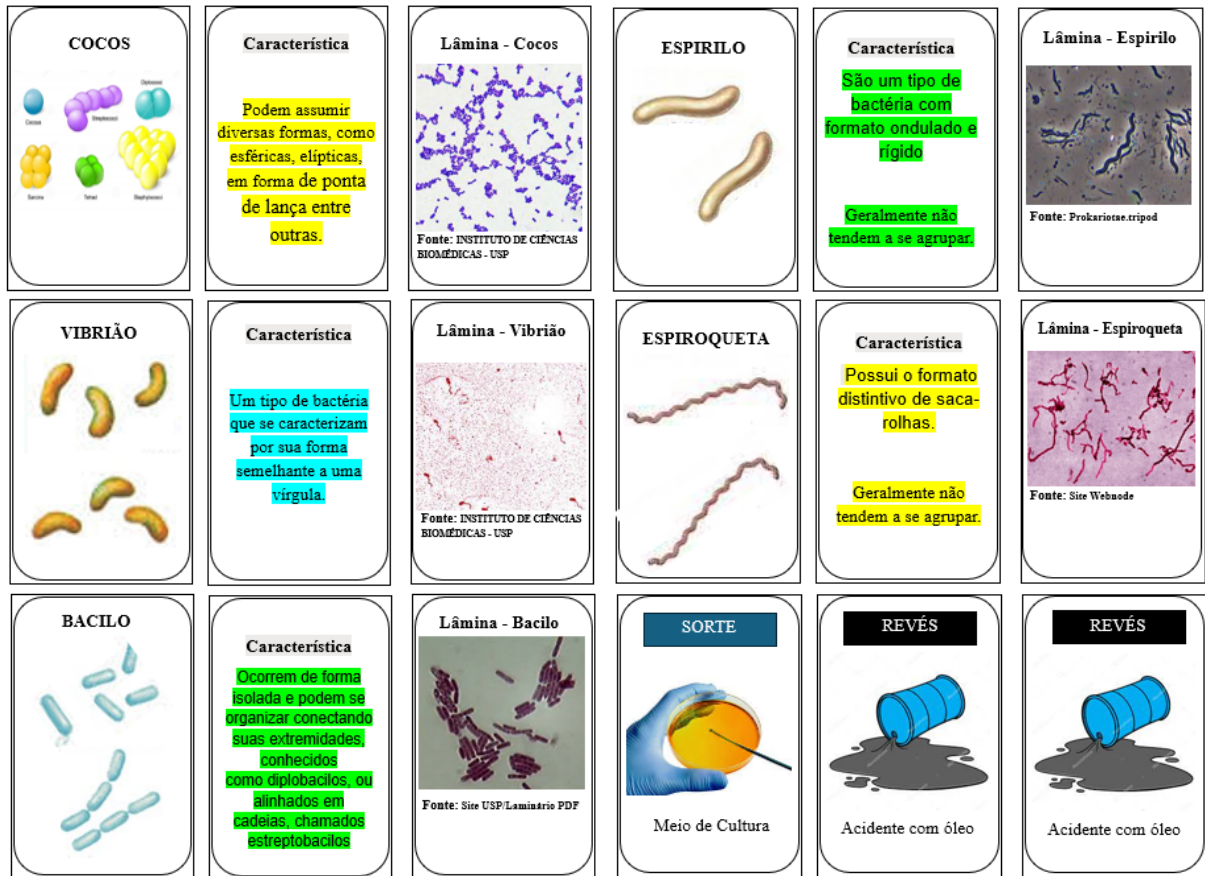
- a. É uma técnica utilizada para remediação de depósitos de lixo e solos contaminados com compostos orgânicos semivoláteis.
- b. Esta técnica explora a capacidade dos microrganismos, especialmente de bactérias e fungos, de degradar muitos tipos de resíduos.
- c. As condições ambientais tais como pH, temperatura e nível de oxigênio não interferem no processo da biorremediação.
- d. Um exemplo de biodegradação é a degradação de hidrocarbonetos aromáticos por microrganismos do solo, quando a terra está contaminada por gasolina ou petróleo.

10) Pesticidas são contaminantes ambientais altamente tóxicos aos seres vivos e, geralmente, com grande persistência ambiental. A busca por novas formas de eliminação dos pesticidas tem aumentado nos últimos anos, uma vez que as técnicas atuais são economicamente dispendiosas e paliativas. A biorremediação de pesticidas utilizando microrganismos tem se mostrado uma técnica muito promissora para essa finalidade, por apresentar vantagens econômicas e ambientais.

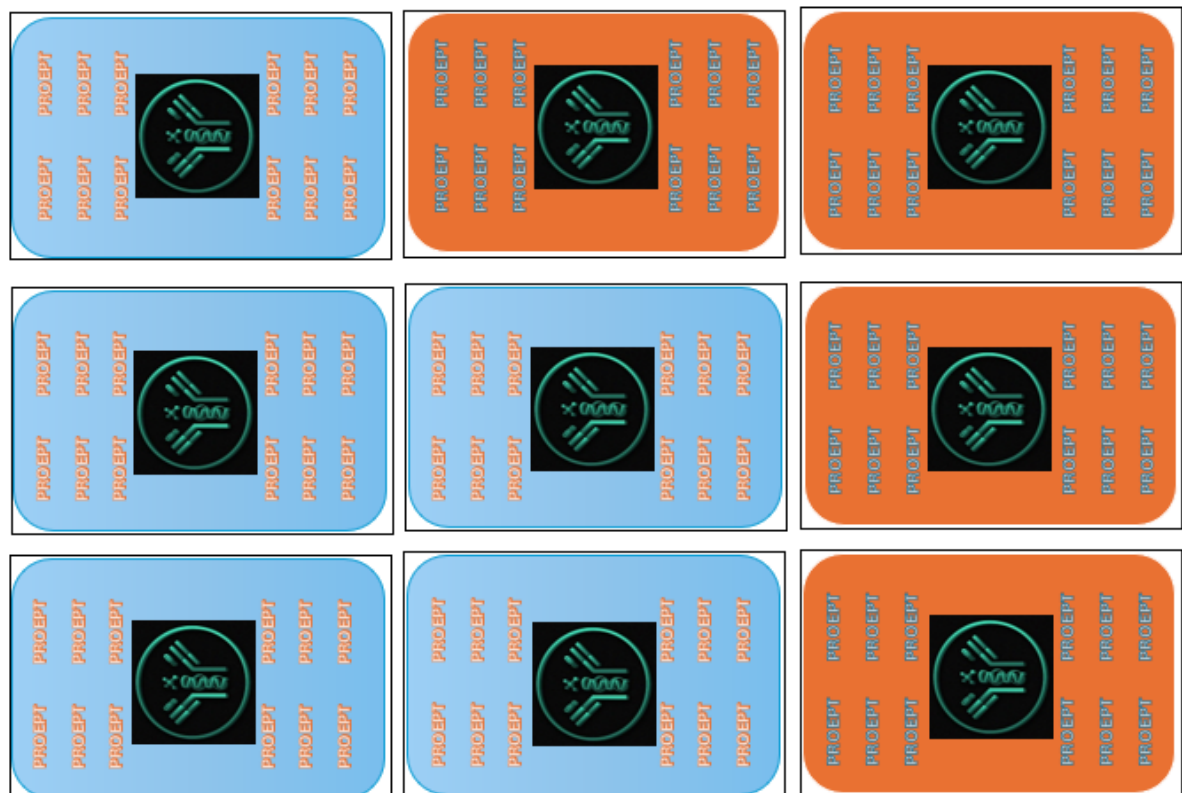
Para ser utilizado nesta técnica promissora, um microrganismo deve ser capaz de

- a. absorver o contaminante sem alterá-lo quimicamente.
- b. apresentar alta taxa de mutação ao longo das gerações.
- c. estimular o sistema imunológico do homem contra o contaminante.
- d. metabolizar o contaminante, liberando subprodutos menos tóxicos ou atóxicos.

Apêndices II – Jogo de baralho das formas bacterianas - Frente



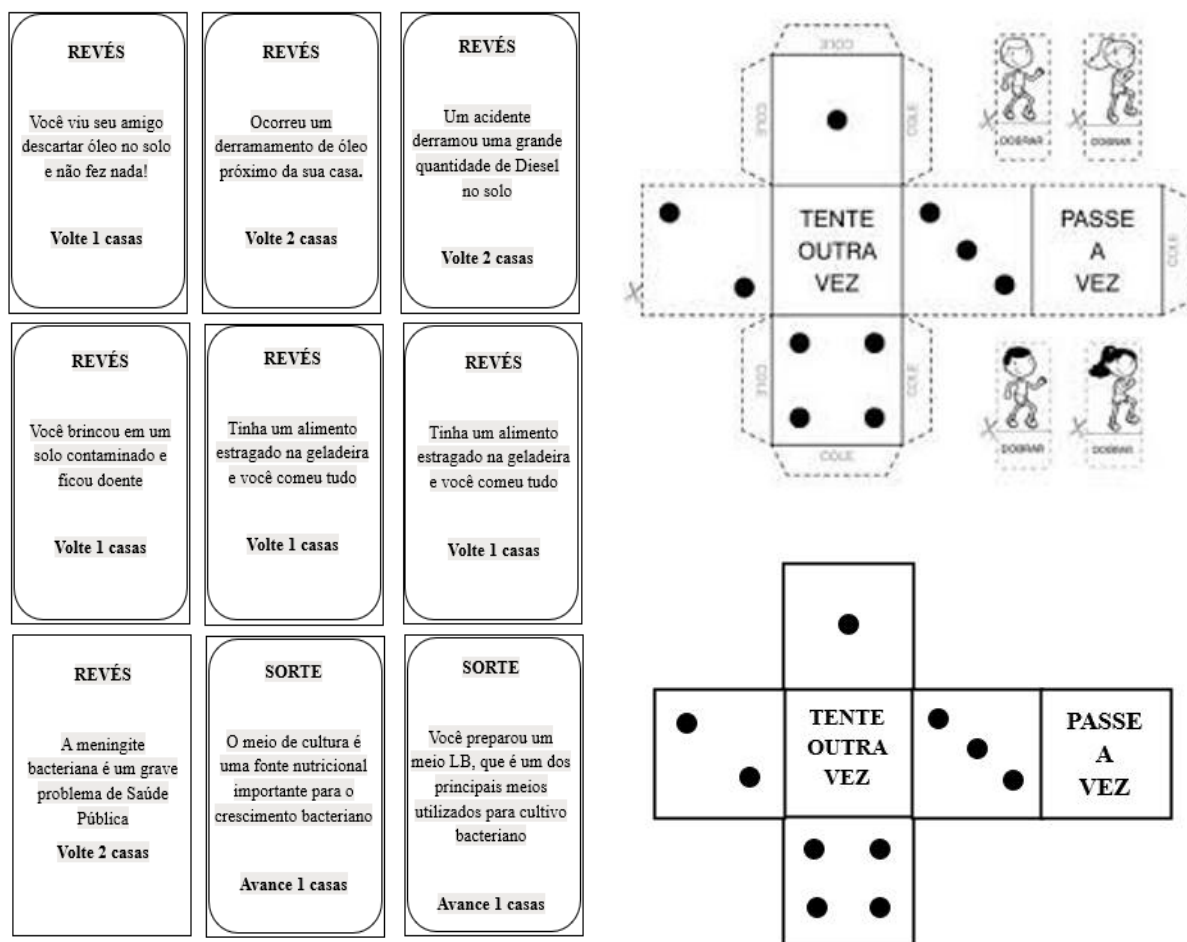
Apêncide II – Jogo de baralho das formas bacterianas - Verso



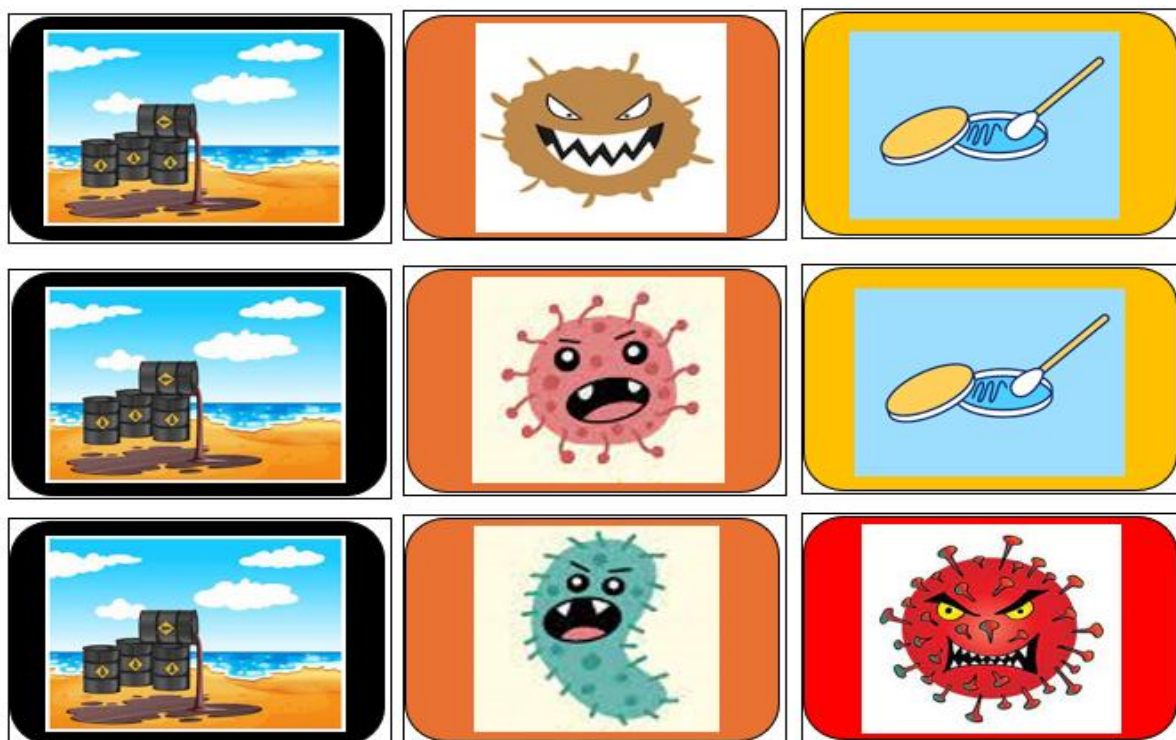
Apêndice III – Jogo de Tabuleiro com a temática do trabalho - Jogo



Apêndice III – Jogo de Tabuleiro – Cartas (sorte e revés), Bonecos e Dados.



Apêndice III – Jogo de Tabuleiro – fundo das cartas de sorte e revés, correspondente as casas.



Apêndice IV – Questionários de avaliação das atividades na escola



PROGRAMA EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
PROEPT/FAPEAM



AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES

Prezado(a), gostaríamos de ter sua opinião sincera, contribuindo, assim, para o seguimento dos nossos próximos eventos. Marque com um "X" a opção que mais se aproxima da sua opinião, segundo a legenda:



Ótimo



Bom



Regular



Ruim

Temática abordada



Relevância das discussões



Metodologia utilizada



O tema acrescentou novos conceitos?



O tema é importante para minha formação?



Qual sua opinião com relação as atividades?



Avaliação geral do evento



Quais suas sugestões ou críticas a respeito da atividade?

Obrigado pela atenção!

Apêndice IV – Questionários de avaliação das atividades nos laboratórios da UFAM



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
PROEPT/FAPEAM



AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES

Prezado(a), gostaríamos de ter sua opinião sincera, contribuindo para o seguimento dos nossos próximos eventos. Marque com um "X" a opção que mais se aproxima da sua avaliação sobre as atividades realizadas nos laboratórios de Biofísica e Proteômica da UFAM, segundo a legenda:



Ótimo



Bom



Regular



Ruim

1 - Sobre a apresentação dos laboratórios, qual sua avaliação?

(😊) (🙂) (😐) (😞)

2 - Como você avalia a aula sobre as vidrarias e Pipetagem?

(😊) (🙂) (😐) (😞)

3 - Qual sua avaliação sobre a Bioeletricidade?

(😊) (🙂) (😐) (😞)

4 - Como você avalia a metodologia aplicada no laboratório de Biofísica?

(😊) (🙂) (😐) (😞)

5 - No laboratório de Proteômica, qual sua avaliação sobre a atividade de plaqueamento?

(😊) (🙂) (😐) (😞)

6 - Como você avalia a relevância desta atividade a temática do projeto (Impacto do óleo diesel na diversidade bacteriana)

(😊) (🙂) (😐) (😞)

7 - Como você avalia a metodologia aplicada no laboratório de Proteômica?

(😊) (🙂) (😐) (😞)

8 - De modo geral, você aprendeu conceitos novos?

(Sim) (Não)

9 - Você se sentiu mais motivado após a visita nos laboratórios?

(Sim) (Não)

10 - Você gostaria de participar de novas práticas de laboratório?

(Sim) (Não)



Apêndice V – Protocolo das atividades realizadas no dia da visita aos laboratórios



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
PROEPT/FAPEAM – Edital nº 015/2022



PROTOCOLOS DE ATIVIDADES

Plaqueamento e cultivo bacteriano

- 1- O solo coletado deverá ser imediatamente armazenado em sacos plásticos com fecho tipo ~~ziplock~~, transportados até o laboratório. Será armazenado em geladeira em temperatura de 4 °C até o momento de uso.
- 2- Sem exposição ao diesel. Ao solo (25mg) será adicionado 1 mL de PBS estéril. Este será mantido a 30 °C a 150 rpm por 16 h a 20 h.
- 3- Com exposição ao diesel. Ao solo (25mg) será adicionado 1 mL de PBS estéril contendo óleo diesel na concentração de 10%. Este será mantido a 30 °C/150 rpm durante 20 h.
- 4- Após as 20h, A cultura bacteriana será separada do solo por decantação. Em seguida, 100 µL da cultura serão utilizados para semeadura em meio LB/ágar a partir de diluição serial. As diluições serão realizadas em meio de cultivo.
- 5- As diluições serão até a 10^{-8} e os plaqueamentos a partir da 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}
- 6- Cada grupo ficará responsável por fazer a ~~pipetagem~~ da respectiva diluição na placa contendo o meio e, posteriormente, o espalhamento utilizando a alça de ~~Drigalsky~~.
- 7- Após, as respectivas placas serão identificadas, datadas, isoladas com ~~parafilm~~ e deixadas na estufa bacteriológica até o crescimento bacteriano. (aproximadamente 16h)

Informações adicionais

- Solução salina tamponada com fosfato (PBS) é uma solução isotônica que evita a ruptura das células ou o enrugamento das células devido à osmose e é uma formulação não tóxica para as células.
Composição do PBS – 1,37 M de ~~NaCl~~; 27mM de ~~KCl~~; 100mM de Na_2HPO_4 ; 18mM de KH_2PO_4
- Meio de cultura são insumos preparados em laboratórios que fornecem os nutrientes para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos (como bactérias e fungos) fora do seu habitat natural.
- Meio Ágar/MacConkey - é um meio de cultura diferencial e seletivo utilizado principalmente para a detecção de microrganismos Gram-negativos.
 - ~~Agar-agar~~: Agente gelificante que forma o meio sólido.



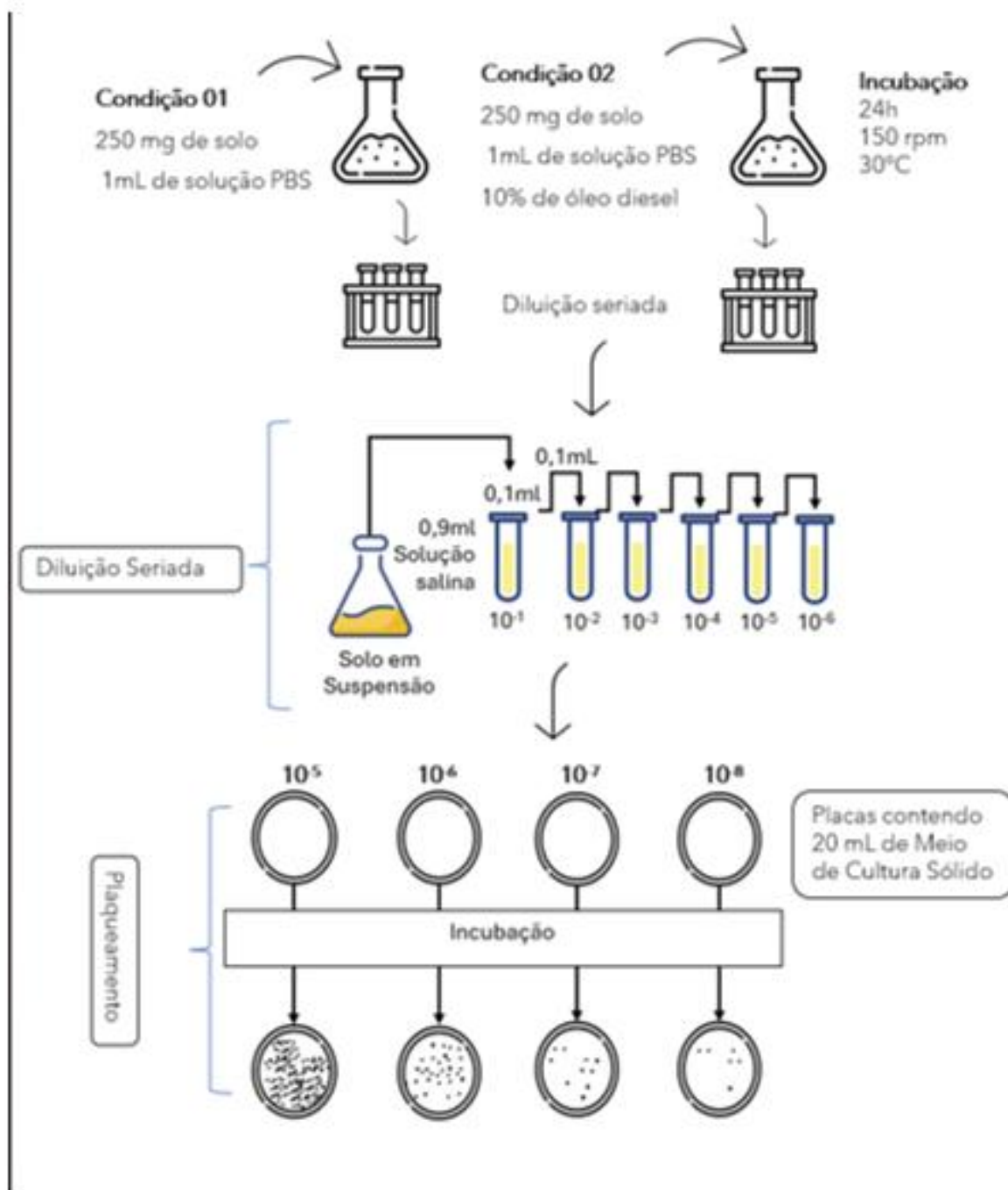
Apêndice V – Protocolo das atividades realizadas no dia da visita aos laboratórios



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
PROEPT/FAPEAM – Edital n° 015/2022



DESENHO EXPERIMENTAL



Apêndice V – Protocolo das atividades realizadas no dia da visita aos laboratórios



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
PROEPT/FAPEAM



PROTOCOLO DE ATIVIDADES

Prática 1- Instrumentação laboratorial

Objetivos da aula

- Conhecer vidrarias de laboratório, nomenclatura e usos;
- Aprender a manusear corretamente as vidrarias;
- Aprender a transferir pequenos volumes com precisão: técnicas de pipetagem
- Aprender sobre os principais EPIs e procedimentos ao utilizar laboratórios de pesquisa.

1. Identificação de vidrarias, equipamentos e acessórios de laboratório

Apêndice V – Protocolo das atividades realizadas no dia da visita aos laboratórios



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
PROEPT/FAPEAM

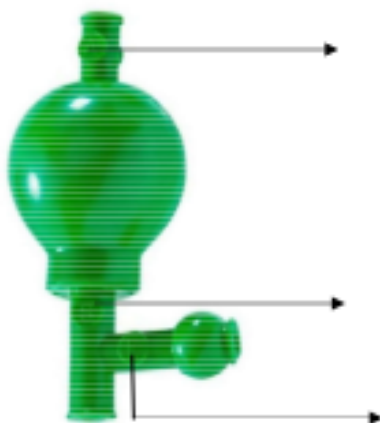


PRÁTICA 2 – Noções de pipetagem

2. Pipetagem

Procedimentos de Pipetagem

- Ao início do experimento, verificar se as pipetas estão limpas e livres de qualquer avaria.
- Verificar a integridade das pêras.
- Atentar para não aspirar soluções para dentro da pêra.



A válvula A permite a entrada de ar

A válvula S permite a sucção do líquido

A válvula E permite o descarte do líquido

PROCEDIMENTO:

- Esvaziar a pêra, apertando simultaneamente a válvula A e o bulbo maior. Após essa etapa, tirar o dedo da válvula A.
- Inserir a pipeta com cuidado e sempre manter na posição VERTICAL.
- Mergulhar a pipeta na solução e apertar DEVAGAR a válvula S, para que o líquido seja aspirado
- Transferir o líquido para outro recipiente, apertando a válvula E.
- Em caso de volume residual, apertar o bulbo menor.