



**Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos
Geisa Mayana Miranda de Souza
Ana Carolina Sousa Costa
(Organizadoras)**

As Ciências Biológicas nas Dimensões Humanista, Crítica e Reflexiva

Atena
Editora

Ano 2019

Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos
Geisa Mayana Miranda de Souza
Ana Carolina Sousa Costa
(Organizadoras)

As Ciências Biológicas nas Dimensões Humanista, Crítica e Reflexiva

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Rafael Sandrini Filho
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.^a Dr.^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
C569	As ciências biológicas nas dimensões humanista, crítica e reflexiva [recurso eletrônico] / Organizadoras Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos, Geisa Mayana Miranda de Souza, Ana Carolina Sousa Costa. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-601-0 DOI 10.22533/at.ed.010190309 1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Silva-Matos, Raissa Rachel Salustriano da. II. Souza, Geisa Mayana Miranda de. III. Costa, Ana Carolina Sousa. CDD 574
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “As Ciências Biológicas nas Dimensões Humanista, Crítica e Reflexiva”, encontra-se composta por 14 trabalhos científicos, que oferecem ao leitor a oportunidade de se documentar a respeito de diferentes temáticas na área das ciências biológicas. Traz assuntos que permeiam desde práticas pedagógicas para formação de cidadãos mais conscientes do seu papel na manutenção da biodiversidade do planeta, até registros dos impactos antrópicos em diversas dimensões: ar, solo e recursos hídricos.

Sabe-se que a busca de alternativas menos impactantes nos sistemas agrícolas é uma das linhas de pesquisas mais importantes atualmente, dada a iminência da escassez de certos recursos naturais, sendo estes, temas bastante contemplados neste livro.

Os diversos avanços na instrumentação biotecnológica é outro grande atrativo desta publicação. Também são explorados tópicos interdisciplinares como a bioética e o direito da criança intersexual oportunizando maiores esclarecimentos sobre o tema.

Dentro da vertente saúde é feita uma análise sobre o entendimento geral de profissionais envolvidos na detecção de problemas de saúde nas primeiras horas de vida, e daqueles que incumbem-se de levar a população informações sobre medidas de prevenção contra as diversas verminoses. Em outro eixo, os saberes populares a respeito dos efeitos medicinais de determinadas plantas são valiosamente abordados.

Considerando esse cenário, a obra As Ciências Biológicas nas Dimensões Humanista, Crítica e Reflexiva reúne grandes temas da ciência proporcionando ao leitor vastas opções de aprendizado.

Raissa Rachel Salustriano da Silva- Matos
Geisa Mayana Miranda de Souza
Ana Carolina Sousa Costa

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ANÁLISE DA POTABILIDADE DE CURSO D'ÁGUA COM TRECHO NO INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ - CAMPUS PALMAS	
Matheus Sendeski Lara Rafael Pires de Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.0101903091	
CAPÍTULO 2	10
AVALIAÇÃO GENOTÓXICA DO MATERIAL PARTICULADO LANÇADO NO AR ATMOSFÉRICO DO MUNICÍPIO DE JI-PARANA (RO)	
Camila Ellen Ferreira Oliveira Raul Antônio Lopes Silva Campos Valério Magalhães Lopes Alecsandra Oliveira de Souza	
DOI 10.22533/at.ed.0101903092	
CAPÍTULO 3	21
“MINHA ILHA SELVAGEM”: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE VÍDEOS COMO FERRAMENTA DIDÁTICA PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS EM ILHA SOLTEIRA/SP	
Danilo Silva Teixeira Juan Vítor Ruiz Marcos Vinicius Lopes Queiroz Lucíola Santos Lannes	
DOI 10.22533/at.ed.0101903093	
CAPÍTULO 4	35
LEVANTAMENTO DAS PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS PELOS FAMILIARES DE ALUNOS DA ESCOLA JAYME VERÍSSIMO DE CAMPOS JÚNIOR, ALTA FLORESTA/MT: INTEGRAÇÃO DE SABERES	
Jakeline Santos Cochev da Cruz Ana Aparecida Bandini Rossi Joameson dos Santos Lima Patrícia Ana de Souza Fagundes Alex Souza Rodrigues Angelita Benevenuti da Silva Kelli Évelin Müller Zortéa Auana Vicente Tiago Miguel Júlio Lorin Guilherme Ferreira Pena Márcio Hrycyk	
DOI 10.22533/at.ed.0101903094	
CAPÍTULO 5	46
BIOÉTICA E O DIREITO À SAÚDE DA CRIANÇA INTERSEXUAL	
Andrea Santana Leone Souza Isabel Maria Sampaio Oliveira Lima Ana Karina Figueira Canguçu-Campinho Mônica Neves Aguiar da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.0101903095	

CAPÍTULO 6 55

O QUE OS MÉDICOS OBSTETRAS E PEDIATRAS SABEM SOBRE O TESTE DO PEZINHO?

Alessandra Bernadete Trovó de Marqui
Vanessa de Aquino Gomes
Natália Lima Moraes
Cristina Wide Pissetti

DOI 10.22533/at.ed.0101903096

CAPÍTULO 7 67

EDUCAÇÃO EM SAÚDE: COMO A PARASITOLOGIA ESTÁ SENDO ABORDADA NAS UNIDADES BÁSICAS DE SAÚDE NO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO

Thainá Melo
Michele Costa da Silva
Alba Cristina Miranda de Barros Alencar
José Roberto Machado e Silva
Renata Heisler Neves

DOI 10.22533/at.ed.0101903097

CAPÍTULO 8 79

O PAPEL DOS PROBIÓTICOS NA INCIDÊNCIA DE CÂNCER COLORRETAL INDUZIDO QUIMICAMENTE POR 1,2-DIMETILHIDRAZINA EM MODELO ANIMAL

Marceli Pitt Coser
Claudriana Locatelli

DOI 10.22533/at.ed.0101903098

CAPÍTULO 9 89

DESEMPENHO SIMBIÓTICO DE RIZÓBIOS DE CAUPI E *Aeschynomene* EM AMENDOIM TRATADO COM FUNGICIDA

Carlos Vergara
Karla Emanuelle Campos Araujo
Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos
Norma Gouvêa Rumjanek
Gustavo Ribeiro Xavier

DOI 10.22533/at.ed.0101903099

CAPÍTULO 10 94

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE NIM (*Azadirachta indica*) E RUBIM (*Leonurus sibiricus*) SOBRE *Meloidogyne javanica* IN VITRO

Rodrigo Vieira da Silva
Jair Ricardo de Sousa Junior
Nádia Fernandes Moreira
João Pedro Elias Gondim
José Orlando de Oliveira
José Humberto Ávila Júnior
Luiz Leonardo Ferreira
Emmerson Rodrigues de Moraes

DOI 10.22533/at.ed.01019030910

CAPÍTULO 11	105
AVALIAÇÃO DE GLICOSIDASES EXTRACELULARES PRODUZIDAS POR LEVEDURAS OBTIDAS DA MICROBIOTA INTESTINAL DE LARVAS DE <i>Hypsipyla spp.</i> (Lepidoptera: Pyralidae)	
John Lucas Ribeiro	
Yuri Rafael de Oliveira Silva	
Ana Luiza Freire	
Carlos Augusto Rosa	
Agenor Valadares Santos	
Luciana Pereira Xavier	
DOI 10.22533/at.ed.01019030911	
CAPÍTULO 12	117
APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE DE IMAGEM NA DETERMINAÇÃO DO CRESCIMENTO RADIAL DO FUNGO <i>Metarhizium anisopliae</i>	
Eduardo Henrique Silva de Oliveria	
Rodrigo Silva Dutra	
Lina María Grajales Agudelo	
DOI 10.22533/at.ed.01019030912	
CAPÍTULO 13	124
CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DE ISOLADOS DE FUNGOS “DARK SEPTATE”	
Carlos Vergara	
Karla Emanuelle Campos Araujo	
Ivan de Alencar Menezes Júnior	
Jerri Édson Zilli	
DOI 10.22533/at.ed.01019030913	
CAPÍTULO 14	136
IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE FATORES DE INOVAÇÃO E COMPETITIVIDADE DA BIOINDÚSTRIA: UM MODELO APLICADO AO SEGMENTO DE BEBIDAS NA REGIÃO DO MEIO OESTE DE SANTA CATARINA	
Cristiane Bonatto de Morais	
Eduardo Gelinski Junior	
Dirceu Scaratti	
Patricia Padilha Bitencourt Mores	
DOI 10.22533/at.ed.01019030914	
SOBRE A ORGANIZADORA	148
ÍNDICE REMISSIVO	149

ANÁLISE DA POTABILIDADE DE CURSO D'ÁGUA COM TRECHO NO INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ - CAMPUS PALMAS

Matheus Sendeski Lara

Licenciado em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal do Paraná, *Campus* Palmas. Palmas - PR

Rafael Pires de Oliveira

Doutor em Bioquímica e Imunologia pela Universidade Federal de Minas Gerais. Professor EBTT do Instituto Federal do Paraná, *Campus* Palmas. Palmas - PR

RESUMO: A água é um dos recursos mais importantes na Terra, sendo de extrema importância para todos seres vivos, conseqüentemente, para o ser humano. Entretanto, nem toda a água pode ser ingerida, muitas vezes a água pode estar contaminada por microrganismos, metais pesados, agrotóxicos, etc. Isso pode acarretar doenças graves no corpo humano como intoxicações e disenterias. Desta forma, deve-se levar em conta fatores como presença de bactérias indicadoras de contaminação fecal, que demonstram se a água pode fazer mal ao organismo

Durante uma trilha na natureza, pode haver a necessidade de buscar uma fonte de água. Mesmo sem muito conhecimento, não é tão difícil encontrar um local que possua água disponível. Mas, é importante considerar se essa água pode ser considerada potável para ser consumida sem gerar problemas para a

saúde. Este estudo teve como objetivo avaliar e notificar os responsáveis pelo projeto Rondon no Instituto Federal do Paraná Campus Palmas e comunidade acerca da potabilidade de um curso d'água presente em um trajeto de mata onde são realizadas atividades de extensão. Foi utilizada a técnica de tubos múltiplos para detecção de coliformes termotolerantes e análises da água foram realizadas por três meses para determinar o grau de qualidade da mesma. Como resultado, verificou-se que há na água analisada uma grande quantidade de coliformes, o que a torna imprópria para o consumo humano. Porém, a mesma está dentro dos níveis aceitos de balneabilidade.

PALAVRAS-CHAVE: Água; Coliformes; Contaminação; *Escherichia coli*.

ANALYSIS OF THE POTABILITY OF WATER COURSE IN THE FEDERAL INSTITUTE OF PARANÁ - CAMPUS PALMAS

ABSTRACT: Water is one of the most important resources on Earth, being of extreme importance for all living beings, consequently, for the human being. However, not all water can be ingested, often water can be contaminated by microorganisms, heavy metals, agrochemicals, etc. This can lead to serious illnesses in the human body such as intoxications and

dysentery. In this way, factors such as the presence of fecal bacteria should be taken into account, which demonstrate if water can harm the organism

During a trail in nature, there may be a need to seek a water source. Even without much knowledge, it is not so difficult to find a place that has water available. But, it is important to consider whether this water can be considered drinkable to be consumed without generating health problems. This study had the objective of evaluating and notifying those responsible for the Rondon project at the Federal Institute of Paraná Campus Palmas and community about the potability of a watercourse present in a forest path where extension activities are carried out. The technique of multiple tubes for coliforms quantification was used and water analysis was performed for three months to determine the degree of quality of the same. As a result, it has been found that there is a large amount of coliforms in the analyzed water, which makes it unfit for human consumption. However, it is within the accepted levels of bathing.

KEYWORDS: Water; Coliformes; Contamination; *Escherichia coli*.

1 | INTRODUÇÃO

A água é um dos bens mais abundantes e importantes em nosso planeta, sendo de vital importância aos seres vivos, auxiliando na troca de excretas, controle de temperatura e como meio em que ocorrem reações químicas no corpo de animais incluindo o ser humano. Entretanto, apesar de o planeta possuir muita água, a maior parte não pode ser considerada adequada ao consumo, pois os níveis de salinidade são elevados, o que torna a água salgada, e a água com níveis de salinidade abaixo não deveriam ser consumidos sem se saber ao certo se podem se contaminar com agentes das doenças veiculadas pela água, como a cólera e a diarreia infecciosa, por exemplo. Pessoas que utilizam córregos para lazer podem contaminar-se com uma destas doenças. Um projeto que utiliza um córrego como meio de recreação é o Projeto Rondon, sua importância se baseia na questão de transferência de conhecimento, ou seja, aprendizado mútuo. Teve início em 1967 e foi idealizado por Marechal Cândido Rondon. A marca registrada Projeto Rondon® foi cedida em 2002 pela Associação Nacional dos Rondonistas ao Ministério da Defesa, cabendo a este organizar campanhas nas regiões mais recônditas do país. A cada ano ocorre a seleção de algum estado brasileiro pelo Ministério da Defesa, para então ser realizada a seleção das instituições através de artigos/processo seletivo. Basicamente ocorre uma troca de conhecimento entre os acadêmicos e a população do local (Projeto Rondon, 2017).

O projeto Rondon envolve ações junto à natureza, muitas das quais tem relação direta ou indireta com cursos d'água estando expostos a doenças veiculadas a água. Desta forma a qualidade da água se torna importante para a segurança dos envolvidos.

Segundo a Portaria nº2.914 do Ministério da Saúde, considera-se potável a

água cujo pH está entre 6,0 a 9,0, sua turbidez é menor que 100 NTU e com ausência de coliformes em 100ml (Brasil, 2011).

Referente aos possíveis contaminantes presentes na água, estão os coliformes fecais que, apesar da denominação, o grupo também inclui bactérias que em sua origem não são exclusivamente fecais (Bagley e Seidler, 1977; Duncan e Razell, 1972). Dentre os membros deste grupo está presente a *Escherichia coli*, uma bactéria classificada como parte da família Enterobacteriaceae, tendo uma grande distribuição e como principal habitat o trato intestinal de animais homeotérmicos, incluindo o ser humano (Ayala, 2009; Moura, 2009; Silva, 2010). A *E. coli* faz parte do grupo de coliformes considerados termotolerantes, que são aqueles que fermentam lactose a $44.5^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ em 24 horas com produção de gás. Esta bactéria está presente em nossa microbiota intestinal sem que haja complicações para a saúde e auxiliando no fluxo intestinal, sendo assim, sua presença em cursos de água corresponde a contaminação do mesmo por material de origem fecal (Alves, 2008). Apesar de normalmente não ser patogênica, em algumas situações, pode causar distúrbios diarreioogênicos (Souza, Carvalho, Melo.C, Melo.T, Menezes e Monteiro, 2016; Tortora, Funke, Case, 2000).

Segundo Macedo (2001), a contaminação da água se dá em sua grande maioria pelas más condições de higiene e educação, tanto pessoal como ambiental. Com isto em mente, de acordo com Hagler (2006) para realizar um monitoramento da qualidade da água, busca-se por bactérias não necessariamente patogênicas, mas aquelas que estão presentes no trato gastrointestinal de animais homeotérmicos. Ou seja, se estes microrganismos estiverem presentes na água, algum animal defecou diretamente, muito próximo ou mesmo a chuva ou esgoto irregular pode ter arrastado estes resíduos ao curso d'água e, como esta água não recebe tratamento antes do consumo, há um aumento de casos envolvendo doenças de veiculação hídrica (Amaral et al.,2003).

A partir de uma análise simples pode-se constatar a presença de coliformes na água a fim de evitar seu consumo e, conseqüentemente, complicações causadas pelo mesmo. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a potabilidade de um curso d'água que atravessa o Campus Palmas, a qual está no trajeto de uma trilha do Projeto Rondon desenvolvido no IFPR.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta das amostras e análises

A amostra bruta de água foi coletada no córrego durante um período de três meses, totalizando ao todo três coletas, este se encontra nas proximidades da PR-280 da cidade de Palmas, Paraná. Coordenadas em DMS (graus, minutos e segundos) $26^{\circ}30'54.804''\text{S}$; $51^{\circ}58'51.692''\text{W}$. Antes da coleta foram considerados

fatores como dias sem precipitação, hora das coletas, temperatura no horário da coleta, etc. O local de análise é um córrego usado por voluntários e participantes do projeto de extensão, para recreação pela comunidade da cidade, bem como para abastecimento de maquinário agrícola (figura 2), mas sua nascente localiza-se em propriedade privada. As coletas de água foram realizadas em garrafas estéreis contendo 0.2ml solução de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e foi transportada ao laboratório em um tempo inferior a quinze minutos para que valores como temperatura e a quantidade de bactérias não fossem alterados drasticamente.

As coletas foram realizadas em um trecho largo com pedras que possibilitavam a travessia entre as margens, parte dos 500 ml amostras foi destinada às análises microbiológicas (cerca de 100 ml), o restante foi utilizado para determinação de turbidez e pH da água no córrego através de turbidímetro e medidor de pH digitais.

2.2 Análises microbiológicas

Para as análises microbiológicas, visando à determinação de coliforme totais e termotolerantes presentes na água, foram realizados os testes presuntivos e confirmativos através do método de tubos múltiplos e determinação do Número Mais Provável (NMP). Os meios de cultura foram preparados previamente, 1,56g em 120 ml para o Caldo lactosado e em 60 ml, para a concentração dupla; 1,85g em 50 ml para o caldo *E. coli* e 2g em 50 ml para o caldo verde Bile Brilhante 2%. Foram distribuídos 10ml de cada meio em tubos de ensaio com a colocação de um tubo de Durham invertido nos mesmos e mantidos em refrigeração e tampados após serem esterilizados em Autoclave, impossibilitando o crescimento bacteriano que poderia alterar os resultados. Para o teste presuntivo as amostras foram distribuídas em Caldo Lactosado, com incubação em estufa por um período de 24 horas, em temperatura de 36°C. Para o teste confirmativo foi transferida uma alçada de cada amostra positiva do teste presuntivo para os caldos verde bile brilhante e *E. coli* e mantidos por 24h a 36°C e 45°C respectivamente.

Durante o teste presuntivo, foram utilizadas três diluições diferentes contendo 5 tubos cada: proporção de 1:1 (10 ml de amostra), 1:10 (1 ml de amostra) e 1:100 (0,1 ml de amostra) com base na análise descrita por Macêdo (2003) (figura 1). Essa transferência foi realizada dentro de uma cabine de segurança biológica devidamente esterilizada para não haver contaminação no meio de cultura durante o processo. Uma pequena movimentação foi realizada para que a amostra entrasse em contato com o tubo de Durham, possibilitando visualizar a produção de gás, caso esta ocorresse.

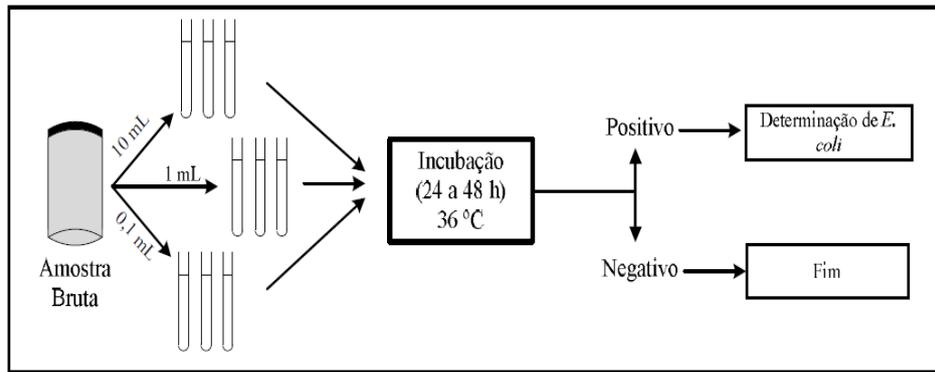


Figura 1: Representação do teste para confirmação de coliformes totais utilizando o método NMP (Número Mais Provável).

Fonte: Macêdo. 2003.

As amostras consideradas positivas, em que o meio ficou turvo e quando houve produção de gás, foram aplicadas com alça de platina em caldo *E.coli* e mantidas em estufa a 45°C, pois apenas bactérias termotolerantes como a *Escherichia coli* se multiplicam nesta condição, revelando sua presença, e em verde Bile Brilhante 2% a 36° C, a fim de se ter uma confirmação de se tratar de coliformes. Se, passadas 24h após as amostras serem colocadas nos caldos, houvesse a produção de gás e turbidez produzida pela proliferação de bactérias nos tubos contendo caldos específicos, teríamos a confirmação da presença de coliformes termotolerantes, dentre eles a bactéria *Escherichia coli*. Passado o tempo estipulado, houve a turbidez dos caldos, que demonstra que a quantidade de bactérias tornou o meio de cultura turvo, dificultando a passagem de luz pelo seu interior, revelando a presença de coliformes totais na água e, dentre estes, a bactéria *Escherichia coli* (figura 2).

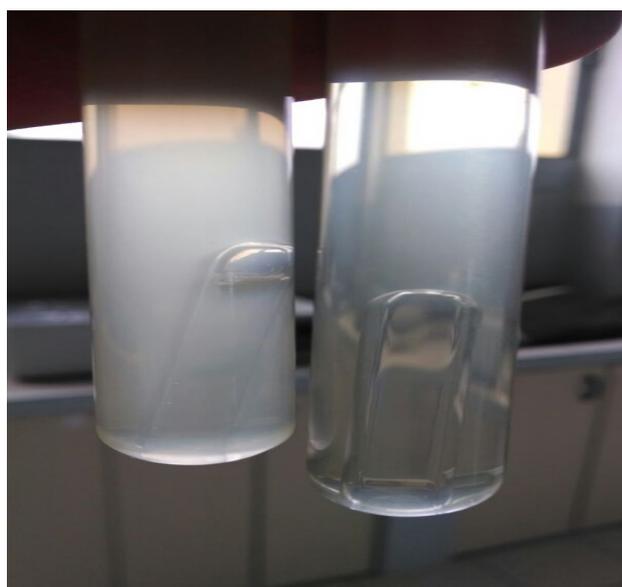


Figura 2: Amostra com diluição 1:100 (0,1 ml) positiva para coliformes totais apresentando gás do tubo de Durham e turbidez (devido à grande quantidade de bactérias) ao lado do tubo de controle sem gás no tubo de Durham e sem turbidez (à direita).

Fonte: Registrada pelo autor.

3 | RESULTADOS

Durante as coletas foram registrados dados como temperatura da amostra, tempo sem chuva, etc, com o objetivo de auxiliar na discussão, podendo revelar fatores importantes e explicar, por exemplo, o fato de a coleta 1 estar dentro dos padrões, em contrapartida, as outras coletas estarem mais ácidas.

Referentes as três coletas, os resultados estão descritos nas tabelas a seguir:

Data da coleta	Hora da coleta	Temp. ambiente	Tempo sem chuvas	Turbidez da amostra (NTU)	Temp. amostra	PH da amostra
26/09/2017	14:47	26°C	28 dias	9.70	23.9°C	6.08
24/10/2017	14:11	29°C	2 dias	8.28	20.6°C	5.15
28/11/2017	14:10	23°C	3 dias	5.98	23.3°C	5.73

Tabela 1. Dados das coletas, demonstrando valores de cada parâmetro analisado.

Baseando-se na tabela 2, foi calculado o número mais provável (NMP) em 100ml

Combinação de tubos positivos	NMP/100 mL	Limites	
		Inferior	Superior
5-2-2	90	40	250
5-3-0	80	30	250
5-3-1	110	40	300
5-3-2	140	60	360
5-3-3	170	80	410
5-4-0	130	50	390
5-4-1	170	70	480
5-4-2	220	100	560
5-4-3	280	120	690
5-4-4	350	160	820

Tabela 2: tabela para cálculos utilizando tubos múltiplos para Número mais provável. Fonte BRASIL, 2004.

Com os resultados positivos do teste confirmativo, foi elaborado a tabela 3, com valores envolvendo quantidade mais provável de bactérias na amostra.

Coletas	Diluição			NMP/100ml	Limite de confiança 95%	
	1:1	1:10	1:100		Inferior	Superior
26/09	5	4	3	280	120	690
24/10	5	4	1	170	70	480
28/11	5	3	0	80	30	250

Tabela 3. Dados das coletas, demonstrando valores de Número Mais Provável.

Fonte: Dados coletados pelo autor.

Como podemos ver na tabela acima, o Número Mais Provável de coliformes totais na água, em nenhuma amostra demonstrou ser ausente em 100ml de água, o que indica que essa água não é apropriada ao consumo humano. Seu nível de Turbidez em NTU demonstra que a água está dentro do limite estipulado.

4 | DISCUSSÃO

De acordo com Portaria Nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), água para consumo humano é a água potável destinada à ingestão, preparação e produção de alimentos e à higiene pessoal, independentemente da sua origem. Água potável é a água que atenda ao padrão de potabilidade estabelecido na Portaria e que não ofereça riscos à saúde, dentre os parâmetros considerados está a turbidez, o pH adequado e a ausência de coliformes em 100 ml de amostra.

Este estudo foi realizado visando analisar a qualidade do trecho do rio que passa pelo Instituto Federal Campus Palmas para eventual consumo dos participantes da trilha realizada pelo Projeto Rondon.

Os testes realizados neste estudo detectaram presença de coliformes em todas as coletas, tendo como média de NMP/100 ml 177. Desta forma, esta água não é potável e não deve ser destinada à ingestão humana podendo causar doenças como diarreias, dores estomacais e infecções intestinais (Murray, 2000 & Tortora, 2000). A turbidez estava dentro dos limites e o pH estava mais ácido que o indicado pelo Ministério da Saúde (entre 6,0 e 9,0) em duas das coletas, provavelmente por, em suas proximidades haver uma plantação, o uso de produtos no solo pode ter tornado o solo mais ácido que o normal e, com as chuvas, conseqüentemente estes produtos podem ter alcançado o curso d'água. A PR-280 passa a aproximadamente 250 metros deste rio no trecho de coleta, e, o mesmo passa por baixo da rodovia. O derramamento de óleo ou produtos desconhecidos nas proximidades da PR-280 pode ter ocorrido, levando-se em conta que as duas últimas coletas tiveram poucos dias de estiagem (2 e 3 dias respectivamente). Sendo assim, a água da chuva pode ter arrastado estes produtos para o rio, contribuindo com a queda do pH da água, baseando-se no ponto em que a primeira coleta teve uma estiagem de 28 dias e o pH estava dentro dos limites.

Entretanto, se analisarmos diante da Resolução nº 274 de 29 de novembro 2000 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA (CONAMA, 2000), verificamos que se trata de água própria para o contato humano, diante dos parâmetros analisados, e que pode ser considerada como “muito boa” devido a apresentar menos que 400 coliformes fecais em 100 ml e seu pH não causa problemas ao contato. Desta forma, durante a trilha do projeto Rondon no Campus Palmas não se deve consumir a água deste curso d'água, mas o padrão de balneabilidade está bom, o que não impede o

seu uso para travessia e/ou recreação.

Testes como quais compostos químicos estavam presentes na água durante as coletas não foram realizados, pois o foco da análise eram a presença e os problemas com microrganismos termotolerantes presentes na água, buscando encontrar especificamente a *Escherichia coli*, já que esta está presente no intestino do homem e de outros animais de grande porte e homeotérmicos, sua presença representa contato com fezes, seja humanas ou animais na água, devido a defecação direta, ou indireta na água (trazida com a chuva por exemplo).

Ao final deste estudo pode-se considerar que a água da localidade não pode ser considerada potável, pois seus níveis de coliformes totais estão acima do permitido pelo Ministério da Saúde. No entanto, a mesma pode ser utilizada para lazer e eventual travessia durante as trilhas. Considera-se também, que os valores de contaminantes estão alterados possivelmente devido a contaminação por gado ou animais silvestres presentes nos arredores do curso d'água, já que a *Escherichia coli* não está presente apenas no intestino do homem, ou seja, água da chuva pode ter arrastado dejetos animais ou humanos ao rio ou, durante seu trajeto, ocorre o despejo de esgoto nas águas.

REFERÊNCIAS

ALVES, E., FLORES, C., SALA, E., TAVARES, C, G., DE, E. Y CARNIEL, A. **Avaliação da qualidade da água da bacia do rio Pirapó – Maringá, Estado do Paraná, por meio de parâmetros físicos, químicos e microbiológicos.** Acta Scientiarum. Technology, 2008. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=303226520006>> Acesso em 29 de dez. de 2017.

AMARAL, L.A. do; NADER FILHO, A.: ROSSI JUNIOR, O.D. FERREIRA, F.L.A.; BARROS, L.S.S. Água de consumo humano como fator de risco à **saúde em propriedades rurais.** Revista de Saúde Pública, São Paulo, V. 37, n. 4, 2003, p. 510-514.

AYALA CO. **Sorologia de antígenos flagelares de amostras de Escherichia coli enteropatogênica EPEC e E. coli produtoras da toxina de Shiga (STEC) isoladas de diferentes animais e análise comparativa do gene fliC por PCR-RFLP [tese].** São Paulo (SP): Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas; 2009.

BAGLEY, S.T., SEIDLER, R.J. **Significance of faecal coliform-positive Klebsiella.** Applied Microbiology, v.33, n.5, 1977, p.1141-1148.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água. 3ª ed. rev.** - Fundação Nacional de Saúde. Brasília, 2009, p.22.

BRASIL – Ministério da Saúde. Portaria nº2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.** Brasília,DF, dez 2011.

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente (Brasil). Resolução nº 274, de 29 de novembro de 2000. **Define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras.** Brasília,DF, nov 2000. Disponível em: < <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=272>> Acessado em 03 de jan. de 2018.

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente (Brasil). Resolução nº357, de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.** Brasília,DF, mar 2005. Disponível em: < <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>> Acessado em 03 de jan. de 2018.

DUNCAN, W.D., RAZELL, W.E. ***Klebsiella* biotypes among coliforms isolated from forest environments and farm produce.** *Applied Microbiology*, v.24, n.6, 1972, p.933-938.

HAGLER, A. N. ; MENDONÇA-HAGLER, L.C.S. Indicadores microbiológicos de qualidade sanitária, p.88-9, in Roitman, I.; Travassos, L.R. ; Azevedo, J.L. (eds.), **Tratado de Microbiologia.** Manole, São Paulo, 1988.

INSTITUTO PROJETO RONDON NACIONAL. **Nossa História.** [s.d] Disponível em: <http://www.projektorondon.org.br/noticias/historico_projeto_rondon.html> Acessado em 30 de dez. de 2017.

MACÊDO, J. A. B. *Águas & Águas.* Juiz de Fora - MG: Ortofarma. São Paulo: Varela, 2001, p. 504.

MACÊDO, J. A. B. **Métodos Laboratoriais de Análises Físico-químicas e Microbiológicas.** 2. ed. Belo Horizonte. 2003.

MOURA, R. A. **Estudo das relações clonais entre amostras de *Escherichia coli* atípica de origem animal e humana [tese].** São Paulo (SP): Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas; 2009

MURRAY, P. R. **Microbiologia Médica.** 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, p. 73.

SILVA N, JUNQUEIRA VCA, SILVEIRA NFA, TANIWAKI MH, SANTOS RFS, GOMES RAR. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** São Paulo: Varela; 2010.

SOUZA CO, et al. ***Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil.** Rev Pan-Amaz Saude 2016.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 6. Ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000, p. 729.

AVALIAÇÃO GENOTÓXICA DO MATERIAL PARTICULADO LANÇADO NO AR ATMOSFÉRICO DO MUNICÍPIO DE JI-PARANA (RO)

Camila Ellen Ferreira Oliveira

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Rondônia
Porto Velho – Rondônia

Raul Antônio Lopes Silva Campos

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Rondônia
Porto Velho – Rondônia

Valério Magalhães Lopes

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Rondônia
Ji-Paraná – Rondônia

Alecsandra Oliveira de Souza

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Rondônia
Porto Velho – Rondônia

RESUMO: O desenvolvimento das indústrias, aumento das queimadas e do fluxo veicular tem originado no município de Ji-Paraná (RO) um aumento crescente da emissão de poluentes atmosféricos. O acréscimo das concentrações destes poluentes, e o seu depósito no solo, nos vegetais bem como sua suspensão no ar podem ser fatores responsáveis por danos à saúde da população local, que podem variar entre o surgimento de doenças respiratórias até o aumento dos índices cancerígenos. O presente trabalho avaliou a genotoxicidade do ambiente atmosférico e do material particulado lançado

na região do município de Ji-Paraná (RO) por meio da metodologia de triagem genotóxica em *Allium cepa*. Os resultados expressaram que nas três avenidas analisadas, os níveis de material particulado (MP) levam a evidências genotóxicas consideráveis, ocorrendo aumento proporcional ao fluxo veicular. Portanto esses dados evidenciam que a poluição na cidade é um fator de risco aos organismos expostos podendo levar ao desenvolvimento de severos danos incluindo as alterações mutagênicas.

PALAVRAS-CHAVE: Material Particulado; Ar atmosférico; Genotoxicidade.

GENOTÓXIC EVALUATION OF THE PARTICULATE MATERIAL LAUNCHED IN THE ATMOSPHERIC AIR OF THE MUNICIPALITY OF JI-PARANA (RO).

ABSTRACT: The development of the industries, increase of the fires and the vehicular flow has originated in the city of Ji-Paraná (RO) an increasing increase of the emission of atmospheric pollutants. The increase in concentrations of these pollutants, and their deposition in the soil, in the plants and their suspension in the air can be responsible factors for damages to the health of the local population, that can vary between the appearance of respiratory diseases to the increase of the

carcinogenic indices. The present study evaluated the genotoxicity of the atmospheric environment and the particulate matter released in the region of Ji-Paraná (RO) using *Allium cepa* methodology. The results showed that in the three avenues analyzed, considerable levels of particulate matter (PM) increased proportionally as the vehicle flow index increased. Therefore, these data point to evidence of risks to exposed organisms, suggesting the need for further investigation of the hazards of exposure to particulate matter released in the region, since these *in vitro* tests have already indicated mutagenic potential.

KEYWORDS: Particulate matter; Atmospheric air; Mutagenicity.

1 | INTRODUÇÃO

A atmosfera é definida como a camada gasosa que recobre toda a Terra (FIELD *et al.*, 2012; SILVA, 2017), sendo sua composição físico-química diferente entre suas camadas, dentre estas, a troposfera é a única que interage de forma direta com toda a superfície do planeta (SILVA, 2013). Junto da composição química do ar, há os chamados aerossóis ou materiais particulados (MP), sendo líquidos (névoa) ou sólidos (poeira ou fuligem) (ROCHA, ROSA, CARDOSO, 2009), podendo inclusive afetar a vida no planeta das mais diversas formas: saúde, visibilidade e de forma direta ou indireta com o meio ambiente (MAGRIN *et al.*, 2007; FREITAS *et al.*, 2005; BRIGGS, 2003; HATCH, GRASSIAN, 2003).

Os MP são tidos como os responsáveis pela poluição atmosférica devido ao fato de deteriorarem na maioria das vezes a qualidade natural do ar atmosférico (SILVA, 2013). Assim, muitos pesquisadores definem a poluição atmosférica como substâncias lançadas ao meio ambiente em concentrações capazes de tornar este impróprio, nocivo ou prejudicial à saúde, ao bem-estar e a segurança seja da população, da fauna ou da flora (ARBEX *et al.*, 2006; BAKONKYI *et al.*, 2004; NEGRISOLI, NASCIMENTO, 2013; BRASIL, 1990).

O material particulado possui diversos tamanhos, e podem, inclusive, assumir composição química diversificada. Os MP grossos em sua maioria se originam de fontes naturais, enquanto os materiais particulados finos são formados principalmente pelas reações químicas entre os gases (BAIR, 2002).

De acordo com Piromal (2008), as queimadas estão amplamente inseridas no processo produtivo do arco da floresta Amazônica devido à prática de queima da biomassa vegetal, contribuindo desta forma para a emissão de diferentes poluentes nas regiões (PIROMAL, 2008). A biomassa queimada produz cerca de 94% de MP fino e ultrafino, estes podem atingir superfícies profundas nos tecidos epiteliais. Hoje, sabe-se que este MP lançado ao ambiente proveniente das decorrentes queimas da biomassa possui um alto nível de toxicidade (ARBEX *et al.* 2004; BLASELBAUER, 2014).

A presença quantitativa de poluentes na atmosfera pode ser determinada em

diferentes metodologias analíticas e físico-químicas (CRUZ, CAMPOS, 2002; DA SILVA FELIX, 2005), no entanto, devido a influência desses na qualidade do ar se requer o desenvolvimento e aplicação de ensaios que visem avaliar os possíveis danos toxicológicos diretamente sobre os organismos vivos, seja animal ou vegetal.

O município de Ji-Paraná, localizado no centro-leste do estado de Rondônia, contribui para a alta emissão de poluentes na atmosfera local, interferindo possivelmente na qualidade do ar atmosférico devido, principalmente a rota de veículos que cruzam a BR-364. Devido à dimensão desta frota, a quantidade de gases poluentes lançados pelos automóveis por meio da queima de combustível é grande, destacando-se também o setor madeireiro e de cerâmicas que necessitam manter caldeiras e fornos acesos para o funcionamento das indústrias, emitindo assim por meio da queima uma quantidade significativa de gases para o ambiente atmosférico e aumentando a poluição do ar.

Tendo em vista os avanços industriais, desmatamento, aumento de frota rodoviária e políticas ambientais, conhecer a qualidade do ar no município de Ji-Paraná, além de contribuir para avaliação dos possíveis perigos que a população local se expõem rotineiramente, fornece dados para caracterização do ambiente atmosférico da região Amazônica.

Estudos desta natureza podem ser realizados com diferentes ferramentas incluindo análises em *Allium cepa*, bioindicador sensível e confiável a análises de matriz de ar, sendo eficaz em diversas pesquisas realizadas não apenas para análise do ar atmosférico, destacando-se como um organismo-teste de mutagenicidade de grande eficácia (FERNANDES, MAZZEO, MARIN-MORALES, 2007; CABRERA, 1999). Este sistema tem sido utilizado de forma corriqueira devido sua eficiência na detecção de alterações no índice de divisão celular ocasionado na raiz, pois esta fica em contato direto com a substância testada permitindo a avaliação em concentrações diferenciadas (VICENTINI, 2001).

O INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais) por meio do projeto PRODES (Projeto de Monitoramento do Desmatamento na Amazônia Legal por Satélite), o qual realiza monitoramento da Floresta Amazônica brasileira por satélite, aponta um crescimento nas taxas anuais de desmatamento, estes estão sendo monitorados desde 1998, último dado registrado fora em 2018, uma vez que realizam estimativas em dezembro do ano proveniente. Por estes dados, Rondônia apresenta a área de desmatamento anual acumulados de 2004 - 2018 em 21032 Km², aproximadamente 5,7% da área da Amazônia Legal. Indicando estes dados um elevado índice de desmatamento na região, sendo Rondônia, até o ano de 2018 o sexto em taxa de desmatamento.

Esses dados evidenciam que o estado de Rondônia representa uma importante fonte de emissão de gases poluentes e material particulado, desta forma buscou-se avaliar a genotoxicidade do ar atmosférico do município de Ji-Paraná (RO) tendo como alvo o material particulado, este sendo analisado por técnicas de triagem em

Allium cepa buscando apontar as possíveis incidências genotóxicas presentes no ambiente atmosférico local da cidade de Ji-Paraná -RO.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Pontos De Coleta

A coleta de materiais particulados (MP), bem como a exposição de bioindicadores foram localizadas nos pontos de maior fluxo de veículos e pessoas da cidade de Ji-Paraná. Desta forma, foram coletadas as amostras de três das avenidas: Marechal Rondon sendo da extensão da entrada da BR-364 à rua Clóvis Arraes; Avenida Transcontinental na extensão entre as ruas Menezes Filho e Seis de Maio; e por fim na Avenida Brasil na extensão entre as ruas Cascalheira e Luis Muzambinho. Sendo que em cada extensão, três pontos foram analisados.

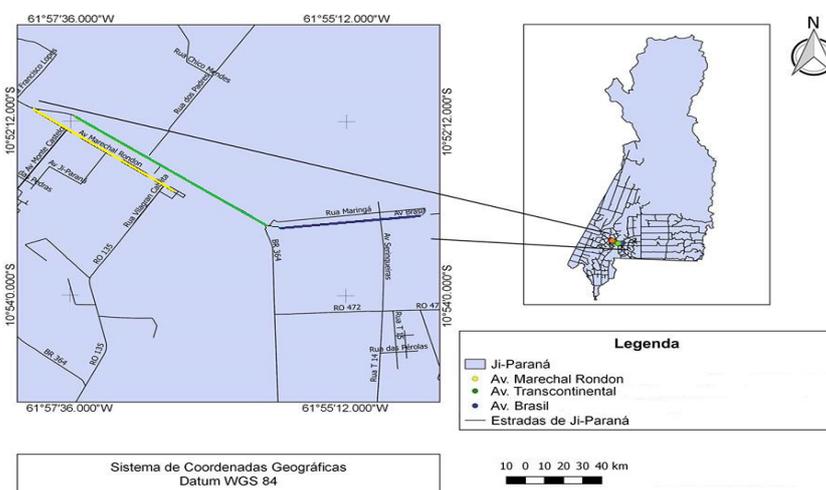


Figura 1 - Extensões selecionadas para coleta de material particulado no município de Ji-Paraná (RO). Mapa gerado por software QGis v. 18.7 Las Palmas.

Fonte: Acervo pessoal

2.2 Metodologia de Coleta do Material Particulado (Mp)

A coleta foi realizada em membranas de policarbonato de diâmetro de poros de 0,8 mm e diâmetro total de membrana de 47 mm (Membrane Filters – Marca Whatman®) através da impactação natural das correntes de ar após período de 72 horas de exposição. Esta dimensão foi selecionada visando a coleta do material particulado fino e inalável, no qual a presença de poluentes tóxicos está relacionada com graves danos à saúde.

2.3 Extração do Material Particulado

A extração do material particulado foi realizada baseando-se em modificações do protocolo realizado por SOUZA (2011). Sendo realizada em água deionizada por banho ultra-sônico de 15 minutos sem aquecimento seguido de centrifugação (5

minutos a RCF 3130 g) com o sobrenadante coletado para triagem de mutagenicidade em meristemas de *Allium cepa*.

2.4 Avaliação Mutagênica

Para a avaliação mutagênica do MP coletado, utilizou-se o teste em meristemas de *Allium cepa* de acordo com modificações no protocolo de OLIVEIRA, YAMASHITA, MENEGUETTI (2013), onde exemplares de *Allium cepa* de tamanho pequeno e uniforme foram lavados e dispostos para germinação em água destilada. Após a germinação, os meristemas foram colocados em contato direto com o extrato aquoso do MP, na proporção 4:1 (v/v), por período de três dias a temperatura ambiente de 24°C.

Transcorridos o tempo de exposição, os meristemas foram submetidos à hidrólise com HCl 1N para posterior confecção das lamínas. A quantificação dos micronúcleos - MCN foi realizada em microscopia óptica, sendo utilizado NIKON ECLISE E 100® com lente objetiva óptica 40X, sendo contabilizados 2000 células aleatórias por lâmina, conforme estabelecido pela Normativa OECD-TC-487.

2.5 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística de variância ANOVA, seguida pelo teste *Dunett*, desenvolvido pelo Software GranPhad 7.1, considerando significativo $p > 0,05$, sendo estes indicados por asterisco (*) nas barras correspondentes ao ponto analisado.

3 | RESULTADOS

Os micronúcleos quantificados em cada ponto apresentaram padrão semelhante ao apresentado na figura 2, sendo observado aumento significativo na indução de MCN em todos os pontos analisados nas três avenidas.



Figura 2 - Células de meristemas de *Allium cepa* coradas em Kit panótico, com a presença de micronúcleo (MCN) identificado após a exposição destes em solução contendo material particulado (MP) coletado nas Avenidas do município de Ji-Paraná.

Fonte: OLIVEIRA, 2017

As análises em meristemas de *Allium cepa* apontaram índices significativos de

mutagenicidade dos materiais particulados coletados do ar atmosférico do município, conforme pode ser observado no Gráfico 1.

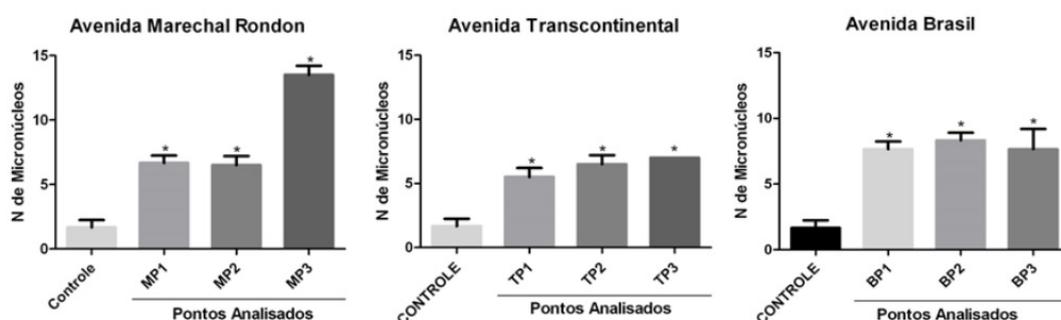


Gráfico 1 -Aumento na incidência de Micronúcleo (MCN) em meristemas de *Allium cepa* após a exposição de 72 horas ao Material Particulado (MP) conforme descrito na seção de Materiais e Métodos. As barras representam as médias \pm desvio padrão de três experimentos independentes (N=3), onde das triplicatas foram preparados duas lâminas, analisados estatisticamente pelo teste ANOVA e comparados pelo pós teste Dunnet em relação ao controle negativo (CN). Os resultados com $p < 0,05$ foram considerados significativamente diferentes em relação ao controle e indicados pelo símbolo (*). O controle negativo (CN) foi realizado com água destilada

Na Avenida Marechal Rondon, primeira via de acesso a zona comercial do município de Ji-Paraná foi constatado aumento na incidência de MCN nos três pontos analisados, sendo o maior índice observado no MP3. A descrição dos pontos é melhor apresentada a seguir:

MP1 – Ponto localizado no início da Avenida Marechal Rondon com a Avenida Transcontinental;

MP2 – Ponto localizado da rotatória que intercepta a Avenida Marechal Rondon e a Rua Vinte e Dois de Novembro;

MP3 – Ponto localizado no centro do primeiro distrito do município, localizado no cruzamento entre a Avenida Marechal Rondon e a Rua Seis de Maio, ponto este localizado entre cruzamentos de semáforos, quatro semáforos, na qual fornece acesso a Avenida Transcontinental, e ao segundo distrito do município.

Nos pontos MP1 e MP2 foi observado que os meristemas se apresentaram estáveis, mantendo características como cor, firmeza radicular, fácil leitura e baixa dispersão de material genético. Em contrapartida, efeito contrário foi observado nos meristemas do MP3, os quais demonstraram alterações na coloração radicular (aumento de nuances de incolor) e dispersão de material genético, evidenciando que além do efeito genotóxico, há alterações morfológicas neste ponto.

Alterações mutagênicas, também, foram observadas na Avenida Transcontinental em todos os pontos analisados:

TP1 – ponto na Avenida Transcontinental entre as Ruas Menezes Filho e Rua Vinte e dois de novembro, este com tráfego exclusivo na Avenida em questão, possuindo em sua grande parte fluxo de carga pesada;

TP2 – ponto na Avenida Transcontinental entre as Ruas Vinte e Dois de Novembro e Seis de Maio, trecho que permite acesso ao Hospital Municipal, Representação de Ensino, Segundo distrito do Município e apresenta tráfego veículos de carga pesada, leve e motocicletas;

TP3 – ponto na Rotatória da Avenida Transcontinental, sendo esta do segundo distrito, fornecendo acesso a Avenida Brasil, principal avenida de comércio do município, e, saída pra Presidente Médici.

Ambos TP1 e TP2 apresentaram crescimento radicular menor quando comparado ao trecho da Avenida Marechal Rondon sendo que TP1 foi o com menor incidência de MCN e maior sensibilidade ao passo que no TP2, os meristemas apresentaram fragilidade e coloração alterada, de branco para amarelo incolor. Já em relação ao TP3, foi observado maior incidência de MCN, além de fragilidade dos meristemas e baixo crescimento radicular.

Convém enfatizar que em todos os três pontos da extensão Avenida Transcontinental houve maior dificuldade na leitura laminar quando comparado a Avenida Marechal Rondon devido à dispersão de material genético.

Por fim, das três avenidas selecionadas para análise, a extensão da Avenida Brasil foi a que apresentou maiores valores em incidências de MCN, exceto pelo MP3 (Avenida Marechal Rondon), maior fragilidade dos meristemas e níveis de dispersão celular alterado quando comparado as outras duas extensões analisadas. Os pontos analisados na Avenida Brasil foram:

BP1 – ponto no início da Avenida Brasil, originária da Rua Cascalheira, este trecho dá acesso a principal avenida de comércio do município;

BP2 – ponto da Avenida Brasil que dá acesso a um Supermercado, na Rua Mis. Gunnar Vingren, este localizado próximo do estacionamento;

BP3 – ponto da Avenida Brasil com Luis Muzambinho, ponto localizado na esquina de um supermercado, banco e lotérica.

Em suma, nossos dados apontam a genotoxicidade ocasionada pela exposição ao material particulado de Ji-Paraná. Entre os pontos de maior incidência de MCN destaca-se, primeiramente, a Avenida Brasil, cuja mesma é rota comercial, via de um único sentido, levando assim à um maior fluxo veicular, uma vez que as principais lojas se localizam nesta rota; Em seguida, a Avenida Transcontinental (BR-364), avenida esta que possibilita o acesso entre os dois distritos do município, e que corta a cidade dando acesso a capital, ao Estado do Mato Grosso e demais cidades; e por fim, a Avenida Marechal Rondon, este tendo um pico no ponto quatro de análise, localizado em um cruzamento cujo há a presença de quatro semáforos justificando a possível presença de poluentes nos materiais particulados, além deste cruzamento possibilitar o acesso a Avenida Transcontinental

4 | DISCUSSÃO

Os ensaios em *Allium cepa* possuem grande confiabilidade devido sua eficácia como organismos testes, isto é, avaliam com eficiência citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade, (OLIVEIRA, YAMASHITA, MENEGUETTI, 2013; OECD-TG-487, 2014; MA, 1981; ANDRADE, 2009; CHEQUER, 2008; RAO, NARASIMHAM, SUBBARAO, 2015). Além disso, devido as plantas serem mais sensíveis a poluição que os animais, estudos dessa natureza fornecem subsídios importantes para alertas de alterações que a poluição pode ocasionar previamente (ANDRADE, 2009; CHEQUER, 2008; RAO, NARASIMHAM, SUBBARAO, 2015), podendo posteriormente atingir os organismos mais complexos.

Neste contexto, foi evidenciado o potencial genotóxico do material particulado lançado no município de Ji-Paraná, fatos compatíveis com a realidade do município que vem apresentando elevado padrão de frota rodoviária e que, de acordo com Andrade et al (2009), os locais onde há a presença de semáforos e garagens, possuem maior potencial poluidor, visto que os veículos parados emitem menos poluentes, mas ao saírem, o arranque do motor faz com que haja maior queima de combustível e conseqüentemente maior emissão de poluentes. Este fato é corroborado com os dados de mutagenicidade avaliados sendo evidenciado pelo aumento de micronúcleo observado na Avenida Brasil (rua de maior fluxo de veicular) e principalmente, no cruzamento de sinais das três avenidas avaliadas, destacando um ponto da Avenida Marechal (MP3) onde há quatro semáforos.

Nos últimos anos, pesquisas a cerca da poluição atmosférica envolvendo o estudo dos materiais particulados em suspensão (MPs) evidenciam níveis mutagênico, genotóxico e carcinogênico, associando-os as doenças cardiovasculares, mortalidade de recém-nascidos e idosos, câncer, doenças cardiovasculares e no trato respiratório (PEREIRA, LOMONGI, 2015; CETESB, 2017) e, quando associado a evidencia mutagênica em *Allium cepa* sugere que este é um caso de saúde pública, colaborando por meio de resultados a políticas ambientais (RIBEIRO, ASSUNÇÃO, 2002), pois a emissão de MP é um dado alarmante na região Norte.

Quando considera-se que o município de Ji-Paraná faz parte do arco da Floresta Amazônica, a relação presença de material particulado no ambiente atmosférico versus índice de mutagenicidade é, ainda, mais complexa pois além de possuir uma frota rodoviária (BR-364) de alto fluxo veicular, há a contribuição de poluentes por queima de biomassa como também da queima de combustíveis e emissões gasosas industriais tal como abordado por Carmo et al (2010) que destaca que grande parte dos MPs na região amazônica são oriundos dos processos de desmatamento e queimadas, sendo já relacionado as incidências de doenças respiratórias.

Gonçalves et al (2014) em pesquisa na capital do Estado de Rondônia, Porto Velho, destaca que a poluição atmosférica, atinge de forma abrupta aqueles cujo há uma maior vulnerabilidade socioambiental, sendo aqueles que apresentam

os maiores efeitos da poluição sobre a saúde, acarretando em diversas vezes a morte, principalmente por doenças respiratórias em idosos e recém-nascidos. Neste contexto, o presente estudo ressaltam a importância do conhecimento sobre a genotoxicidade, uma vez que há a influência na qualidade de vida dos municípios que estão susceptíveis ao contato ambiente atmosférico analisado, justificando a discussão de políticas ambientais eficazes, como também campanhas de conscientização a cerca do exposto.

5 | CONCLUSÃO

As análises de triagem em *Allium cepa* do material particulado coletado das três principais Avenidas de Ji-Paraná apontaram potenciais mutagênicos, estes sendo maior na extensão da Avenida Brasil. Verifica-se a necessidade de maiores estudos na referida área de pesquisa, sendo de suma importância avaliações genotóxicas nos períodos de inverno e verão amazônico cujos os níveis poluente variam de acordo com clima, dados estes irão colaborar para uma melhor elucidação do comportamento do ambiente atmosférico do município.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia/Campus Porto Velho Calama por seu apoio financeiro.

Ao CNPq e ao IFRO pela concessão de bolsa.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, et al. Metais pesados em solos de área de mineração e metalurgia de chumbo II – Formas e disponibilidade para plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p.1889 – 1897. 2009

ARBEX, M. A. et al. Repercussões Clínicas da exposição à poluição atmosférica. Capítulo 2. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 32, n. Supl 1, p. 5–11, 2006.

ARBEX, Marcos Abdo et al. Queima de biomassa e efeitos sobre a saúde. **Jornal brasileiro pneumol**, v. 30, n. 2, p. 158-75, 2004.

BAIR, C. **Química Ambiental**. Porto Alegre: Artmed Editora S.A., 2002.

BAKONYI, S. M. C. et al. Poluição atmosférica e doenças respiratórias em crianças na cidade de Curitiba, PR. **Revista de Saude Publica**, v. 38, n. 5, p. 695–700, 2004.

BEZERRA, Yuri Charllub Pereira et al. **Relação entre poluição do ar e internações de adultos por doenças cardiovasculares totais em São Paulo entre 2000 e 2013**. Universidade Católica de Santos. Dissertação. 2017.

BLASELBAUER, Harald. Combustão de madeira e controle de poluição em cerâmicas. **Revista Novacer. Criciúma**, v. 5, jun. 2010. Disponível em:. Acesso em: 23 jan. 2014

BRASIL (1990) Resolução CONAMA n.º 003/1990, de 28 de junho de 1990. **Publicada no D.O.U**, de 22 de agosto de 1990, Seção I, Págs. 15.937 a 15.939. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res90/res0390.html>. Acesso em 30 de abril de 2016.

BRIGGS, David; GRANT, John T. (Ed.). **Surface analysis by Auger and X-ray photoelectron spectroscopy**. IM publications, 2003.

BUONANNO, et al. Lung cancer risk of airborne particles for Italian population. **Environmental Research**, v. 142, p. 443 – 451, 2015

CABRERA, et al. Strontium and boné. **Journal of Boné and Mineral Research**, v. 14, n. 5, 1999.

CARMO, et al. Associação entre material particulado de queimadas e doenças respiratórias na região sul da Amazônia brasileira. *Revista Panamericana de Salud Pública*, v. 1, n. 27, p. 10 – 16, 2010

CETESB (São Paulo). Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. QUALAR: Qualidade do Ar. Disponível em: < <http://ar.cetesb.sp.gov.br/> > Acessado em: 30 de abril de 2017.

CHEQUER, F. M. D. **Utilização do teste de micronúcleo na avaliação da toxicidade dos azo corantes Disperse Red 1, Disperse Orange 1 e Disperse Red 13**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

CRUZ, L. P. D. S.; CAMPOS, V. P. Amostragem passiva de poluentes atmosféricos. Aplicação ao SO₂. **Química Nova**, v. 25, n.3, p. 406-411, 2002

DA SILVA FELIX, F. et al. Determinação de manganês em material particulado atmosférico de ambientes de trabalho utilizando eletrodo de diamante dopado com boro e voltametria de onda quadrada com redissolução catódica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1000–1005, 2005.

DA SILVA, Anna Erika Pinheiro et al. Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica da turnera ulmifolia l.(chanana) em células eucarióticas/evaluation toxicity, cytotoxic, genotoxic and mutagenic evaluation of turnera ulmifolia l.(chanana) in eukaryotic cells. **Saúde em Foco**, v. 2, n. 1, p. 25-48, 2015.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, p. 252–259, 2007.

FIELD, C. B. et al. **A special report of working groups I and II of the intergovernmental panel on climate change: glossary of terms**. Cambridge: Cambridge University Press, 2012.

FREITAS, S. R. et al. Monitoring the transport of biomass burning emissions in South America. *Environ. Fluid Mech.*, v. 5, p. 135-167, 2005.

GONÇALVES, Karen dos Santos et al. Indicator of socio-environmental vulnerability in the Western Amazon. The case of the city of Porto Velho, State of Rondônia, Brazil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 9, p. 3809-3818, 2014.

HATCH, Courtney D.; GRASSIAN, Vicki H. 10th Anniversary Review: Applications of analytical techniques in laboratory studies of the chemical and climatic impacts of mineral dust aerosol in the Earth's atmosphere. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, n. 8, p. 919-934, 2008.

INPE. **Projeto PRODES – Amazônia**. Disponível em: <http://www.obt.inpe.br/OBT/assuntos/programas/amazonia/prodes> Acesso em: 14 de maio de 2019.

- KAMPA, M; CASTANAS, E. Human health effects of air pollution. **Environmental Pollution**. 2008; **151:362-367**
- MA, T. H. Tradescantia micronucleus bioassay and pollen tube chromatid aberration test for in situ monitoring and mutagen screening. **Environmental Health Perspectives, Estados Unidos**, v. 37, p. 85-90, 1981.
- MAGRIN, G. et al. Impacts, adaptation and vulnerability. In: PARRY, M. L. et al. (Ed.). **Climate Change 2007. Cambridge: Cambridge University Press**, 2007. p. 581-615.
- NEGRISOLI, J.; NASCIMENTO, L. F. C. Poluentes atmosféricos e internações por pneumonia em crianças. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 31, n. 4, p. 501–506, 2013.
- OECD-TG-487. **OECD Guideline for the testing of chemicals: *in vitro* mammalian cell micronucleus test**. 26 de September 2014. Disponível em: <<http://www.oecd.org/env/ehs/testing/TG487%20Oct%202012%20updated%2029oct.pdf>> Acessado em: 29 de abril de 2017.
- OLIVEIRA, J.M; YAMASHITA, M.; MENEGUETTI, D.U.O. Análise do potencial mutagênico em afluentes do Rio Boa Vista influenciados pela emissão de rejeitos de uma indústria de Laticínios no município de Ouro Preto do Oeste – RO – Brasil. Artigo. **VIII Jornada Científica CEDSA**. Porto Velho, 05 a 08 de novembro de 2013
- PEREIRA, B.B; LIMONGI, J.E; Epidemiologia de desfechos na saúde humana relacionados à poluição atmosférica no Brasil: uma revisão sistemática. **Caderno de Saúde Coletiva**, v. 23, n. 2, p. 91 – 100, Rio de Janeiro, 2015.
- PIROMAL, R. A. S. et al. Utilização de dados MODIS para a detecção de queimadas na **Amazônia**. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 01, p. 77-84, 2008.
- RAO, B. V.; NARASIMHAM, T. L.; SUBBARAO, M. V. Relative genotoxic effects of Cypermethrin, Alphamethrin and Fenvalerate on the root meristems of *Allium cepa*. **Cytologia** 70: 225-231, 2005.
- RIBEIRO, H.; ASSUNÇÃO, J. V; Efeitos das queimadas na saúde humana. **Estudos Avançados**, v. 16, n. 44, p. 125 – 148, 2002.
- ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A. **Introdução à química ambiental**. 2.ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.
- SILVA, Leticia Caetano da. **Propriedades químicas e físicas do material particulado atmosférico e seus efeitos no crescimento de partículas**. 2013. 110 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/108489>>.
- SILVA, Lilian Marcellino; FERREIRA, Rafael Lopes. Impacto ambiental pela mineração de carvão no Sul de Santa Catarina. **Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 6, n. 4, 2017.
- SOUZA, Michele de Lima. **Carbono orgânico solúvel em água no material particulado de regiões canavieiras do Estado de São Paulo**. 2011. 98 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2011. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/97804>>.
- VICENTINI, Veronica Elisa Pimenta et al. A verrhoa carambola L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and animal test systems. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 593-598, 2001.

“MINHA ILHA SELVAGEM”: PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE VÍDEOS COMO FERRAMENTA DIDÁTICA PARA O ENSINO DE CIÊNCIAS EM ILHA SOLTEIRA/SP

Danilo Silva Teixeira

Juan Vítor Ruiz

Marcos Vinicius Lopes Queiroz

Lucíola Santos Lannes

Universidade Estadual Paulista – UNESP,
Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira,
Departamento de Biologia e Zootecnia, Rua
Monção 226 Ilha Solteira SP

RESUMO: A Educação Ambiental é um meio que possibilita a formação de cidadãos críticos e atuantes na sociedade, exercendo um papel importante na vida estudantil. O município de Ilha Solteira está localizado em uma região de alta biodiversidade e que sofre grande pressão antrópica. No presente trabalho, aulas sobre a fauna do município de Ilha Solteira proporcionaram aos alunos do sétimo ano de instituição pública de ensino a oportunidade de adquirir conhecimentos novos e adicionais sobre a biodiversidade local. Como ferramentas, foram utilizados vídeos produzidos no âmbito deste trabalho, recursos multimídia nas aulas teóricas e visitas ao Centro de Conservação da Fauna Silvestre de Ilha Solteira, onde os alunos foram apresentados aos animais locais sua importância e as principais ameaças a estes animais. Foram realizados dois questionários com perguntas abertas e fechadas em cada uma das dez turmas trabalhadas, um inicial e

outro final. Notou-se um aumento considerável da percepção dos alunos sobre a fauna de Ilha Solteira e de assuntos ligados à relação dos animais com seu meio quando comparado à situação inicial.

PALAVRAS-CHAVE: biodiversidade, fauna, educação ambiental, documentário, mídias audiovisuais.

“MINHA ILHA SELVAGEM”: PRODUCTION AND USE OF VIDEOS AS AN DIDACTIC TOOL IN SCIENCE EDUCATION IN ILHA SOLTEIRA/SP

ABSTRACT: Environmental Education allows the formation of citizens that are critical and pro-active in the society, therefore exerting an important function in the life of the student. The municipality of Ilha Solteira is located in an area of high biodiversity but under strong environmental pressures, mainly related to the expansion of agriculture. In this work, lectures about local fauna allowed students from the seventh year of a public school to get and improve knowledge about the local biodiversity. As tools, videos and other multimedia resources were used, additionally to a visit to the local zoo, where students could learn about the main local animals, sampling techniques and the main threats to the fauna. Two questionnaires were

applied to the students, both with open and closed questions, one at the beginning and another at the final of the process. Students considerably increased their perception towards the fauna of Ilha Solteira and to subjects connected to the relationship between the fauna and their habitats.

KEYWORDS: biodiversity, fauna, environmental education, documentary, audiovisual medias.

1 | INTRODUÇÃO

Historicamente, os seres humanos estabelecem relações sociais e por meio delas atribuem significado econômico, estético, sagrado, lúdico ou econômico-estético à natureza (QUINTAS, 2004). Os diferentes impactos ambientais ocorrem principalmente em função do tipo de relação que o ser humano estabelece com o ambiente. Ao longo de sua evolução enquanto espécie biológica, o homem desenvolveu sua organização social e, junto com ela, criou sua cultura, gerando novas formas de relacionamento com a natureza (DIAS; LEAL; CARPI JUNIOR, 2016).

O município de Ilha Solteira está localizado a noroeste do Estado de São Paulo. O município é banhado por três rios importantes, o Rio Paraná (a Oeste), o Rio São José dos Dourados (ao Centro) e o Rio Tietê (ao Sul). Por esse motivo, a presença de matas ciliares, ilhas fluviais, áreas alagadiças e pequenos córregos é considerável. Apesar dos avanços da agropecuária, são reconhecidos alguns remanescentes florestais no município. Todos estes diferentes habitats fazem com que o município esteja repleto das mais diferentes formas de vida, com uma grande diversidade de espécies de invertebrados, plantas e outros animais.

A diversidade da vida é essencial ao equilíbrio ambiental, e um ambiente ecologicamente equilibrado propicia condições para que o ambiente permaneça saudável, pois capacita os ecossistemas a melhor reagirem às alterações causadas por fatores naturais e sociais, pois, ecologicamente, quanto maior a simplificação de um ecossistema, maior a sua fragilidade (LIMA, 2007).

Destaca-se assim, a relevância de trabalhar nestas regiões e designar sua importância no contexto ambiental para os alunos de forma significativa, colaborando na formação de um novo tipo de estudante, com novos hábitos, percepções, atitudes, desejos e processos mentais, ou seja, uma nova cultura, baseada no vínculo e conhecimento do meio ambiente local.

O Ensino de Ciências tem papel importante no desenvolvimento do aluno como cidadão crítico, além de auxiliar no desenvolvimento do raciocínio lógico e da curiosidade, contribuindo assim para os desafios do dia a dia (DA CUNHA ALVES et al., 2016).

Em âmbito escolar nas disciplinas de Ciências e Biologia, a questão da biodiversidade é abordada e visualizada também pela perspectiva da educação

ambiental, área interdisciplinar que conflui entre os campos educativo e ambiental (MACIEL; SANTOS; SILVA, 2016). Tal fato é essencial para a construção deste conceito, uma vez que de nada vale o conhecimento teórico do assunto se não abordarmos como este pode ser e estar inserido na sociedade, e como podemos aplicá-lo para a melhoria do meio.

O tema “Biodiversidade” está inserido nos PCNs em ensino de Zoologia, no eixo temático ‘Vida e ambiente’, onde afirmam que há uma necessidade na “investigação da diversidade dos seres vivos compreendendo cadeias alimentares e características adaptativas dos seres vivos, valorizando-os e respeitando-os” (BRASIL, 1998).

Na atual crise ambiental há necessidade de trabalhar junto aos jovens temáticas ambientais, para que haja uma mudança de atitude em relação às questões ambientais (CASTOLDI; BERNARDI; POLINARSKI, 2009).

Para Leonardo Boff (2001), quem ama cuida, mas para amar é necessário criar um elo afetivo entre a pessoa e o lugar ou ambiente físico (TUAN, 1980). Perceber o ambiente é experimentar este ambiente, e da sucessão de experiências formam-se atitudes. Portanto, qualquer pensamento elaborado em nossa mente procede da experiência, pois toda ideia verdadeira procede da impressão e esta da percepção (HUME, 1996).

O presente trabalho teve como fundamento contribuir para esta mudança de atitude, aproximando os estudantes da fauna silvestre do município como forma de incentivá-los a valorizarem o que é local, além de introduzi-los aos conceitos de biodiversidade e preservação ambiental, tudo isso construído através do uso de recursos audiovisuais.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho teve sua realização ao longo dos anos de 2015, 2016, e 2017. Durante este período foram trabalhadas as turmas do 7º ano da Escola Estadual Prof.^a Lea Silva Moraes, localizada no município de Ilha Solteira, SP. Foram atendidas 14 turmas ao longo do projeto. As aulas foram ministradas semanalmente durante o período de 50 minutos, consistindo de teóricas e práticas. As aulas teóricas foram realizadas em sala de aula ambientada com áudio e vídeo, enquanto as atividades práticas foram desenvolvidas no Centro de Conservação da Fauna Silvestre de Ilha Solteira, vulgo “Zoológico de Ilha Solteira”. O conteúdo programático foi dividido em 8 temas que são trabalhados nos PCNs:

Aula 1 - introdução à biodiversidade: teórica, introduzia os alunos aos conceitos que seriam trabalhados posteriormente, como biodiversidade, habitat, espécie. Também explicava resumidamente a especiação e os biomas da região de Ilha Solteira.

Aula 2 - invertebrados: teórica, tratava da grande diversidade deste grupo de

animais, focando na importância dos mesmos para o ambiente.

Aula 3 - peixes: teórica, discutia a diversidade de peixes encontrados na região, introduzindo os alunos à classificação de peixes cartilagosos e de esqueleto ósseo. Essa aula também apresentava os problemas da introdução de espécies, visto que as águas dos rios de Ilha Solteira contêm várias espécies não nativas.

Aula - anfíbios: teórica, tratava da evolução dos anfíbios e das principais características dos anuros.

Aula 5 - répteis: teórica, sobre as espécies de répteis encontradas no município e de como eles evoluíram suas técnicas de caça e defesa. Nesta aula também foi enfatizada a questão dos mitos e perigos ligados às serpentes, esclarecendo aos alunos o fato de que os ofídios locais trazem muito mais benefícios do que malefícios às pessoas.

Aula 6 - aves: teórica, introduzia as aves dos três principais ambientes não urbanos de Ilha Solteira, a vegetação ciliar, as pastagens e os remanescentes florestais.

Aula 7 – mamíferos e conservação da natureza: teórica, discorria os principais grupos de mamíferos da região e que espécies podiam ser encontradas em Ilha Solteira. Essa aula também discutia a redução da área distribuição da onça-pintada nos últimos anos frente às pressões antrópicas, abrindo espaço para que os alunos pensassem sobre nosso impacto maligno no ambiente, ilustrando-o com exemplos como o tráfico de animais silvestres, a caça ilegal, a sobrepesca e a destruição de habitats.

Aula 8 - observação comportamental/anatômica: prática, introduzia os alunos às principais espécies de Ilha Solteira com ênfase para suas características, conservação e principais ameaças e revia conceitos e tópicos apresentados em aula.

Ao início da primeira aula ministrada, foi aplicado um questionário inicial fundamentado nos conceitos prévios dos alunos sobre biodiversidade, composto por 11 questões, 4 dissertativas e 7 de múltipla escolha. O questionário final foi aplicado no final da última atividade do curso, durante a visita ao Centro de Conservação da Fauna Silvestre de Ilha Solteira.

As questões 1 e 2 tratavam do interesse e contato do aluno para com a natureza. As questões 3, 4 e 5 objetivavam avaliar o conhecimento dos estudantes em relação à biodiversidade em geral. As questões 6 e 7 voltaram-se ao conhecimento da área de estudo, avaliando o reconhecimento que os alunos têm sobre o município e sua natureza. As questões 8 e 9 analisaram a percepção de conservação e preservação ambiental. A questão 10 indicou com qual frequência os temas ligados à natureza eram ministrados em sala de aula. A questão 11 avaliou as perspectivas do aluno em relação às aulas, no questionário inicial, e a opinião sobre o mesmo, no questionário final.

Ao término da aplicação do questionário final, os alunos indicaram os animais do zoológico que mais gostaram. Durante todo o processo, foram anotados todos

os aspectos ocorridos julgados importantes, que serviram como subsídio para complementar os dados gerados pelos questionários.

Durante as aulas práticas, os alunos puderam ter uma percepção melhor dos animais apresentados nas aulas teóricas, sendo esta percepção proporcionada pelo contato visual e, por vezes, auditivo. Foram realizadas atividades de observação de comportamento e da anatomia dos animais, com a finalidade de familiarizar os estudantes com os mesmos além de instigá-los a relembrar os conceitos apresentados em sala. Também foi abordada na aula prática conceitos de conservação e as principais ameaças envolvendo espécies chaves como o Lobo-guará, Mutum-de-penacho, Jacaré-de-papo-amarelo e Onça-pintada. As visitas se encerravam com uma pequena apresentação que incluíam exposições de animais vivos e mortos conservados, permitindo que os alunos pudessem tocar, sentir e analisar as texturas, formatos e anatomia dos animais expostos.

Vídeos educativos, no formato de documentário, foram montados com a finalidade de apresentar um pouco da fauna silvestre de Ilha Solteira. Os vídeos têm uma duração de no máximo 5 minutos e foram exibidos ao final de algumas aulas teóricas. Neles, foram apresentados comportamentos dos animais, técnicas de pesquisa e biodiversidade em geral. Para a realização dos vídeos, foi utilizada uma série de equipamentos fotográficos, aptos a gerar imagens em alta definição (HD), incluindo câmeras Canon Powershot SX60HS, capazes de filmar a longas distâncias, Gopro Hero 3 Black Edition, utilizadas para filmagens em câmera lenta e tomadas subaquáticas, e câmeras de trilha Bushnell, para captura de comportamentos noturnos. As filmagens foram realizadas em diversos ambientes, desde as ilhas fluviais e residências abandonadas até fragmentos florestais, áreas de pastagem e mesmo em praças na área urbana e no zoológico, onde foram filmados tanto animais de recintos quanto os de vida livre. As filmagens noturnas no zoológico e em fragmentos florestais isolados permitiram levar às crianças um conteúdo de qualidade e poucas vezes visto. E as filmagens em áreas abertas permitiu a captação de um registro raro de comportamento de caça de um lobo-guará, animal extremamente arisco e difícil de ser avistado. Ainda, a utilização de equipamentos à prova d'água possibilitou o registro comportamental de anfíbios em fase larval. A Guarda Municipal de Ilha Solteira auxiliou no acesso aos locais mais inacessíveis do município dando um apoio de extrema importância para o projeto.

3 | RESULTADOS

Neste trabalho foi realizado um estudo comparativo entre o questionário inicial e o questionário final de todos os anos, sendo realizadas anotações sobre aspectos de interesse no decorrer do processo, com o propósito de acompanhar a assimilação do conteúdo ministrado. O número total de alunos participantes foi de 319 pra o

questionário inicial e 310 para o questionário final.

Os resultados e discussões aqui apresentadas serão trabalhadas de duas maneiras. Na primeira os resultados serão expostos em sua totalidade, levando em consideração o conjunto de todos os anos do projeto, em contraponto com os valores obtidos para os questionários inicial e final do último ano de trabalho, com o total de 99 e 86 alunos participantes, respectivamente. Tal abordagem será feita para as questões de múltipla escolha. Nas questões abertas e que apresentaram maior diversidade de respostas, a análise conjunta dos anos corresponde apenas aos 3 primeiros anos em contraponto ao ano vigente, a diferenciação de abordagem surge do fato de que para melhor comparação das respostas foi realizado o agrupamento das respostas abertas em categorias, e sendo estas categorias subjetivas e variando de acordo com o avaliador e principalmente com as respostas de cada ano, optou-se por tal apresentação uma vez que a junção das categorias de todos os anos poderia levar a uma não representação da realidade das respostas apresentadas.

Constatou-se que 90% dos alunos têm interesse por assuntos relacionados ao meio ambiente, não tendo sido esta porcentagem modificada após a realização do projeto. A maioria dos estudantes (52%) mencionou ter contato com a natureza “às vezes”, enquanto 39% disseram que “sempre” têm contato com a natureza. Menos de 10% mencionaram “nunca” ou “quase nunca” terem contato com a natureza. Estas porcentagens também não foram modificadas após o desenvolvimento do projeto.

Antes do projeto a maioria dos alunos compreendia minimamente o conceito da palavra “Biodiversidade”. O projeto realizado resultou em clara melhora na compreensão do significado do termo (Fig. 1).

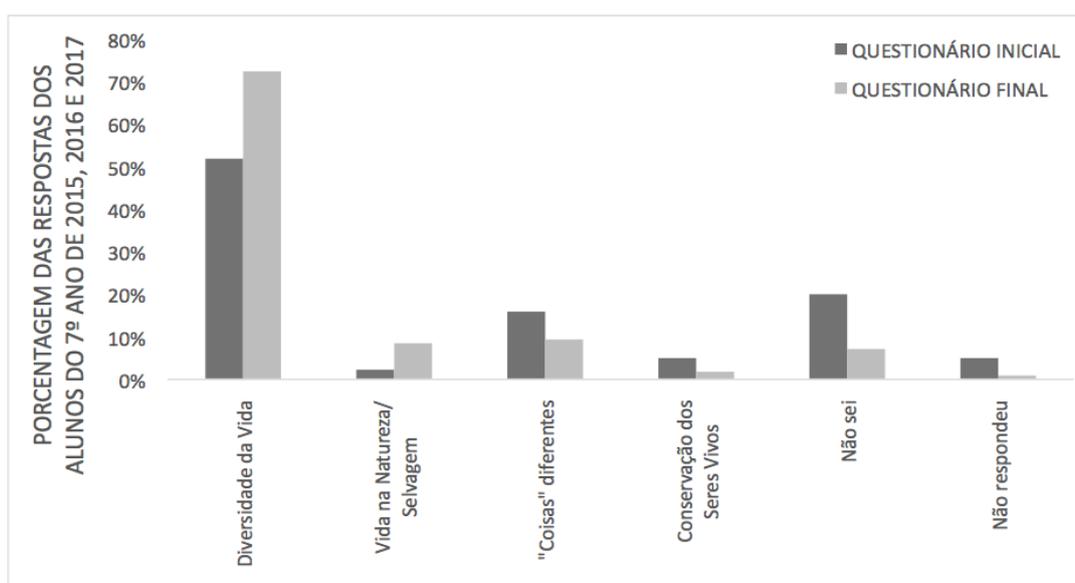


Figura 1. Respostas à questão “Para você, o que é Biodiversidade?”

Em todos os anos os estudantes compreendiam a grande importância dos invertebrados para o ecossistema (Fig. 2), porém nos questionários iniciais

os mesmos não sabiam explicar o porquê da importância destes animais, demonstrando muitas vezes respostas vagas, confusas ou ausentes, mesmo quando afirmavam que esta importância existia. Já nos questionários finais além de apresentar uma melhora na compreensão geral as respostas também trouxeram exemplificações como a questão da polinização, decomposição de nutrientes e cadeia alimentar.

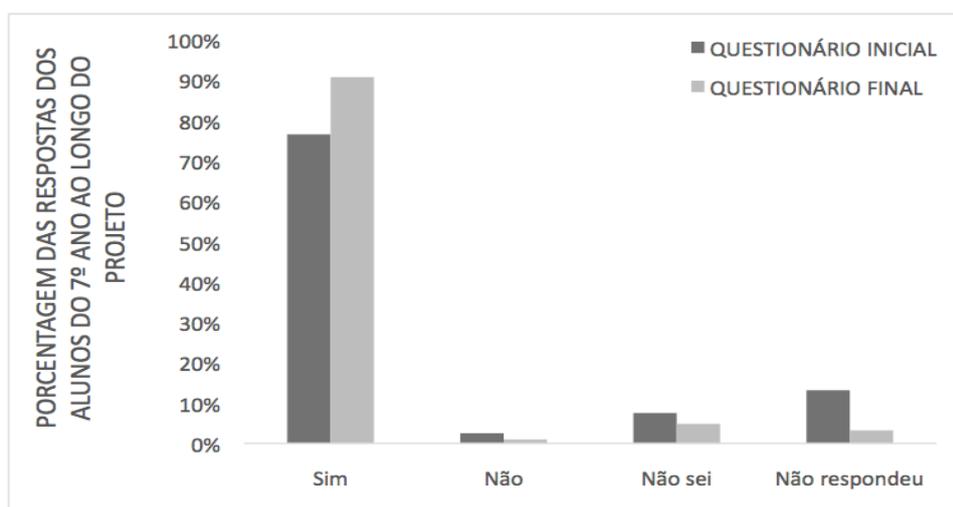


Figura 2. Respostas à questão "Os invertebrados são importantes para o ambiente? Explique sua resposta."

A noção de existência de uma fauna típica do município de Ilha Solteira, abordado na questão cinco, também se mostrou presente desde o questionário inicial, mas com uma perceptiva melhora ao final do projeto (Fig. 3).

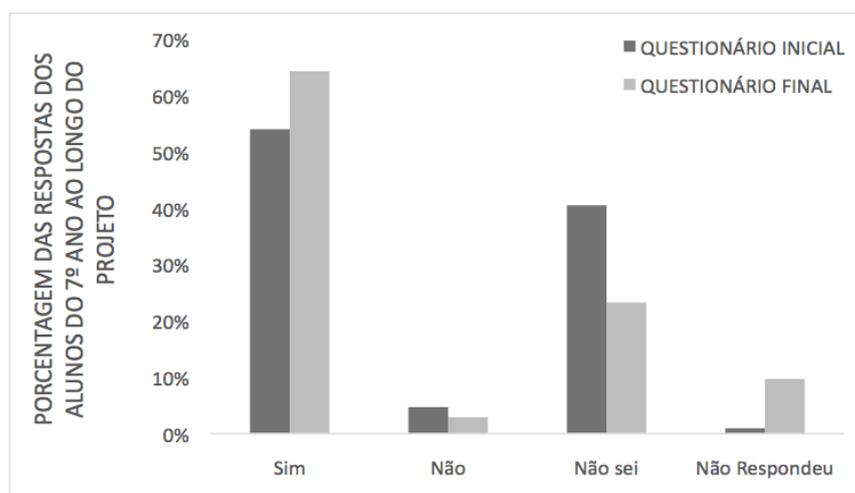


Figura 3. Respostas à questão "Existe uma fauna típica da cidade de Ilha Solteira?"

A relação nociva entre espécies invasoras e o ambiente não estava clara quando do início do projeto, porém após as aulas e a reavaliação do tópico podemos perceber a existência de uma melhora no entendimento dos potenciais impactos da

presença de espécies invasoras (Fig. 4).

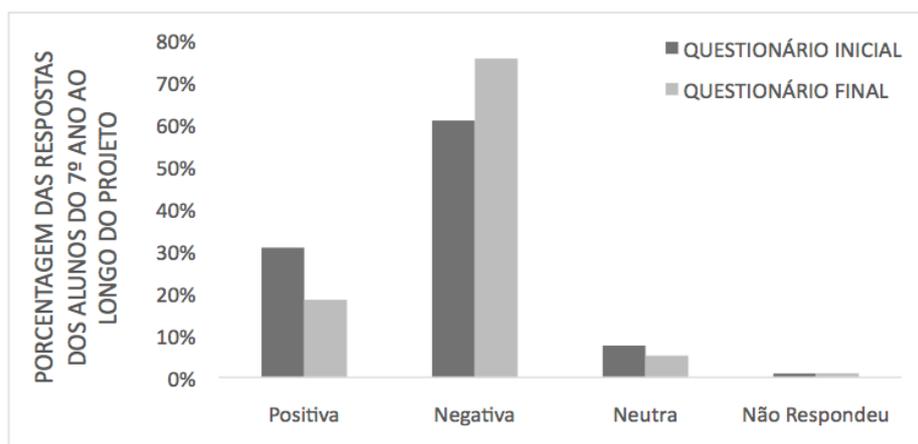


Figura 4. Respostas à questão “Imaginamos que você ganhou um pássaro de estimação. Esta ave só existe no Nordeste brasileiro, portanto, não pode ser encontrada livre em Ilha Solteira. Porém, ao perceber que o animal parece deprimido por estar em uma gaiola, você decide soltá-lo. Qual será a consequência de seu ato?”

Quando indagados sobre quais espécies esperavam encontrar fora do ambiente urbano de Ilha Solteira as respostas presentes no questionário inicial costumam apresentar maior disparidade (Fig. 5), embora o número de alunos que indicou animais pertencentes à fauna típica como Lobo-guará, Cotia, Teiú e Arara seja maior, é possível observar que muitos ainda indicam espécies exóticas como Leão, Elefante, Flamingo e até mesmo Pinguim. Com a aplicação das aulas observa-se o aumento de respostas que apresentavam animais pertencentes a fauna típica e diminuição das outras categorias com respostas mais distantes do encontrado na região.

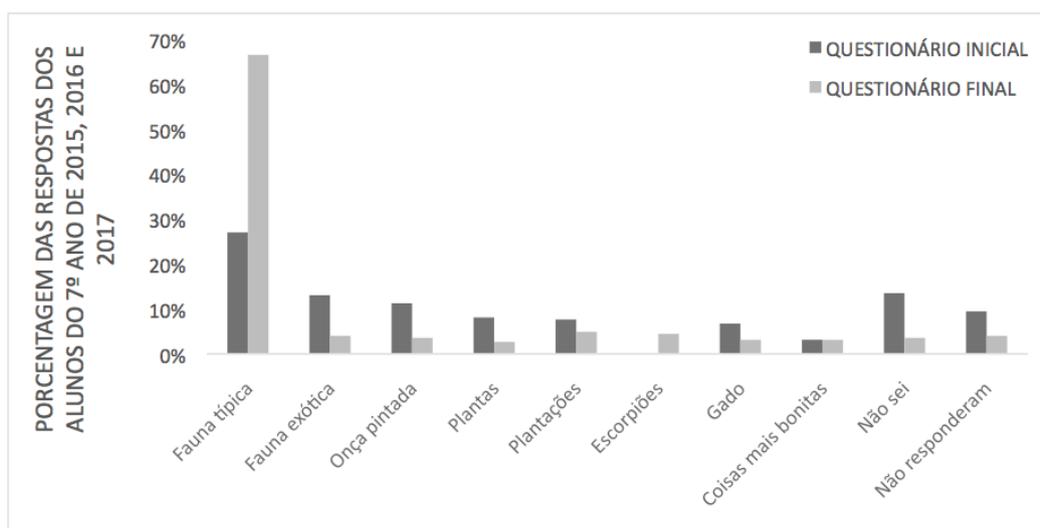


Figura 5. Respostas à questão “Existe uma fauna típica da cidade de Ilha Solteira?”

Constata-se que os alunos compreendem os riscos que o avanço das plantações oferece para a fauna silvestre, riscos estes que não eram totalmente compreendidos

havendo uma divisão entre os alunos que encaravam esse avanço como algo bom e os que reconheciam o seu problema (Fig. 6).

As respostas à questão sobre a existência de onças-pintadas em Ilha Solteira demonstraram grande diferença entre o questionário inicial e final (Fig. 7), com a maioria afirmando inicialmente que era sim possível encontrar este grande felino no município e com a posterior reversão do quadro.

Quando indagados na última pergunta do questionário inicial sobre o que esperariam aprender deste curso, a maioria dizia esperar “Aprender sobre animais, plantas, natureza”, em seguida de “Aprender sobre o meio ambiente”, e “Aprender muitas coisas”, alguns poucos alunos disseram não esperar nada ou não responderam. No questionário final esta pergunta se referia à opinião do estudante sobre o curso e nela a maioria disse ter gostado e aprovado o curso, elogiando pontos como a didática, interação, os vídeos e o tema abordado, alguns alunos chegaram a deixar depoimentos como “Me ajudou no meu projeto de vida” e “Agora eu tenho uma missão com a natureza”.

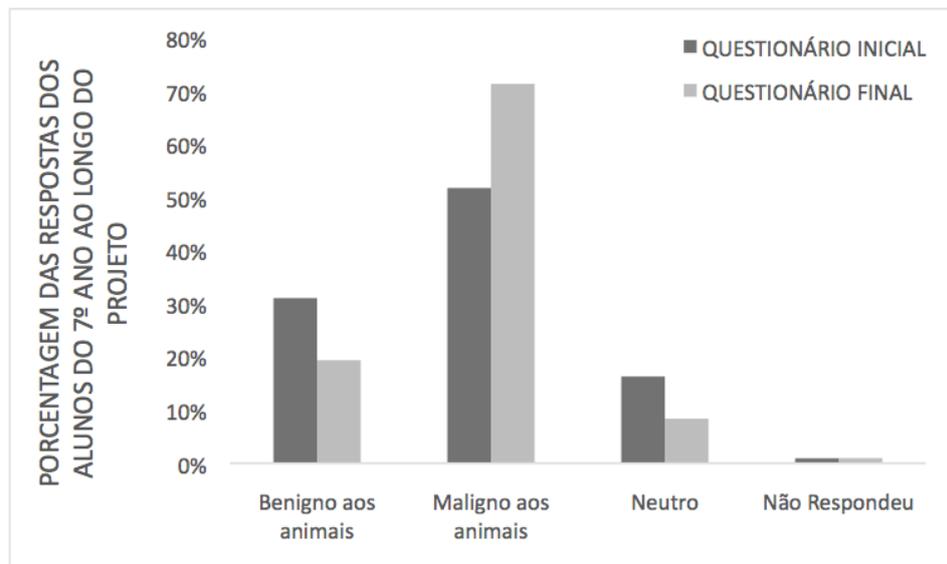
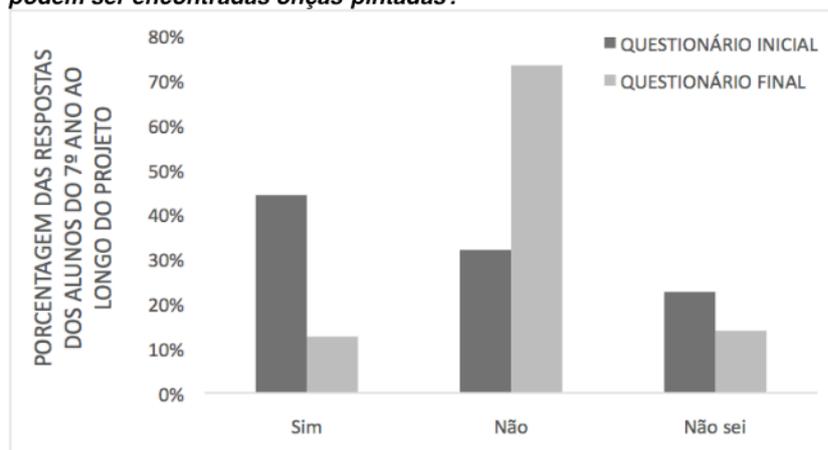


Figura 6. Respostas à questão “O avanço de pastagens e plantações é...?”

Figura 7. Respostas à questão 9, “Você acredita que, em algum lugar em Ilha Solteira, podem ser encontradas onças-pintadas?”



4 | DISCUSSÃO

Questionário pode ser definido como uma técnica de investigação social, composta por um conjunto de questões que são submetidas a pessoas com o propósito de obter informações sobre conhecimentos, crenças, sentimentos, valores, interesses, expectativas, aspirações, temores, comportamento presente ou passado (GIL, 2008). Apesar de nem todos os projetos de pesquisa utilizarem o questionário como instrumento de recolha e avaliação de dados, este é um instrumento muito importante na pesquisa científica. Este instrumento deve ser associado a outros, como a interpretação das impressões vistas em sala, conforme realizado no presente trabalho.

A análise do questionário inicial e questionário final revelam que alunos compreendem o conceito “Biodiversidade”, ainda que este seja um tema relativamente mais avançado. Nota-se também que os alunos compreendem a existência da fauna típica de Ilha Solteira. Porém, durante as aulas e análises dos questionários, notaram-se respostas equivocadas sobre a composição fauna típica de Ilha Solteira, questão observada no relatório inicial, em que muitos alunos responderam, que no entorno da cidade, podem ser encontrados leões, hipopótamos, rinocerontes, e até mesmo urso-polar e pingüim. Estas respostas equivocadas resultam da maior divulgação sobre animais exóticos nos meios de comunicação, como desenhos e documentários sobre a África, propagandas de alimentos domésticos, criando assim uma preferência por animais domésticos e exóticos (BIZERRIL, 2004). Vale ressaltar ainda que Ilha Solteira se encontra em uma área de ecótono Mata Atlântica-Cerrado, e tem grande parte de sua fauna composta por animais característicos do Cerrado, como o lobo-guará e a ema, e de um modo geral a mídia e os próprios livros evidenciam, os estudos ambientais nos biomas Amazônia e Mata Atlântica (CHERENE, 2006). Outro fator que chamou atenção nas respostas é a grande citação de cobras pelos alunos, sem se referenciar à uma espécie específica, o que pode ser explicado pelo fato de muitos pais e responsáveis usarem a presença de tal animal nas matas e locais isolados como um inibidor para a aproximação do jovens nesses ambientes, contribuindo para uma crença prejudicial para com este grupo de animais (ALVES et al., 2010).

Observou-se no questionário final um maior reconhecimento da fauna típica do município através de um aumento nas respostas corretas, sendo citados pelos alunos diversos animais da fauna típica de Ilha Solteira (sucuri, macacos, antas, tatus, lobos-guarás, jacarés, capivaras), e havendo um decréscimo nas respostas “não sei” e no número de alunos que não responderam. Verificou-se também a diminuição de respostas mencionando animais exóticos no questionário final.

Notou-se ainda no questionário inicial que muitos alunos acreditam na ocorrência de onças-pintadas no município de Ilha Solteira. Como já foi citado, os livros e a mídia evidenciam os estudos na Mata Atlântica (CHERENE, 2006), sendo este, um animal

símbolo da biodiversidade brasileira. No entanto como foi explicado para os alunos, este animal tem a necessidade de um grande fragmento de mata para suprir suas necessidades básicas, não existindo em Ilha Solteira um fragmento de mata capaz de suportar este animal. De acordo com as respostas do questionário final, podemos inferir que os alunos assimilaram de maneira satisfatória as informações passadas a eles sobre a não ocorrência de onças-pintadas no município de Ilha Solteira.

A análise dos questionários revelou também que os alunos compreendem a importância dos invertebrados para os ecossistemas, porém se mostram confusos ao discorrer sobre a importância dos invertebrados e como os mesmos mantêm os ecossistemas em equilíbrio, sendo relacionado na maioria das vezes com cadeias alimentares. Tal confusão é parcialmente sanada como mostrou a avaliação dos questionários finais, onde a maioria já sabia explorar melhor conceitos como polinização, adubação, decomposição e ciclagem de nutrientes no solo.

Constatou-se durante as aulas e através da análise dos questionários que os alunos compreendem os riscos da introdução de espécies exóticas, e o problema que esta prática pode causar à fauna nativa. Durante as aulas notou-se que os alunos começaram a assimilar o papel das ações antrópicas na fauna local, especialmente relacionadas à agropecuária, demonstrando que os alunos compreendem o risco que esses problemas oferecem à fauna silvestre.

Observou-se ainda que os alunos se interessam por assuntos relacionados ao meio ambiente, podendo ainda inferir que este interesse se deve à regularidade com que os alunos têm contato com a natureza, e também por estarem frequentemente estudando assuntos relacionados à natureza.

Constatou-se também uma evolução na assimilação do conhecimento dos alunos com o tema abordado no curso. Apesar de alguns pontos tratarem-se de conteúdos relativamente mais avançados, como a própria concepção da palavra biodiversidade, os alunos obtiveram melhorias nas respostas em todas as questões. A utilização de vídeos e outros recursos audiovisuais proporcionaram um maior envolvimento dos alunos com o tema, além da oportunidade de tirarem dúvidas durante todo o curso.

As temáticas trabalhadas exigem aulas práticas e precisam ser vivenciadas, havendo assim a formação de uma atitude científica, que está intimamente vinculada ao modo como se constrói o conhecimento (FUMAGALLI, 1993). Para Ausubel e colaboradores (1980), a ocorrência da aprendizagem significativa pressupõe a disposição da parte do aluno em relacionar o material a ser aprendido, e as ferramentas que são aplicadas nas aulas devem ser potencialmente significativas. A prática no zoológico, utilizada como ferramenta primordial para reforço do aprendizado teórico, serviu para esta função, dando maior ênfase ao conteúdo aprendido nas aulas teóricas, proporcionando aos alunos o contato direto com os animais da região.

As atividades práticas proporcionam grandes espaços para que o aluno seja atuante, tornando-se agente do seu próprio aprendizado, descobrindo assim, que

aprender é mais do que mero conhecimento de fatos, interagindo com as suas próprias dúvidas, chegando a conclusões e à aplicação dos conhecimentos por eles obtidos (LAKATOS, 2001). O conceito de aprendizagem emergiu das investigações empíricas em psicologia, ou seja, de investigações levadas a termo com base no pressuposto de que todo conhecimento provém da experiência (GIUSTA, 2013).

A experiência dos alunos com os animais do Centro de Conservação da Fauna Silvestre, tanto vivos como os conservados, mostrou-se muito positiva com todas as turmas, permitindo aproximá-los ainda mais de animais que, na maior parte do tempo, são vistos apenas através de fotografias e vídeos.

Constatou-se, através das dúvidas levantadas e perguntas realizadas na aula prática do Centro de Conservação da Fauna Silvestre, que grande parte dos alunos assimilou o conteúdo ministrado com os respectivos grupos de animais presentes no município. Foi observada ainda uma maior sensibilização por parte dos alunos em relação aos animais estarem dispostos em recinto, não podendo voltar aos seus respectivos habitats naturais.

Analisando a última questão do questionário final, a qual se refere ao curso e como ele foi desenvolvido, 99% (noventa e nove por cento) dos alunos que responderam ao questionário afirmaram que gostaram muito do projeto, com alguns relatos como “No começo achei que não ia gostar, mas depois gostei muito e não queria que terminasse” e outros mais tocantes e sensíveis como os apresentados nos Resultados. Quando questionados também sobre pontos positivos e negativos do projeto, os alunos apontaram como principais pontos positivos que eles aprenderam sobre os animais que não sabiam que ocorriam em Ilha Solteira, gostaram de ir ao Centro de Conservação da Fauna Silvestre, os professores foram muito “legais” nas aulas e que muitas dúvidas foram esclarecidas.

Quando levamos em consideração os questionamentos feitos em sala de aula alguns pontos ficam em evidência, o primeiro deles é o despertar do interesse nos alunos e o outro é a questão de como alguns conhecimentos populares, muitas vezes errôneos, estão fixos na cabeça dos alunos, muitos destes mitos e verdades populares foram desconstruídas graças às aulas teóricas e a prática no Centro de Conservação, porém foi sentido que mais aulas práticas em diferentes ambientes, como os laboratórios de anatomia e zoologia da UNESP-FEIS, poderiam ajudar na quebra destes conceitos errôneos.

A forma com que o trabalho foi realizado deixou a relação aluno-educador mais aberta, permitindo com que diversos estudantes compartilhassem suas experiências com a turma e com os professores, trazendo casos e vivências que conheciam ou haviam presenciados, assim como dúvidas e questionamentos. Tais expressões foram sempre bem recebidas e incentivadas, uma vez que nestes relatos revelava-se o contato que os alunos tinham com a fauna local além de permitir aos educadores que atitudes, medos e mitos fossem trabalhados de uma forma única e esclarecedora.

Outro instrumento que permitiu uma avaliação positiva dos ensinamentos

passados foi que, por diversas vezes, ao encontrarem os bolsistas pelos corredores da escola muitos alunos de turmas trabalhadas nos anos anteriores se direcionavam a estes e mostravam que muitos dos conceitos ensinados ainda estavam fixos, além de retornarem com situações e vivências que de certa forma estavam ligados ao conteúdo ministrado.

5 | CONCLUSÃO

O vínculo afetivo com o ambiente é o primeiro passo para o sucesso de qualquer projeto de educação ambiental. O projeto Minha Ilha Selvagem realizou de maneira satisfatória a função de levar até as crianças o que é estudado no meio acadêmico, mostrando aos alunos a importância de se praticar ações sustentáveis, enfatizando a conservação da natureza e de sua biodiversidade.

Desta forma o projeto mostrou a importância de ações com o mesmo cunho, ações essas que possam sensibilizar os alunos em relação a assuntos ligados ao ambiente, desenvolvendo assim a consciência e a responsabilidade de construir comunidades sustentáveis onde as necessidades são satisfeitas sem diminuir as chances das gerações futuras.

REFERÊNCIAS

ALVES, R. R. N. et al. **Répteis e as populações humanas no Brasil: uma abordagem etnoherpetológica. A Etnozoologia no Brasil: Importância, Status atual e Perspectivas.** Volume, v. 7, n. 1, 2010.

AUSUBEL, David Paul; NOVAK, Joseph D.; HANESIAN, Helen. **Psicologia educacional.** Interamericana, 1980.

BIZERRIL, Marcelo XA. Children's perceptions of Brazilian Cerrado landscapes and biodiversity. **the Journal of environmental education**, v. 35, n. 4, p. 47-58, 2004. BRASIL. **Parâmetros Curriculares Nacionais: Ciências Naturais.** Brasília: MEC, Secretaria do Ensino Médio, 1998.

BOFF, Leonardo. Saber cuidar: ética do humano. **Petrópolis: vozes**, 1999.

CASTOLDI, Rafael; BERNARDI, Rosângela; POLINARSKI, Celso Aparecido. Percepção dos problemas ambientais por alunos do ensino médio. **Revista Brasileira de Ciências, Tecnologia e Sociedade**, São Carlos, v. 1, n. 1, p.56-80, jan. 2009.

CHERENE, Marytze Barreto Bellei. **A importância da percepção ambiental para projetos de educação ambiental.** 2006. 48 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Ambientais e Saúde, Institutos Superiores de Ensino do Censa, Campos dos Goytacazes, 2006.

DA CUNHA ALVES, Cristiane et al. PERCEPÇÃO DOS ESTUDANTES DO CURSO NORMAL SOBRE ENSINAR CIÊNCIAS: UM ESTUDO EXPLORATÓRIO. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 7, n. 3, 2016.

DIAS, Leonice Seolin; LEAL, Antonio Cezar; CARPI JUNIOR, Salvador (Org.). **EDUCAÇÃO AMBIENTAL conceitos, metodologias e práticas.** Tupã: Anap, 2016.

FUMAGALLI, Laura Aldabe et al. **El desafío de enseñar ciencias naturales: educación media.** Troquel,, 1993.

GIL, Antônio Carlos. **Métodos e técnicas de pesquisa social.** 6. Ed. Editora Atlas AS, 2008.

GIUSTA, Agneta da Silva. Concepções de aprendizagem e práticas pedagógicas. **Educação em Revista**, v. 29, n. 1, p. 20-36, 2013.

HUME, D. **Investigação sobre o entendimento humano.** São Paulo, Editora Escala, 2003.

LIMA, Gabriela Garcia Batista. A conservação da fauna e da flora silvestres no Brasil: a questão do tráfico ilegal de plantas e animais silvestres e o desenvolvimento sustentável. **Revista Jurídica: presidência da república**, Brasília, v. 9, n. 86, p.134-150, jul. 2007.

LAKATOS, Eva Maria; DE ANDRADE MARCONI, Marina. **Metodologia do trabalho científico: procedimentos básicos, pesquisa bibliográfica, projeto e relatório, publicações e trabalhos científicos.** 2001.

MACIEL, Mayara Santos; SANTOS, Vanja Joice Bispo; SILVA, Lúcia das Graças Santana da. Usos e apropriações de multimídias na educação para a biodiversidade em escolas de Belém/PA. **Educação, Cultura e Comunicação**, v. 7, n. 13, 2016.

MIRANDA, EE de; GOMES, Eliane Gonçalves; GUIMARÃES, Marcelo. Mapeamento e estimativa da área urbanizada do Brasil com base em imagens orbitais e modelos estatísticos. **Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite**, 2005.

QUINTAS, José Silva. **Educação no processo de gestão ambiental:** uma proposta de educação ambiental transformadora e emancipatória. Brasília: Mma, 2004.

SILVA, W. R. Bases para o diagnóstico e o monitoramento de Aves no Estado de São Paulo. **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX**, v. 6, p. 39-50, 1998.

TUAN, Yi-Fu. **Topofilia: um estudo da percepção, atitudes e valores do meio ambiente.** Difel, 1980.

LEVANTAMENTO DAS PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS PELOS FAMILIARES DE ALUNOS DA ESCOLA JAYME VERÍSSIMO DE CAMPOS JÚNIOR, ALTA FLORESTA/MT: INTEGRAÇÃO DE SABERES

Jakeline Santos Cochev da Cruz

Secretaria de Educação do Estado de Mato Grosso-SEDUC, Professora da Escola Estadual Jayme Verissimo de Campos Junior, Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal- PPG-Rede Bionorte.
Alta Floresta – Mato Grosso

Ana Aparecida Bandini Rossi

Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT Carlos Alberto Reyes Maldonado, Campus de Alta Floresta, Professora da Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, PGMP, PPGBioAgro e PPG-Bionorte.
Alta Floresta – Mato Grosso

Joameson dos Santos Lima

Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT Carlos Alberto Reyes Maldonado, Campus de Alta Floresta, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas – PGMP.
Alta Floresta – Mato Grosso

Patrícia Ana de Souza Fagundes

Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT Carlos Alberto Reyes Maldonado, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Graduanda do curso de Ciências Biológicas.
Alta Floresta – Mato Grosso

Alex Souza Rodrigues

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas – PGGMP.
Campos dos Goytacazes - Rio de Janeiro

Angelita Benevenuti da Silva

Secretaria de Educação do Estado de Mato Grosso-SEDUC, Professora, Escola Estadual Jayme Verissimo de Campos Junior.
Alta Floresta – Mato Grosso.

Kelli Évelin Müller Zortéa

Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT Carlos Alberto Reyes Maldonado, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal- PPG-Rede Bionorte.
Alta Floresta – Mato Grosso

Auana Vicente Tiago

Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT Carlos Alberto Reyes Maldonado, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - PPG-Bionorte
Alta Floresta – Mato Grosso

Miguel Júlio Lorin

Secretaria de Educação do Estado de Mato Grosso-SEDUC, Professor, Escola Estadual Jayme Verissimo de Campos Junior.
Alta Floresta – Mato Grosso

Guilherme Ferreira Pena

Universidade do Estado de Mato Grosso-UNEMAT Carlos Alberto Reyes Maldonado, Professor da Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias.
Alta Floresta – Mato Grosso.

RESUMO: Ao longo da história, o ser humano faz uso da flora para cura e prevenções de doenças, mesmo com os avanços da medicina moderna. O conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais é analisado e discutido em diferentes esferas do conhecimento, devido a gama de informações que se associam a essa temática. A escola é um ambiente onde se integram informações de cunho científico e popular, onde os saberes são discutidos nas mais diversas áreas do conhecimento. Neste contexto o presente trabalho objetivou realizar o levantamento das plantas medicinais utilizadas pelos familiares de estudantes da Escola Estadual Jayme Veríssimo de Campos Júnior, no município de Alta Floresta/MT, bem como as formas de uso e suas finalidades, proporcionando uma interação entre os diferentes saberes. A pesquisa foi realizada no segundo semestre de 2015 com entrevista a 102 estudantes do ensino médio e seus familiares. Para o levantamento dos dados, utilizou-se de questionário semiestruturado, com questões sobre os dados socioeconômicos e conhecimentos sobre as plantas medicinais. Foram citadas 62 plantas medicinais utilizadas pelos familiares dos estudantes. O boldo, a hortelã e o gengibre foram às plantas com mais de 20 citações. A principal forma de preparo é o chá/decoção. A parte da planta mais utilizada são as folhas. Os familiares de todos os alunos da escola JVC fazem uso das plantas com fins terapêuticos. O conhecimento popular adquirido pelos alunos do JVC com seus familiares sobre as plantas medicinais pode ser utilizado como uma ferramenta para o processo de ensino aprendizagem e assim integrar o saber popular com o conhecimento científico.

PALAVRAS-CHAVE: Etnobotânica, Ensino aprendizagem, Saber popular, Conhecimento científico.

SURVEY OF THE MEDICINAL PLANTS USED BY THE RELATIVES OF STUDENTS OF THE JAYME VERÍSSIMO DE CAMPOS JÚNIOR, HIGH SCHOOL, ALTA FLORESTA/MT: INTEGRATION OF KNOWLEDGE

ABSTRACT: Throughout history, humans make use of flora for healing and disease prevention, even with the advances of modern medicine. The popular knowledge about the use of medicinal plants is analyzed and discussed in different spheres of knowledge, due to the range of information associated with this theme. The school is an environment where information of a scientific and popular nature is integrated, where the knowledge is discussed in the most diverse areas of knowledge. In this context, the objective of this study was to survey the medicinal plants used by the students' families

at the Jayme Veríssimo State School in Campos Júnior, in the municipality of Alta Floresta/MT, as well as the forms of use and their purposes, providing an interaction between the different knowledge. The survey was conducted in the second half of 2015 with interviews to 102 high school students and their families. For the data collection, a semi-structured questionnaire was used, with questions about socioeconomic data and knowledge about medicinal plants. There were 62 medicinal plants used by students' relatives. Boldo, mint and ginger went to plants with more than 20 citations. The main form of preparation is the tea / decoction. The most used part of the plant are the leaves. Relatives of all JVC students make use of the plants for therapeutic purposes. The popular knowledge acquired by JVC students with their families about medicinal plants can be used as a tool for the learning teaching process and thus integrate popular knowledge with scientific knowledge

KEYWORDS: Ethnobotany, Teaching learning, Popular knowledge, Scientific knowledge.

1 | INTRODUÇÃO

É por meio dos estudos da Etnobotânica que se busca o conhecimento e o resgate do saber botânico tradicional, especialmente, relacionada ao uso dos recursos da flora (MARINHO et al., 2011). Martin (1995) compreende o estudo da etnobotânica como avaliação da interação humana com todos os aspectos do meio ambiente, através de levantamentos nas comunidades tradicionais sobre a utilização das plantas na farmacopeia caseira e na economia doméstica.

As plantas medicinais, segundo Oliveira e Coutinho (2006), constituem um importante tema, não só pelo patrimônio natural e cultural, mas por fornecer orientações para que a população tenha um maior aproveitamento dos recursos terapêuticos de origem natural, sendo muitas vezes uma alternativa de uso para algumas comunidades.

É crescente o número de pessoas que dia a dia, mais preocupadas com a saúde e a qualidade de vida, evadem-se dos tratamentos convencionais e buscam a cura de enfermidades aproveitando os recursos existentes em seu ambiente, as espécies medicinais. Esse fato leva a um maior aproveitamento dos recursos vegetais existentes na região e a perpetuação de tradições herdadas com antepassados e repassada para gerações futuras. Tais informações podem ser resgatadas e valorizadas no âmbito da educação brasileira.

A educação escolar representa um importante instrumento não só de formação científica, como também de formação humana, uma vez que à escola é delegada a função de formadora de cidadãos atuantes na sociedade em que estão inseridos (BUENO, 2001). A escola, como um espaço sociocultural, representa um privilegiado local de acesso à cultura, sendo não somente um local onde se obtém conhecimentos teóricos, mas também onde são consolidadas opiniões e construídas identidades.

Portanto, a escola deveria ser o lugar onde assuntos referentes ao cotidiano dos alunos poderiam ser apresentados e tratados de modo sistematizado, no entanto, isto normalmente não acontece. O resultado da formação inadequada nas diferentes áreas do conhecimento é um distanciamento entre “ensino escolar” e a assimilação de conceitos informais, não sistematizados.

A escola é um ambiente onde se associam informações de cunho científico e popular, onde os saberes podem ser discutidos nas mais diversas áreas do conhecimento. Assim, a utilização de plantas medicinais e seus efeitos são assuntos cotidianos que podem ser abordados nas escolas e trabalhados de forma a proporcionar maior sensibilização quanto a utilização e preservação.

Estudos etnobotânico que buscam o conhecimento das plantas medicinais e sua utilização como ferramenta didática pedagógica ainda são escassos, apesar de haverem esforços neste sentido. Diante do exposto, o presente trabalho objetivou realizar um levantamento das plantas medicinais utilizadas pelos familiares dos estudantes da Escola Estadual Jayme Veríssimo de Campos Júnior, no município de Alta Floresta/MT, bem como as formas de uso e suas finalidades e assim proporcionar um aprendizado por meio da interação entre os conhecimentos populares e o científico.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no segundo semestre de 2015, na Escola Estadual Jayme Veríssimo de Campos Júnior (JVC), localizada no município de Alta Floresta/MT, sendo o sujeito do presente trabalho, estudantes do Ensino Médio do 2º e 3º ano e seus familiares.

O levantamento dos dados foi realizado por meio de questionário estruturado com questões sobre o uso de plantas medicinais, forma como eram adquiridas as espécies utilizadas, formas de uso das plantas, parte(s) que era(m) utilizada(s), indicações terapêuticas, listagem de plantas, além do questionamento sobre onde adquirem as plantas e se possuem o hábito de cultivar alguma espécie nas residências.

O questionário foi aplicado a 102 estudantes do ensino médio e seus familiares, sem restrição de disciplina. Junto aos questionários, foi entregue o Termo de Livre Consentimento e Esclarecido (TLCE), o termo foi assinado pelos pais e/ou responsáveis e respondido junto com os estudantes. Em seguida os dados obtidos foram tabulados e analisado em programa Microsoft Office Excel.

Após o levantamento das espécies medicinais mais utilizada pela população entrevistada, foi selecionado o algodoeiro, para realização de atividades didática-pedagógica, por meio da análise da viabilidade polínica e índice meiótico. Os experimentos foram realizados nos Laboratórios das Unidades Escolares e na

Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), Alta Floresta, com os alunos e professores do JVC, que participaram da pesquisa.

Os alunos coletaram botões florais em pré-antese e flores abertas (antese) de cinco indivíduos de algodoeiro. O material foi fixado em Carnoy: (3:1 – álcool absoluto: ácido acético) por 24 horas e logo após transferidos para álcool 70% e mantidos a 4°C, até o uso. Para a estimativa do índice meiótico (IM) e da viabilidade polínica os alunos da escola JVC preparam lâminas utilizando a técnica de esmagamento da antera sobre a lâmina e o material foi corado com carmim acético 2%. Posteriormente observaram sob microscopia óptica.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram mencionadas 62 plantas medicinais pelos familiares dos estudantes do JVC, dentre estas onze (11) foram citadas com maior frequência (Tabela 1). As espécies boldo, hortelã e gengibre foram citadas 44, 22 e 21 vezes respectivamente.

Observou-se que os alunos e familiares utilizam as plantas medicinais para o tratamento de algumas doenças comuns, corroborando com os resultados encontrados por Santos et al (1995) e Barros (2011), demonstrando que a medicina alternativa é conhecida e muito utilizada pelos familiares dos escolares.

Devido às dificuldades que algumas famílias encontram para acesso a saúde pública, o uso das plantas é uma alternativa que estes encontram para resolver de forma mais rápida e com maior poder curativo. Porém é importante esclarecimentos sobre o uso das plantas medicinais pela população, pois é necessário saber qual parte da planta que deve ser utilizada em cada caso e a dosagem correta, para não causar um dano colateral a saúde.

A folha foi a parte das plantas mais utilizadas na fabricação dos remédios pelos estudantes e familiares, o que corrobora com o trabalho de levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de Viçosa – MG realizado por Almeida et al., (2009). Segundo Alves et al., (2008) a maior utilização das folhas deve-se a facilidade na hora da coleta e devido estarem presentes na planta durante a maior parte do ano. Deste modo, ocorre também a conservação da planta para usos posteriores, pois não há impedimento do crescimento e reprodução do espécime com a coleta das folhas, como destacado por Silva et al. (2009).

Nome Popular	Número de Citações	Forma de preparo	Parte usada	Indicações populares
Boldo	44	Chá/decoção e macerado	Folhas	Dor de cabeça, Dor de estômago, enjoo, ressaca.

Hortelã	22	Chá/Infusão	Folhas	Gripe, Cólica de bebê, dor de garganta, calmante, pressão baixa, verme.
Gengibre	21	Chá/decoção	Folhas e Raiz	Gripe, emagrecer, dor de garganta.
Mastruz	13	Macerado e chá/decoção	Folhas	Dor no estômago, verme, infecções e machucado.
Babosa	12	Macerado	Folhas	Cicatrizante, infecção e oleosidade na pele.
Erva cidreira	12	Chá/infusão	Folhas	Calmante, gripe e enxaqueca.
Terramicina	10	Chá/decoção e banho	Folhas	Catapora, machucado, infecções e coceiras.
Capim Cidreira	09	Chá/decoção	Folhas	Calmante.
Alecrim	08	Chá/infusão	Folhas	Calmante, Dor no corpo, Hipertensão.
Algodão	08	Macerado e chá/infusão	Folhas	Infecção, Limpar menstruação, dor nos rins, limpar o sangue.
Erva doce	08	Chá/decoção	Sementes e folhas	Estresse, cólica de bebê, dores abdominais, prisão de ventre e cólica intestinal.

Tabela 1. Relação das onze plantas medicinais mais citadas e utilizadas, forma de preparo, parte da planta usada e indicações pelos familiares dos alunos da Escola Estadual Jayme Veríssimo de Campos Junior, Alta Floresta, MT, Brasil.

No modo de preparo das plantas medicinais prevaleceu a forma de chá por decoção e infusão, sendo a decoção mais utilizada. Segundo Castellano (1981), a forma indicada para o preparo das folhas é o infuso, verifica-se então, que os chás estão sendo preparados, em sua maioria, de forma incorreta pelos familiares dos alunos do JVC, levando provavelmente à modificação ou perda de princípios ativos das folhas por ação do calor.

Neste estudo observou-se que o conhecimento sobre as plantas medicinais é transmitido através dos familiares (avós, pais), assim os resultados se assimilam com os encontrados por Barros (2011). Conforme Brasileiro et al., (2008), o consumo de plantas medicinais tem base na tradição familiar, onde ocorre a comunicação oral como o principal meio de transmissão destes conhecimentos entre os membros da família, sendo contínuo quanto aos seus hábitos e cuidados que tem com a própria saúde.

Dos 102 entrevistados, 84% só utilizam as plantas medicinais quando sentem

algo; 6% não disse nada e/ou deixou em branco; 4% usam as plantas diariamente e 3% usam as plantas até três vezes na semana.

As formas de obtenção das plantas são através do cultivo em seu próprio quintal, feiras e em casas de parentes (49%), o que também foi observado no trabalho de Bernardes et al. (2011); em casa de amigos e vizinhos (16%). Além do conhecimento e da relação social de troca, algumas pessoas adquirem também em mercados e hortas (13%).

Quanto ao desenvolvimento de atividades práticas sobre viabilidade polínica e índice meiótico com a planta medicinal algodoeiro (Figuras 01 e 02), os alunos da escola JVC puderam observar e diferenciar grãos de pólen (gameta masculino), viáveis e inviáveis (Figura 03) e a formação dos pólen (Figura 04). Este modelo didático pode auxiliar o professor a estabelecer vínculos entre a abordagem teórica e sua prática docente, buscando a participação ativa e interativa do aluno como já descrito por Brasil (2000). Para Cavalcante e Silva (2008), os modelos didáticos permitem a experimentação, o que, por sua vez, conduzem os estudantes a relacionar conceitos teóricos com a prática. Isto lhes propiciará condições para a compreensão de teorias, do desenvolvimento de habilidades, competências e atitudes, contribuindo, também, para reflexões sobre o mundo em que vivem.



Figura 1. Atividades com os alunos da Escola Estadual Jayme Veríssimo de Campos Junior para confecção de Lâminas e observações de pólen e do Índice Meiótico das plantas medicinais, no laboratório Didático I da Universidade do Estado de Mato grosso.



Figura 2. Atividades com os alunos da escola da Escola Estadual Jayme Veríssimo de Campos Junior para confecção de Lâminas e observações de pólenes e do Índice Meiótico das plantas medicinais, no laboratório da própria escola.

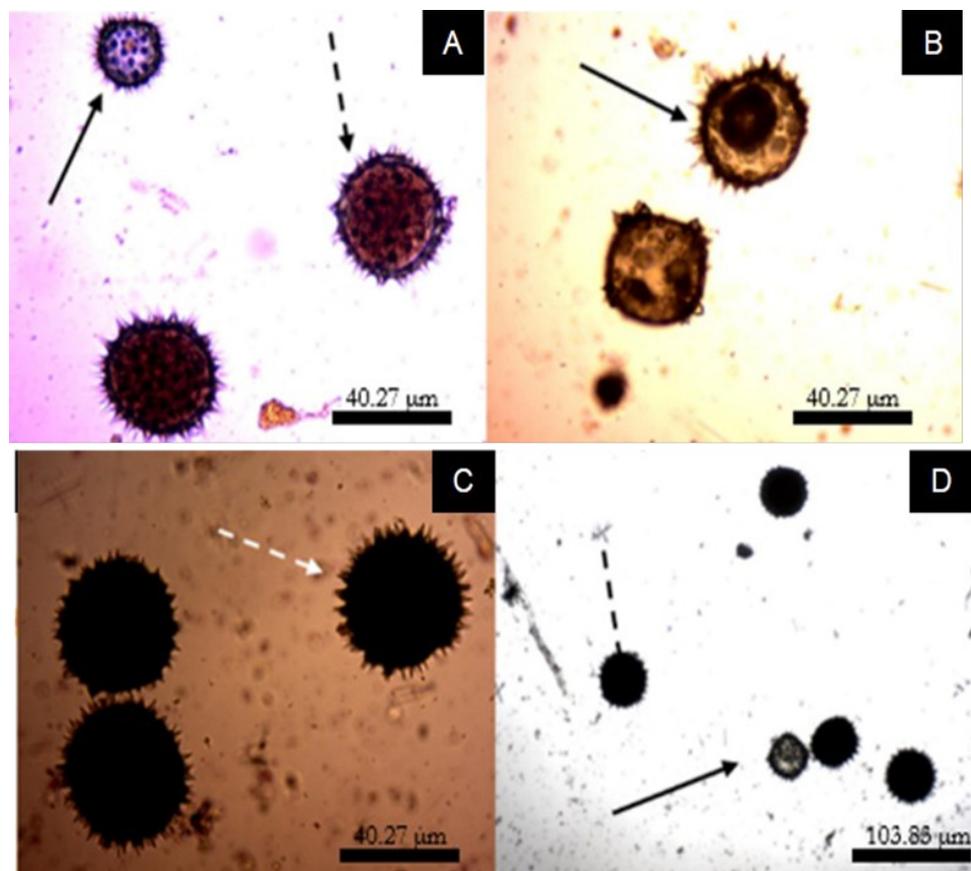


Figura 3. Grãos de pólen viáveis e inviáveis da planta medicinal algodoeiro. Seta contínua: pólenes inviáveis; seta descontinua: pólenes viáveis A: reativo de Alexander; B e C: carmim acético; D: lugol.

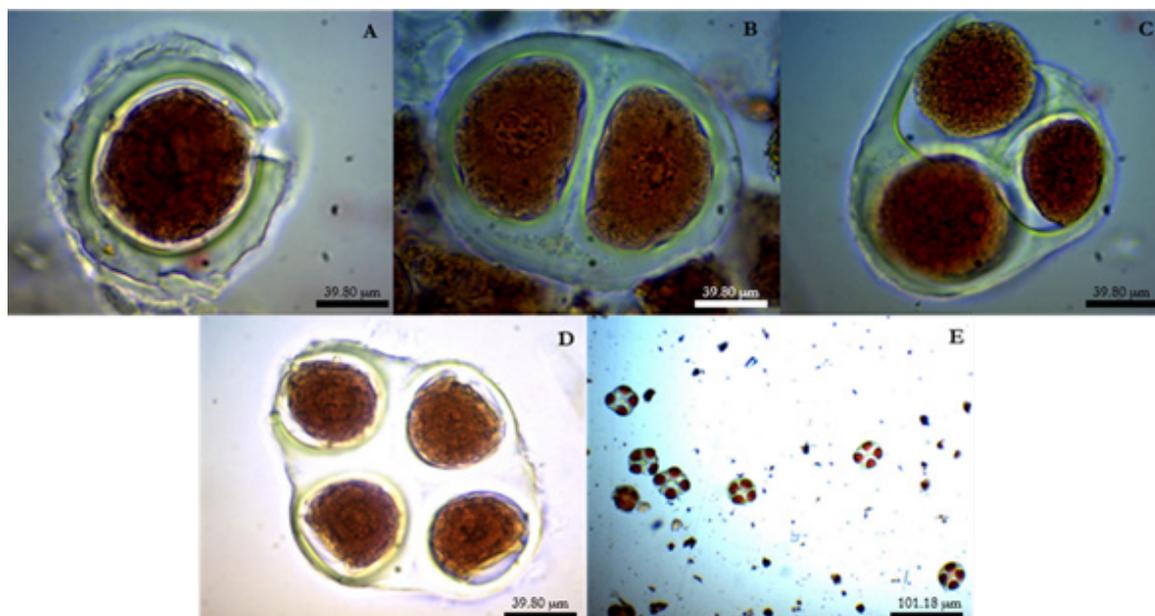


Figura 4. Células em pós-meiose de indivíduos de algodoeiro. A: mônode; B: Díade; C: Tríade; D: Tétrade e E: Campo com um conjunto de tétrades.

Durante as práticas realizadas, observou-se a participação e motivação dos alunos. Os resultados de satisfação dos alunos indicam que a inclusão de atividades práticas a partir de conhecimentos populares é capaz de despertar curiosidade e o interesse no processo de ensino aprendizagem. Corroborando com nossos resultados, os estudos baseados no uso de alternativas pedagógicas, como jogos de cartas (FARIAS et al., 2015), gibis (CARLAN et al., 2013), e dobraduras (CONDE et al., 2013) também mostraram a eficiência de metodologia diversificadas na promoção do interesse dos alunos de forma que desenvolvam o raciocínio, imaginação, memória e a curiosidade.

Torna-se evidente que é necessário rever constantemente a prática pedagógica, orientando com vistas a superar a reprodução e valorizar a produção crítica e criativa do saber. Essa preocupação com a prática pedagógica passa primeiramente pela análise da relação professor e aluno, pois ambos são coautores do processo ensino-aprendizagem. Esta prática pedagógica pode ser encontrada em nossa realidade escolar, um professor assim observa: “aproveitar a bagagem cultural que o aluno traz de sua realidade para a escola, como por exemplo o conhecimento sobre as plantas medicinais”.

Estas colocações que dinamizam o espaço escolar é também uma preocupação de Paulo Freire (1996), quando observa que tanto professores como alunos, assumindo-se como sujeitos da produção do saber, convençam-se definitivamente de que ensinar não é transferir conhecimento, mas criar as possibilidades para a produção ou construção social do aluno.

4 | CONCLUSÃO

O levantamento sobre o a utilização das plantas medicinais utilizadas pela comunidade escolar (pais, alunos e professores) possibilitou o conhecimento sobre os tipos de plantas cultivadas e consumidas por estes atores, passando a cada geração a importância da sua utilização. O resgate sobre esse conhecimento no ambiente escolar permite que professores e alunos e, também, a universidade utilize como processo de ensino-aprendizagem os conhecimentos populares. Portanto, o desenvolvimento desta atividade propiciou aos professores da rede de ensino desenvolver atividades em conjunto com a UNEMAT e aos alunos a oportunidade de uma vivência e aprendizados em outros ambientes e ao desenvolvimento científico.

5 | AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso e a PROEC/UNEMAT por concessão de bolsas de IC e ao projeto: Plantas Medicinais: construindo saberes e estabelecendo um elo entre o ensino e a aprendizagem.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, N. F. L.; SILVA, S. R. S.; SOUZA, J. M.; QUEIROZ, A. P. N.; MIRANDA, G. S.; OLIVEIRA, H. B. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de Viçosa – MG. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 4, p. 316-320, 2009.

ALVES, E. O.; MOTA, J. H.; SOARES, T. S.; VIEIRA, M. C.; SILVA, C. B. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de Dourados-MS. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 651-658, 2008.

BARROS, A. T. Implantação de uma horta medicinal como estratégia de educação ambiental em uma escola pública de Patos-PB, Brasil. **Revista Biofarm**, v. 5, n. 2, p. 73-82, 2011.

BERNARDES, C. A. C. G.; SILVA, F. A.; MOLEIRO, F. C. Uso de plantas medicinais pelos moradores do bairro Cohab Tarumã, Tangará da Serra, MT para o tratamento da alergia ou de seus sintomas. **Revista Biofarm**, v. 6, n. 2, 2011.

BRASILEIRO, B. G.; PIZZILO, V. R.; MATOS, D. S.; GERMANO, A. M.; JAMAL, C. M. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no “Programa de Saúde da Família”, Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 629-636, 2008.

BRASIL. Secretaria de Educação Fundamental. **Parâmetros curriculares nacionais: introdução aos parâmetros curriculares nacionais** (Vol. 1). Brasília, 2000. 150p.

BUENO, J. G. S. Função social da escola e organização do trabalho pedagógico. **Educar**, v. 17, n. 17, p. 101-110, 2001.

CAVALCANTE, D. D.; SILVA, A. D. Modelos didáticos de professores: concepções de ensino-aprendizagem e experimentação. In: Encontro Nacional de Ensino de Química, 14. 2008, Curitiba. **Anais [...]**. Curitiba: UFMG, 2008.

- CARLAN, F. A.; SEPEL, L. M. N.; LORETO, E. L. S. Explorando diferentes recursos didáticos no ensino fundamental: uma proposta para o ensino de célula. **Acta Scientiae**, v. 15, n. 2, p. 338-353, 2013.
- CASTELLANO, O. **Introdução à fitoterapia**. São Paulo: EPUSP, 1981.
- CONDE, T. T.; MENDES, L. L.; BAY, M. Utilização de metodologias alternativas na formação dos professores de biologia no IFRO – Campus Ariquemes. **Revista Labirinto**, v. 13, n. 18, p. 139-147, 2013.
- FARIAS, L. F.; SILVEIRA, G. F.; ARRUDA, V. M. O jogo do ciclo celular – uma alternativa para o ensino de biologia. **Revista Amazônica de Ensino de Ciências**, v. 8, n. 16, p. 27-35, 2015.
- FREIRE, P. **Pedagogia da autonomia – Saberes necessários à prática educativa**. São Paulo: Paz e Terra, 1996 (Coleção Leitura).
- MARTIN, G. J. **Ethnobotany - A methods manual**. London: Ed. Chapman & Hall, 1995.
- MARINHO, M. G. V.; SILVA, C. C.; ANDRADE, L. H. C. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 170-182, 2011.
- OLIVEIRA, P. S.; COUTINHO, K. R. Conhecimento popular sobre plantas medicinais: tema gerador na educação de jovens e adultos. **ETIC-ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA-ISSN**, v. 2, n. 2, 2006.
- SANTOS, M. G.; DIAS, Â. G. P.; MARTINS, M. M. Conhecimento e uso da medicina alternativa entre alunos e professores de primeiro grau. **Revista de Saúde Pública**, v. 29, n. 3, p. 221-227, 1995.
- SILVA, M. D.; DREVECK, S.; ZENI, A. L. B. Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela população rural no entorno do Parque Nacional da Serra do Itajaí - Indaial. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 10, n. 2, p. 54-64, 2009

BIOÉTICA E O DIREITO À SAÚDE DA CRIANÇA INTERSEXUAL

Andrea Santana Leone Souza

Universidade Federal do Oeste da Bahia
(Barreiras - Bahia)

Isabel Maria Sampaio Oliveira Lima

Universidade Católica do Salvador (Salvador-
Bahia)

Ana Karina Figueira Canguçu-Campinho

Universidade Federal da Bahia (Salvador- Bahia)

Mônica Neves Aguiar da Silva

Universidade Federal da Bahia (Salvador- Bahia)

RESUMO: Este trabalho visa discutir o papel da Bioética Latino-Americana na garantia do direito à saúde da criança intersexual. Intersexo se refere a uma condição de nascença em os que os órgãos sexuais e/ou reprodutivos não correspondem às corporeidades esperadas socialmente para o sexo masculino ou feminino (Canguçu- Campinho, 2012). Ocorre de 1 em cada 4.500 nascimentos (Vilar, 2009). Quando uma criança nasce nesta condição, demanda análise diferenciada do padrão identitário classificatório do sexo masculino-feminino, perpassando pelas concepções sobre gênero, corpo e sexualidade. O estigma em relação às crianças intersexuais é um assunto complexo. O tratamento médico pode vir a se prolongar, em algumas circunstâncias, durante a existência da pessoa, com a necessidade de realização de exames, da utilização de medicamentos

e, em alguns casos, realização de cirurgias. Considerando a complexidade que a condição intersexual da criança envolve, tanto pela natureza interdisciplinar, quanto pela demanda de proteção da saúde, interessa discutir como este fenômeno da intersexualidade da criança é apreciado na perspectiva de dois pilares teóricos: o direito à saúde e a Bioética. O trabalho adota uma abordagem metodológica de caráter qualitativo mediante uma revisão de literatura sobre o estatuto epistemológico da Bioética Latino-Americana, tendo como base os princípios estruturadores do Direito da Criança à Saúde. Os resultados evidenciam que, embora se considere a vulnerabilidade como uma condição a convergir orientações teóricas, seja na abordagem da Bioética da Proteção, seja naquela da Bioética da Intervenção, o status moral da criança intersexual demanda medidas concretas para assegurar o seu direito à saúde.

PALAVRAS-CHAVE: Direito à saúde; Intersexo; Criança; Bioética.

ABSTRACT: This study aims to discuss the role of Latin American Bioethics in ensuring the intersex child's right to health. Intersex refers to a birth condition where the sexual and/or reproductive organs do not meet the social expectations of male/female bodies (Canguçu-Campinho, 2012). This occurs in one of every 4,500 births (Vilar, 2009). When a child is born

in this condition, a special analysis is required that is different from the male/female classificatory identity standard, and that goes beyond gender, body and sexuality. The stigma associated with intersex children is a sensitive issue. Medical treatment can extend, in some circumstances, throughout a person's lifetime, requiring exams, medications and in some cases, surgery. Considering the complexity of the intersex child's condition, from its interdisciplinary nature to the child's need for health protection, it is important to discuss how this intersex child phenomenon is assessed from the perspective of two theoretical pillars: the right to health and bioethics. In this study, a qualitative methodology was used with a literature review on the Latin American Bioethics epistemological statute, based on the defining principles of Children's Right to Health. The results showed that despite the fact that vulnerability is a condition that requires the convergence of guiding theories, whether in the Bioethics of Protection approach, or that of the Bioethics of Intervention, the moral status of the intersex child demands concrete measures to ensure the child's right to health.

KEYWORDS: Right to health; intersex; child, bioethics

1 | INTRODUÇÃO

Intersexo se refere a uma condição de nascença em os que os órgãos sexuais e/ou reprodutivos não correspondem às corporeidades esperadas socialmente para o sexo masculino ou feminino (Canguçu-Campinho, 2012). Dessa forma, os indivíduos apresentam caracteres tanto masculinos quanto femininos. Ocorre em 1 (um) a cada 4.500 nascimentos, sendo fundamental para sua detecção precoce o cuidadoso exame dos genitais de todo recém-nascido (Damiani; Guerra-Júnior, 2007; Vilar, 2009).

De acordo com o relatório do Unicef (2013) sobre a situação mundial da criança, a população com menos de cinco anos de idade no Brasil perfaz um total de 14.662 crianças. Com base na proporção apontada por Vilar (2009), é evidente que há uma frequência considerável a demandar maior atenção para este grupo populacional.

O estigma em relação às pessoas com intersexo é um assunto complexo (Lima, Canguçu-Campinho, Souza, 2015). O tratamento médico pode vir a se prolongar, em algumas circunstâncias, durante a existência da pessoa, com a necessidade de realização de exames, da utilização de medicamentos e, em alguns casos, da realização de cirurgias corretivas (Guerra-Junior, Maciel-Guerra, 2007).

A pessoa com intersexo ainda tem que enfrentar o preconceito social e cultural perante a sua situação, assim como a ignorância e invisibilidade, que ainda pairam sobre o assunto no meio acadêmico e científico (Guerra-Junior, Maciel-Guerra, 2007).

Os pacientes em situação de intersexo, muitas vezes, não são bem informados sobre suas histórias médicas e cirúrgicas, o que dificulta o entendimento sobre a sua situação, destacando Migeon *et al.* (2002) que, para os pacientes com ambiguidade

externa, o impacto é tão grande que esta circunstância contribuiu para alguns relatos de suicídios.

Considerando a complexidade que a condição intersexual da criança envolve, tanto pela natureza interdisciplinar, quanto pela demanda de proteção da saúde, interessa discutir como este fenômeno da intersexualidade da criança é apreciado na perspectiva de dois pilares teóricos: o direito à saúde e a Bioética.

2 | METODOLOGIA

O método de abordagem selecionado é de natureza qualitativa, de forma que se busca o fortalecimento da compreensão sobre a temática eleita (Mynaio, 2006), cuja realização far-se-á por meio do método dialético e analítico, envolvendo a análise de textos e de obras correlatas para alcançar os objetivos pretendidos.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Bioética inicialmente preconizada por Potter (1970) como a “ciência da sobrevivência”, passou por constantes mudanças sociais e é considerada “um instrumento concreto a mais, para contribuir no complexo processo de discussão, aprimoramento e consolidação das democracias, da cidadania, dos direitos humanos e da justiça social” (Garrafa, 2005, p. 3).

Seguindo o mesmo sentido, Jorge José Ferrer e Juan Carlos Alvarez (2005, p. 77), incorporando este novo olhar para a bioética, destacam que:

Em alguns setores das ciências da saúde, como na enfermagem e na saúde pública, há uma forte resistência, com boas razões, ao enfoque excessivamente biológico que teve a assistência sanitária. Por isso, preferimos falar das ciências da vida e da saúde, para que fique claro que favorecemos uma compreensão bio-psico-social-espiritual da pessoa. A bioética aborda os problemas, atendendo a totalidade da pessoa e a totalidade das pessoas.

Assim, a bioética “se ocupa, sobretudo, da resolução dos problemas morais colocados pelas ciências e técnicas e busca uma reflexão cuidadosa sobre o ser humano, suas ações e seus valores” (Cela-Conde, 1999, p. 59, Baracho, 2004, Luna, 2008).

Diversos são os modelos teóricos que alicerçam os diferentes entendimentos sobre a bioética; dentre eles, destacaremos o princípalismo e a bioética Latino-Americana.

O princípalismo tem como objeto definidor para a resolução de problemas éticos e morais a utilização de princípios, os quais se consagram em quatro tipos na literatura bioética, a saber: autonomia, beneficência, não-maleficência e justiça (Araújo, 2004, Borges, 2012).

A bioética princípalista, corrente proposta por Beauchamp e Childress (2002, p.

1.196), analisa o princípio da autonomia a partir de três perspectivas: o da autonomia plena; o do julgamento substituto; e o dos melhores interesses (Aguiar, 2010, p. 399).

Entendendo a necessidade de analisar especificamente os problemas e as realidades vivenciadas pelos países menos desenvolvidos, surge a bioética latino-americana, tendo como marcos teóricos Fermin Roland Schramm (2005; 2008) e Miguel Kottow (2005). No Brasil, a bioética latino-americana se desenvolveu a partir de duas principais abordagens: a Bioética da Proteção e a Bioética da Intervenção “ambas como vertentes complementares que priorizam os interesses dos mais desamparados e argumentam a favor da defesa de ações afirmativas em prol dos indivíduos vulnerados” (Costa, 2015, p. 15).

A bioética da proteção, como destaca Schramm (2008, p. 11), refere-se “aos problemas morais envolvidos pela vulneração humana, ou seja, a condição existencial dos humanos que não estão submetidos somente a riscos de vulneração, mas a danos e carências concretas, constatáveis por qualquer observador racional e imparcial”. Para o referido autor, proteger é “dar o suporte necessário para que o próprio indivíduo potencialize suas capacidades e possa fazer suas escolhas de forma competente” (Schramm, 2008, p. 11), assim, questiona-se o constante paternalismo que, sob a justificativa da proteção, passa a impor às pessoas o que é melhor para elas, não lhes facultando o empoderamento, pois as torna eternas dependentes da vontade do outro.

Destaca Schramm (2005, p. 61) que essa corrente não deve ser entendida sob a perspectiva do assistencialismo, como fora por muitos anos, mas sim “como uma maneira de garantir os interesses do indivíduo particularmente vulnerável ou desamparado, como podem ser crianças, recém-nascidos, gestantes e puérperas, até que se adquiram a competência autonomista ou a recuperem”.

Enquanto isso, a bioética da intervenção “almeja a diminuição das diversas iniquidades existentes na sociedade por meio de praticas interventivas duras, conforme a própria denominação original” (CRUZ; TRINDADE, 2006, p. 495), assim esta corrente entende que se faz necessário intervir no contexto para empoderar o sujeito.

Ressalta Kottow (2005, p. 163) que para proteção dos valores humanos e para evitar danos irreversíveis é necessário o comprometimento com o apoio para o desenvolvimento e maturidade dos vulneráveis para possibilitar decisões conscientes.

A vulnerabilidade, palavra que perpassa todas as correntes da bioética é entendida por Maria do Céu Padrão Neves (2007) como característica, pois todos nós somos vulneráveis, condição, a partir de uma análise pontual de vulnerabilidade, e princípio, como um valor norteador do ordenamento que deverá ser perseguido.

Destacam Aran e Peixoto (2007) que existem situações vivenciadas que acentuam a vulnerabilidade, gerando a vulneração. Vulneração é detectada a partir de “circunstâncias sociais que aumentam a vulnerabilidade em decorrência de processos sociais que discriminam e estigmatizam grupos, segmentos ou

populações” (Siqueira, Porto, Fortes, 2007, p. 167).

Nesse sentido, determina a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, a qual estabelece as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres humanos, que “a vulnerabilidade refere-se a estado de pessoas ou grupos, que por quaisquer razões ou motivos, tenham a sua capacidade de autodeterminação reduzida, sobretudo no que se refere ao consentimento livre e esclarecido” (Brasil, 2012).

Assevera ainda Junges (2007, p. 111-112) que “ter consideração por quem é vulnerável significa assegurar a proteção da vida que vai além da proteção da integridade moral, da dignidade humana e da autonomia”. Essa discussão é vivenciada pelos médicos e pelos familiares de crianças em situação de intersexo, principalmente daquelas que nascem com ambiguidade genitália e por um entendimento biomédico-cultural realizam a cirurgia de definição de sexo biológico.

A intersexualidade requer uma reflexão interdisciplinar, para a sua melhor compreensão, pois além de ser um fato biológico, perpassa “pelas concepções sobre o corpo, gênero e sexualidade” (Costa, 2012, p. 12), que integra as preocupações da bioética latino-americana que está cada vez mais comprometida com as questões éticas que persistem na realidade dos países menos desenvolvidos (Garrafa, 2005).

A Resolução 1664/2002, emitida pelo Conselho Federal de Medicina (CFM, 2002), trata do intersexo e propõe, entre outras medidas, que a criança com intersexo seja considerada caso de urgência médica e social, cujo tratamento deve ser buscado em tempo hábil, de forma a garantir a Dignidade da Pessoa Humana, princípio basilar dos Direitos Humanos.

A referida resolução, consoante art. 2º ao 4º, determinou ainda que, diante do nascimento de uma criança em situação de intersexo, deve ser assegurado ao paciente uma investigação precoce para que seja possível em tempo hábil realizar o tratamento e definir o gênero.

Essa resolução, em seu artigo 4º, determina que, para a definição final do sexo, faz-se obrigatória a existência de uma equipe multidisciplinar. Nesse sentido, aponta Machado (2005, p. 4-5) que a definição do sexo é tomada a partir do entrelaçamento dos dados apontados pela equipe multidisciplinar e pela família, destacando que:

[...] no que se refere à cirurgia, a principal preocupação é com o resultado ‘estético’ ou ‘cosmético’ dos genitais construídos. As técnicas cirúrgicas são empregadas no sentido de tornar a genitália da criança ‘o mais próximo possível do normal’, de acordo com determinados padrões de tamanho, forma, ‘terminação do trajeto urinário’ (mais na ponta do pênis para os meninos; mais abaixo nas meninas) e uso (construir vaginas ‘penetráveis’ e pênis ‘que penetrem’).

A referida Resolução propõe que, por não existir estudos a longo prazo “sobre as repercussões individuais, sociais, legais, afetivas e até mesmo sexuais de uma pessoa que enquanto não se definiu sexualmente viveu anos sem um sexo estabelecido” (BRASIL, 2013), a partir de um estudo multidisciplinar é devida a cirurgia de definição do sexo. Nesse sentido, Silva et al. (2011, p. 81) para quem “a definição adequada

do sexo da criança deve ser realizada o mais precocemente possível pois essa identidade pode reduzir a ansiedade e a angústia dos pais”, entende a necessidade da intervenção em tenra idade.

Esta posição, no entanto, é confrontada pelo *Intersex Society of North America* (ISNA), cuja missão é impedir a “correção” da genitália na criança, por entender ser uma atitude precoce. Afirmando que a justificativa de que, para os pais, seria uma situação mais confortável, demonstra-se fragilizada, uma vez que a angústia, o sentimento evidenciado pelos pais de crianças com intersexo se mantém de qualquer forma.

Nesse sentido, Machado (2009, p. 37) observa que “os medos dos pais e as dúvidas que não deixaram de existir mesmo após os procedimentos denunciam a fragilidade das intervenções enquanto garantia de solução para os jovens intersex e para essas famílias”.

Nesse sentido, o 3º Fórum Internacional Intersex¹ apontou como demanda por fim às práticas de normalização, tais como cirurgias genitais e outros tratamentos médicos, garantido às pessoas intersexuais o poder para tomar as decisões que afetam a própria integridade física, autonomia e autodeterminação (BEH; DIAMOND, 2005). Entende Guimarães Júnior (2014, p. 9) que “à luz da bioética laica², não são justificáveis as intervenções médico-cirúrgicas em genitálias ambíguas de crianças diagnosticadas como intersexo quando não houver risco de vida”.

Para Canguçu-Campinho *et al.* (2009, p. 1.146), a intersexualidade é tratada, basicamente, pela lógica biomédica e atenta para o fato de que “as práticas ainda estão direcionadas para a doença e não para a saúde. As diferenças orgânicas ou relativas à peculiaridade dessa experiência são quase sempre ressaltadas como limitações e quase nunca como potencialidades”.

O direito à saúde referido pela a autora em diálogo com o posicionamento de Lima (2002) representa muito mais do que o acesso aos serviços de saúde, mas uma concepção integralizada da saúde composta por elementos de natureza objetiva e de natureza subjetiva. Entre os primeiros estão alimentação, vacinação, acesso ao serviço pré-natal, resolutividade dos tratamento. Dentre os de natureza subjetiva encontram-se, entre outros, uma dinâmica familiar acolhedora, saúde mental, direitos da personalidade.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados evidenciam que, embora se considere a vulnerabilidade como uma condição a convergir orientações teóricas, seja na abordagem da Bioética

1 Recuperado de: <http://www.ilga-europe.org/home/news/latest/intersex_forum_2013. > O 3º Fórum Internacional Intersex ocorreu entre 29 de novembro e 1 de dezembro de 2012, em Valleta, Malta.

2 O autor utiliza a expressão bioética laica para fazer referência àquela bioética não religiosa, que investiga a partir de pilares racionais.

da Proteção, seja naquela da Bioética da Intervenção, o *status* moral da criança intersexual demanda medidas concretas para assegurar o seu direito à saúde.

REFERÊNCIAS

Aguiar, M. (2010). **Respeito à autonomia do direito civil à bioética**. In: Didier Jr., F., Ehrhardt Jr., M. *Revisitando a teoria do fato jurídico*. Homenagem à Marcos Bernardes de Mello. São Paulo: Saraiva.

Aran, M., Peixoto Jr., C.A. (2007). **Vulnerabilidade e vida nua: bioética e biopolítica na atualidade**. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v.41, n. 5, p. 849-857. Recuperado em 10 julho, 2014, de http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S00349102007000500020&script=sci_abstract&lng=pt

Araújo, A. F. M. (2004). **Fundamentos de antropologia bioética**. São Paulo: Annablume.

Baracho, J.A.O. (2004). **Vida Humana e Ciência: complexidade do estatuto epistemológico da Bioética e do Biodireito**. Normas internacionais da Bioética. In LEITE, E.O. (Coord.). **Grandes Temas da atualidade: bioética e biodireito**. Rio de Janeiro: Forense.

Beauchamp, T. L., Childress, J. F. (2002). **Princípios de ética biomédica**. Trad. Luciana Pudenzi. São Paulo: Loyola.

Beh, H. G., Diamond, M. (2005). **David Reimer's legacy: limiting parental discretion**. *Cardozo Journal of Law & Gender*, v. 12, p.5-30.

Borges, R. C. B. (2012). **Conexões entre direitos de personalidade e bioética**. In: Gozzo, D., Ligeira, W.R. (Orgs.). *Bioética e direitos fundamentais*. São Paulo: Saraiva.

Brasil. (2012). Ministério da Saúde Conselho Nacional de Saúde. Resolução N°196/96 versão 2012. Comissão Nacional De Ética em Pesquisa. Recuperado em 20 dezembro, 2015, de http://conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/aquivos/resolucoes/23_out-versao_final_196_ENCEP2012.pdf.

Canguçu-Campinho, A. K. **A Construção Dialógica da Identidade em Pessoas Intersexuais: O X e o Y da questão**. 2012. Tese (Doutorado em Saúde Pública). Instituto de Saúde Coletiva. Universidade Federal da Bahia, Salvador

_____, Bastos, A. C. S. B., Lima, I. M. S. O. (2009). **O discurso biomédico e o da construção social na pesquisa sobre intersexualidade**. *Physis*, v. 19, n. 4. Rio de Janeiro.

_____, Lima, I. M. S. O. (2014). **Dignidade da Criança em situação de intersexo: orientação para família**. Salvador: UFBA/UCSAL.

Cela-Conde, C. J. Ética (1999). Diversidade e universalismo a herança de Darwin. In: **Changeux, J.P. Uma ética para quantos?** Trad. Maria Dolores Prades Vianna, Waldo Mermelstein. Bauru, SP: EDUSC.

Costa, L. S. (2012). **A invisibilidade da intersexualidade na saúde pública: reflexões a partir da inserção do psicólogo na saúde**. *Monografia (Graduação)*. UniCEUB – Centro Universitário de Brasília. Faculdade de Ciências da Educação e Saúde. Orientadora: Prof^a. Dr^a. Tatiana Lionço.

Costa, J.H.R. (2015). **A internação compulsória no âmbito das cracolândias: implicações bioéticas acerca da autonomia do dependente químico**. *Dissertação (Mestrado)*. Programa de Pós-Graduação em Direito – Universidade Federal da Bahia. Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mônica Neves Aguiar da Silva.

Cruz, M.R., Trindade, E.S. (2006). **Bioética de intervenção** – uma proposta epistemológica e uma necessidade para sociedade com grupos vulneráveis. *Revista Brasileira de Bioética*. v.2, n. 4.

Damiani, D., Guerra-Junior, G. (2007). **As novas definições e classificações dos estados intersexuais: o que o Consenso de Chicago contribui para o estado da arte?** *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, São Paulo, ago. v. 51, n. 6. Recuperado em 11 fevereiro, 2015, de http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27302007000600018&script=sci_arttext.

Garrafa, V. (2005). **De uma bioética de princípios a uma bioética interventiva**. *Revista Bioética*, Brasília, abr., v. 13, n. 1, p. 125-134.

Guerra-Junior, G., Maciel-Guerra, A.T. (2007). **O pediatra frente a uma criança com ambiguidade genital**. *Jornal de Pediatria*, Porto Alegre, nov., v. 83, n. 5. Recuperado em 11 dezembro, 2015, de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572007000700010.

Guimarães-Junior, Á. R. (2014). **Identidade cirúrgica: o melhor interesse da criança intersexo portadora de genitália ambígua**. Uma perspectiva bioética. 2014. *Tese (Doutorado)*. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca. Rio de Janeiro.

Intersex. (2007) Public Statement by the Third International Intersex Forum. Recuperado em 13 dezembro, 2015, de <http://www.isna.org>.

Junges, J.R. (2007). Vulnerabilidade e Saúde: limites e potencialidades das políticas públicas. In: Barchifontaine, C.P.; Zoboli, E. (Orgs.) **Bioética, vulnerabilidade e saúde**. São Paulo: Centro Universitário São Camilo.

Kottow, M. (2005). **Bioetica en Salud Publica**. Santiago, Chile: Editorial Puerto de Palos.

Lima, I.M.S.O. (2002). **Direito à saúde: garantia de um direito humano para crianças e adolescentes**. 2002. 371 f. *Tese (Doutorado em Saúde Coletiva)* - Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

Lima, I.M.S.O.; Campinho, A.K.C; Guimarães, J; Souza, A L. (2015). Intersexuality and Discrimination: Silences as family, In: Ebook. **Sexuality, Oppression and Human Rights**. Inter-Disciplinary Press, Priory House, 149B Wroslyn Road, Freeland, Oxfordshire. OX29 8HR, United Kingdom. P. 101-112.

Luna, F. (2008). **Nuevas dimensiones para La bioética: antropología filosófica y bioética**. *Revista de bioética y derecho*. Set., n. 14, p. 10-17. Recuperado em 3 agosto, 2014, de <http://www.bioeticayderecho.ub.es>.

Machado, P.S. (2005). **“Quimeras” da ciência: a perspectiva de profissionais da saúde em casos de intersexo**. *Rev. bras. Ci. Soc.* São Paulo, out., v. 20, n. 59. Recuperado em 20 outubro, 2014, de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-69092005000300005&lng=pt&nrm=iso.

_____. (2009). No fio da navalha: reflexões em torno da interface entre intersexualidade, (bio)ética e direitos humanos. In: GROSSI, M. P.; Heilborn, M. L. Machado, L. Z. (Org). **Antropologia e direitos humanos** 4. ABA, Nova Letra: Gráfica & Ed. Florianópolis, p.15-56.

Migeon, C. J., Wisniewski, A. B.; Brown, T. R., Rock, J. A., Meuer-Bahlburg, H.F.L, Money, J., Berkovitz, G. D. 46, XY (2002). **Intersex Individuals: Phenotypic and Etiologic Classification, Knowledge of Condition, and Satisfaction with Knowledge in Adulthood Pediatrics**. *Official Journal of the American Academy of Pediatrics*, v.110, n. 3.

Minayo, M.C.S. (2006). **O desafio do conhecimento: pesquisa qualitativa em saúde**. 9. ed. São Paulo: Hucitec.

Neves, M.C.P. (2007). Sentidos da Vulnerabilidade: característica, condição, princípio. In: Barchifontaine, C.P.; Zoboli, E.(Orgs.) **Bioética, vulnerabilidade e saúde**. São Paulo: Centro Universitário São Camilo.

Nabuco, M. E. (2000). A avaliação como processo central da intencionalidade educativa. **Da investigação às práticas: estudos de natureza educacional, Escola Superior de Educação de Lisboa**. 1(1), mar., 81-90.

Portugal, G., & Laevers, F. (2010). **Avaliação em Educação Pré-Escolar. Sistema de Acompanhamento das crianças**. Porto: Porto Editora.

Potter, V.R. (1970). **Bioethics, the Science of Survival**. *Perspectives Biol Med.*, v.14, n. 1, p. 127-53.

Schramm, F. R. (2005). Cuidados em Saúde da Mulher e da Criança, proteção e autonomia. In: Schramm, F.R.; Braz, M. **Bioética e Saúde: Novos tempos para Mulheres e crianças?** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz.

_____. (2008). **Bioética da Proteção: ferramenta válida para enfrentar problemas morais na era da globalização**. *Revista bioética*. v.16, n. 1, p. 11-23.

Siqueira, J.E., Porto, D., Fortes, P.A.C. (2007). Linhas temáticas da Bioética no Brasil. In: Anjos, M.F.; Siqueira, J.E. (Orgs.). **Bioética no Brasil: tendências e perspectivas**. *Sociedade Brasileira de Bioética*. São Paulo: Ideias e Letras.

Unicef. (2013). *United Nations Children's Fund*. Situação Mundial da Infância 2013. Crianças com Deficiência. Maio, Recuperado em 20 novembro, 2014, de http://www.unicef.org/brazil/pt/PT_SOWC2013.pdf.

Vilar, L. (2009) **Endocrinologia clínica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan e editores associados Claudio Elias Kater et al.

O QUE OS MÉDICOS OBSTETRAS E PEDIATRAS SABEM SOBRE O TESTE DO PEZINHO?

Alessandra Bernadete Trovó de Marqui

Universidade Federal do Triângulo Mineiro,
Instituto de Ciências Biológicas e Naturais,
Departamento de Patologia, Genética e Evolução
Uberaba - MG

Vanessa de Aquino Gomes

Universidade Federal da Paraíba, Centro de
Ciências Médicas, Curso de Medicina
João Pessoa - PB

Natália Lima Moraes

Universidade Federal da Paraíba, Centro de
Ciências Médicas, Curso de Medicina
João Pessoa - PB

Cristina Wide Pissetti

Universidade Federal da Paraíba, Centro de
Ciências Médicas, Departamento de Obstetrícia e
Ginecologia
João Pessoa - PB

RESUMO: O teste do pezinho é fundamental para triar doenças que causam riscos ao recém-nascido. Assim sendo, é importante investigar o conhecimento dos pediatras, neonatologistas, ginecologistas e obstetras sobre o Teste do Pezinho e, indiretamente, obter-se um panorama de como a informação chega aos pacientes. Trata-se de um estudo descritivo, de caráter quantitativo, realizado com 41 médicos (12 pediatras, 13 ginecologistas/obstetras e 16 neonatologistas) do Hospital Universitário

Lauro Wanderley, João Pessoa, Paraíba. A coleta de dados foi realizada de agosto a outubro de 2016 por meio de um questionário, com questões fechadas do tipo dicotômicas (sim e não) e outras de múltipla escolha, visando à caracterização dos participantes e questões específicas ao Teste do Pezinho. Os dados obtidos foram organizados em planilha Microsoft Excel® e analisados por estatística descritiva. Houve predomínio do sexo feminino (83%), estado civil casado (75,6%), conclusão da graduação em universidades federais ou estaduais do país (95,1%) e graduação na Universidade Federal da Paraíba (78%). Quanto ao conhecimento sobre o Teste do Pezinho, os principais resultados foram: confusão quanto à etiologia das doenças triadas, local para coleta do exame e sua realização e momento para orientação sobre o teste; atribuição da orientação sobre o exame ao pediatra; conhecimento insatisfatório sobre as doenças triadas. Portanto, o conhecimento dos médicos pesquisados foi parcialmente satisfatório. Esse achado mostra a necessidade urgente de ações contínuas de reciclagem a essas especialidades médicas, visando garantir uma assistência de qualidade a mãe e seu filho.

PALAVRAS-CHAVE: Triagem neonatal. Recém-nascido. Pediatria. Neonatologia. Obstetrícia.

WHAT DO OBSTETRIC AND PEDIATRICS PHYSICIANS KNOW ABOUT THE GUTHRIE TEST?

ABSTRACT: Newborn screening is critical to search for diseases that cause risks to the newborn. This study aimed to investigate the physicians' knowledge about newborn screening and, indirectly, to obtain an overview of how information reaches patients. A quantitative descriptive study was carried out with 41 physicians (12 pediatricians, 13 gynecologists/obstetricians and 16 neonatologists) of the Lauro Wanderley University Hospital, João Pessoa, Paraíba. Data collection was performed from August to October 2016 through a questionnaire, with closed questions of the dichotomous type (yes and no) and others of multiple choice, to characterize the participants and specific questions to the Guthrie test. The data were organized in a Microsoft Excel® worksheet and analyzed by descriptive statistics. The sample presented 83% of female, 75.6% of married civil status, 95.1% graduation from federal or state universities in the country and graduation from Universidade Federal da Paraíba (78%) predominated. About newborn screening knowledge, the main results were: confusion regarding the etiology of the diseases triad, place for the collection of the exam and its accomplishment and moment for orientation on the test; assignment of guidance on examination to the pediatrician; unsatisfactory knowledge about triad diseases. Therefore, the knowledge of the physicians surveyed was partially satisfactory. This finding shows the urgent need for continuous actions of recycling to these medical specialties, aiming to guarantee a quality assistance to the mother and her offspring.

KEYWORDS: Neonatal Screening. Infant Newborn. Pediatrics. Neonatology. Obstetrics.

1 | INTRODUÇÃO

Segundo o Ministério da Saúde (MS), o Teste do Pezinho (TP) é um dos exames inclusos na Triagem Neonatal (TN) e corresponde a um conjunto de ações preventivas, responsável por identificar precocemente indivíduos com doenças metabólicas e assim interferir no seu curso, permitindo o tratamento específico e a redução ou eliminação das sequelas associadas a cada doença (BRASIL, 2016; MAK et al., 2013). Para ser incluída na triagem, uma doença deve preencher os seguintes critérios mínimos: ser identificada em uma fase na qual não pode ser detectada clinicamente, existir um teste com sensibilidade e especificidade adequadas, existir benefícios na detecção precoce, intervenção oportuna e tratamento eficaz (ACMG, 2005). Esse rastreamento neonatal de doenças metabólicas, a maioria de etiologia genética, foi implantado pelo MS com a criação do Programa Nacional de Triagem Neonatal/PNTN em 2001, com rastreamento de quatro doenças (BRASIL, 2001). Em 2012, houve inclusão de outras patologias no rastreamento neonatal e a expansão para quatro fases, totalizando a triagem para seis doenças (BRASIL, 2012).

Assim, a TN é um sistema coordenado e inclusivo que consiste em educação,

triagem, busca ativa, diagnóstico, tratamento, seguimento e avaliação periódica do programa. Médicos e demais componentes públicos e privados do programa devem estar em estreita comunicação para garantir os testes confirmatórios, o seguimento apropriado e cuidados dos recém-nascidos (RNs) afetados (ACMG, 2005). Apesar de serem conhecidas as obrigações dos profissionais de saúde perante a realização do TP, pouco se sabe sobre o seu conhecimento a respeito desse tema. Os poucos estudos publicados foram conduzidos majoritariamente com profissionais de enfermagem (BENINCASA et al., 2009; ACOSTA, STREFLING, GOMES, 2013; STREFLING et al., 2014; MESQUITA et al., 2017). Um estudo recente discutiu o papel da Enfermagem no TP e mostrou fragilidades na atuação desses profissionais em TN e entendimento limitado das mães sobre o teste, que pode ser reflexo da atuação inadequada da Equipe de Enfermagem na Educação em Saúde (TROVÓ DE MARQUI, 2016a). Outra pesquisa avaliou o conhecimento dos profissionais das Unidades Básicas de Saúde (UBSs) sobre esse tema e incluiu 114 enfermeiros e técnicos de enfermagem, mas apenas oito médicos (MESQUITA et al., 2017). Assim, não existem relatos sobre o conhecimento dos médicos sobre este exame, o que evidencia o ineditismo dessa pesquisa. Portanto, esse estudo visa preencher essa lacuna e tem por objetivo investigar o conhecimento dos médicos sobre o TP e, indiretamente, obter-se um panorama de como a informação chega aos pacientes. Espera-se que tais profissionais estejam aptos a transmitir a informação de forma correta.

Dentre as diversas especializações médicas, o presente estudo direcionou sua investigação aos médicos ginecologistas/obstetras e neonatologistas/pediatras, devido a sua participação efetiva no ciclo gravídico-puerperal, respectivamente. Portanto, espera-se que tais profissionais possuam um conhecimento sólido sobre a TN, visando à orientação aos pais e a promoção da saúde materno-infantil.

2 | MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo, de caráter quantitativo, realizado no Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW), um hospital de médio porte do município de João Pessoa, Paraíba, Brasil. A escolha do HULW é justificada pelo fácil acesso as especialidades médicas investigadas e, por ser um dos centros de coleta do exame no estado da Paraíba.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do HULW (CAAE Nº 56289616.9.0000.5183). Todos os participantes receberam explicações sobre a pesquisa, foram convidados a participarem da mesma e aqueles que concordaram assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e, responderam o questionário.

A coleta de dados foi realizada de agosto a outubro de 2016, nos períodos

diurno e noturno, por meio de um questionário semi-estruturado, contendo questões fechadas do tipo dicotômicas (sim e não) e outras de múltipla escolha. O questionário foi constituído por perguntas visando à caracterização dos participantes e outras específicas ao TP referentes à sua importância, finalidade, período para coleta e quais as doenças triadas. As opções de resposta quanto ao período para a coleta do TP eram: (A) nas primeiras 48 horas de vida; (B) do 8° ao 10° dia de vida; (C) após 30 dias de nascimento; (D) do 3° ao 7° dia de vida, (E) do 11° ao 30° dia de vida e (F) não sei. Quanto às doenças que podem ser detectadas pelo TP, as possibilidades de resposta eram fenilcetonúria (PKU), HIV/AIDS, diabetes, hiperplasia adrenal congênita (HAC), deficiência de biotinidase, síndrome de Down, anemia falciforme e outras hemoglobinopatias, hemofilia, hepatite, hipotireoidismo congênito (HC), fibrose cística (FC) e não sei, podendo ser marcada mais de uma opção. O instrumento de coleta de dados utilizado foi o mesmo empregado em pesquisa prévia, com pequenas alterações (RODRIGUES, HAAS, TROVÓ DE MARQUI, 2016). Os questionários foram entregues pessoalmente pelas pesquisadoras VAG e NLM que esperavam o tempo necessário para que os médicos respondessem ao questionário naquele mesmo momento.

Como critérios de inclusão foram estabelecidos que os médicos estivessem presentes no setor durante a aplicação do instrumento de coleta de dados e que aceitassem participar voluntariamente do estudo, mediante a assinatura do TCLE. Foram excluídos aqueles que não estavam no setor no momento da aplicação do questionário, por estarem em período de férias, sob atestado médico ou afastamento de outras naturezas. Assim, participaram deste estudo 12 pediatras, 13 ginecologistas/obstetras e 16 neonatologistas.

Os dados obtidos foram organizados em planilha Microsoft Excel® e analisados por estatística descritiva.

3 | RESULTADOS

A média de idade dos médicos foi 41,92 ($\pm 7,7$) anos sendo 59 a idade máxima e 30 a mínima. Dos participantes, 83% eram do sexo feminino e 17% do masculino. Com relação ao estado civil, 75,6% dos indivíduos eram casados; 14,6% solteiros; 7,3% divorciados e 2,5% não responderam. Considerando o local de conclusão do curso de Medicina, 95,1% terminaram a graduação em universidades federais ou estaduais do país e 4,9% não responderam essa pergunta. Houve predomínio daqueles que concluíram sua graduação na Universidade Federal da Paraíba (78%). Quanto ao local de trabalho, 65,8% trabalhavam somente em hospitais; 19,5% em hospitais e na universidade; 7,3% em hospitais, universidade e consultório particular; 4,9% somente na universidade e 2,5% apenas em hospitais e consultório particular.

A **Tabela 1** descreve as respostas em relação à finalidade do TP. Quando

questionados sobre a importância do TP, houve predomínio da resposta detecção precoce de algumas doenças tratáveis com porcentagens de 92,3%; 93,8% e 100% para ginecologistas/obstetras, neonatologistas e pediatras, respectivamente.

Especialidade	Finalidade do Teste do Pezinho			Total %
	Saber se a criança tem alguma doença %	Saber se a criança terá alguma doença genética %	Ambas %	
Ginecologia/Obstetrícia	38,5	53,8	7,7	100
Neonatologia	56,2	25,0	18,8	100
Pediatria	50,0	50,0	0,0	100

Tabela 1 - Descrição da finalidade do Teste do Pezinho de acordo com a especialidade médica.

Em relação ao conhecimento de qual o local para a coleta do exame, 100% dos ginecologistas/obstetras e dos pediatras responderam ser exclusivamente o pé do RN. Dentre os neonatologistas, 75% responderam que a coleta do sangue é do pé do RN; 6,2% do braço por punção venosa e 18,8% que poderia ser por ambas as formas. Os resultados das questões realização do exame e sua orientação constam apresentados na **Tabela 2**.

Especialidade	Realização do Teste do Pezinho			Total %
	Equipe de enfermagem %	Equipe de enfermagem e médico %	Não responderam %	
Ginecologia/Obstetrícia	84,6	7,7	7,7	100
Neonatologia	87,5	12,5	0,0	100
Pediatria	83,3	8,35	8,35	100

Especialidade	Orientação do Teste do Pezinho			Total %
	Pediatra %	Pediatra e equipe de enfermagem %	Equipe de enfermagem %	
Ginecologia/Obstetrícia	76,9	15,4	7,7	100
*Neonatologia	50,0	25,0	12,5	100
Pediatria	83,3	8,35	8,35	100

Tabela 2 – Resultados quanto à análise das questões, realização e orientação do Teste do Pezinho de acordo com a especialidade médica.

* 6,25% escolheram as três opções e os 6,25% restantes responderam pediatra e obstetra.

Não trazer risco para o bebê foi a resposta predominante em todos os grupos estudados (76,9% para ginecologistas/obstetras; 93,8% dos neonatologistas e 100% dos pediatras). A **Tabela 3** apresenta os resultados da questão período para coleta

do TP. Nenhum dos participantes optou pela letra C.

Especialidade	Quando o Teste do Pezinho deve ser realizado no recém-nascido?						Total %
	A %	B %	D %	D/E %	E %	F %	
Ginecologia/Obstetrícia	15,4	7,7	61,5	0,0	7,7	7,7	100
Neonatologia	0,0	0,0	93,8	6,2	0,0	0,0	100
Pediatria	8,33	8,33	75,0	0,0	8,33	0,0	100

Tabela 3 - Descrição do período para coleta do Teste do Pezinho de acordo com a especialidade médica.

(A) nas primeiras 48 horas de vida; (B) do 8° ao 10° dia de vida; (C) após 30 dias de nascimento; (D) do 3° ao 7° dia de vida, (E) do 11° ao 30° dia de vida e (F) não sei

Sobre as doenças que podem ser detectadas pelo TP, de acordo com a especialidade médica, 50%; 0,0% e 33,3% dos neonatologistas, ginecologistas/obstetras e pediatras, respectivamente, marcaram corretamente as seis doenças triadas pelo TP, ressaltando que a Paraíba, encontra-se na fase IV da TN. As porcentagens restantes referem-se a outras opções que nem sempre contemplavam as doenças realmente triadas.

Quando questionados sobre a razão da escolha das doenças pelo TP, 100% dos participantes responderam que o “tratamento dessas doenças quanto mais cedo ocorrer melhor para a criança e seguiram critérios pré-estabelecidos”.

Sobre a obrigatoriedade do teste; 69,2% dos ginecologistas/obstetras responderam que o TP é obrigatório; 23,1% que é facultativo e 7,7% não souberam responder. No grupo de neonatologistas, as respostas obrigatório, obrigatório/facultativo e facultativo foram respectivamente, 87,5%; 6,25% e 6,25%. Entre os pediatras, 75% responderam que o teste é obrigatório e 25%, facultativo. A **Tabela 4** descreve as respostas sobre o local onde o TP é realizado.

Especialidade	Local de realização do Teste do Pezinho			Total %
	Sistema Público/SUS ^a %	Sistema Particular %	Não Sei %	
Ginecologia/Obstetrícia	38,5	61,5	0,0	100
Neonatologia	6,25	87,5	6,25	100
Pediatria	50,0	50,0	0,0	100

Tabela 4 - Local onde o Teste do Pezinho deve ser realizado, de acordo com a especialidade médica.

^aSUS: Sistema Único de Saúde

As respostas mais frequentes em relação à questão “momento em que as orientações acerca do teste devem ser realizadas” foram: para os ginecologistas/

obstetras - alta hospitalar/maternidade (46,2%); pré-natal, alta hospitalar/maternidade e UBS no momento da realização do teste (23,1%) e pré-natal, alta hospitalar/maternidade (15,4%). Os neonatologistas referiram pré-natal, alta hospitalar/maternidade e UBS no momento da realização do teste (50%); pré-natal e alta hospitalar (31,3%) e alta hospitalar/maternidade (12,5%). Já entre os pediatras, as respostas predominantes foram no pré-natal e na alta hospitalar/maternidade (41,7%); na alta hospitalar/maternidade (41,7%) e pré-natal, alta hospitalar/maternidade e UBS no momento da realização do teste (8,3%).

Houve predomínio da resposta desinformação acerca do teste entre os ginecologistas/obstetras (69,2%) e pediatras (83,3%) como motivo para as mães não levarem seus filhos para realizar o TP. Por outro lado, 37,5% dos neonatologistas responderam desinformação acerca do teste e não acham o teste importante e 31,3% desinformação sobre o TP.

Durante o preenchimento do questionário, os médicos avaliaram brevemente a abordagem do tema TP na graduação sendo que 36,6% e 65,8% deles referiram a necessidade de aumento da carga horária das disciplinas que abordavam o tema TP e um enfoque mais amplo, respectivamente.

4 | DISCUSSÃO

O presente estudo teve por finalidade investigar o conhecimento dos médicos sobre o TP. No entanto, não há estudos na literatura com esse enfoque, o que dificultou a comparação com os dados aqui apresentados. Os poucos estudos publicados foram conduzidos com profissionais da saúde, com destaque para a enfermagem (BENINCASA et al., 2009; ACOSTA, STREFLING, GOMES, 2013; STREFLING et al., 2014; MESQUITA et al., 2017).

Quanto à caracterização da amostra, nossos resultados estão de acordo com a literatura que mostrou predomínio do sexo feminino (PURIM, BORGES, POSSEBOM, 2016; LACERDA, BARBOSA, CUNHA, 2011) e local de trabalho variável (LACERDA, BARBOSA, CUNHA, 2011). O predomínio do estado civil casado está provavelmente relacionado à média de idade dos indivíduos pesquisados.

Em relação à finalidade do TP, cerca de 50% dos participantes não associaram que a maioria das doenças triadas pelo TP exibe etiologia genética e, conseqüentemente, há um risco de recorrência. Nesse sentido, o aconselhamento genético é indispensável.

Ficou evidente entre os médicos pesquisados que as doenças detectadas no TP têm tratamento disponível e que, portanto, é imprescindível o diagnóstico precoce e tratamento adequado, para evitar principalmente a deficiência intelectual. O TP faz parte da TN e é o maior programa de saúde pública preventiva no Brasil, vinculado ao Sistema Único de Saúde/SUS (LEÃO, AGUIAR, 2008). As doenças detectadas são crônicas, incuráveis, mas com bom prognóstico mediante diagnóstico e tratamento

precoces.

A provável explicação para exclusividade da resposta coleta do TP do pé do neonato entre os ginecologistas/obstetras e pediatras está vinculada à nominação do exame. Apesar do pé ser o local padrão, em casos de difícil coleta, a obtenção do sangue por venopunção é adequada. Essa opção de resposta foi apenas mencionada pelos neonatologistas. Um estudo com acadêmicos de enfermagem revelou frequências de 95,2% e 3,6% para coleta de sangue apenas do pé do RN e do braço por punção venosa, respectivamente (RODRIGUES, HAAS, TROVÓ DE MARQUI, 2016).

Quando questionados sobre a realização do TP, as três especialidades médicas (frequência aproximada de 85%) relataram ser a equipe de enfermagem responsável pelo procedimento. Essa informação está correta e corrobora estudo prévio (RODRIGUES, HAAS, TROVÓ DE MARQUI, 2016). O profissional responsável pela coleta do TP geralmente é da enfermagem (enfermeiro, técnico de enfermagem ou auxiliar de enfermagem), cuja atividade é regulamentada por legislação específica e possui responsabilidades bem definidas (BRASIL, 2004). A orientação do TP foi atribuída, majoritariamente ao pediatra. Esse achado implica que tal orientação é apenas realizada após o nascimento do neonato, o que não é adequado, uma vez que deveria ser iniciada ainda no pré-natal pelo médico e/ou enfermeiro obstetra. A equipe de enfermagem foi pouco mencionada apesar de seu papel significativo na Educação em Saúde. Nossos dados contradizem aqueles recém-publicados que mostraram que a orientação do TP foi atribuída à equipe de enfermagem (77,1%), médicos pediatra (16%) e obstetra (3,5%) (RODRIGUES, HAAS, TROVÓ DE MARQUI, 2016). Pesquisa realizada com 75 puérperas mostrou predomínio do médico (60%) como profissional de saúde que forneceu informações sobre o TP, seguida pela equipe de enfermagem (40%) (ARDUINI et al., 2017).

O presente estudo mostrou que é consenso entre os médicos que o TP não traz risco à saúde do neonato, resultado também evidenciado em pesquisa com acadêmicos de enfermagem (RODRIGUES, HAAS, TROVÓ DE MARQUI, 2016) e mães (ARDUINI et al., 2017; SILVA et al., 2017).

A grande maioria dos neonatologistas (93,8%) citaram corretamente a idade adequada para a realização do TP. Já entre os pediatras (75%) e ginecologistas/obstetras (61,5%) houve predomínio da resposta D, mas também a menção a outros períodos. De acordo com o MS, a idade ideal para coleta do exame é entre o 3º e 7º dia de vida do neonato, preferencialmente no 5º dia. O período entre oito e 30 dias é considerado aceitável e acima de 30 dias, inapropriado (BRASIL, 2004). Estudo recente sobre o panorama da TN para PKU no Brasil mostrou que a maioria das crianças realizaram o TP no período aceitável (TROVÓ DE MARQUI, 2016b). Aproximadamente 90% dos profissionais de saúde que atuavam nas UBSs citaram que a coleta do TP deve ser realizada entre o terceiro e sétimo dias de vida do neonato (MESQUITA et al., 2017).

No Brasil, o número máximo de doenças triadas pelo TP realizado pelo SUS são seis, ou seja, PKU, HC, anemia falciforme e outras hemoglobinopatias, FC, HAC e deficiência de biotinidase. O presente estudo foi realizado no município de João Pessoa, Paraíba, situado na região Nordeste do Brasil. O estado da Paraíba encontra-se na fase IV. A região norte (a segunda com o maior número de estados do país) contém seis dos seus sete estados já na quarta fase (triagem das quatro doenças descritas na fase III e inclusão de HAC e deficiência de biotinidase) (BRASIL, 2014). Em relação a essa questão, o número de acertos foi extremamente baixo. Esse achado é preocupante e mostra desinformação pela classe médica e, conseqüentemente, comprometimento na qualidade de informação prestada à mãe/parturiente. Nesse sentido, o conhecimento dos médicos quanto às doenças triadas foi inadequado. Entre os acadêmicos de enfermagem, aproximadamente 23% responderam corretamente todas as seis doenças triadas pelo TP no estado de Minas Gerais (RODRIGUES, HAAS, TROVÓ DE MARQUI, 2016). Pesquisa publicada em 2009 também mostrou desconhecimento por parte dos profissionais de enfermagem sobre as doenças triadas pelo TP (BENINCASA et al., 2009). Entre os profissionais de saúde que atuavam nas UBSs do município de Uberaba/MG, 84,2% e 100% dos enfermeiros e médicos, respectivamente, acertaram quatro ou mais doenças rastreadas pelo TP (MESQUITA et al., 2017).

Foi unânime a resposta que o tratamento precoce permite um melhor prognóstico e qualidade de vida ao paciente afetado. No entanto, apesar dessa consciência, uma revisão recente sobre PKU mostrou que triagem para essa condição nos estados brasileiros precisa ser melhorada principalmente quanto à idade de início do tratamento (TROVÓ DE MARQUI, 2016b).

Quanto à obrigatoriedade do exame, essa resposta foi predominante entre os neonatologistas (87,5%). Entre os pediatras e ginecologistas/obstetras, a opção facultativa foi responsável por aproximadamente 25% das respostas. O TP é um exame gratuito realizado pelo SUS e sua obrigatoriedade consta no Estatuto da Criança e do Adolescente (BRASIL, 1990). A portaria no. 822 de 06 de junho de 2001 reforça a gratuidade e obrigatoriedade do TP (BRASIL, 2001).

Um achado curioso foi a menção ao sistema particular de saúde pelos médicos como o local mais frequente para realização do TP, contradizendo a literatura científica (RODRIGUES, HAAS, TROVÓ DE MARQUI, 2016). Esse resultado foi inesperado em virtude dos participantes atuarem em um hospital público que faz a coleta do exame.

As orientações sobre o TP devem iniciar no pré-natal com atuação do médico e enfermeiro obstetra, pois há tempo disponível para que a gestante assimile as informações e esclareça suas dúvidas, ser reforçada na alta da maternidade/hospital (principalmente quanto ao período adequado para coleta) e no momento de realização do exame na UBS. Essa opção de resposta foi a mais frequente entre os neonatologistas, a segunda entre os ginecologistas/obstetras e a terceira entre os

pediatras. A realização em um período único, por exemplo, na alta hospitalar pode não ser efetiva uma vez que a parturiente está em fase de adaptação e cansada. Pesquisa recente com 160 gestantes que frequentaram o serviço de pré-natal na rede de atenção primária de saúde do município de Uberaba/MG revelou que em média 50% das participantes não foram orientadas sobre o TP no pré-natal (SILVA et al., 2017). Outro estudo com puérperas revelou que 57% delas receberam orientações durante o acompanhamento pré-natal e 43% na alta hospitalar (ARDUINI et al., 2017). Entre os profissionais de saúde das UBSs, o momento ideal para orientações sobre o TP foi o período pré-natal (74,8%) seguido pela alta hospitalar e antes da coleta do exame, com valores de 43,1% cada (MESQUITA et al., 2017).

Houve predomínio da resposta desinformação acerca do teste como motivo para as mães não levarem seus filhos para realização do exame. Esse resultado foi semelhante à literatura consultada (RODRIGUES, HAAS, TROVÓ DE MARQUI, 2016), é preocupante e pode refletir uma falha na orientação sobre o TP durante o ciclo gravídico-puerperal. Essa lacuna poderia ser preenchida com a criação do “Dia do Teste do Pezinho” conforme sugerido por MAGALHÃES et al. Esses autores sugerem ser o 3º dia de vida do neonato, o que também contribuiria diretamente para a coleta adequada do exame no período ideal preconizado pelo MS. Apesar da sugestão prévia, oficialmente o Dia Nacional do TP é comemorado em 06 de junho de acordo com a Lei N° 11.605 de 05 de dezembro de 2007 (BRASIL, 2007). Faz-se necessário uma divulgação expressiva entre os pais sobre os benefícios do TP, visando garantir e promover a saúde física e mental do neonato, uma vez que alguns distúrbios (por exemplo, a PKU e o HC) causam deficiência intelectual.

Quanto à abordagem do TP na graduação, ficou evidente a necessidade de maior discussão do tema. Esse achado pode explicar os equívocos apresentados pelos participantes em relação a alguns aspectos do TP. No entanto, seria interessante uma análise mais profunda sobre a temática tanto na graduação quanto na residência médica devida sua extrema importância para a promoção da saúde neonatal.

O presente estudo apresentou como limitação o número de médicos investigados, um total de 41 sendo 12 pediatras, 16 neonatologistas e 13 ginecologistas/obstetras. Nesse sentido, sugerem-se pesquisas adicionais visando à reprodutibilidade dos resultados aqui obtidos. No entanto, ressalta-se o ineditismo de nossa pesquisa uma vez que não há, de nosso conhecimento, estudos publicados com esse enfoque investigando o conhecimento dos médicos sobre a temática TP.

Na literatura há um estudo semelhante a esse realizado com 47 médicos sobre Triagem Auditiva Neonatal Universal/TANU (CAMPOS et al., 2014). Seu objetivo foi avaliar e quantificar, através de questionário, o conhecimento de neonatologistas, pediatras e residentes em pediatria, sobre detecção, fatores de risco, diagnóstico precoce e encaminhamento para reabilitação dos pacientes acometidos por deficiência auditiva neonatal no município de Jundiaí, SP. Os autores concluem que os participantes apresentam conhecimento inadequado e incompleto em relação à

TANU e à deficiência auditiva e destacam a necessidade de uma reciclagem de conhecimento (CAMPOS et al., 2014).

Em suma, os resultados apresentados mostram a necessidade de maiores esclarecimentos aos médicos em relação a alguns tópicos do TP, tais como local para coleta do exame, orientação, doenças detectadas, local para realização do teste. Portanto, o conhecimento dos médicos pesquisados foi parcialmente adequado. Esse achado mostra a necessidade urgente de ações contínuas de reciclagem visando garantir uma assistência de qualidade a mãe e seu filho.

5 | CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

6 | FINANCIAMENTO

O estudo não recebeu financiamento

REFERÊNCIAS

ACMG - American College of Medical Genetics, Maternal and Child Health Bureau, Health Resources and Services Administration, US Department of Health and Human Services, 2005. **Newborn screening: toward an uniform screening panel and system**. Disponível em: <<http://www.acmg.net/resources/policies/NBS/NBS-sections.htm>>.

ACOSTA, D. F.; STREFLING, I. S. S.; GOMES, V. L. **Triagem neonatal: (re)pensando a prática de enfermagem**. *Revista de Enfermagem UFPE on line*, v. 7, n. 2, p. 572-578, 2013.

ARDUINI, G. A. O. et al. **Conhecimento das puérperas sobre o teste do pezinho**. *Revista Paulista de Pediatria*, v. 35, n. 2, p. 151-157, 2017.

BENINCASA, T. O. et al. **Triagem neonatal: a percepção teórica da equipe de enfermagem da unidade de terapia intensiva neonatal**. *Journal of the Health Sciences Institute*, v. 27, n. 2, p. 109-114, 2009.

BRASIL. Lei Federal 8.069 de 13 de julho de 1990. Dispõe sobre o Estatuto da Criança e do Adolescente [Internet]. Brasília; 1990. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L8069.htm.

_____. Lei nº 11.605, de 5 de dezembro de 2007. Institui o Dia Nacional do Teste do Pezinho a ser comemorado no dia 6 de junho de cada ano. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/2007/lei-11605-5-dezembro-2007-565687-norma-pl.html>>.

_____. *Manual de normas técnicas e rotinas operacionais do programa nacional de triagem neonatal*. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

_____. Portaria no. 822, de 06 de junho de 2001. Institui, no âmbito do Sistema Único de Saúde, o Programa Nacional de Triagem Neonatal – PNTN. Disponível em: <http://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/PORTARIA_822.pdf>.

_____. Portaria no. 2.829, de 14 de dezembro de 2012. Inclui a fase IV no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), instituído pela Portaria no. 822/GM/MS, de 6 de junho de 2001. Disponível em: <<http://www.cib.rj.gov.br/arquivos-para-baixar/portarias-cib/1122-portaria-n-2-829-de-14-de-dezembro-de-2012/file.html>>.

_____. Portal da saúde. Dados de Informação em Saúde. Ministério da Saúde, 2014. Disponível em:<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/1083-sas-raiz/dahu-raiz/programa-nacional-de-triagem-neonatal/12-programa-nacional-de-triagem-neonatal/15204-programas-estaduais-interno>>

_____. *Triagem Neonatal Biológica manual técnico*. Brasília: Ministério da Saúde, p. 01–83, 2016. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/triagem_neonatal_biologica_manual_tecnico.pdf> Acesso em 13 de março de 2018.

CAMPOS, A. C. M. DE et al. **Universal newborn hearing screening: knowledge of pediatricians and neonatologists in the city of Jundiaí, São Paulo, Brazil**. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, v. 80, n. 5, p. 379-385, 2014.

LACERDA, J. C. DE; BARBOSA, A. P.; CUNHA, A. J. L. A. DA. **Perfil profissional do intensivista pediátrico no Estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil**. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, v. 23, n. 4, p. 462-469, 2011.

LEÃO, L. L.; AGUIAR, M. J. B. **Triagem neonatal: o que os pediatras deveriam saber**. *Jornal de Pediatria*, v. 84, n. 4, p. S80-S90, 2008.

MAGALHÃES, P. K. et al. **Neonatal screening program at the university hospital of the Ribeirão Preto School of Medicine, São Paulo University, Brazil**. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 25, n. 2, p. 445-454, 2009.

MAK, C. M. et al. **Inborn errors metabolism and expanded newborn screening: Review and update**. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, v. 50, n. 6, p. 142-162, 2013.

MESQUITA, A. P. H. R. et al. **Conhecimento dos profissionais de Unidades Básicas de Saúde sobre a triagem neonatal**. *Revista de Ciências Médicas*, v. 26, n. 1, p. 1-7, 2017.

PURIM, K. S. M.; BORGES, L. DE M. C.; POSSEBOM, A. C. **Perfil do médico recém-formado no sul do Brasil e sua inserção profissional**. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v. 43, n. 4, p. 295-300, 2016.

RODRIGUES, L. P.; HAAS, V. J.; TROVÓ DE MARQUI, A. B. **Triagem neonatal: conhecimento dos alunos da graduação em enfermagem sobre o teste do pezinho**. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 37, n. 2, p. 71-80, 2016.

SILVA, M. P. C. et al. **Teste do pezinho: percepção das gestantes nas orientações no pré-natal**. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, v. 17, n. 2, p. 299-305, 2017.

STREFLING, I. S. S. et al. **Conhecimento sobre triagem neonatal e sua operacionalização**. *Cogitare Enfermagem*, v. 19, n. 1, p. 27-33, 2014.

TROVÓ DE MARQUI, A. B. **Teste do Pezinho e o Papel da Enfermagem: uma Reflexão**. *Revista de Enfermagem e Atenção à Saúde [Online]*, v. 5, n. 2, p. 96-103, 2016a.

TROVÓ DE MARQUI A. B. **Panorama da triagem neonatal para fenilcetonúria no Brasil**. *Medicina (Ribeirão Preto. Online)*, v. 49, n. 6, p. 517-525, 2016b.

EDUCAÇÃO EM SAÚDE: COMO A PARASITOLOGIA ESTÁ SENDO ABORDADA NAS UNIDADES BÁSICAS DE SAÚDE NO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO

Thainá Melo

Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Rio de Janeiro – RJ

Michele Costa da Silva

Universidade Estácio de Sá
Rio de Janeiro – RJ

Alba Cristina Miranda de Barros Alencar

Universidade Federal Fluminense
Niterói - RJ

José Roberto Machado e Silva

Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Rio de Janeiro – RJ

Renata Heisler Neves

Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Rio de Janeiro – RJ

RESUMO: As enteroparasitoses são consideradas um grande problema de saúde pública mundial que afeta a população de diferentes faixas etárias e níveis socioeconômicos. Sua maior prevalência ocorre nos microambientes onde a população apresenta uma baixa escolaridade e precárias condições de moradias devido à ausência de serviços públicos básico de qualidade. O presente estudo teve como objetivo investigar a ocorrência de um trabalho educacional relacionado ao controle e a transmissão de parasitoses voltadas para a população atendida

nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) do Município do Rio de Janeiro. Para a realização deste trabalho foi aplicado um roteiro de avaliação nas UBS distribuídas em diferentes zonas do Município, considerando quais são as medidas adotadas de Educação em Saúde, bem como o nível de capacitação profissional e se a distribuição geográfica de cada unidade influenciava na positividade dos casos parasitológicos. Nossos resultados mostraram que em relação à Educação e Saúde não há a disseminação de informações voltadas para a população assistida das unidades estudadas que enfoquem esta área do conhecimento. Observamos também que os profissionais não apresentam informações e/ou não possuem o costume de divulgarem o conhecimento científico para a população assistida, a fim de realizarem uma mediação sobre as diversas medidas profiláticas das parasitoses. Podemos concluir que um programa de Educação em Saúde poderia contribuir para a redução da ocorrência das doenças parasitárias reduzindo a morbidade e os custos com medicamentos e proporcionando um bem-estar na sociedade como um todo.

PALAVRAS-CHAVE: Unidade Básica de Saúde, Educação em Saúde, Parasitoses.

EDUCATION IN HEALTH: HOW PARASITOLOGY IS BEING APPROACHED IN THE BASIC HEALTH UNITS IN THE CITY OF RIO DE JANEIRO.

ABSTRACT: Enteroparasites are considered a major global public health problem affecting the population of different age groups and socioeconomic levels. Its higher prevalence occurs in the microenvironments where the population presents a low level of schooling and precarious housing conditions due to the absence of basic quality public services. The present study aimed to investigate the occurrence of educational work related to the control and transmission of parasites directed at the population served at the Basic Health Units of the City of Rio de Janeiro. For the realization of this work an evaluation roadmap was applied in the BHUs distributed in different zones of the Municipality, considering which measures were adopted of Health Education, as well as the level of professional qualification and if the geographical distribution of each unit influence the positivity of the parasitological cases. Our results showed that in relation to Education and Health there is no dissemination of information aimed at the assisted population of the studied units that focus on this area of knowledge. We also observed that professionals do not present information and/or do not have the habit of disseminating scientific knowledge to the assisted population, in order to carry out a mediation on the various prophylactic measures of parasitoses. Based on this information, a Health Education program can contribute to reducing the large-scale occurrence of parasitic diseases by reducing morbidity and drug costs and providing welfare in society as a whole.

KEYWORDS: Basic Health Unit, Health Education, Parasitoses.

1 | INTRODUÇÃO

As enteroparasitoses são um grave problema de saúde pública que ainda persiste em países em desenvolvimento, principalmente no Brasil (GROSS & SILVA, 2016), onde a população de nível socioeconômico mais baixo e baixa escolaridade são os mais acometidos (SOUZA et al., 2016). As doenças parasitárias cujos agentes etiológicos podem ser helmintos ou protozoários ocorrem em diversas regiões do país, seja em zona rural ou urbana e em diferentes faixas etárias (GROSS & SILVA, 2016; MELO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2018). A presença dessas doenças multiplica o risco de morbimortalidade tornando imprescindível investigações para que se possam traçar medidas de controle direcionadas à população suscetível (BRAGAGNOLLO et al. 2018).

No Brasil, diversos autores tem observado a alta prevalência de casos positivos para as enteroparasitoses em diferentes regiões do país. Melo et al., (2014) realizou um estudo em alunos de ambos os sexos com idade escolar entre cinco e quatorze anos de uma unidade pública e constatou que 62% de suas amostras encontravam-se positivas para as enteroparasitoses. Posteriormente, Souza et al., (2016) realizaram uma pesquisa com famílias socioeconomicamente carentes no litoral norte do Estado

do Piauí e confirmou que 73% das amostras de fezes estavam positivas para um ou mais tipos de parasitos. Dias et al., (2018) revelou que há uma frequência de 62,5% de parasitoses em crianças de 2 a 6 anos de idade de uma escola na cidade de Ribeirão Preto (SP).

Esses números elevados de positividade demonstram que a contaminação da população está relacionada a múltiplos fatores, sejam relacionados aos serviços sanitários deficientes, devido à falta de investimento em saneamento básico e educação ou à contaminação do ambiente onde estudam, se divertem ou moram. Um exemplo é o uso de brinquedos sujos, a escassez de higiene pessoal adequada ou até mesmo a ausência da utilização de calçados (GROSS & SILVA, 2016; MELO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2018). Grande parte dos trabalhos citados na literatura demonstram que a população infantil é a mais afetada e suscetível as infecções parasitárias, devido ao seu sistema imunológico ainda estar em desenvolvimento, podendo, com isso, contribuir para o desequilíbrio nutricional, cognitivo e físico do indivíduo (Dias et al., 2018).

É importante ressaltar que a distribuição de casos na população brasileira varia de acordo com as condições de saneamento básico de cada região, ou seja, à medida que ocorre um aumento da qualidade dos serviços públicos de água, esgoto e educação sanitária há uma diminuição na positividade das enteroparasitoses (XAVIER & LORETO, 2016).

Por mais que a saúde coletiva seja uma tarefa de todos, é de extrema importância que as estratégias utilizadas nos Postos de Saúde possam auxiliar para que haja uma diminuição no número de pessoas parasitadas na comunidade. As Unidades Básicas de Saúde (UBS) são destinadas como a “porta de entrada” da população aos serviços da rede básica de saúde e com isso, elas são responsáveis pela preservação da saúde na comunidade como um todo (ALMEIDA et al., 1998). Nesse sentido, profissionais atualizados e instruídos podem contribuir com informações fundamentais para o controle das diversas parasitoses intestinais que circulam no município do Rio de Janeiro, já que é sabido que a educação na saúde garante sim um sucesso na prevenção de diversas doenças infecciosas e parasitárias (GOMES et al. 2016).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o conhecimento sobre a promoção da saúde nas UBS como medida socioeducativa e preventiva, o que poderia resultar na diminuição dos casos de doenças parasitológicas. Para isso, avaliamos se era realizado algum trabalho em Educação e Saúde na população assistida e nos funcionários das UBS, de diferentes áreas do município do Rio de Janeiro.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste trabalho realizamos um estudo exploratório do perfil socioeconômico das regiões que englobam o município do Rio de Janeiro, com abordagem qualitativa e quantitativa das UBS distribuídas de modo aleatório em cada uma das quatro zonas administrativas do município (Oeste, Norte, Sul e Central) no ano de 2017.

O estudo foi realizado em sete Unidades Básicas de Saúde (UBS) distribuídas da seguinte forma: Zona Oeste (Posto A – Campo Grande) e (Posto B – Rio da Prata); Zona Norte (Posto C – Irajá) e (Posto D – Vila Isabel), Zona Central (Posto E – Centro) e (Posto F – Lapa) e Zona Sul (Posto G – Copacabana). Em cada zona do município foram analisadas duas unidades localizadas em bairros diferentes, para que se pudesse ter noção da real situação vivenciada pela população da localidade e assistida pela UBS. Entretanto, constatamos algumas dificuldades na obtenção dos dados referentes às unidades localizadas na zona Sul do município. Por este motivo, avaliamos apenas uma unidade nesta zona.

Nosso propósito em cada UBS foi verificar se há uma correlação das medidas adotadas em Educação e Saúde; averiguar o nível de capacitação profissional dos funcionários de saúde; conferir se há uma similaridade em relação ao quantitativo de indivíduos parasitados em zonas diferentes do município; identificar se a distribuição geográfica de cada unidade influencia na positividade de casos parasitológicos.

Os dados foram coletados com auxílio de um roteiro de avaliação com 13 perguntas distribuídas em 4 itens: A – serviço prestado pela UBS a população; B – medidas de educação nas UBS; C – frequência das parasitoses e D – práticas de educação e saúde para prevenção das parasitoses. As perguntas foram respondidas de modo livre ou fechada (Sim ou Não) (Quadro 1).

- A) O serviço que está sendo prestado pelas UBS para a população;**
- Quantas pessoas são atendidas por mês nesta UBS?
 - Os pacientes costumam receber medicamentos antiparasitários antes da confirmação laboratorial?
 - Existe algum dado quantitativo referente à distribuição de medicamentos antiparasitários nas UBS?
 - Existe algum tipo de protocolo utilizado em casos suspeitos de parasitoses?
- B) Medidas de educação e saúde nas UBS estudadas;**
- A unidade dispõe de panfletos ou cartazes de práticas profiláticas de educação, referente às diversas parasitoses?
 - Possui alguma prática de prevenção e/ou promoção da saúde no coletivo ou no individual?
- C) Frequência das parasitoses nas UBS estudadas;**
- Há casos positivos de parasitoses tratadas nesta unidade?
 - Quais as principais parasitoses encontradas nesta unidade?
 - Em qual grupo (Adultos, Crianças ou Idosos) o percentual de casos positivos é mais recorrente?
 - A unidade apresenta um controle do número de casos de pacientes reinfectados?
- D) Práticas de prevenção e/ou de promoção da saúde realizadas, seja no coletivo ou individualmente como mecanismo da diminuição dos casos parasitológicos.**
- Existe algum curso ou palestra de atualização para os funcionários, que envolvam assuntos relacionados com as parasitoses?
 - É feito algum tipo de instrução para os pacientes na hora de buscarem o medicamento antiparasitário?
 - É realizado o acompanhamento dos pacientes após a orientação e tratamento?

Quadro 1 – Roteiro de Avaliação aplicado no estudo

O questionário foi aplicado aos profissionais que possuíam ligação direta com a orientação da população local, como, profissionais assistenciais de nível superior e de nível médio. Vale lembrar que os funcionários de cada unidade informaram os dados referentes à positividade estimada, com auxílio da média mensal de indivíduos parasitados.

Dessa forma, os dados obtidos nas visitas técnicas de cada UBS estudada foram organizados em tabelas comparativas para posteriormente serem discutidos à luz das referências teóricas.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estima-se que cerca de 2 bilhões de pessoas estejam parasitadas o que

demonstra que as parasitoses ainda são um grande problema de saúde pública (GROSS & SILVA, 2016). Dentro desta perspectiva este estudo realizou uma avaliação em 7 UBS distribuídas em diferentes zonas do município do Rio de Janeiro através de um questionário sobre os aspectos parasitológicos e de educação em saúde da população assistida e dos funcionários, a fim de saber o nível de atualização e instrução profissional e que trabalhos educativos são realizados para a população de cada unidade diante das condições socioeconômicas de cada região.

3.1 As condições socioeconômicas da região de estudo

Com base na análise dos resultados, ressaltamos que em cada UBS visitada foi obtido um número que representa a média do valor quantitativo de atendimentos realizados mensalmente por cada unidade. As UBS estudadas na zona Oeste representam um total de 14.296 atendimentos onde o Posto A e o Posto B atendem cerca de 9.576 e 4.720 pessoas respectivamente. Na zona Norte, as duas unidades realizaram 32.519 atendimentos dos quais 14.133 atendimentos são realizados pelo Posto C e 18.386 pelo Posto D. Na zona Central os atendimentos foram 9.420, onde 5.420 refere-se ao Posto E e 4.000 ao Posto F. A unidade avaliada na zona Sul realiza cerca de 24.869 atendimentos (Posto G).

Os dados fornecidos pelas UBSs sugerem que na zona Oeste (Posto A) e na zona Norte (Postos C e D) apresentam uma positividade para enteroparasitoses igual ou superior a 50% da população total atendida ao mês. Resultado semelhante foi encontrado nos estudos de Vieira & Amarante (2011), em uma amostra de 1.381 crianças menores de cinco anos de idade residentes de comunidades da cidade do Rio de Janeiro com uma positividade de 54,5%. Mata-Santos, et al. (2013) demonstrou uma prevalência de 45,9% de parasitos em amostras fecais de 432 crianças atendidas em unidades básicas de saúde em uma cidade do sul do Brasil.

As UBS localizadas e estudadas na zona Central (Posto E e F) apresentam cerca de 20% a 30% de positividade para enteroparasitos na população assistida. Esses valores podem ser justificados devido às características de sua área, pois, trata-se de um bairro comercial e com menor presença de moradores ao redor, quando comparamos com as outras unidades localizadas em zonas residenciais e com maior número de residentes do município (Figura I).

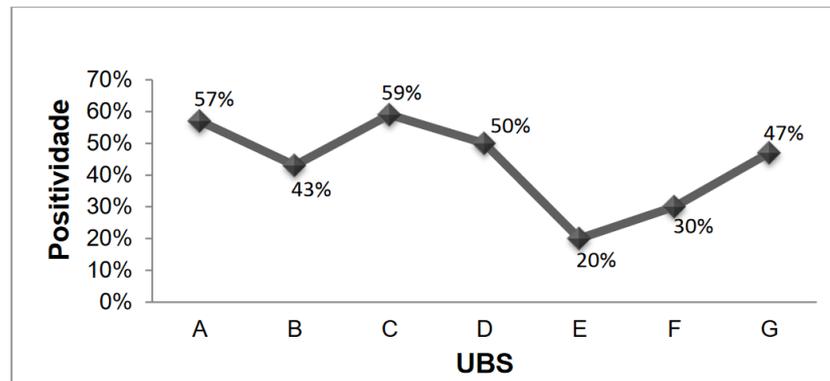


Figura 1 – Positividade estimada das parasitoses intestinais relatadas pelos profissionais de cada UBS estudadas no município do Rio de Janeiro.

Essa alta prevalência de parasitoses em diferentes zonas do município do Rio de Janeiro pode ser justificada segundo os dados disponíveis pelo sistema de Federação das Indústrias do Estado do Rio de Janeiro no qual revelam que este Município apresenta cerca de 83,1% de coleta efetiva do esgoto, entretanto apenas 44,5% deste recebe o tratamento adequado (FIRJAN, 2017). É importante ressaltar que diversos trabalhos na literatura abordam a problemática da ausência das condições sanitárias adequadas e evidenciam as diversas consequências desta carência para a população (GOMES et al. 2016; NUNES, 2016; SANTOS et al. 2018).

Estudos atuais retratam o quanto são importantes o saneamento básico e o tratamento adequado do esgoto no que se refere ao controle das doenças e o cuidado com o meio ambiente. A falta dos serviços públicos de qualidade, como: água tratada, saneamento básico, medidas de conscientização da população são indispensáveis quando se refere ao controle das doenças parasitoses negligenciadas, visto que grande parte das doenças são transmitidas recorrente a poluição ambiental fecal que é vinculada com deficiência nos recursos hídricos (GARCIA & FERREIRA, 2017; WHO, 2010; VARGAS, 2015).

3.2 Estratégias de contenção das positivities

Com base na análise dos resultados referente ao serviço que está sendo prestado pelas UBS para a população assistida verificamos que a prescrição de medicamentos era uma prática comum mesmo antes do diagnóstico adequado das fezes. A prescrição de medicamentos antiparasitários pelas unidades sem a confirmação laboratorial mostrou-se presente em 86% das UBSs estudadas. Em relação ao consumo mensal de Albendazol (200 mg/ml) nas UBS foram: 400 caixas (Postos B e G); 200 caixas (Postos A, C e D); 51 caixas (Posto E) e 56 caixas (Posto F). A respeito do consumo mensal de Mebendazol (20 mg/ml) nas UBS estudadas, verificamos que o Posto G utiliza 150 caixas; o Posto A 80 caixas; o Posto B 60 caixas; o Posto E 38 caixas; os Postos F e G 25 caixas e, o Posto C 20 caixas (Figura 2).

Como medida preventiva sobre a elevada positividade, estudos anteriores já retratavam que o controle era baseado exclusivamente na utilização de anti-helmínticos (CHARLES, POMPEU & MIRANDA, 1989). Entretanto, alguns trabalhos recentes demonstram que o consumo sem controle dos medicamentos antiparasitários como o Albendazol e o Mebendazol já estão ocasionando certa resistência aos parasitos (SANTOS & PAVANELLI, 2016).

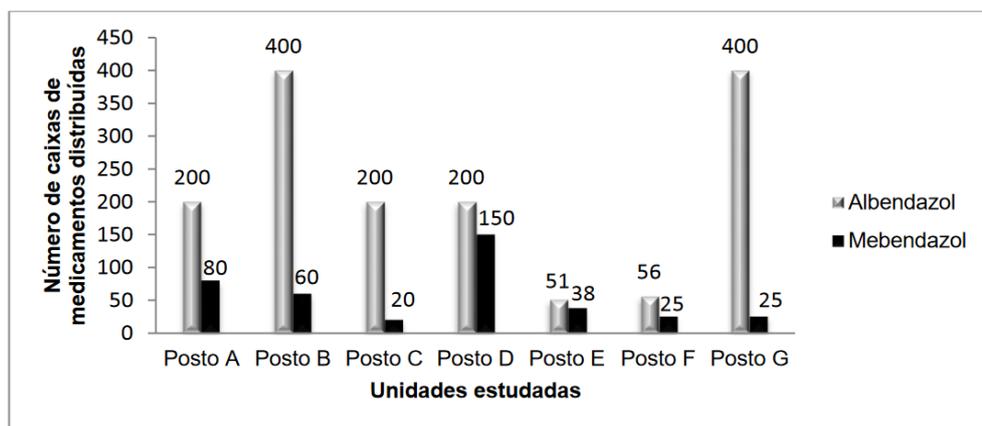


Figura 2 – Distribuição mensal de medicamentos (Albendazol e Mebendazol) nas UBS estudadas do município do Rio de Janeiro.

A educação na saúde está relacionada ao desenvolvimento do trabalho preventivo na comunidade e sua finalidade é desenvolver ferramentas que contribuam para a mudança dos hábitos comportamentais de cada sujeito e conseqüentemente promovendo uma melhora na qualidade de vida da população (SANTOS, TEODORO & QUEIROZ, 2016). O objetivo está além de desenvolver medidas estritamente curativas na população, visto que, na literatura já é abordado que as práticas de promoção da saúde apresentam-se mais eficazes do que o tratamento em massa à longo prazo na sociedade (VARGAS, 2015; JESUS, 2015). Neste âmbito, a educação em saúde pode contribuir para a redução da ocorrência das diversas doenças parasitárias, infecciosas e outras morbidades comuns em países em desenvolvimento (SANTOS, TEODORO & QUEIROZ, 2016). A Educação e Saúde são de fundamental importância em contribuir para a redução dos custos financeiros quanto à distribuição dos medicamentos utilizados como forma de contenção das doenças (VASCONCELOS, 1998; OLIVEIRA & GONÇALVES, 2004; FIGUEIREDO & LEITE, 2010; GOMES et al. 2016).

Outro ponto de extrema importância a ser abordado, é que 100% das UBS estudadas não utilizavam qualquer tipo de protocolo em casos suspeitos de parasitoses e não apresentavam controle dos casos de reinfecção da população assistida e nem dão informações sobre medidas de controle. Dado o exposto, a utilização de medidas em casos suspeitos seria importante para que se pudesse realizar uma triagem dos tipos mais frequentes de parasitoses ocorrentes na unidade e assim, buscar

meios para conter a alta incidência. Observar medidas de promoção da saúde e de controle das parasitoses de maneira efetiva que incluíssem a importância do meio ambiente como fonte ativa de propagação de diversas enfermidades promoveria uma redução no número de casos e suas consequências como os custos do tratamento das doenças. É importante dizer que Ribeiro, et al. (2011), demonstrou diversos benefícios da Educação e Saúde para o controle de diversas morbidades e por isso, esses protocolos contribuiriam para o controle dos casos de reinfecção, além de auxiliarem no diagnóstico de helmintos e protozoários na população assistida das UBS distribuídas ao longo do município do Rio de Janeiro (Tabela 1).

PARÂMETROS	SIM n (%)	NÃO n (%)
- Casos positivos de parasitoses tratadas na unidade.	100 (abcdefg)	0
- Entrega de medicamentos antiparasitários antes da confirmação laboratorial.	86 (bcdefg)	14 (a)
- Utilização de protocolos em casos suspeitos de parasitoses.	0	100 (abcdefg)
- Controle dos casos de reinfecção.	0	100 (abcdefg)

Tabela 1 – Roteiro de avaliação aplicado nos Postos A e B (zona Oeste), C e D (zona Norte), E e F (zona Central) e G (zona Sul) do município do Rio de Janeiro.

3.3 Instrução profissional em Parasitologia e a Educação na Saúde

Quanto às medidas de Educação para a Saúde nas UBS como mecanismo da diminuição do número de casos parasitológicos percebemos que 100% dos Postos de Saúde estudados não disponibilizavam panfletos ou cartazes com informações de práticas profiláticas de educação que englobem assuntos correlacionados com a Parasitologia. As UBS apresentavam um ambiente físico propício para o desenvolvimento de atividades práticas voltadas para a prevenção e promoção da saúde, como: quadros de avisos, alto índice de público diário e a presença de profissionais formados ligados diretamente a população assistida. Apenas 1 (14%) UBS promove a importância da saúde no coletivo ou de forma individual para a população assistida. A respeito da oferta de cursos de capacitação e atualização, os funcionários das unidades estudadas afirmaram que não receberam a oferta de cursos relacionados à Parasitologia. Entretanto são disponibilizados cursos e/ou palestras sobre os seguintes assuntos: gravidez na adolescência, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, doenças sexualmente transmissíveis, tabagismo, alcoolismo, hipertensão, diabetes, mês amarelo (suicídio), mês rosa (câncer de mama) e mês azul (câncer de próstata). É importante destacar então que notou-se uma acentuada negligência das autoridades quando se trata das doenças

parasitológicas e principalmente no que se refere ao desenvolvimento de práticas de promoção da saúde nesse campo do conhecimento.

Os funcionários de cada unidade são instrumentos fundamentais no processo de prevenção e cuidado da população, visto que estão frequentemente em contato com a situação-problema que reflete diretamente ao usuário do serviço (RIBEIRO et al, 2011). É indispensável que cada colaborador do serviço na unidade se coloque como um mediador da promoção da saúde para o usuário, pois neste caso é uma forma de ministrar a ciência a um público que é carente de informações. A capacitação profissional é uma prática barata com resultados duradouros na comunidade, em razão dos próprios funcionários se tornarem multiplicadores de informações que são fundamentais no controle e profilaxia das parasitoses intestinais (SILVA, et al. 2013; FERREIRA & ANDRADE, 2005; MURTA & MASSAFERA, 2009) (Tabela 2).

PARÂMETROS	SIM n (%)	NÃO n (%)
- Disponibilidade de panfletos ou cartazes sobre a parasitologia.	0	100 (abcdefg)
- Prevenção e promoção da saúde em nível individual e coletivo.	14 (b)	86 (acdefg)
- Oferta de cursos de atualizações para os funcionários com abordagens parasitológicas.	0	100 (abcdefg)

Tabela 2 – Roteiro de avaliação dos Postos A e B (zona Oeste), C e D (zona Norte), E e F (zona Central) e G (zona Sul) do município do Rio de Janeiro.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluimos que não era realizado nenhum tipo de prática de Educação em Saúde nos postos estudados, visto que, em nenhuma das unidades ocorria a atualização profissional sobre as enteroparasitoses que abrangem a população assistida do Município. A positividade estimada nos postos estudados era considerada abundante, uma vez que era inexistente qualquer prática de promoção da saúde abrangendo a população assistida. Em virtude dos fatos mencionados, entendemos que profissionais atualizados e instruídos poderiam contribuir com informações e adicionar detalhes fundamentais para a prevenção das inúmeras parasitoses intestinais. Assim, estratégias de Educação em Saúde viriam a contribuir para a diminuição positividade das enteroparasitoses e conseqüentemente na redução dos custos financeiros com relação à distribuição de medicamentos antiparasitários e o tratamento dos doentes na comunidade. A promoção da saúde é uma ferramenta que provoca mudança no modo de vida da população assistida e a partir do momento em que esta prática ocorra de maneira contínua, ocasiona um bem-estar na sociedade como um todo.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, E.S.; CASTRO, C.G.J. & VIEIRA, C.A.L. **Distritos Sanitários: concepção e organização**. Volume 1. São Paulo: Fundação Peirópolis; 1998. p. 15-20.
- BENITEZ, N.A. et al. **Abordagem da saúde única na ocorrência de enteroparasitas em humanos de área urbana no norte do Paraná**. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, v. 19, n. 1, p. 203-208, 2016.
- BRAGAGNOLLO, G.R. et al. **Intervenção educacional sobre enteroparasitoses: um estudo quase experimental**. Revista Cuidarte, v. 9, n. 1, p. 2030-2044, 2018.
- CHARLES, T.P.; POMPEU, J. & MIRANDA, D.B. **Efficacy of three broad-spectrum anthelmintics against gastrointestinal nematode infections of goats**. Journal Veterinary Parasitology, n. 34, p. 71-75, 1989.
- DIAS, M.G.P.F. et al. **Enteroparasitos em crianças de instituição de ensino filantrópica: ênfase para *Cryptosporidium spp.* e *Giardia spp.*** Arquivos de Ciência e Saúde, v. 25, n. 1, p. 51-55, 2018.
- FERREIRA, G.R. & ANDRADE, C.F.S. **Alguns aspectos socioeconômicos relacionados a parasitoses intestinais e avaliação de uma intervenção educativa em escolas de Estiva Gerbi, São Paulo**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 38, p. 402-405, 2005.
- FIGUEIREDO, M.F.S. & LEITE, M.T.S. **Modelos aplicados às atividades de educação em saúde**. Revista Brasileira de Enfermagem, v. 63, n. 1, p. 117-121, 2010.
- FIRJAN. Federação das Indústrias do Estado do Rio de Janeiro. **Saneamento no Estado do Rio de Janeiro: Cobertura e oportunidade de investimento**. Rio de Janeiro. In: Publicações Sistema FIRJAN: Pesquisas e estudos socioeconômicos. 2017. Disponível em: <<https://www.firjan.com.br/publicacoes/publicacoes-de-economia/saneamento-no-estado-do-rio-de-janeiro-cobertura-e-oportunidades-de-investimento.htm>> Acesso em: 15 abr. 2019.
- GARCIA, M.S.D. & FERREIRA, M.P. **Saneamento básico: meio ambiente e dignidade humana**. Dignidade Re-Vista, v. 2, n. 3, p. 1-12, 2017.
- GOMES, S.C.S. et al. **Educação em saúde como instrumento de prevenção das parasitoses intestinais no município de Grajaú – MA**. Revista Científica em Educação a Distância, v. 21, n. 1, p. 34-45, 2016.
- GROSS, A.A.; SILVA, G.K.; **Incidência de enteroparasitos intestinais em uma escola infantil pública e uma escola infantil comunitária, em um município no interior do Rio Grande do Sul**. Revista Destaques Acadêmicos, Lajeado, RS, v. 8, n. 3, p. 50-57, 2016.
- JESUS, S.J.A. **O papel da educação em saúde frente as implicações da atenção básica: do profissional à comunidade**. Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia, v. 3, n. 1, p. 1-9, 2015.
- MATA-SANTOS, T. et al. **Prevalência de enteroparasitas em crianças atendidas em unidades básicas de saúde em uma cidade do Sul do Brasil**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 72, n. 2, p. 175-178, 2013.
- MELO, A.C.F.L. et al. **Aspectos epidemiológicos das enteroparasitoses em crianças de uma Unidade Pública de Ensino de Parnaíba, Piauí**. Revista Científica Ciências Biológicas e da Saúde, v. 16, n. 3, p. 191-196, 2014.

MURTA, F.L. & MASSAFERA, C.L. **Presença de ovos de helmintos intestinais em ônibus de transporte público em Belo Horizonte – Minas Gerais, Brasil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 38, p. 207-212, 2009.

NUNES, P.S.S.L. **Estado da Arte do Saneamento Básico no Brasil.** 2016. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Civil) – Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Araruna, Paraíba, 2016.

OLIVEIRA, C.L. et al. **Enteroparasitoses e aspectos socioeconômicos em pacientes alcoolistas.** Revista de Ciências Médicas e Biológicas, v. 17. n. 3. p. 345-349, 2018.

OLIVEIRA, M.H. & GONÇALVES, M.J.F. **Educação em Saúde: Uma experiência transformadora.** Revista Brasileira de Enfermagem, v. 57, n. 6, p. 761-763, 2004.

SANTOS, A.A.; TEODORO, A.; QUEIROZ, S. **Educação em saúde: um mapeamento dos estudos produzidos no Brasil e em Portugal (2000-2013).** Revista Linguagem & Ensino, v. 33, n. 1, p. 9-22, 2016.

SANTOS, F.F.S. et al. **O desenvolvimento do saneamento básico no Brasil e as consequências para a saúde pública.** Revista Brasileira de Meio Ambiente, v.4, n. 1, p. 241-251, 2018.

SANTOS, M.M. & PAVANELLI, M.F. **Fatores associados a compra de antiparasitários sem apresentação de receita médica em clientes de uma farmácia de Campo Mourão, PR.** Revista de Saúde e Biologia, v. 11, n. 2, p. 7-12, 2016.

Silva, A.T. et al. **Ovos de Enterobius Vermicularis em salas de espera e banheiros de Unidades Básicas de Saúde (UBS) do Município de Nova Serrana-Mg: Contribuições para o controle,** Revista de Patologia Tropical, v. 42, n. 4, p. 425-433, 2013.

SOUZA, A.C. et al. **Perfil epidemiológico das parasitoses intestinais e avaliação dos fatores de risco em indivíduos residentes em um assentamento rural do nordeste brasileiro.** Revista Conexão UEPG, Ponta Grossa, PR, v. 12, n. 1, p. 26-37, 2016.

VARGAS, M.I. **Plano de ação para redução de parasitoses intestinais em pacientes atendidos no centro de saúde São Francisco, município Cariacica, ES.** Espírito Santos Monografia [Especialização em Saúde da Família] – Universidade Aberta do SUS; 2015.

VASCONCELOS, E.M. **Educação popular como instrumento de reorientação das estratégias de controle das doenças infecciosas e parasitárias.** Revista Caderno de Saúde Pública, v. 14, n. 2, p. 39-57, 1998.

VIEIRA, A.C. & AMARANTE, M.K. **Prevalência de helmintos no município de Iporã, Paraná, no período de 2004 a 2006.** Revista do Departamento de Ciências Patológicas - CCB, v.13, n:1/3, p.23-27, 2011.

XAVIER, A.R. & LORETO, A.S.; **Comparação entre os custos calculados do plano municipal de saneamento básico do município de Alpercata, Minas Gerais e a estimativa de investimentos utilizando o índice multidimensional de saneamento básico.** IN: ANAIS DO SEMINÁRIO CIENTIFICO Da FACIG. 2., 2016, Minas Gerais: II Seminário Científico da FACIG – Sociedade Ciência e Tecnologia, 2016, p.1-4.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Avanços para superar o impacto global de doenças tropicais negligenciadas: Primeiro relatório da OMS sobre doenças tropicais negligenciadas.** 2010. Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/primeirorelatorioomsdoencastropicais.pdf>.

O PAPEL DOS PROBIÓTICOS NA INCIDÊNCIA DE CÂNCER COLORRETAL INDUZIDO QUIMICAMENTE POR 1,2-DIMETILHIDRAZINA EM MODELO ANIMAL

Marceli Pitt Coser

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Biotecnologia, Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Campus Videira, Rua Paese 180, Videira, SC 89560-000, Brasil

Claudriana Locatelli

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Biotecnologia, Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Campus Videira, Rua Paese 180, Videira, SC 89560-000, Brasil

Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Campus Joaçaba, Joaçaba, SC, Brasil

Universidade Alto Vale do Rio do Peixe – UNIARP, Campus Caçador, SC, Brasil.

RESUMO: Os probióticos são definidos como microrganismos vivos que afetam benéficamente o hospedeiro. A importância da integridade da microbiota intestinal para a saúde já está bem documentada. Naturalmente o corpo humano é habitado por trilhões de microrganismos. A desregulação entre microrganismos benéficos à saúde e patógenos gera uma disbiose. Os probióticos equilibram o meio, e prebióticos estimulam seletivamente o desenvolvimento de bactérias benéficas. Os simbióticos aliam os dois. O objetivo deste estudo foi analisar os resultados de estudos experimentais sobre o uso de

probióticos ou simbióticos, na prevenção e/ou tratamento de câncer colorretal induzido por 1,2-dimetilhidrazina em ratos machos *Wistar*. Com os descritores “*probiotics*”, “*colorectal cancer*” e “*dimetilhidrazine*”, foi realizada uma pesquisa na base de dados da pubmed, onde 19 estudos foram selecionados pelos critérios pré-definidos. Os resultados sugerem efeitos positivos sobre a eficácia dos probióticos ou simbióticos na prevenção de câncer colorretal induzidos por 1,2 dimetilhidrazina em ratos. Porém, destaca-se a necessidade de mais estudos que forneçam dados mais conclusivos sobre os reais benefícios desse tipo de suplementação no câncer de colorretal.

PALAVRAS-CHAVE: câncer colorretal; probióticos; prebióticos; simbióticos; microbiota intestinal.

THE ROLE OF PROBIOTICS IN THE INCIDENCE OF COLORRECTAL CANCER INDUCED CHEMICALLY BY 1,2-DIMETHYLHYDRAZINE IN ANIMAL MODEL

ABSTRACT: Probiotics are configured as living microorganisms that beneficially affect the host. The health importance of the intestinal microbiota for health is already well documented. Naturally

the human body is inhabited by trillions of microorganisms. Deregulation between health-promoting microorganisms and pathogens generates dysbiosis. Probiotics balance the medium and prebiotics selectively stimulate the development of beneficial bacteria. The symbiotics combine the two. The objective of this study was to analyze the results of experimental studies on the use of probiotics or symbiotics in the prevention and / or treatment of 1,2-dimethylhydrazine-related cancer in male Wistar rats. With the descriptors “probiotics”, “colorectal cancer” and “dimethylhydrazine”, a study was carried out in the database of Pubert, where cases of colorectal cancer were studied. Deleterious effects on the adverse or indirect effects on the propagation of cholesterol by 1,2-dimethylhydrazine in rats. However, there is a need for studies that provide more conclusive data on the real ones.

KEYWORDS: colorectal cancer; probiotics; prebiotics; symbiotic; intestinal microbiota.

1 | INTRODUÇÃO

O câncer colorretal representa um importante problema de saúde pública com mais de um milhão de casos e cerca de meio milhão de mortes em todo mundo, está entre os maiores problemas de saúde em países industrializados. A sobrevivência de pacientes com câncer colorretal em 5 anos foi estimada em 65% na América do Norte, 54% na Europa Ocidental, 34% no Leste Europeu e 30% na Índia (AN; HA, 2016).

Pacientes com câncer colorretal apresentam uma microflora intestinal com padrões diferentes da população saudável em geral. A microflora destes pacientes apresenta várias bactérias associadas a um alto risco de desenvolvimento de câncer colorretal entre outras doenças (LEY; PETERSON; GORDON, 2006), uma vez que o trato gastrointestinal humano e animal é colonizado por diversos microrganismos complexos que impactam significativamente sobre a fisiologia e patologia do hospedeiro (FAINTUCH; FAINTUCH, 2017). Uma gama de doenças como por exemplo, doença intestinal inflamatória, falência múltipla de órgãos, doenças cardiovasculares e o câncer colorretal, podem estar associadas a anormalidades ou alterações na composição da microbiota intestinal (SAWAYA; LEANDRO; WAITZBERG, 2018).

Estudos vem mostrando que os padrões de nutrição e atividade física desempenham um papel notável na etiologia e prevenção de doenças crônicas, intervenções dietéticas e suplementos bioativos naturais têm sido extensivamente estudados para reduzir os riscos de câncer colorretal, entre os suplementos mais utilizados para este fim estão os probióticos, prebióticos e simbióticos (MORAES et al., 2014). Para avaliar o papel dos probióticos na prevenção do câncer colorretal geralmente se utilizam modelos animais a partir da indução química do câncer com 1,2-dimetilhidrazina.

A indução experimental da carcinogênese colorretal em ratos data aproximadamente 80 anos, demonstrando várias vantagens em estudar a

patogenicidade do câncer induzido por agentes carcinogênicos, incluindo a indução rápida e reprodutível de tumor, e a reprodução da sequência do adenoma-carcinoma que ocorre em humanos. Por isso, os roedores têm sido amplamente utilizados para estudar agentes de quimioprevenção do câncer e fatores dietéticos (ROSENBERG; GIARDINA; TANAKA, 2009). Diante do exposto o objetivo deste estudo foi analisar os resultados de estudos experimentais sobre o uso de probióticos ou simbióticos, na prevenção e/ou tratamento de câncer colorretal induzido por 1,2-dimetilhidrazina em modelo animal utilizando ratos *Wistar*.

Com esta finalidade foi realizada uma pesquisa na base de dados da pubmed através de levantamento de artigos publicados entre 1999 e 2019, com os descritores: “*probiotics*”, “*colorectal cancer*” e “*dimetilhidrazine*”, também a combinação entre si para melhorar os resultados. Encontraram-se 56 artigos, sendo que, 19 se enquadraram nos critérios de inclusão da pesquisa, que previa serem estudos experimentais, e que expusesse doses dos probióticos ou simbióticos, tempo de experimento, tipo de dieta oferecida, dose e tempo de tratamento com a droga indutora da tumorigênese 1,2 dimetilhidrazina, e resultados relevantes.

Os artigos foram avaliados de forma independente. A fase inicial da seleção constituiu na análise de títulos, resumos e, finalmente, a leitura dos estudos para selecioná-los com base nos critérios de elegibilidade.

2 | PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS

O termo probiótico significa “para a vida” e é usado para nomear bactérias associadas com efeitos benéficos em humanos e animais (WHO, 2001). Os probióticos são microrganismos vivos que possuem propriedades benéficas no intestino do hospedeiro (EL-ATTI et al., 2009). Possuem características biológicas anaeróbicas, que prevalecem sobre alguns patógenos no trato digestivo humano, podendo atuar como moduladores imunológicos (MORAES et al., 2014; DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010).

Já os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis, que afetam beneficemente o hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de um ou de um número limitado de bactérias no cólon (SUÀREZ, 2015). Os benefícios potenciais dos prebióticos são reconhecidos, sobretudo na sua capacidade de estimular bactérias benéficas intrínsecas do hospedeiro (WHO, 2001). As fibras dietéticas têm sido associadas no fomento de bactérias produtoras de metabólitos anticarcinogênicos e atreladas como medida-chave para conter o aumento da incidência de câncer colorretal (VIPPERLA; O’KEEFE, 2016)

Tanto prebióticos quanto probióticos são capazes de modular de forma potencialmente saudável o microbioma. O desenvolvimento do sistema imunológico é dependente da microbiota gastrointestinal (VANDERPLAS; HUYS; DAUBE, 2015). Ao associar um prebiótico e um probiótico em um único produto alimentar, se espera

melhor sobrevida no trajeto gastrointestinal e uma implantação mais efetiva do probiótico na microbiota (KAILASAPATHY; CHIN, 2000).

Os prebióticos estimulam seletivamente o desenvolvimento de bactérias benéficas no cólon; os probióticos sendo microrganismos vivos equilibram o meio; já os simbióticos aliam ambos (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010).

3 | O MICROBIOMA E O CÂNCER

A colonização da microbiota se inicia logo após o nascimento, alterando conforme diversas circunstâncias como o tipo de parto, microbiota da mãe, higiene, e tipo de nutrição (YANG, 2015). Os recém-nascidos por cesariana, prematuro e/ou expostos a antibióticos no período pós-natal, desencadeiam atrasos na colonização probiótica do intestino (SUÀREZ, 2015).

Sabe-se que a diversidade microbiana deve-se à coo evolução entre comunidades microbianas e seus hospedeiros, resultado de níveis de hospedagens proporcionalmente funcionais (LEY; PETERSON; GORDON, 2006).

As bactérias intestinais possuem atividades na elaboração de vitaminas, na absorção e excreção de minerais, na ativação e na neutralização de drogas. Muitas moléculas que elas sintetizam ou modificam agem como mediadores biológicos, incluindo processos inflamatórios, neurotransmissão, angiogênese, oncogênese e aterosclerose, incluindo atividades para o sistema nervoso central e cardiovascular (FAINTUCH, 2017).

A microbiota pode ser alterada por aspectos ambientais. Uma dieta composta por alto teor de gordura promove a progressão do tumor de intestino delgado em ratos geneticamente suscetíveis por alteração da microbiota, gerando diminuição de defesas, independente da obesidade. A transferência de amostras fecais de ratos em dieta hiperlipídica com tumores intestinais para ratos adultos saudáveis foi suficiente para transmitir a doença na ausência de uma dieta elevada em gorduras, enfatizando que a progressão tumoral está associada à comunidade microbiana alterada. A obesidade e sedentarismo são conhecidos como fatores de risco no desenvolvimento de cânceres gastrointestinais (SCHULZ et al., 2014).

A microbiota também atua sobre efeitos relativos ao tratamento do câncer. Distúrbios gastrointestinais, principalmente acompanhados de diarreia, são comumente observados no tratamento desta doença, agravada com quimioterapia e/ou radiação, danificando o revestimento intestinal (EL-ATTI et al., 2009). A microbiota influencia a inflamação local e sistêmica. A inflamação, por sua vez, contribui para o desenvolvimento, progressão, e interrupção no tratamento do câncer (LIDA et al., 2013).

Em camundongos tratados com quimioterápicos e com desregulação na microbiota as células derivadas do mielóide responderam mal à terapia, resultando em menor produção de citocinas e necrose tumoral, em contrapartida naqueles

com microbiota regulada, as respostas foram evidentemente melhores, enfatizando a influência de uma microbiota positiva nos melhores resultado do tratamento de câncer, bem como a resposta prejudicada na presença de disbiose (LIDA et al., 2013).

Para neutralizar efeitos deletérios na microbiota intestinal, linhagens probióticas têm sido desenvolvidas para melhorar a saúde do intestino, especialmente para restaurar a barreira intestinal prejudicada (LE BARZ et al., 2015).

O uso de probióticos e prebióticos visa manter a homeostase desses microrganismos, manter a integridade fisiológica do hospedeiro, e propiciar melhor qualidade de vida aos indivíduos. Prebióticos, probióticos e simbióticos demonstram eficácia na prevenção e tratamento de neoplasias (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010).

Com o intuito de avaliar o potencial de diferentes linhagens de probióticos estudos com ratos avaliaram o efeito protetor de diferentes linhagens frente ao câncer de colorretal induzido com DMH (1,2-dimetilhidrazina), uma droga indutora de tumorigênese no colorretal, os resultados são apresentados na Tabela 1.

Intervenção	Dose	Dieta	Tratamento com DMH	Resultados relevantes	Referência
Bifidobactérias e/ou Oligofrutose	10 ⁸ UFC / 2% da dieta	Livre, Padrão suplementada	15mg/kg 1x por semana por 2 semanas	Isolados não diminuiriam criptas aberrantes, mas quando associados sim, sugerindo que associados possuem efeito protetor.	Gallaher e Khil (1999).
<i>Lactobacillus acidophilus</i> e/ou <i>Bifidobacterium animalis</i> ; <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ; e <i>Streptococcus thermophilus</i>	1% da dieta – 10 ¹⁰ UFC por g/ dieta	Livre, Rica em gordura (20%)	20mg/kg 1x por semana por 4 semanas	Sem variação de peso. Menores índices de tumorigênese do cólon a partir da introdução de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ; menores número e menores tamanhos tumores quando presente esta cepa em relação às demais.	McIntosh, Royle e Playne (1999).
<i>Bifidobacterium longum</i> ; <i>Lactobacillus casei</i> ;	4x10 ⁷ UFC; 3x10 ⁹ UFC	Livre, Padrão	50mg/kg 2 ou 4 doses a cada 2 dias	<i>Bifidobacterium longum</i> foi observado um aumento das criptas aberrantes; <i>Lactobacillus casei</i> foi observado uma diminuição das mesmas.	Bolognani et al., (2001).
Bactéria do ácido láctico NZ9000	5x10 ⁹ UFC	Livre, Padrão	40mg/kg 1x por semana por 10 semanas	Bactéria sem efeito tóxico, porém não observado efeito protetor significativo.	Li e Li (2003).
Iogurte contendo <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> e <i>Streptococcus thermophilus</i> ou o sobrenadante	2x10 ⁸ UFC; >1x10 ² UFC	Livre, Padrão, suplementada com iogurte ou leite sem gordura	20mg/kg 1x por semana por 15 semanas	Efeitos não observados com o sobrenadante. Com iogurte diminuição da atividade das enzimas β- glucuronidase e nitrorredutase.	De Moreno De LeBlanc e Perdigón (2005).
<i>Bacillus polyfermenticus</i>	3,1x10 ⁸ UFC	Livre, Rica em gordura Livre, Padrão	30mg/kg 1x por semana por 6 semanas	Diminuição das criptas aberrantes (-40%); diminuição dos danos no DNA; aumento na defesa antioxidante (aumentou atividade da TRAP). In vitro aderência do probiótico à células cancerosas; menor incidência de criptas aberrantes (-40%).	Park et al., (2007). Lee et al., (2007).

<i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Lactobacillus casei</i> na cultura de coalhada <i>Lactococcus lactis</i> biovar	30% da dieta	Livre, Padrão	20mg/kg 1x por semana por 15 semanas	Menor incidência, multiplicidade, tamanho, e número de tumores; menores danos celulares.	Kumar, Singht e Sinha (2010).
<i>Lactobacillus plantarum</i> ; Inulina; <i>Aesculus hippocastanum</i> L.	3x10 ⁹ UFC; 2% dieta; 1% da dieta	Livre, Rica em gordura (10%)	20mg/kg 1x por semana por 6 semanas	Ambos diminuíram enzimas bacterianas e ácidos biliares fecais, e aumentaram atividade do TNF alpha.	Bertkova et al., (2010).
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2x10 ⁹ UFC	Livre, Rica em gordura (15%)	20mg/kg 1x por semana por 10 semanas	Modulação da microbiota de forma positiva; diminuição da atividade da enzima β-glucuronidase e β-glucosidase; diminuiu os níveis de triglicerídeos.	Chang et al., (2012).
<i>Lactobacillus gasseri</i> e/ou <i>B. longum</i>	Doses médias: 1x10 ¹¹ UFC e 5x10 ⁹ UFC respectivamente	Livre, Padrão	20mg/kg 1x por semana por 10 semanas	Menos incidência de criptas aberrantes; número menores de tumores; diminuição das células PCNA; <i>Bifidobacterium longum</i> apresentou elevada atividade fagocítica; <i>Lactobacillus gasseri</i> aumentou atividade dos macrófagos.	Foo et al., (2011).
<i>Lactobacillus plantarum</i>	10 ⁹ UFC	Livre, Padrão	20mg/kg 1x por semana por 6 semanas	Diminuição da incidência (-42,13%) e menor tamanho de tumores (-36,12%). Observado capacidade antioxidante do probiótico.	Kumar et al., (2012).
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ; <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ; <i>Lactobacillus Casei</i> ; <i>Lactobacillus plantarum</i> ; e <i>Bifidobacterium bifidum</i> , isolados.	1x10 ⁹ UFC	Livre, Padrão	20mg/kg 1x por semana por 6 semanas	Peso maior quando suplementados, menor incidência de criptas aberrantes; diminuiu atividade inflamatória. Melhores resultados com <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Lactobacillus rhamnosus</i> .	Verma e Schukla, (2013).
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ; <i>Bifidobacterium animalis</i> ; <i>Saccharomyces boulardii</i> .	3x10 ⁸ UFC	Livre, Padrão	25mg/kg 1x por semana por 6 semanas	Indiferença no peso entre grupos; <i>Lactobacillus delbrueckii</i> e <i>Bifidobacterium animalis</i> houve proteção; diminuição na formação de criptas aberrantes. Não observado efeito sinérgico entre o <i>Lactobacillus</i> e <i>Bifidobacterium</i> ; <i>Saccharomyces boulardii</i> não apresentou nenhum efeito.	Liboredo et al., (2013).
<i>Bifidobacterium bifidum</i> e <i>Lactobacillus acidophilus</i> associados	2x10 ⁹ UFC	Livre, Padrão	40mg/kg 2x por semana por 2 semanas	Menor perda de peso e peso maior que o grupo controle; diminuição de formação de criptas aberrantes; diminuição de focos de mucinas; diminuição de células PCNA.	Mohania, Kansal e Kruzliak (2014).
<i>Lactobacillus plantarum</i> (AdF10) e <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (LGG), isolados	10 ¹⁰ UFC	Livre, Padrão	30mg/kg 2x por semana por 4 semanas e 1x por semana por 12 semanas	Menor perda de peso; menores níveis de TSA; menor incidência (60 e 65%) e tamanho menores de tumor.	Walia et al., (2015).
<i>L. salivarius</i> Ren	5x10 ¹⁰ UFC/kg 1x10 ¹⁰ UFC/kg ⁻¹ e 5x10 ⁸ UFC/kg ⁻¹	Livre, Padrão	30 mg/kg 1x por semana por 10 semanas	Menor incidência de câncer (87,5% a 25%) de cólon. Modulação da microbiota de forma positiva; diminuição das células PCNA; aumento da atividade da enzima azoredutase; diminuição da formação de criptas aberrantes.	Zhang et al., (2015). Zhu et al., (2014).
LBB (Produto Comercial): <i>L. acidophilus</i> , <i>B. Bifidum</i> , <i>B. infantum</i> .	0,9g/kg	Livre, Padrão	40mg/kg 1x por semana por 10 semanas	Modulação da microbiota de forma positiva; menor incidência e tamanho dos tumores. Supressão da apoptose e inflamação.	Kuugbee et al., (2016).

Tabela 1. Atuação de probióticos ou simbióticos na prevenção do câncer colorretal induzido por 1,2-dimetilhidrazina em ratos machos Wistar.

UFC, unidades formadoras de colônias; mg, miligramas; kg, quilogramas; DMH, 1,2 dimetilhidrazina; DNA, ácido desoxirribonucleico; TRAP, potencial antioxidante de captura radical total do plasma; PCNA, antígeno nuclear de proliferação celular; TNF alpha, fator de necrose tumoral; TSA, ácido siálico total.

Quanto a indução da carcinogênese notórias as discrepâncias entre as metodologias adotadas nos experimentos, onde a droga indutora do tumor – 1,2 dimetilhidrazina – foi utilizada na dose de 15 mg/kg à 50 mg/kg, majoritariamente utilizada uma vez por semana, porém, utilizada em um dos experimentos por três vezes na semana.

Quanto à eficácia dos probióticos e simbióticos pode-se observar que, pelo menos quinze linhagens de probióticos foram investigados na proteção do desenvolvimento do câncer colorretal em ratos machos *Wistar*. O *Lactobacillus acidophilus* foi a linhagem probiótica mais estudada, onde resultados positivos foram observados nos seis experimentos explanados (KUUGBEE et al., 2016; MOHANIA; KANSAL; KRUZLIAK, 2014; VERMA; SCHUKLA, 2013; CHANG et al., 2012; KUMAR; SINGHT; SINHA, 2010; MCINTOSH; ROYLE; PLAYNE, 1999).

Embora a falta de padronização de doses utilizadas entre as linhagens probióticas estudadas e o tempo de intervenção das mesmas, em apenas um estudo foi observado resultado inversamente positivo sobre a incidência de criptas aberrantes no cólon e reto dos animais, embora neste, não tenha sido descrito o tempo de tratamento, foi utilizado a maior dose/kg da droga indutora de tumor, e na maior frequência citada – três vezes por semana (BOLOGNANI et al., 2001). Porém, outros dois experimentos que testaram a atuação da mesma linhagem probiótica – *L. casei* – encontrados resultados significativamente benéficos (VERMA; SCHUKLA, 2013; KUMAR; SINGHT; SINHA, 2010).

Em dois experimentos analisaram-se a relação de simbiose entre probióticos e prebióticos sobre a forma de oligossacarídeos, observando uma relação favorável nos resultados (GALLAHER; KHIL, 1999; BERTKOVA et al., 2010).

As linhagens probióticas estudadas mantiveram diferenças no tipo, concentração e modo de intervenção. O uso de probióticos foi na sua maioria de forma isolada. Os principais benefícios encontrados foram: diminuição da incidência e tamanho de criptas aberrantes, modulação da microbiota de forma positiva, e melhor resposta anti-inflamatória.

Em conclusão, foram observados resultados que sugerem efeitos positivos sobre a eficácia dos probióticos ou simbióticos na prevenção de câncer colorretal induzidos por 1,2 dimetilhidrazina em ratos. Porém, destaca-se a necessidade de mais estudos que forneçam dados mais conclusivos sobre os reais benefícios desse tipo de suplementação no câncer de colorretal.

REFERÊNCIAS

AN, J.; HA, E. Combination Therapy of *Lactobacillus plantarum* Supernatant and 5-Fluoracil Increases Chemosensitivity in Colorectal Cancer Cells. **Journal Microbiology and Biotechnology**, Coréia, v. 26, n. 8, p. 1490-1503, maio. 2016.

- BERTKOVA, I. et al. The effect of probiotic microorganisms and bioactive compounds on chemically induced carcinogenesis in rats. **Neoplasma**, [S.I.], v. 57, n. 5, p. 422-428, mar. 2010.
- BOLOGNANI, F. et al. Effect of lactobacilli, bifidobacteria and inulin on the formation of aberrant crypt foci in rats. **European Journal of Nutrition**, [S.I.], v. 40, n. 6, p. 293-300, dez. 2001.
- BUTEL, M.-J. Probiotics, gut microbiota and health. **Médecine et Maladies Infectieuses**, EUA, v. 44, n. 1, p. 1-8, jan. 2014.
- CHANG, J.-H. et al. Effect of *Lactobacillus acidophilus* KFRI342 on the development of chemically induced precancerous growths in the rat colon. **Journal of Medical Microbiology**, Grã Betanha, v. 61, n. 3, p. 361-368, out. 2012.
- DENIPOTE, F. G.; TRINDADE, E. B. S. D. M.; BURINI, R. C.. Probióticos e Prebióticos na Atenção Primária ao Câncer de Cólon. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 47, n. 1, p. 93-98, jan./mar. 2010.
- EL-ATTI, S. A. et al. Use of Probiotics in the Management of Chemotherapy-Induced Diarrhea: A Case Study. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**. EUA, v. 33, n. 5, p. 569-570, set./out. 2009.
- FAINTUCH, J. Introdução. In: FAINTUCH, J. (Org.). **Microbioma, disbiose, probióticos e bacterioterapia**. São Paulo: Manole, 2017. introdução, p. XV-XIX.
- FAINTUCH, J.; FAINTUCH, J. J. O conceito de disbiose: considerações quantitativas e qualitativas sobre o microbioma. In: FAINTUCH, F. (Org.). **Microbioma, disbiose, probióticos e bacterioterapia**. São Paulo: Manole, 2017. cap. 4, p. 31-36.
- FOO, N.-P. et al. Probiotics Prevent the Development of 1,2-Dimethylhydrazine (DMH)-Induced Colonic Tumorigenesis through Suppressed Colonic Mucosa Cellular Proliferation and Increased Stimulation of Macrophages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Taiwan, v. 59, n. 24, p. 13337-13345, dez. 2011.
- GALLAHER, D. D.; KHIL, J. The effect of synbiotics on colon carcinogenesis in rats. **The Journal of nutrition**, [S.I.], v. 129, n. 7 Suppl, p. 1483S-7S, jul. 1999.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Câncer. Rio de Janeiro, RJ: Ministério da Saúde, 2017.
- KAILASAPATHY, K.; CHIN, J. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. **Immunology and Cell Biology**, EUA, v. 78, n. 1, p. 80-88, fev. 2000.
- KUMAR, A.; SINGH, N. K.; SINHA, P. R. Inhibition of 1,2-dimethylhydrazine induced colon genotoxicity in rats by the administration of probiotic curd. **Molecular Biology Reports**, [S.I.], v. 37, n. 3, p. 1373-1376, mar. 2010.
- KUMAR, R. S. et al. *Lactobacillus plantarum* AS1 Isolated from South Indian Fermented Food Kallappam Suppress 1,2-Dimethyl Hydrazine (DMH)-Induced Colorectal Cancer in Male Wistar Rats. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S.I.], v. 166, n. 3, p. 620-631, fev. 2012.
- KUUGBEE, E. D. et al. Structural Change in Microbiota by a Probiotic Cocktail Enhances the Gut Barrier and Reduces Cancer via TLR2 Signaling in a Rat Model of Colon Cancer. **Digestive Diseases and Sciences**, [S.I.], v. 61, n. 10, p. 2908-2920, out. 2016.

- LE BARZ, M. L. et al. Probiotics as complementary treatment for metabolic disorders. **Diabetes & Metabolism Journal**, Canadá, v. 4, n. 39, p. 291-303, ago. 2015.
- LEE, N.-K. et al. Adherence and anticarcinogenic effects of *Bacillus polyfermenticus* SCD in the large intestine. **Letters in Applied Microbiology**, [S.l.], v. 44, n. 3, p. 274-278, mar. 2007.
- LEY, R. E.; PETERSON, D. A.; GORDON, J. I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. **Cell**, [S.l.], v. 124, n. 4, p. 837-48, fev. 2006.
- LI, W.; LI, C.-B. Lack of inhibitory effects of lactic acid bacteria on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon tumors in rats. **World journal of gastroenterology**, [S.l.], v. 9, n. 11, p. 2469-2473, nov. 2003.
- LIBOREDO, J. C. et al. Effect of probiotics on the development of dimethylhydrazine-induced preneoplastic lesions in the mice colon. **Acta Cirurgica Brasileira**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 367-372, maio. 2013.
- LIDA, N. et al. Commensal Bacteria Control Cancer Response to Therapy by Modulating the Tumor Microenvironment. **Science**, EUA, v. 342, n. 22, p. 967-971, nov. 2013.
- MCINTOSH, G. H.; ROYLE, P. J.; PLAYNE, M. J. A Probiotic Strain of *L. Acidophilus* Reduces DMH-Induced Large Intestinal Tumors in Male Sprague-Dawley Rats. **Nutrition and Cancer**, [S.l.], v. 35, n. 2, p. 153-159, ago. 1999.
- MOHANIA, D.; KANSAL, V. K; KRUZLIAK, P. Probiotic Dahi Containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* Modulates the Formation of Aberrant Crypt Foci, Mucin-Depleted Foci, and Cell Proliferation on 1,2-Dimethylhydrazine-Induced Colorectal Carcinogenesis in Wistar Rats. **Rejuvenation Research**, [S.l.], v. 17, n. 4, p. 325-333, ago. 2014. 2017.
- MORAES, A. C. F. D. et al. Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 58, n. 4, p. 317-327, jun. 2014.
- DE MORENO DE LEBLANC, A.; PERDIGÓN, G. Reduction of beta-glucuronidase and nitroreductase activity by yoghurt in a murine colon cancer model. **Biocell**, [S.l.], v. 29, n. 1, p. 15-24, abr. 2005.
- PARK, E. et al. A probiotic strain of *Bacillus polyfermenticus* reduces DMH induced precancerous lesions in F344 male rat. **Biological & pharmaceutical bulletin**, [S.l.], v. 30, n. 3, p. 569-574, mar. 2007.
- ROSENBERG, D. W.; GIARDINA, C.; TANAKA, T. Mouse models for the study of colon carcinogenesis. **Carcinogenesis**, EUA, v. 30, n. 2, p. 183-96, fev. 2009.
- SAWAYA, A. L; LEANDRO, C. G.; WAITZBERG, D. L. **Fisiologia da Nutrição na Saúde e na Doença**: da biologia molecular ao tratamento. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2018.
- SCHULZ, M. D. et al. High-fat-diet-mediated dysbiosis promotes intestinal carcinogenesis independently of obesity. **Nature**, EUA, v. 514, n. 7523, p. 508-512, out. 2014.
- SUÁREZ V. M. Uso de probióticos y prebióticos en las fórmulas infantiles. **Nutrición Hospitalaria**, Espanha, v. 31, n. 1, p. 72 -77, jun. 2015.
- VANDENPLAS, Y.; HUYS, G.; DAUBE, G. Probiotics: an update. **Jornal de Pediatria, Rio de Janeiro**, v. 91, n. 1, p. 6-21, jan./fev. 2015.

VERMA, A.; SHUKLA, G. Probiotics *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Lactobacillus acidophilus* Suppresses DMH-Induced Procarcinogenic Fecal Enzymes and Preneoplastic Aberrant Crypt Foci in Early Colon Carcinogenesis in Sprague Dawley Rats. **Nutrition and Cancer**, [S.l.], v. 65, n. 1, p. 84-91, jan. 2013.

VIPPERLA, K.; O'KEEFE, S. J. Diet, microbiota, and dysbiosis: a "recipe" for colorectal cancer. **Food and Function**, EUA, v. 7, n. 4, p. 1731-1740, out. 2016.

WALIA, S. et al. Cyclooxygenase as a Target in Chemoprevention by Probiotics During 1,2-Dimethylhydrazine Induced Colon Carcinogenesis in Rats. **Nutrition and Cancer**, [S.l.], v. 67, n. 4, p. 603-611, mar. 2015.

WHO. Probiotics in food. **Food and Nutrition Paper**, [S.l.] v. 85, [S.n.], p. 1-56, out. 2001.

YANG, A. Prevenção e tratamento de alergia alimentar: foco na tolerância oral. **Pediatria Moderna, São Paulo**, v. 51, n. 6, p. 203-206, jun. 2015.

ZHANG, M. et al. Effects of *Lactobacillus salivarius* Ren on cancer prevention and intestinal microbiota in 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat model. **Journal of Microbiology**, [S.l.], v. 53, n. 6, p. 398-405, jun. 2015.

ZHU, J. et al. *Lactobacillus salivarius* Ren prevent the early colorectal carcinogenesis in 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat model. **Journal of Applied Microbiology**, [S.l.], v. 117, n. 1, p. 208-216, jul. 2014.

DESEMPENHO SIMBIÓTICO DE RIZÓBIOS DE CAUPI E *Aeschynomene* EM AMENDOIM TRATADO COM FUNGICIDA

Carlos Vergara

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Departamento de Agronomia Seropédica – Rio de
Janeiro

Karla Emanuelle Campos Araujo

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Departamento de Agronomia Seropédica – Rio de
Janeiro

Carolina Etienne de Rosália e Silva Santos

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Agronomia Recife –
Pernambuco

Norma Gouvêa Rumjanek

Embrapa Agrobiologia, Seropédica – Rio de
Janeiro

Gustavo Ribeiro Xavier

Embrapa Agrobiologia, Seropédica – Rio de
Janeiro

RESUMO: Estirpes de rizóbio nativas e eficientes na fixação do N₂ atmosférico podem contribuir para aumentar a produção dos grãos e reduzir os custos com os fertilizantes no Brasil. Este trabalho teve como objetivos (i) avaliar o efeito do fungicida Vitavax®-Thiram na eficiência fixadora de estirpes de rizóbio em amendoim e (ii) observar a ocorrência de inoculação cruzada entre estirpe de rizóbio proveniente de nódulos de caupi e de *aeschynomene*. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em vasos Leonard contendo areia e vermiculita (2/1 v.v)

esterilizadas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com uma testemunha absoluta (sem nitrogênio e não inoculado), uma testemunha nitrogenada (100 mg de N vaso Leonard⁻¹), e dez tratamentos de inoculação de isolados de rizóbios nativo da região Nordeste de Brasil em quatro repetições. A massa da parte aérea e o teor de N foram avaliados para se calcular a eficiência e eficácia em relação ao controle sem ou com N, respectivamente. Foi realizada uma comparação das médias dos tratamentos utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados mostraram que houve ocorrência de inoculação cruzada; que aplicação do fungicida Vitavax®-Thiram afetou o rendimento de massa seca; e que as estirpes BR-415, BR-474 e BR-2001 se mostraram promissoras como inoculantes para amendoim. **PALAVRAS-CHAVE:** Vitavax®-Thiram; fixação biológica do nitrogênio; amendoim; inoculação cruzada; *Arachis hypogaea* L..

SYMBIOTIC PERFORMANCE OF RHIZOBIA OF COWPEA AND *Aeschynomene* IN FUNGICIDE TREATED PEANUTS

ABSTRACT: Native and efficient rhizobia strains in the fixation of the atmospheric N₂ can contribute to increase the production of the grains and to reduce the costs of the fertilizers in Brazil.

The objective of this work was (i) to evaluate the effect of the fungicide Vitavax®-Thiram on the fixing efficiency of rhizobia strains in peanuts and (ii) to observe the occurrence of cross inoculation between rhizobia strain from cowpea and *aeschynomene* nodules. The experiment was conducted in a greenhouse in Leonard pots containing sterilized sand and vermiculite (2/1 v.v). The experimental design was completely randomized, with an absolute control (without nitrogen and not inoculated), a nitrogen control (100 mg of N pot Leonard⁻¹), and ten inoculation treatments of rhizobia isolates native to the Northeast region of Brazil in four repetitions. The shoot mass and N concentration were evaluated to calculate the efficiency and efficacy in relation to the control without or with N, respectively. A comparison of the means of the treatments was performed using the Tukey test at 5% probability. The results showed that cross inoculation occurred; that application of the Vitavax®-Thiram fungicide affected dry mass yield; and that the BR-415, BR-474, and BR-2001 strains proved promising as peanut inoculants.

KEYWORDS: Vitavax®-Thiram; biological nitrogen fixation; peanuts; cross inoculation; *Arachis hypogaea* L..

1 | INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) pertence à família das Fabaceae. Trata-se de uma planta originária da América do Sul (GREGORY; KRAPOVICKAS; GREGORY, 1980). Acredita-se que o seu centro de origem seja o Brasil, embora bastante cultivada na Ásia, África e América do Norte (ALLEN; ALLEN, 1991). O amendoim é capaz de participar do processo de fixação de N₂ através da simbiose com rizóbios, predominantemente do gênero *Bradyrhizobium* (QUATRINI et al., 2002). Este processo ocorre nas raízes em estruturas típicas desta simbiose, os nódulos (HUNGRIA, 1994). A substituição de adubos químicos nitrogenado reduz custos e é favorável ao ambiente por reduzir liberação de nitratos nas águas superficiais e subterrâneas (COUTINHO, 1996; DE ASSIS et al., 1992).

No Brasil, o amendoim representa um mercado pequeno, quando comparado a outros produtos agrícolas. Grande parte da produção é destinada para atender os mercados de alimentos, na forma *in natura* ou na produção de doces, confeitos e petiscos que, dependendo da região, pode ser cultivado em escala comercial ou em cultivos familiares. O Sudeste apresentou uma área plantada de 130,9 mil ha na safra de 2017/2018, produziu 492,2 mil toneladas de grãos, com uma produtividade média de 3.298 kg ha⁻¹, onde o Estado de São Paulo aparece como maior produtor (484,1 mil toneladas de grãos) e com produtividade média de 3.284 kg ha⁻¹ (CONAB, 2018).

O tratamento de sementes de amendoim com fungicidas é prática usual na região Sudeste e recomendada por órgãos responsáveis pela produção e comercialização de sementes certificadas. LAGO; ORTOLANI; ZINK (1976) comprovaram os efeitos benéficos dos fungicidas tirã, captã e PCNB na preservação das sementes

de amendoim. Entretanto, segundo alguns autores, a desinfecção propiciada por fungicidas poderia, em contrapartida, prejudicar a infecção ou interferir nos processos de fixação do nitrogênio atmosférico, conforme observado em outras leguminosas (CURLEY; BURTON, 1975; GRAHAM et al., 1980). Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do fungicida Vitavax®-Thiram na eficiência fixadora de estirpes de rizóbio em amendoim e observar a ocorrência de inoculação cruzada entre estirpe de rizóbio proveniente de nódulos de caupi e de *aeschynomene*.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Embrapa Agrobiologia, em casa de vegetação esterilizada, em delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos consistiram de dez estirpes de rizóbio (BR-415; BR-1422; BR-1426; BR-5353; BR-2001; BR-426; BR-463; BR-474; BR-475; BR-5352; a BR-2001 de caupi e a BR-5352 de *aeschynomene*; duas testemunhas (com e sem nitrogênio, utilizando-se 100 mg de N L⁻¹); sementes com e sem fungicida da cultivar BR-1 em quatro repetições. O plantio – 3 sementes por vaso – foi realizado em vasos Leonard contendo areia e vermiculita (2:1), e cada semente recebeu 1 mL de inoculante no momento do plantio e aos 30 dias após a germinação (DAG) totalizando 2 mL. Aos 21 DAG, fez-se o desbaste para uniformizar o experimento, e aos 45 dias a coleta. A massa seca da parte aérea e o teor de N foram avaliados para se calcular a eficiência e eficácia em relação ao controle sem ou com N, respectivamente. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1A, B revela que maioria das estirpes, com exceção da BR-426, se mostrou mais eficientes em relação ao controle, algumas 150% mais eficientes que o controle. Já a eficácia variou de 20 a 56 % em relação à adição de 100 mg de N L⁻¹ de solução nutritiva. Acima de 50% a estirpe pode ser considerada como eficaz. Das dez estirpes usadas apenas BR-415, BR-474 e BR-2001 atingiram esse percentual, demonstrando que possuem potencial para serem usadas como inoculantes para o amendoim. Na figura 2 é possível observar que a adição do fungicida Vitavax®-Thiram reduziu o rendimento da massa seca da parte aérea do amendoinzeiro.

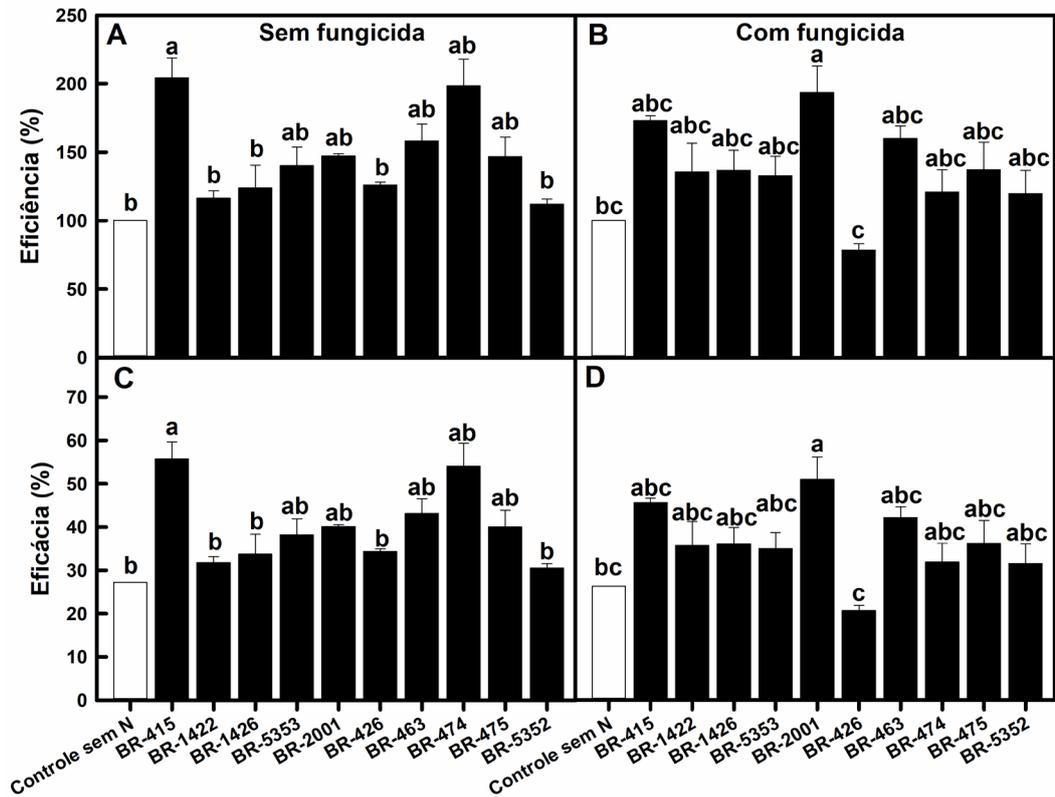


Figura 1. Eficiência (A e B) e eficácia (C e D) das estirpes em relação ao controle sem ou com adição de nitrogênio e sem inoculação em plantas de amendoim (cultivar BR-1) cultivadas a partir de sementes sem (A e C) ou com fungicida (B e D).

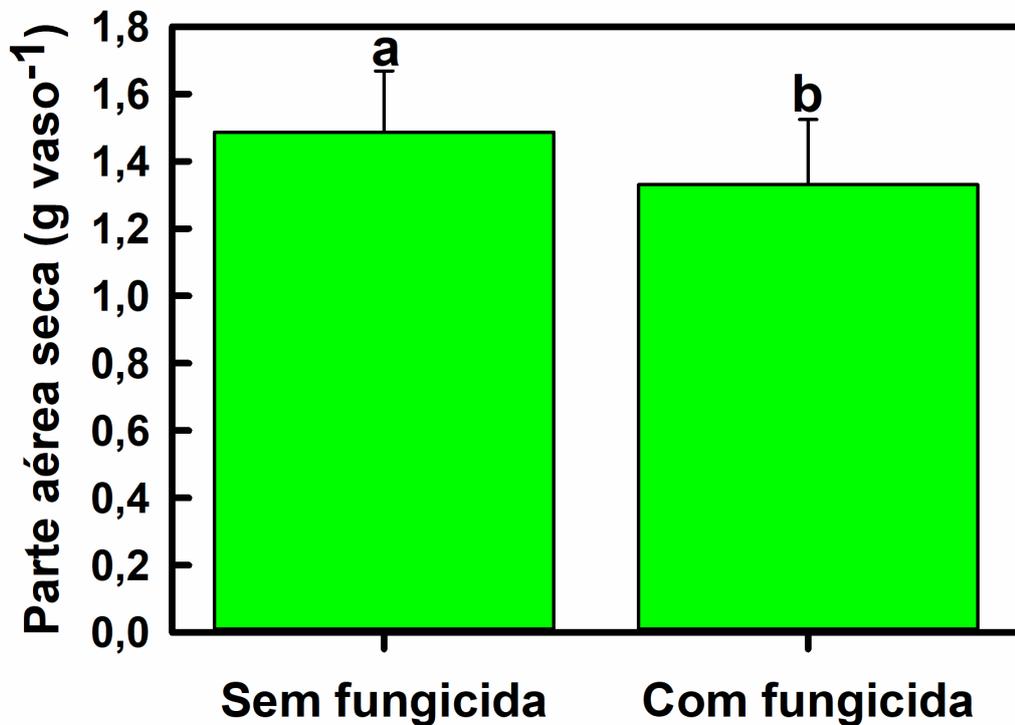


Figura 2. Efeito de aplicação fungicida no rendimento de massa seca da parte aérea de plantas de amendoim, cultivar BR-1.

4 | CONCLUSÕES

As estirpes BR-415, BR-474 e BR-2001 mostraram-se promissoras como inoculantes para amendoim.

A aplicação do fungicida Vitavax®-Thiram afetou o rendimento de massa seca. Observou-se a ocorrência de inoculação cruzada.

REFERÊNCIAS

ALLEN, O. N.; ALLEN, E. K. **The leguminosae; a source book of characteristics, uses, and nodulation**. Madison: The University of Wisconsin Press, 1991. 812

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos - Safra 2017/18. Brasília, DF, 2018. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/> >. Acesso em: 18 de Maio 2019.

COUTINHO, H. Diversidade microbiana e desenvolvimento sustentável: diversidade microbiana e agricultura sustentável. 1996. WORKSHOP SOBRE BIODIVERSIDADE.

CURLEY, R. L.; BURTON, J. C. Compatibility of Rhizobium japonicum with chemical seed protectants. **Agronomy Journal**, v. 67, p. 807-808, 1975.

DE ASSIS, R. et al. II Curso sobre a biologia do solo na agricultura. **Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E)**, 1992.

FERREIRA, D. F. SISVAR : A Computer statistical analysis system. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GRAHAM, P. H. et al. Survival of Rhizobium phaseoli in Contact with Chemical Seed Protectants. **Agronomy Journal**, v. 72, p. 625-627, 1980.

GREGORY, W.; KRAPOVICKAS, A.; GREGORY, M. P. Structure, variation, evolution, and classification in Arachis. In: SUMMERFIELD, R. J. (Ed.). **Advances in Legume Science** Kew, England: Royal Botanic Gardens, 1980. p.469-481.

HUNGRIA, M. Coleta de nódulos e isolamento de rizóbio. In: HUNGRIA, M. e ARAUJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; Goiânia: EMBRAPA-CNPAP; Londrina: EMBRAPA-CNPASO, 1994, v.2, 1994. p.45-59 (EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 46).

LAGO, A. D.; ORTOLANI, D.; ZINK, E. Efeito de diversos tratamentos fungicidas na longevidade, de sementes de amendoim [Arachis hipogaeae]. **Semente**, v. 2, n. 2, p. 26-31, 1976.

QUATRINI, P. et al. Bradyrhizobium sp. nodulating the Mediterranean shrub Spanish broom (Spartium junceum L.). **Journal of applied microbiology**, v. 92, n. 1, p. 13-21, 2002.

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE NIM (*Azadirachta indica*) E RUBIM (*Leonurus sibiricus*) SOBRE *Meloidogyne javanica* IN VITRO

Rodrigo Vieira da Silva

Eng. Agrônomo, doutor em Fitopatologia,
Professor do Instituto Federal Goiano -Campus
Morrinhos, Morrinhos/GO

Jair Ricardo de Sousa Junior

Eng. Agrônomo, Instituto Federal Goiano -Campus
Morrinhos, Morrinhos/GO

Nádia Fernandes Moreira

Instituto Federal Goiano -Campus Morrinhos

João Pedro Elias Gondim

Doutorando em Fitopatologia da Universidade
Federal de Lavras

José Orlando de Oliveira

Mestre em Olericultura Instituto Federal Goiano
-Campus Morrinhos

José Humberto Ávila Júnior

Mestre em Olericultura Instituto Federal Goiano
-Campus Morrinhos

Luiz Leonardo Ferreira

Universidade Estadual de Goiás (UEG) e
Docente Titular do Centro Universitário de
Mineiros (UNIFIMES). Mineiros/GO

Emmerson Rodrigues de Moraes

Eng. Agrônomo, doutor em Ciências do Solo,
Professor do Instituto Federal Goiano -Campus
Morrinhos

RESUMO: *Meloidogyne javanica* é uma das espécies de nematoides fitoparasitas mais comuns e prejudiciais à agricultura mundial. O seu manejo é bastante difícil, pois possui ampla

gama de hospedeiros e elevada capacidade reprodutiva. Assim, novas estratégias de controle alternativo devem ser desenvolvidas para o manejo deste nematoide. Portanto, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do extrato aquoso de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) e Rubim (*Leonurus sibiricus* L.) sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de *M. javanica in vitro*. O experimento foi instalado e conduzido em condições de laboratório em delineamento inteiramente casualizado com 6 tratamentos e 6 repetições. Os tratamentos foram 5%, 10%, 15%, 20%, 25% (p/v), do extrato aquoso de folhas de *A. indica* e *L. sibiricus*, mais o controle negativo contendo somente água destilada, para ambos os extratos. O extrato de 25 % de Nim reduziu mais de 90% da Eclosão de J2 comparado ao controle negativo contendo apenas água, enquanto que o Rubim nesta mesma concentração reduziu em mais de 97% a Eclosão de J2 de *M. Javanica*. Em relação a mortalidade *in vitro* de J2 de *M. javanica*, a utilização de Nim foi crescente de acordo com o aumento na concentração no extrato aquoso. Em relação ao Rubim a concentração de 25% promoveu níveis de mortalidade superior, provocando um percentual de mortalidade superior a 80% comparado ao controle negativo. Os extratos de Nim e Rubim apresentaram eficientes no controle de *M. javanica* com potencial de utilização em áreas contaminadas

com este fitopatógenos.

PALAVRAS-CHAVE: Bionematicida; controle natural; nematoide-das-galhas.

BIOACTIVITY OF NIM EXTRACTS (*Azadirachta indica*) E RUBIM (*Leonurus sibiricus*) ABOUT *Meloidogyne javanica* IN VITRO

ABSTRACT: The root-knot nematode *Meloidogyne javanica* Chitwood is one of the most common phytoparasite nematode species that is harmful to agriculture in the world. Its management is quite difficult, since it has a wide range of hosts and high reproductive capacity. Thus, new alternative control strategies should be developed for the management of this nematode. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of the aqueous extract of Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) and Rubim (*Leonurus sibiricus* L.) on hatching and mortality of *M. javanica* juveniles in vitro. The experiment was installed and conducted in a completely randomized design with 6 treatments and 6 replicates. The treatments were 5%, 10%, 15%, 20%, 25% (w / v) of the aqueous extract of *A. indica* and *L. sibiricus* leaves plus the negative control containing only distilled water for both extracts. The extract of 25% of Nim reduced more than 90% of watery from J2 compared to the negative control containing only water, whereas Rubim at this same concentration reduced by more than 97% the J2 watery. In relation to the in vitro mortality of J2 of *M. javanica*, the use of Nim was increasing according to the increase in concentration in the aqueous extract. In relation to Rubim the concentration of 25% promoted higher mortality levels, causing a percentage of mortality higher than 80% compared to the negative control. The extracts of Nim and Rubim presented efficient in the control of *M. javanica* with potential of use in areas contaminated with this phytopathogen.

KEYWORDS: Bionematicida; natural control; root-knot nematodes

1 | INTRODUÇÃO

Os fitonematoides do gênero *Meloidogyne*, conhecidos como nematoides das galhas, são considerados um dos maiores obstáculos para a produção de alimentos (Sasser 1977), pois possuem ampla distribuição geográfica, afetam numerosas culturas em todo mundo e provocam perdas significativas na produção, afetando também a qualidade dos produtos agrícolas (Moura 1996).

Além de ocasionar danos diretos, como deformação, subdesenvolvimento radicular e redução da absorção de água e nutrientes, sua penetração e alimentação nas raízes elevam a vulnerabilidade da planta, facilitando a entrada de outras doenças (Moura 1996). Interações entre *Meloidogyne* spp. e *Fusarium* tem sido freqüentemente relatadas em inúmeras culturas hospedeiras, bem como interações com *Rhizoctonia solani* e *Thielaviopsis basicola*, aumentando a severidade das doenças (Wesemael et al., 2011).

O principal método de controle para estes parasitas é preventivo, evitando-se a entrada nas áreas de cultivo, pois uma vez presentes dificilmente serão eliminados, por se tratar de microrganismos altamente polípagos e viverem na rizosfera. Devido a sua baixa mobilidade no solo os nematóides das galhas não são capazes de se disseminarem por longas áreas, sendo necessário um veículo para sua disseminação, que na maioria dos casos é feita por meio de mudas infestadas, máquinas e implementos agrícolas contaminados, calçados, sacarias, enxurradas e erosões (Moura, 1997).

Depois de presentes na área, o manejo deverá ser adotado, a fim de se manter as populações em níveis baixos, reduzindo assim seus danos. O controle químico é uma técnica usual, devido ao custo elevado de produtos, além de serem tóxicos ao meio ambiente e a outros organismos. Para obter um manejo satisfatório, a melhor alternativa seria integrando diferentes métodos de controle, como o controle cultural por meio da rotação de culturas, controle genético pelo uso de cultivares resistentes, controles físico, biológico e alternativo (Wesemael et al., 2011).

Segundo Santos et al. (2013), é importante conhecer os produtos que possuem efeito sobre a motilidade de *Meloidogyne* spp, pois podem reduzir outras variáveis nematológicas, influenciando fatores de reprodução e quantidade de nematoides capazes de penetrar raízes. Assim, o uso de princípios químicos naturais no manejo de fitonematoides, torna-se uma excelente estratégia para sistemas de produção de interesse agrícola em que um patógeno polífago e com alta capacidade reprodutiva e adaptativa como o *Meloidogyne* spp. possa atacar (Reis, 2014).

A utilização de extrato aquoso de plantas no controle de fitonematóides torna-se uma ferramenta importante, pois além de seu efeito comprovado ao estudar diversas espécies de plantas como apresentado por Martins & Santos(2016) , onde os extratos das espécies agrião-do-brejo, alfavaca, artemísia, chambá, e lombrigueira apresentaram efeito nematostático e nematicida elevados sobre *Meloidogyne incognita* raça, Esta constitui-se numa técnica simples de ser executada, facilitando sua adoção no manejo em pequenas propriedades, e também em áreas maiores onde os sintomas do ataque da praga se apresenta em reboleiras.

Em Estudo com diferentes concentrações de extratos de *Curcuma longa* (açafraão-da-terra), observaram que todas as concentrações do extrato reduziram a eclosão de *M. incognita* Mioranza et al. (2016),. Já Martins& Santos, 2016, relataram que os extratos de mastruz causaram total mortalidade dos juvenis, e Ferreira et al., 2013 constataram que os extratos aquosos de espécies testadas da família Asteraceae inibiram a eclosão de juvenis de *M. incognita*, quando comparados ao tratamento controle.

O nim (*Azadirachta indica*) é uma espécie arbórea originária da Ásia, possui grande potencial no controle de pragas por conter características como, amplo espectro de ação, ser compatível com outras formas de manejo, não ter ação fitotóxica, e ser praticamente atóxico ao homem (Chagas & Vieira, 2017).

Existem estudos desta espécie sobre nematoides em plantas como o estudo de Hussain, et al., (2011), ao testarem o efeito nematicida de quatro plantas, *A. Indica*, *Calotropis procera*, *Datura stramonium*, *Tagetes erecta*, observaram a maior redução de número de galhas, massa de ovos e fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne incognita*, utilizando extrato de *A. indica* e *C. procera*.

O Rubim (*Leonurus sibiricus* L.) conhecida em algumas regiões como Macaé, é originária da Ásia e pertence à família das Lamiaceae. Apresenta crescimento espontâneo em quase todo território brasileiro e é utilizada na medicina tradicional como tratamento para resfriado, bronquite e reumatismo (Castellucci et al., 2000), chás de partes verdes são utilizadas também para estancar sangramento pós-parto, menstruação excessiva, bem como contra edema, abscessos e problemas renais (Bown, 1995).

A espécie possui atividade anti-inflamatória e ação alelopática, envolvendo metabólitos secundários que têm influência sobre sistemas biológicos, incluindo efeitos de inibição ou estimulação (Bastos et al., 2014). Ferrão et al. (2012), observaram a ficasse-a do extrato aquoso das folhas de Rubim no controle de estrongilídeos, nematoides intestinais de caprinos da família *Strongylidae*, apresentando redução 62% na eclosão de J2.

Diante das perdas que este patógeno traz as culturas comerciais e as dificuldades de seu controle, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do extrato aquoso de Nim e Rubim sobre a eclosão e mortalidade de juvenis de ovos de *Meloidogyne javanica in vitro*.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado e conduzido no laboratório de Nematologia e de Química Analítica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos.

Os ovos foram obtidos a partir de raízes infectadas de quiabo da horta do Instituto. As raízes com sintomas de galhas foram lavadas cuidadosamente para retirada do excesso de terra, e picadas em pedaços de, aproximadamente, um centímetro e em seguida pesadas, transferidas 100g para o liquidificador onde foi adicionada solução de hipoclorito de sódio na concentração de 0,5% até cobri-las. As raízes foram trituradas por 20 segundos na menor velocidade. Essa suspensão foi vertida na peneira de 20 mesh sobreposta a de 200, e 500 mesh. Com auxílio de uma pisseta a suspensão retida na peneira de 500 mesh foi transferida para um béquer de acordo com a técnica de Boneti & Ferraz (1981). A suspensão, contendo os ovos, foi quantificada em câmaras de Peters e calibrada para 500 ovos/ml em microscópio binocular.

Raízes com galhas de quiabo infectadas com *M. javanica* foram colhidas, lavadas e seccionadas. Foram trituradas no liquidificador por 20 segundos na menor

velocidade, com solução de hipoclorito de sódio 0,5%, e vertidas na peneira de 20 mesh sobreposta as de 200 e 500 mesh, para obtenção de ovos de acordo com a metodologia de Boneti & Ferraz (1981). Os juvenis de segundo estágio foram obtidos a partir de ovos, utilizando-se o método do funil de Baermann modificado (1917). Após 48 horas, a suspensão contendo os juvenis foi transferida para um béquer, e calibrada para 200 juvenis/ml.

Os extratos aquosos foram obtidos segundo adaptação da metodologia utilizada por Ferris & Zheng (1999), onde adicionaram-se 100 ml de água destilada (temperatura ambiente), a 5, 10, 15, 20 e 25g de folhas secas contidas em béquers os quais foram cobertos e mantidos em repouso por 24 horas. Decorrido este tempo, procedeu-se à maceração em almofariz com auxílio de um pistilo. O extrato foi filtrado em papel filtro quantitativo Unifil, obtendo-se os extratos por maceração, a 5, 10, 15, 20 e 25 % (p/v).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, composto de seis tratamentos e seis repetições e duas espécies de plantas, totalizando 66 unidades experimentais. Os tratamentos constituíram de 5%, 10%, 15%, 20%, 25% (p/v), do extrato aquoso de folhas de *A. indica* e *L. sibiricus*, mais o controle negativo contendo apenas água destilada.

As avaliações para determinar a ação dos extratos vegetais foram realizadas sob microscópio estereoscópio observando-se a movimentação dos juvenis, 24 horas após a montagem dos ensaios. Antes de se iniciar as contagens foi adicionado 1 μ l da solução de hidróxido de sódio 1N, para estimular a movimentação de juvenis vivos, como metodologia proposta por Chen & Dickson (2000). Indivíduos que apresentassem o corpo em formato retilíneo após 30 segundos da adição de hidróxido de sódio foram considerados como mortos.

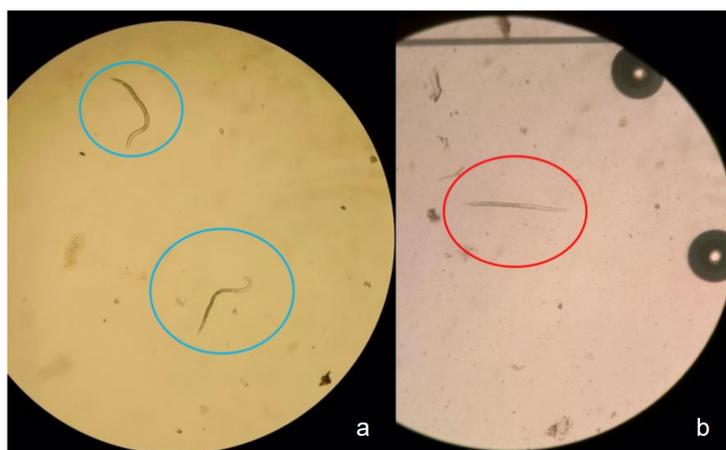


Figura 1. Juvenis de *Meloidogyne javanica* enfatizando o posicionamento de nematoides considerados vivos (a), e mortos (b)

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, composto de seis tratamentos e seis repetições e duas espécies de plantas, totalizando 66 unidades

experimentais. Os tratamentos foram 5%, 10%, 15%, 20%, 25% (p/v), do extrato aquoso de folhas de *A. indica* e *L. sibiricus*, mais o controle negativo contendo água destilada.

Foi adicionado 1ml da suspensão contendo 500 ovos/ml, mais 1 ml do extrato aquoso, em um tubo de ensaio, que foi colocado em BOD a temperatura de 26 °C por 15 dias. Decorrido o período foi realizada as avaliações por meio da contagem sobre microscópio estereoscópio dos juvenis eclodidos.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da ação dos extratos aquosos folhas de Nim e de e Rubim em diferentes concentrações sobre a mortalidade de juvenis de *M. javanica*, estão apresentados nas Tabelas 1 e 2. No caso da utilização de Nim, a mortalidade in vitro de *M. javanica* foi crescente de acordo com o aumento na concentração no extrato aquoso, sendo que todos diferiram do controle negativo (água destilada). As concentrações 10, 15, 20 e 25% foram as que mais reduziram o percentual de mortalidade, não diferindo estatisticamente entre si. O tratamento com utilização do extrato de 25 % de Nim reduziu 59% da mortalidade quando comparado ao controle negativo (Tabela 1).

Tratamentos	Médias
Controle negativo	7,91 A
Nim5%	35,00 B
Nim10%	54,25 C
Nim15%	59,25 C
Nim20%	61,08 C
Nim25%	67,41 C
CV (%)	17,32
DMS	14,45

Tabela 1. Percentual de Mortalidade in vitro de J2 de *Meloidogyne javanica*, após 24 horas de imersão em função de diferentes concentrações de extratos de Nim. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao Rubim, todos os tratamentos também diferiram estatisticamente do controle negativo, sendo que a concentração a 25% promoveu níveis de mortalidade superior, reduzindo o percentual de mortalidade em mais de 63% comparado ao controle negativo (Tabela 2).

Tratamentos	Médias
Controle negativo	7,91 A
Rubim 5%	50.00 B
Rubim 10%	51.33 B

Rubim 15%	52.75 B
Rubim 20%	61,08 BC
Rubim 25%	71.58 C
CV (%)	15,73
DMS	13,59

Tabela 2. Percentual de Mortalidade *in vitro* de J2 de *Meloidogyne javanica*, após 24 horas de imersão em função de diferentes concentrações de extratos de Rubim. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Foi possível observar também que ambos os extratos inibiram a eclosão de juvenis de *M. javanica*. Na utilização de Nim, todos os tratamentos diferiram do controle, sendo que a concentração de Nim a 25% promoveu a maior inibição da eclosão, de J2, sendo 78% a mais comparada ao controle negativo, não contrastando quando se utilizou a concentração de 20%, diferindo significativamente das demais concentrações (Tabela 3).

Tratamentos	Médias
Controle negativo	84,70 E
Nim 5%	34.40 D
Nim 10%	22.80 C
Nim 15%	16.40 BC
Nim 20%	11.60 AB
Nim 25%	7.10 A
CV (%)	13,28
DMS	6,88

Tabela 3. Percentual de J2 de *Meloidogyne javanica*, eclodidos após 15 dias de imersão em função de diferentes concentrações do extrato aquoso de Nim. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O mesmo comportamento foi observado quando se utilizou o extrato aquoso de Rubim (Tabela 4).

Tratamentos	Médias
Controle negativo	84,70 E
Rubim 5%	25.06 D
Rubim 10%	16.00 C
Rubim 15%	10.80 BC
Rubim 20%	5.60 AB
Rubim 25%	2.40 A
CV (%)	13,28
DMS	6,88

Tabela 4. Percentual de J2 de *Meloidogyne javanica*, eclodidos após 15 dias de imersão em função de diferentes concentrações do extrato aquoso de Rubim. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Neste trabalho confirmou-se a viabilidade da utilização de extratos aquosos de

plantas para o controle de *M. javanica*. No Brasil e em outras regiões do mundo há um número considerável de plantas com poder anti-helmíntico em seres humanos e em animais, sendo que seus resíduos, extratos aquosos e/ou óleos essenciais podem ser utilizados também para o controle de nematoides em plantas (Lopes et al, 2005; Moreira et al., 2015). Por se tratar de um patógeno de solo, uma vez que este é introduzido em uma área considerada indene, a erradicação de *M. javanica* se torna impossível, pois forma mecanismos de resistência (massa gelatinosa de ovos, que podem permanecer dormentes em condições desfavoráveis de desenvolvimento), além de ser um patógeno polífago (ou seja, com muitas plantas hospedeira, como o cafeeiro, soja, cana-de-açúcar, feijão, milho, hortaliças, etc) e de ampla distribuição. No combate desta praga, a utilização de nematicidas é ineficiente tanto econômica, pois os produtos são caros, como ambientalmente, pois os ingredientes ativos são altamente tóxicos e biocidas (pode matar uma grande quantidade de microrganismos, até mesmo os benéficos). Então é imprescindível a busca de novos métodos para o manejo de *M. javanica*, sendo que as técnicas de controle devem ser aplicadas de forma integrada, pois a utilização de uma só tática pode ser ineficiente no combate do nematoide em questão.

Estudos da utilização de Nim no controle de insetos-praga e fitopatógenos (principalmente fungos) são abundantes e bem conhecidos. Gon et al. (2014) observaram excelentes níveis de controle em condições de campo de pulgões e cochonilhas associadas a tomateiro em todas as concentrações de extrato testadas, além de interferir negativamente na oviposição de mosca branca. Ferreira et al. (2014) verificaram que o extrato aquoso de Nim promoveu inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose do mamoeiro. Quanto ao gênero *Meloidogyne*, Dourado et al. (2013) verificaram que o óleo essencial de Nim a 1% foi eficiente no controle da mobilidade de *M. incognita*, e quando aplicado via foliar mais via solo, o óleo essencial reduziu significativamente o número de galhas em raízes de tomateiro. Gardiano et al. (2009), ao testar diferentes extratos de plantas no controle de *M. javanica*, verificou que o extrato de Nim e outras plantas apresentou efeito positivo na altura das plantas de tomateiro aos 60 dias após a inoculação com *M. javanica*, além de proporcionar maior peso da parte aérea e das raízes.

No presente trabalho, foi realizado somente a avaliação *in vitro* da mortalidade de juvenis e eclosão de ovos de *M. javanica*. Contudo, os resultados são animadores, pois confirmam a viabilidade da utilização de Nim e Rubim no controle de nematoides. Para maior economia da utilização de extrato aquoso de Nim, a utilização da concentração de 10% já é suficiente para bons níveis de controle. Se o objetivo for a redução da eclosão de ovos, pode-se utilizar o extrato a partir da concentração de 20%. Futuros experimentos serão realizados para a confirmação do efeito na mortalidade de juvenis e na eclosão de ovos a nível de casa de vegetação e em condições de campo.

Em relação à utilização de Rubim, é bem sabida a propriedade anti-microbiana da planta, incluindo efeitos contra organismos vermiformes que são parasitas tanto em humanos como em animais (Ferrão et al. 2012; Reis et al., 2015; Wadt et al., 1996). Contudo, não se encontrou na literatura relatos de efeitos da utilização de produtos com base em Rubim (extratos aquosos, óleos essenciais e outros) no controle de fitopatógenos, abrindo-se assim com o presente trabalho uma nova linha de pesquisa. Como no caso do Nim, os resultados da utilização de extrato aquoso de Rubim são também animadores, podendo-se utilizar a concentração a partir de 20% para se observar elevada mortalidade de juvenis e redução da eclosão de ovos de *M. javanica*. Também nesse caso testes em condições de casa de vegetação e de campo são necessários para a confirmação do efeito de Rubim sobre o nematoide e também em outros fitopatógenos.

4 | CONCLUSÃO

Os extratos de Nim e de Rubim tiveram efeito significativo na eclosão e na mortalidade de juvenis de *M. javanica*. Para o Nim, a utilização do extrato na concentração de 10 % promoveu os maiores níveis de mortalidade dos juvenis e a partir de 20% promoveu uma redução drástica na eclosão dos juvenis, e para o Rubim, a concentração a partir de 20% para provocou os maiores níveis de mortalidade de juvenis e maior redução na eclosão de ovos de *M. javanica*.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, LFR; DELACHIAVE MEA; MARQUES MOM. **Composição do óleo essencial de rubim (*Leonurus sibiricus* L. – *Lamiaceae*)**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.8, n.1, p.35-38, 2005.

BASTOS JAR; PINTO R; PONTES CS; FAUSTO GC; CARVALHO CA; SARAIVA LHG. **Tratamento antiparasitário em bovinos com erva-demacacé (*leonurus sibiricus*) e pau-de-jacaré (*piptadenia gonoacantha*) – Uma alternativa terapêutica**. Anais VI SIMPAC - Volume 6 - n. 1 - Viçosa-MG. p. 519-524, 2014.

BONETI JIS; FERRAZ S.. **Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro**. Fitopatologia Brasileira. Brasília, v.6, n.3, p.553, 1981.

BOWN, D. **The Herb Society of America: encyclopedia of herbs and their uses**. New York: Darling Kindersley Public, 225p, 1995.

CASTELLUCCI; SIMONE; LIMA; MARIA IS; NORDI; MARQUES; JOSE G.W. **Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na estação ecológica de Jataí, município de Luís Antônio/ SP: uma abordagem etnobotânica**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.3, p.51-60, 2000.

CHAGAS ACS; VIEIRA LS. **Ação de *Azadirachta indica* (Neem) em nematoides gastrintestinais de caprinos**. Embrapa Caprinos, Sobral – CE, 2007.

DOURADO DP; LIMA FSO; MURAISHI CT. **Nematicidal activity in vitro and in vivo of neem**

oil on *Meloidogyne incognita*. Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science, Guarapuava, v.6, n.1, p.63-68, 2013.

FERRÃO BH; MOLINARI RF; TEIXEIRA MB; MARTINS CM; REIS KRP; CARVALHO GD; CARVALHO CA. **Prospecção fitoquímica, potencial anti-helmíntico e análise toxicológica de Macaé (*L. sibiricus* L.)**. Revista Brasileira de Farmácia, v. 93, n. 3. P. 353 -358, 2012.

FERREIRA EV; SÃO JOSÉ AR; BOMFIM MP; PORTO JS; DE JESUS JS.. **Uso de extratos vegetais no controle *in vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. coletado em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal , v. 36, n. 2, p. 346-352, 2014.

FERRIS H; ZHENG L. **Plant sources of Chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica***. Journal of Nematology, v. 31, n. 3, p. 241-263, 1999..

GARDIANO CG; FERRAZ S; LOPES EA; FERREIRA PA; AMORA DX; FREITAS LG. **Avaliação dos extratos aquosos de várias espécies vegetais, aplicados ao solo, sobre *Meloidogyne javanica***. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 30, n. 3, p. 551-556, 2009.

GON DA; TOSCANO LC; CATALANI GC; DIAS PM. **Uso de extrato de nim no controle de pragas na cultura do tomate**. Tecnologia & Ciência Agropecuária,, João Pessoa, v.8, n.5, p.67-72, 2014.

LOPES EA; FERRAZ S; FREITAS LG; FERREIRA PA; AMORA DX. **Efeito dos extratos aquosos de mucuna preta e manjeriço sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica***. Nematologia Brasileira, v. 29, n. 1, p. 67 – 74, 2005.

MARTINS MCB; SANTOS C D G. **Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 21**. Revista Ciência Agronômica, v. 47, n. 1, p. 135-142, 2016.

MIORANZA TM; MÜLLER A; INAGAKI AM, FUCHS F; COLTRO-RONCATO S; STANGARLIN JR; KUHN OJ. **Potencial nematicida e nematostático do extrato de *Curcuma longa* sobre *Meloidogyne incognita***. Revista de Ciências Agroambientais Alta Floresta, MT, UNEMAT – ISSN 1677-6062 v.14, n.1, p.104-109, 2016.

MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. ***Meloidogyne* species—a diverse group of novel and important plant parasites**. Root-knot nematodes, v. 1, p. 483. 2009.

MOREIRA FJC; SANTOS CDG; INNECCO R; SILVA GS. **Controle alternativo de nematoide das galhas (*Meloidogyne incognita*) raça 2, com óleos essenciais em solo**. Summa Phytopathologica, v.41, n.3, p.207-213, 2015.

REIS A S. **Bioatividade de extratos de resíduo sólido de sisal no controle de *Meloidogyne javanica* no tomateiro**. Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. (Tese Mestrado). 2014.

REIS KP; NONATO IA; CARVALHO GD; CARVALHO CA; CAMPOS AK. **Efeito *in vitro* de *Leonorus sibiricus* (Lamiaceae) contra *estrangilídeos***. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.21, p.3509 – 3515. 2015.

SANTOS MCV; ESTEVES I; KERRY B; ABRANTES S. **Biology, growth parameters and enzymatic activity of *Pochonia chlamydosporia* isolated from potato cyst and root-knot nematodes**. Nematology, Leida, v.15, n.4, p.505-506. 2013.

SASSER, J.N. **Worldwide dissemination and importance of root-knot nematodes (*Meloidogyne spp.*)** Journal Nematol. 9:26-9, 1977.

TIHOHOD, D. Nematologia agrícola aplicada. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000.

WADT NSY; OHARA MT; SAKUDA-KANEKO TM; BACCHI E. **Atividade microbiana de *Leonorus sibiricus***. Revista Brasileira de Farmacognosia, São Paulo, v. 5, n. 2. p. 167 – 174, 1996.

WESEMAEL, W.M.L.; VIAENE, N.; MOENS, M. **Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe**. Nematology, Leiden, v. 13, n. 1, p. 3-16, 2011.

AVALIAÇÃO DE GLICOSIDASES EXTRACELULARES PRODUZIDAS POR LEVEDURAS OBTIDAS DA MICROBIOTA INTESTINAL DE LARVAS DE *Hypsipyla* *spp.* (*Lepidoptera: Pyralidae*)

John Lucas Ribeiro

Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará – Belém/Pará

Yuri Rafael de Oliveira Silva

Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará – Belém/Pará

Ana Luiza Freire

Departamento de Microbiologia - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte/MG

Carlos Augusto Rosa

Departamento de Microbiologia - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais - Belo Horizonte/MG

Agenor Valadares Santos

Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará – Belém/Pará

Luciana Pereira Xavier

Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará – Belém/Pará

como a microbiota de insetos, é importante para se obter tanto micro-organismos como enzimas com potencial de aplicação biotecnológica. As glicosidases são enzimas que catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas em oligossacarídeos e glicoconjugados, e utilizadas na produção de biocombustíveis e na indústria de alimentos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade de α - e β -glicosidases extracelulares produzidas por leveduras endossimbiontes obtidas do intestino de larvas da Broca-da-Andiroba (*Hypsipyla spp.*). Os isolados foram selecionados para a produção de glicosidases extracelulares em meio sólido na presença de Esculina 0,1%. O efeito do pH (4,0-9,0) e temperatura (25°C-70°C) na atividade de glicosidase, foi analisado usando *p*-nitrofenil-glicopiranosídeo como substrato. Todas as leveduras apresentaram atividade enzimática extracelular: β -glicosidase - pH ótimo alcalino e temperatura ótima ~40°C, com destaque para a cepa *Candida jaroonii* (M2); α -glicosidase – pH ótimo variando de ácido à alcalino e temperatura >40°C, destacando as cepas *Candida tropicalis* (M4) e *Candida jaroonii* (M2) com atividade a 70°C, 76 mU.ml⁻¹ e 91 mU.ml⁻¹, respectivamente. Atividades mais altas em pH alcalino permitem uma mais ampla aplicação desta classe de enzimas. O presente trabalho é pioneiro no estudo de glicosidases de leveduras da microbiota de *Hypsipyla spp.*

RESUMO: A bioprospecção de micro-organismos de ambientes não explorados,

PALAVRAS-CHAVE: enzimas, levedura, larvas, broca do broto

EVALUATION OF EXTRACELLULAR GLUCOSIDASES PRODUCED BY YEASTS FROM THE GUT MICROBIOTA OF *Hypsipyla* spp. LARVAE (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)

ABSTRACT: Bioprospection of microorganisms at unexplored sites, such as insect microbiota, is important for obtaining both microorganisms and enzymes, with potential biotechnological applications. Glucosidases are enzymes that catalyze the hydrolysis of glycosidic bonds of oligosaccharides and glycoconjugates, used in the production of biofuels and the food industry. The objective of this work was the evaluation of extracellular α - and β -glucosidases produced by endosymbiont yeasts from the gut of Broca-da-Andiroba larvae (*Hypsipyla* spp.). The isolates were screened for the production of extracellular glucosidase on solid medium in the presence Esculin 0.1%. The effect of pH (4.0-9.0) and temperature (25°C-70°C) on glucosidase activity were analyzed using p-nitrophenyl-glucopyranoside as substrate. All yeasts had extracellular enzymatic activity: β -glucosidases showed an alkaline pH optimum and temperature \sim 40°C, highlighting the strain *Candida jaroonii* (M2). α -glucosidases presented a pH optimum ranging from acid to alkaline and temperature $>$ 40°C, highlighting the strains *Candida tropicalis* (M4) and *Candida jaroonii* (M2) with activity at 70°C, 76 mU.ml⁻¹ and 91 mU.ml⁻¹, respectively. Higher activities in alkaline pH can provide a broader application of this class of enzymes. The present work is pioneer in the study of yeast glucosidases of *Hypsipyla* spp. microbiota.

KEYWORDS: enzymes, yeast, larvae, shoot borer

1 | INTRODUÇÃO

A *Carapa guianensis* Aublet e *C. procera* DeCandolle (Meliaceae), conhecidas popularmente como Andiroba, são espécies arbóreas de uso variado como anti-inflamatório, cicatrizante, velas repelentes, entre outros (FERRAZ; CAMARGO; SAMPAIO, 2002; PINTO, 2007). O óleo extraído de suas sementes possui alto valor comercial sendo alvo de interesse em diferentes segmentos industriais como os de fármacos e cosméticos (GOMES, 2010).

Os principais insetos que predam as semente de andirobeiras são larvas das espécies *Hypsipyla ferrealis* Hampson e *H. grandella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) (JESUS-BARROS et al., 2015 e 2014; PINTO et al., 2013). A ação destes insetos nas sementes na Andiroba reduz o potencial de germinação, alterando a capacidade de regeneração das espécies, e conseqüentemente na redução da quantidade e qualidade do óleo extraído (CRAWLEY; GILLMAN, 1989; PINTO, 2007).

No Brasil, a *H. grandella* preda, além da andirobeira, o meristema apical de outras espécies da família Meliaceae, como o cedro (*Cedrela odorata* L.) e o mogno (*Swietenia macrophylla* King), podendo atacar as sementes ou se desenvolver no

interior do tecido prejudicando o crescimento das plantas jovens (JESUS-BARROS et al., 2015). A *H. ferrealis* é conhecida como broca-das-sementes e sua presença já foi relatada nos estados do Pará (BECKER, 1971), Amapá (JORDÃO; SILVA, 2006), Roraima (JORDÃO; SILVA, 2006; QUERINO et al., 2008), Amazonas (PINTO, 2007) e Acre (SANTOS; PELLICCIOTTI, 2016).

A capacidade dos insetos predarem diferentes partes de uma planta bem como diferentes plantas contribuiu de certa forma para o sucesso evolutivo da classe. De acordo com a estimativa global feita por Stork (2018), a classe insecta possui cerca de 5,5 milhões de espécies vivas. Este fenômeno tem sido explicado pela habilidade dos insetos em utilizarem uma gama extensa de materiais orgânicos na sua nutrição (madeira, húmus, cera, sangue, seiva, tecidos animais e vegetais, etc). Além de digerirem materiais refratários (ex. madeira e cera), eles exploram recursos tóxicos não acessíveis a outros animais, como os inibidores enzimáticos. Esta capacidade digestiva depende das enzimas presentes e compartimentalizadas no intestino do inseto (TERRA et al., 1996). A organização do processo digestivo depende da compartimentalização das enzimas digestivas e do fluxo do intestino médio que são responsáveis pela translocação das enzimas e dos produtos da digestão (TERRA; FERREIRA, 1994; TERRA et al. 1996, HOLTOF et al., 2019).

As enzimas encontradas nos insetos são sintetizadas pelos próprios insetos (homólogas) ou por organismos simbióticos localizados no corpo dos insetos (heterólogas). O uso destas enzimas para aplicações nos campos da biotecnologia industrial ganha cada vez mais interesse. Exemplos importantes de enzimas derivadas de insetos incluem proteases, amilases, lipases, celulasas, quitinases e glicosidases (FISCHER; OSTAFE; TWYMAN, 2013; MIKA; ZORN; RÜHL, 2013; MERZENDORFER, 2013).

Celulasas são enzimas envolvidas na hidrólise de moléculas de celulose em monossacarídeos ou polissacarídeos menores. Três classes de enzimas compõem as celulasas: (a) endo- β -1,4-glicanases (E.C. 3.2.1.4), responsáveis por clivar ligações β -1,4-glicosídicas internas das cadeias de celulose, gerando cadeias de glicanos de diferentes tamanhos; (b) exo- β -1,4-glicanases (E.C. 3.2.1.91), que agem na ponta das cadeias de celulose, liberando β -celobiose; e (c) β -1,4-glicosidases (E.C. 3.2.1.21), que hidrolisam a celobiose gerando glicose.

As glicosidases são enzimas que hidrolisam ligações glicosídicas de oligossacarídeos e polissacarídeos, liberando α -glicose ou β -glicose. As α -glicosidases são muito utilizadas na indústria alimentícia, principalmente na fabricação de cerveja e xarope de glicose (TAYLOR; DEWAR, 1994; BADHAN et al., 2007; AKINLOYE et al., 2012), assim como na produção de etanol, realizando a hidrólise do amido em açúcares fermentáveis (MUSLIN et al., 2002). As β -glicosidases são investigadas principalmente com a finalidade de degradação da celulose para a produção de biocombustíveis, mas também tem papel importante nas indústrias de alimentos e bebidas, de papel, de cosméticos e farmacêutica (SINGH; VERMA; KUMAR, 2016).

Estima-se que aproximadamente 20% de todos os insetos estão obrigatoriamente associados a micro-organismos simbióticos, e é provável que esta associação tenha contribuído grandemente para seu sucesso evolutivo (FELDAAR; GROSS, 2008). Leveduras simbiontes de insetos estão relacionadas ao auxílio direto no processo de digestão e na detoxificação de material ingerido de plantas, podendo prover suplemento nutricional ao hospedeiro. Os insetos envolvidos nesta associação incluem membros das ordens Coleoptera, Diptera, Homoptera, Hymenoptera, Isoptera, entre outros (VEGA; DOWD, 2005; ROSENBLUETH et al., 2018).

Apesar do enorme potencial da microbiota intestinal dos insetos, pouco é estudado sobre o potencial biotecnológico das enzimas produzidas pelos micro-organismos simbióticos. Os lepidópteros não são exceção, os estudos sobre as microbiotas das espécies pertencentes a esta ordem de insetos normalmente limitam-se ao interesse entomológico da questão, e exploram majoritariamente as bactérias do intestino médio (SITTENFELD et al., 2002; BRODERICK et al., 2004; ERTURK; DEMIRBAG, 2006; BRINKMANN; MARTENS; TEBBE, 2008; BRODERICK et al., 2009; CHEN et al., 2016; SNYMAN et al., 2016).

O potencial de aplicação biotecnológica das enzimas obtidas a partir de micro-organismos já é conhecido, visto que aproximadamente 85% das enzimas industriais é de fonte bacteriana ou fúngica (GARG et al., 2016). A busca por enzimas na microbiota de insetos tem recebido algum destaque apenas nos últimos anos, contudo tem sido pouco explorada devido à dificuldade no cultivo de muitos dos micro-organismos presentes (CHAVES; NETO; TENREIRO, 2009; SHI et al., 2010; BERASATEGUI et al., 2016).

Parte dos estudos neste sentido foram voltados para os termitas, na prospecção de lignocelulases produzidas tanto pelos insetos quanto por seus endossimbiontes (SCHARF, 2015). Sabe-se também que existem endossimbiontes capazes de degradar celulose, em diferentes ordens de insetos, inclusive nos lepidópteros *Bombyx mori*, *Samia cynthia pryeri* e *Diatraea saccharalis* (CALDERÓN-CORTÉS et al., 2012; DANTUR et al., 2015).

A maioria das indústrias como a de couro, alimentos, têxteis, síntese orgânica, farmacêutica e indústria de detergentes dependem em parte do processo enzimático, o que acarreta uma maior demanda por produção de enzimas (KANNAN et al., 2019). MIKA, ZORN e RÜHL (2013), em trabalho de revisão, pontuam que tanto as enzimas obtidas dos insetos ou dos micro-organismos associados possuem alta demanda na indústria de alimentos, por reduzirem fatores antinutricionais.

Até o momento não há relatos na literatura quanto aos micro-organismos que compõem a microbiota de larvas de *Hypsipyla* spp. ou sobre quais as reações hidrolíticas que ocorrem em seu trato intestinal. Portanto o objetivo deste trabalho foi a detecção e a caracterização de α - e β -glicosidases extracelulares produzidas por leveduras isoladas do intestino de larvas da Broca-da-Andiroba (*Hypsipyla* spp.) (Lepidoptera: Pyralidae).

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Isolamento e identificação das leveduras

As leveduras utilizadas neste trabalho pertencem à coleção do Laboratório de Biotecnologia de Enzimas e Biotransformações (LaBEB), ICB-UFPA (registro no SISGEN sob nº A5B286D). Os micro-organismos foram obtidos do intestino de larvas em condições assépticas. As leveduras foram isoladas por diluição seriada e posterior inoculação em meio Sabouraud. A identificação foi feita com base comparativa na região ITS e a região D1/D2 da subunidade maior do gene do rRNA de cada uma das amostras. As regiões foram sequenciadas utilizando-se o DYEnamic™ (Amersham, Biosciences) no sistema de sequenciamento automático MegaBACETM 1000. A análise das sequências foi realizada utilizando o programa BLAST nucleotídeo-nucleotídeo (BLASTn) versão 2.215 do BLAST 2.0, disponível no portal NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>), comparando as sequências obtidas com as depositadas no GenBank.

2.2 Detecção da atividade glicosidásica

A atividade enzimática foi detectada através de ensaios de degradação de substrato em ágar, adicionando Esculina (0,1%) e Citrato Férrico de Amônio (0,05%) ao meio de cultura YPD (Extrato de levedura 1%, peptona 2%, dextrose 1%). Os micro-organismos foram inoculados em ponto central e incubados a 30°C por 24h, a presença de glicosidases foi detectada pela formação de halo marrom escuro a preto.

2.3 Obtenção do extrato enzimático

O extrato enzimático foi produzido pelo cultivo *overnight* dos micro-organismos em meio líquido YM (Glicose 1%, Peptona 0,5%, Extrato de Levedura 0,3%, Extrato de Malte 0,3%), sob agitação (100 rpm/min) e temperatura 30°C, seguido de centrifugação a 3000 x *g* por 15 minutos. O *pellet* foi descartado e o sobrenadante foi considerado como extrato enzimático extracelular.

2.4 Determinação de atividade de α - and β -glicosidase

A quantificação da atividade enzimática foi realizada por método colorimétrico em espectrofotômetro (ZELCK; TRIPPENSEE; BECKER, 1996). O método consiste em quantificar o *p*-nitrofenol, que apresenta absorvância em 405nm, produzido pela hidrólise de *p*-nitrofenol- β -D-glicopiranosídeo ou *p*-nitrofenol- α -D-glicopiranosídeo pelo extrato enzimático. O ensaio foi realizado em diferentes valores de pH (4,0 a 9,0) e de temperatura (25°C a 70°C) para determinar pH ótimo e temperatura ótima de cada atividade enzimática. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas. Uma unidade enzima foi definida como a quantidade de enzima que hidrolisa 1 μ mol de

pNGP por minuto nas condições de ensaio.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das seis leveduras previamente isoladas, todas foram identificadas como pertencentes ao gênero *Candida* (Tabela 1). A isolada LU2 foi identificada como *Candida tropicalis*. Leveduras desta espécie já tiveram atividade de α -glicosidase descrita, por exemplo três tipos de alfa-glicosidases já foram isoladas a partir da cepa *japonica* desta espécie (SAWAI, 1956).

As outras cinco isoladas da microbiota larval da Broca-da-Andiroba foram identificadas como *Candida jaronii*. Esta espécie é pouco descrita na literatura e há apenas relato de isolamento desta espécie em diferentes regiões da Tailândia, cujo clima se assemelha ao da Amazônia, as espécies isoladas foram provenientes de flores, filófera de arroz, fungos e excrementos de insetos usados como fertilizantes (IMANISHI et al., 2008; LIMTONG; KAEWWICHIAN, 2015). Recentemente, *C. jaronii* foi isolada de madeira em decomposição do Brasil, dos ecossistemas de Mata Atlântica, Cerrado e Floresta Amazônica (LOPES et al., 2018).

Isolados (cód.)	Espécie	nº de acesso (GenBank)	Identidade	Gaps	Região rRNA
M1	<i>Candida jaronii</i>	KY106531	413/413(100%)	0/413(0%)	D1/D2
M2	<i>Candida jaronii</i>	KY106531	465/465(100%)	0/465(0%)	D1/D2
M3	<i>Candida jaronii</i>	KY106531	431/431(100%)	0/431(0%)	D1/D2
M4	<i>Candida jaronii</i>	KY106531	471/471(100%)	0/471(0%)	D1/D2
M5	<i>Candida jaronii</i>	KY106531	469/469(100%)	0/469(0%)	D1/D2
LU2	<i>Candida tropicalis</i>	KY106851	493/493(100%)	0/493(0%)	D1/D2

Tabela 1: Identificação das leveduras isoladas da microbiota intestinal da Broca-da-Andiroba.

A atividade enzimática extracelular se apresentou positiva para todas as leveduras avaliadas, avaliadas em placa com meio ágar-esculina, com enfoque à isolada *C. jaronii* (M2) que obteve o maior valor da razão halo/colônia, de 3,35 mm (Tabela 2).

Espécie	Razão halo/colônia (mm)
<i>Candida jaronii</i> (M1)	1,39
<i>Candida jaronii</i> (M2)	3,35
<i>Candida jaronii</i> (M3)	1,42
<i>Candida jaronii</i> (M4)	2,05
<i>Candida jaronii</i> (M5)	2,34
<i>Candida tropicalis</i> (LU2)	1,39

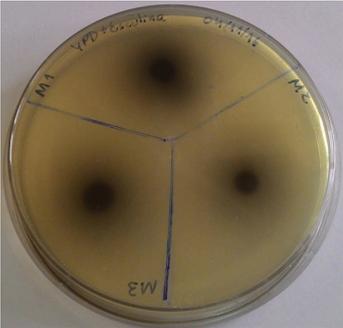


Tabela 2. Detecção de atividade de glicosidases em placa ágar-esculina. Em negrito destaca-

se a maior razão halo colônia. Em inserto resultado da atividade de glicosidase em placa dos isolados *C. jaroonii* (M1), *C. jaroonii* (M2) e *C. jaroonii* (M3).

Os micro-organismos avaliados foram submetidos à ensaios de atividade enzimática com substrato sintético para se analisar a especificidade e caracterizar a atividade glicosidásica de cada extrato enzimático. O ensaio de atividade de β -glicosidase foi realizado no extrato enzimático das cinco cepas de *C. jaroonii*, as quais apresentaram curva de atividade semelhantes, ocorrendo as melhores atividades em pH ácido (Tabela 3), assim como para a curva de atividade da isolada LU2, *C. tropicalis*. Tais resultados são condizentes com os descritos na literatura para atividades de β -glicosidases produzidas por leveduras (PERISIN; JARAK, 1995; SAHA; BOTHAST, 1996; NARASIMHA et al., 2016).

Leveduras	β -glicosidase		α -glicosidase	
	pH	Temperatura	pH	Temperatura
<i>C. jaroonii</i> (M1)	4,0; 7,5	35-50°C	4,5; 6,0; 8,0	40°C
<i>C. jaroonii</i> (M2)	4,0	50°C	6,0; 8,0	40°C
<i>C. jaroonii</i> (M3)	4,5	35°C	8,0	50-60°C
<i>C. jaroonii</i> (M4)	4,0; 5,0	40°C	5,0	70°C
<i>C. jaroonii</i> (M5)	5,0	40-60°C	4,5	40°C
<i>C. tropicalis</i> (LU2)	5,5	35°C	8,5	70°C

Tabela 3. Determinação dos valores máximos de pH e temperatura para atividades de α - e β -glicosidases extracelulares das leveduras isoladas.

O isolado que mostrou maior atividade mediante às condições testadas foi *C. jaroonii* (M1) (Figura 1). Pode-se observar um pequeno pico de atividade glicosidásica em pH 7,5, indicando a possível presença de mais de um tipo de β -glicosidase no extrato. A presença de atividade intracelular de β -glicosidase de *C. jaroonii*, isolada de ecossistema brasileiro, mostrou eficiência em fermentar celobiose (LOPES et al., 2018).

O pH intestinal varia dependendo da região analisada em muitos insetos (TERRA; FERREIRA, 1994) e este fato tem relação direta na produção e atividade enzimática por micro-organismos endossimbiontes. Na literatura encontram-se descritos pH ótimos de 4,5 à 6,0 (PRATVIEL-SOSA et al., 1994; FERREIRA et al., 1994; BÖER et al., 2004), entretanto nos ensaios de para determinação do efeito do pH na atividade de α -glicosidase foi observado atividade máxima das leveduras tanto em pH ácido como em pH alcalino (4,5 a 8,5) (Tabela 3). α -amilases alcalinas, da classe das glicosidases, têm seu uso já instituído na indústria de detergente. Esta aplicação se dá pela estabilidade destas enzimas à condições oxidativas, devido

à sua atividade em pH básico e em baixas temperaturas (SOUZA; MAGALHÃES, 2010). Além disso, aplicação na indústria alimentícia, da produção de xaropes à panificação, é bem descrita na literatura (SAINI et al., 2017).

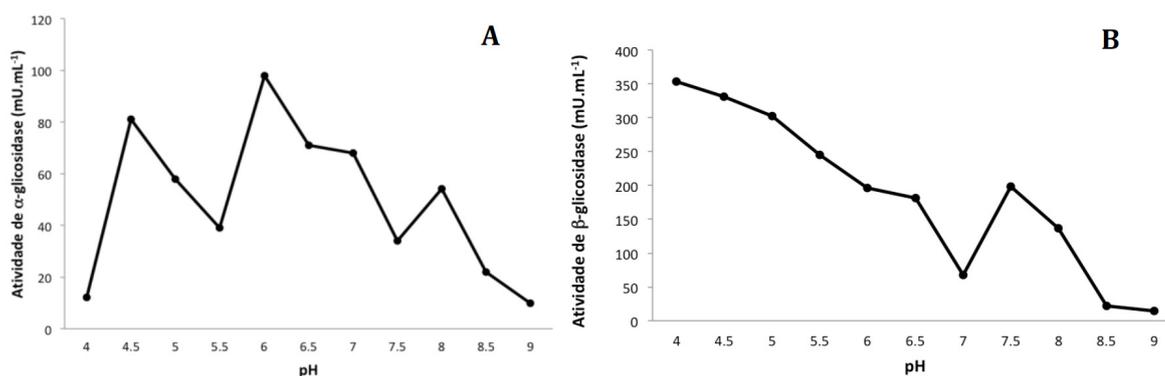


Figura 1. Avaliação do efeito da variação de pH nas atividades de α -glicosidase (A) e de β -glicosidase (B) extracelulares contidas no extrato de *C. jaroonii* (M1).

Quanto ao efeito de temperatura na atividade das β -glicosidases produzidas pelos isolados verificou-se que as temperaturas máximas variaram de 35°C à 60°C (Tabela 3), esta faixa de temperatura é bem descrita para β -glicosidases extracelulares (PERISIN; JARAK, 1995; KARNCHANATAT et al., 2007). Comportamento parecido ao encontrado para α -glicosidases, cuja variação foi de 40°C à 70°C (Figura 2).

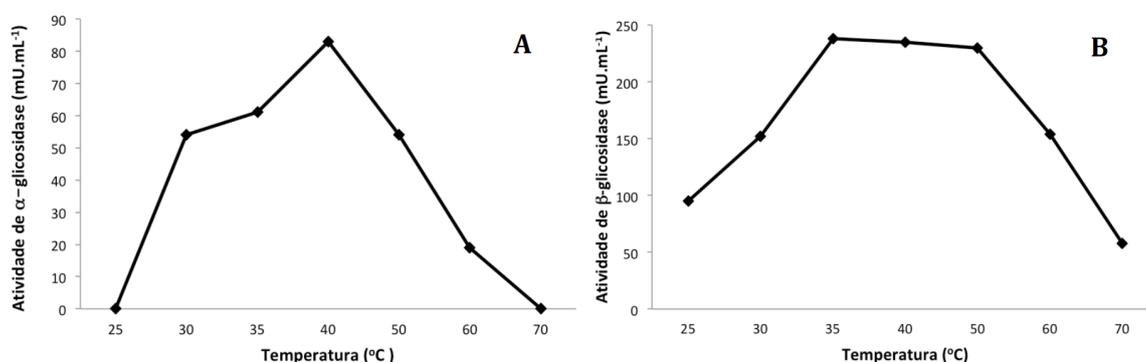


Figura 2. Avaliação do efeito da variação de temperatura nas atividades de α -glicosidase (A) e de β -glicosidase (B) extracelulares contidas no extrato de *C. jaroonii* (M1).

Karnchanat et al. (2007) em estudos com β -glicosidases extracelulares de *Daldinia eschscholzii* observaram que estas enzimas possuem termoestabilidade a 45°C, sendo que a 60°C a atividade decai e, a 70°C aproxima-se de zero. Tal comportamento frente a variação de temperatura também pode ser notado em nossos resultados (Figura 2) para todas as leveduras estudadas excetuando *C. jaroonii* (M4) e *C. tropicalis* (LU2).

4 | CONCLUSÃO

As enzimas, α -glicosidase e β -glicosidases, avaliadas neste trabalho apresentaram características com potencial para aplicação industrial, como atividade máxima em temperaturas elevadas e em pH alcalino, além de atividade em ampla faixa de temperatura. Portanto, avaliação de glicosidases produzidas por leveduras da microbiota de insetos, como a broca-da-Andiroba se mostrou uma abordagem eficiente para prospecção de enzimas e reafirma o potencial da biodiversidade amazônica tanto para enriquecimento teórico como para a obtenção de produtos com valor agregado.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro do CNPq e UFPA.

REFERÊNCIAS

- AKINLOYE, O. A. et al. Partial purification and some properties of α -glucosidase from *Trichoderma longibrachiatum*. **Biokemistri**. v. 24, n. 1, p. 31-37, 2012.
- BADHAN, A. K. et al. Production of multiple xylanolytic and cellulolytic enzymes by thermophilic fungus *Myceliophthora* sp. IMI 387099. **Bioresource Technology**. v. 98, n. 3, p. 504-510, fev. 2007.
- BECKER, V. O. Microlepidópteros que vivem nas essências florestais no Brasil. **Revista Floresta**. Curitiba, v. 3, n. 1, p. 85-90, jan./abr., 1971.
- BERASATEGUI, A. et al. Potential applications of insect symbionts in biotechnology. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 100, n. 4, p.1567-1577, 2016.
- BÖER, E. et al. Characterization of the AINV gene and the encoded invertase from the dimorphic yeast *Arxula adenivorans*. **Antonie van Leeuwenhoek**. v. 86, p. 121-134, 2004.
- BRINKMANN, N.; MARTENS, R.; TEBBE, C. C. Origin and Diversity of Metabolically Active Gut Bacteria from Laboratory-Bred Larvae of *Manduca sexta* (Sphingidae, Lepidoptera, Insecta). **Appl. Environ. Microbiol.** v. 74, n. 23, p. 7189-7196, 10 out. 2008.
- BRODERICK, N. A. et al. Census of the Bacterial Community of the Gypsy Moth Larval Midgut by Using Culturing and Culture-Independent Methods. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 70, n. 1, p.293-300, 1 jan, 2004.
- BRODERICK, N.A. et al. Contributions of gut bacteria to *Bacillus thuringiensis* - induced mortality vary across a range of Lepidoptera. **BMC Biology**. v. 7, n. 1, p.1-9, 2009.
- CALDERÓN-CORTÉS, N. et al. Endogenous Plant Cell Wall Digestion: A Key Mechanism in Insect Evolution. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.**, v. 43, n. 1, p.45-71, dez. 2012.
- CHAVES, S.; NETO, M.; TENREIRO, R. Insect-symbiont systems: From complex relationships to biotechnological applications. **Biotechnology Journal**, v. 4, n. 12, p.1753-1765, dez. 2009.

- CHEN, B. et al. Biodiversity and activity of the gut Microbiota across the Life History of the Insect Herbivore *Spodoptera littoralis*. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p.1-14, 8 jul. 2016.
- CRAWLEY, M.J.; GILLMAN, M.P. Population-dynamics of cinnabar moth and ragwort in Grassland. **Journal of Animal Ecology**, v. 58, p. 1035-1050, 1989.
- DANTUR, K. et al. Isolation of cellulolytic bacteria from the intestine of *Diatraea saccharalis* larvae and evaluation of their capacity to degrade sugarcane biomass. **Amb Express**, v. 5, n. 1, p.1-11, 25 fev. 2015.
- ERTURK, Ö.; DEMIRBAG, Z. Studies on bacterial flora and biological control agent of *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). **African Journal Of Biotechnology**. v. 5, n. 22, p. 2081-2085, nov. 2006.
- FELDHAAR, H.; GROSS, R. Insects as hosts for mutualistic bacteria. **International Journal of Medical Microbiology**. v. 299, p. 1-8, 2009.
- FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L. C.; SAMPAIO, P. T. B. Sementes e plântulas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl. e *Carapa procera* D.C.): Aspectos botânicos, ecológicos e tecnológicos. **Acta amazônica**. v. 32, n. 4, p. 647-661, 2002.
- FERREIRA, C. et al. Properties of the digestive enzymes and the permeability of the peritrophic membrane of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera) larvae. **Comp. Biochem. Physiol.** v. 107A, p. 631-640, 1994.
- FISCHER, R.; OSTAFE, R. TWYMAN, R. Cellulases from insects. In: VILCINSKAS, A. (ed). **Yellow Biotechnology II**. Springer, Berlin Heidelberg, p. 51-64, 2013.
- GARG, G. et al. Microbial pectinases: an ecofriendly tool of nature for industries. **3 Biotech**. v. 6, n. 1, p.47, 8 fev. 2016.
- GOMES, H. S. R. **Estrutura populacional e produção de andiroba em terra firme e várzea no sul do Amapá**. 2010. 82 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) - Universidade Federal do Amapá, Macapá.
- HOLTOF, M. et al. Extracellular nutrient digestion and absorption in the insect gut. **Cell and Tissue Research**. 2019. <https://doi.org/10.1007/s00441-019-03031-9>.
- IMANISHI, Y. et al. Two new ascomycetous anamorphic yeast species related to *Candida friedrichii*-*Candida jaronii* sp. nov., and *Candida songkhlaensis* sp. nov.-isolated in Thailand. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 94, n. 2, p. 267-76, Ago. 2008.
- JESUS-BARROS, C. R. et al. Registro da ocorrência de *Hypsipyla ferrealis* e *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) em frutos de andirobeiras (*Carapa guianensis*, Meliaceae) em Macapá – AP, Brasil. **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 25, n. 3, p. 765-769, jul.-set., 2015.
- JORDÃO, A. L.; SILVA, R. A. **Guia de pragas agrícolas para manejo integrado no estado do Amapá**. Ribeirão Preto: Holos, 2006. 130 p.
- KANNAN, M. et al. Insect gut as a bioresource for potential enzymes - an unexploited area for industrial biotechnology. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 18. março 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.01.048>.
- KARNCHANATAT, A et al. Purification and biochemical characterization of an extracellular beta-glucosidase from the wood-decaying fungus *Daldinia eschscholzii* (Ehrenb.:Fr.) Rehm. **FEMS Microbiol Lett**. v. 270, n. 1, p. 162-70, maio 2007.

- LIMTONG, S.; KAEWWICHIAN, R. The diversity of culturable yeasts in the phylloplane of rice in Thailand. **Ann. Microbiol.** v. 65, p. 667–675, 2015.
- LOPES, M. R.; LARA, C. A.; MOURA, M. E. F.; UETANABARO, A. P. T.; MORAIS, P. B.; VITAL, M. J. S.; ROSA, C. A. Characterisation of the diversity and physiology of cellobiose-fermenting yeasts isolated from rotting wood in Brazilian ecosystems. **Fungal Biology.** v. 122, p. 668-676, 2018.
- MERZENDORFER, H. Insect-Derived Chitinases. **Adv Biochem Eng Biotechnol.** v. 136, p 19-50, 2013.
- MIKA, N.; ZORN, H.; RÜHL, M. Insect-Derived Enzymes: A Treasure for Industrial Biotechnology and Food Biotechnology. **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.** DOI: 10.1007/10_2013_204.
- MUSLIN, E. H. et al. The effect of proline insertions on the thermostability of a barley alpha-glucosidase. **Protein Eng.** v. 15, n. 1, p. 29-33, 2002.
- NARASIMHA, G. et al. Purification and Characterization of β -Glucosidase from *Aspergillus niger*. **Int. J. of Food Prop.** v. 19, n. 3, p. 652-661, 2016.
- PERICIN, D.; JARAK, M. Production and some characteristics of beta-glucosidase in *Diaporthe (Phomopsis) helianthi*. **Acta Microbiol Immunol Hung.**, 42(1): 29-37. 1995.
- PINTO, A. A. **Avaliação de danos causados por insetos em sementes de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) e andirobinha (*C. procera*) (Meliaceae) na Reserva Florestal Ducke em Manaus, AM. Brasil.** 2007. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2007.
- PINTO, A. A. et al. Predação de sementes de andiroba [*Carapa guianensis* Aubl. e *Carapa procera* DC. (Meliaceae)] por insetos na Amazônia. **Revista Árvore**, v. 37, n. 6, p.1115-1123, dez. 2013.
- PRATVIEL-SOSA, F. et al. Studies on glycosidases and glucanases in *Thaumatococcus pinnatifidus* larvae. Part 1. Purification and some properties of an α -glucosidase. **Comp. Biochem. Physiol.** v. 84B, p. 77-81, 1986.
- QUERINO, R. B. et al. **Predação de sementes de andiroba (*Carapa* spp.) por *Hypsipyla ferrealis* Hampson (Lepidoptera, Pyralidae) em Roraima.** Boa Vista: Embrapa, 2008. (EMBRAPA: Boletim de Pesquisa e Desenvol., n. 5).
- ROSENBLUETH, M. et al. Endosymbiotic microorganisms of scale insects. **TIP Revista Especializada em Ciências Químico-Biológicas.** v. 21, n. 1, p. 53-69, 2018.
- SAHA, B. C.; BOTHAST, R. J. Production, Purification, and Characterization of a Highly Glucose Tolerant Novel β -Glucosidase from *Candida peltata*. **Applied and Environmental Microbiology.** v. 62, n. 9, p. 3165-3170, 1996.
- SAINI, R. et al. Amylases: Characteristics and industrial applications. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.** v 6, n. 4, p 1865-1871, 2017.
- SANTOS, R. S.; PELLICCIOTTI, A. S. Ocorrência de *Hypsipyla ferrealis* Hampson (Lepidoptera: Pyralidae) em andiroba no estado do Acre. **Ciência Florestal.** Santa Maria, v. 26, n. 3, p. 995-998, jul.-set., 2016.
- SAWAI, T. Alpha-Glucosidases of *Candida tropicalis* var. japonica. **Shokubutsugaku Zasshi**, v. 69, n. 814, p. 177-185, 1956.
- SCHARF, M. E. Omic research in termites: an overview and a roadmap. **Frontiers In Genetics**, v. 6, n.

76, 13 mar. 2015.

SHI, W. et al. Molecular approaches to study the insect gut symbiotic microbiota at the 'omics' age. **Insect Science**. v. 17, n. 3, p.199-219, 7 fev. 2010.

SINGH, G.; VERMA, A. K.; KUMAR, V. Catalytic properties, functional attributes and industrial applications of β -glucosidases. **3 Biotech**. v. 6, n. 1, dez. 2015.

SITTENFELD, A. et al. Does a polyphagous caterpillar have the same gut microbiota when feeding on different species of food plants? **Revista de Biología Tropical**. v. 50, n. 2, p. 547-560, jun. 2002.

SNYMAN, M. et al. Gut microbiota of *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae). **World J. Microbiol. Biotechnol.** v. 32, n. 7, p. 1-115, jun. 2016.

SOGAWA, K. et al. Use of the MALDI BioTyper system with MALDI-TOF mass spectrometry for rapid identification of microorganisms. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**. v. 400, n. 7, p. 1905-1911, 2011.

STORK, N.E. How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth? **Annu. Rev. Entomol.** v. 63, p. 31-45, 2018.

SOUZA, P. M.; MAGALHÃES, P. O. Application Of Microbial α -Amylase In Industry – A Review. **Braz. J. of Microbiol.** v. 41, n. 4, p. 850-861, dez. 2010.

TAYLOR, J. R. N.; DEWAR, J. Role of alpha-glucosidase in the fermentable sugar composition of sorghum malt mashes. **Journal of the Institute of Brewing**. v. 100, p. 417-419, 1994.

TERRA, W. R. et al. Digestive Enzymes. In: LEHANE, M. J.; BILLINGSLEY, P. F. (Ed.). **Biology of the Insect Midgut**. Londres. Chapman & Hall. p. 153-194, 1996.

TERRA, W. R.; FERREIRA, C. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. **Comp. Biochem. Physiol.** v. 109B, n. 1, p. 1-62.

VEGA, F. E.; DOWD, P. F. The role of yeasts as insect endosymbionts. In: VEGA, F. E.; BLACKWELL, M. (Eds.). **Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution**. New York: Oxford University Press. p. 211-243, 2005.

ZELCK, U. E.; TRIPPENSEE, G.; BECKER, W. Detection and partial characterization of glycosidases in the hemolymph of *Biomphalaria glabrata* (gastropoda). **Comparative Biochemistry and Physiology**. (Part B: Biochemistry and Molecular Biology). v. 114, n. 3, p. 281-286, 1996.

APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE DE IMAGEM NA DETERMINAÇÃO DO CRESCIMENTO RADIAL DO FUNGO *Metarhizium anisopliae*

Eduardo Henrique Silva de Oliveria

Universidade Federal do Tocantis, Aluno de Graduação em Engenharia de Alimentos, Palmas – TO

Rodrigo Silva Dutra

Universidade Federal do Tocantis, Aluno do Programa de Pós-Graduação em Agroenergia, Palmas – TO

Lina María Grajales Agudelo

Universidade Federal do Tocantis, Docente do Curso de Engenharia de Alimentos e do Programa de Pós-Graduação em Agroenergia, Palmas – TO

RESUMO: Atualmente, muitos fungos são produzidos para serem aplicados na indústria, principalmente, na indústria agrícola, já que constituem uma alternativa compatível com o ambiente. Um claro exemplo é o uso do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* empregado como pesticida biológico para controlar pragas como a *Mahanarva posticata*, a cigarrinha-da-folha que se dá nos cultivos de cana-de-açúcar, gafanhotos, besouro do grão do trigo, carrapatos de impacto na pecuária, broca cana e outros insetos da ordem lepidópteros. O estudo do crescimento deste microrganismo aliado à análise de outras variáveis como temperatura, pH e meios de cultivo, permite ajustar modelos matemáticos visando sua produção em uma escala maior. Por este motivo, o presente trabalho teve como

principal objetivo determinar o crescimento radial do fungo *Metarhizium anisopliae* através da técnica de análise de imagem. Para atingir o objetivo, o fungo foi cultivado em meio BDA e fotografado em intervalos definidos de tempo. Posteriormente, as imagens foram digitalizadas e as áreas de crescimento contabilizadas pelo software “Image pro plus”, onde as informações obtidas foram ajustadas a um modelo matemático que permitirá prever a taxa de crescimento do fungo.

PALAVRAS-CHAVE: *Metarhizium anisopliae*; Crescimento Radial; Análise de Imagem.

APPLICATION OF IMAGE ANALYSIS METHOD TO DETERMINE THE RADIAL GROWTH OF FUNGUS METARHIZIUM ANISOPLIAE

ABSTRACT: Currently, many fungi are produced to be applied in the industry, mainly in the agricultural industry, since they are an alternative compatible with the environment. A clear example is the use of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* used as a biological pesticide to control pests such as *Mahanarva posticata*, the leafhopper that grows on sugarcane, locust beetles, wheat beetles, ticks impact on livestock, sugarcane borer and other insects of the order Lepidoptera. The study

of the growth of this microorganism, together with the analysis of other variables such as temperature, pH and culture media, allows to adjust mathematical models aiming their production in a larger scale. For this reason, the main objective of the present work was to determine the radial growth of the fungus *Metarhizium anisopliae* through the technique of image analysis. To reach the objective, the fungus was grown in BDA medium and photographed at defined intervals of time. Afterwards, the images were digitized and the growth areas were counted by the software “Image pro plus”, where the information obtained was adjusted to a mathematical model that will allow to predict the growth rate of the fungus.

KEYWORDS: *Metarhizium anisopliae*; Radial Growth; Image Analysis.

1 | INTRODUÇÃO

Com a grande expansão das atividades agrícolas, muitas pragas que destroem as plantações estão se desenvolvendo, e com o intuito de evitar a perda, os agricultores acabam optando pela utilização de agrotóxicos, o que é muito prejudicial para a saúde humana e após o processamento do alimento não é possível retirar todos os resíduos com facilidade (Moura, 2007). A fim de tornar as lavouras mais produtivas, ou seja, com pouca perda devido ao ataque de insetos e fazer com que o alimento produzido não cause danos à saúde humana, a utilização de meios de controle biológico vem crescendo a cada vez mais (Messias, 1989) e com as vantagens de ser um meio mais barato é muito mais eficaz (Pomella e Ribeiro, 2009). Tal é o caso do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* que ataca gafanhotos, cigarrinhas de cana-de-açúcar e besouros do grão de trigo (Grajales, 2010). O fungo invade os insetos penetrando as suas cutículas ou “pele”, uma vez dentro eles se multiplicam rapidamente causando a destruição da praga e ocasionalmente toxinas (Gravena, 2000). Eles emergem, frequentemente, do corpo dos insetos para produzir os esporos, que quando esparramados pelo vento, chuva ou contato com outros insetos espalham a infecção pela área (Gravena, 2000).

Devido à importância do crescimento microbiano para aplicação em lavouras como pesticidas biológicos, alguns autores tem feito seguimento desse crescimento através de modelos matemáticos que permitem prever o seu comportamento, Vieira (2000) por exemplo, utilizou um modelo matemático para bovino a pasto, onde fazia a simulação da dinâmica de nutrientes no trato gastrointestinal e com isso observava a atividade microbiana em cada animal. Outro pesquisador que utilizou modelos matemáticos para prever a taxa de crescimento microbiano foi Sarmiento (2006), onde fez a modelagem do crescimento microbiano em mortadela e salsicha defumada em processos isotérmicos e não isotérmicos. Da Silva (2004) fez a análise da cinética de crescimento do fungo *Eremothecium ashbyii* onde utilizou o método Kono que a partir deste método se é capaz de estimar a produtividade celular.

Com o avanço da tecnologia, novas técnicas de análise vêm surgindo. O Método

de Análise de imagem é um método inovador e a partir dele se é capaz de descobrir várias características do observado, como a quantidade colônias formadas por um microrganismo e a dimensão de seu tamanho de ocupação no meio de cultura, dentre outras (Gomes, 2008). Esta técnica vem se destacando muito na sociedade de pesquisadores, visto que é rápido, confiável, reduz os possíveis erros causados pela manipulação das amostras e permite analisar vários objetos simultaneamente (Balaban, 2008). Assim, o objetivo principal deste trabalho é analisar através da técnica de análise de imagem, o crescimento do fungo *Metarhizium anisopliae* ao longo do tempo

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

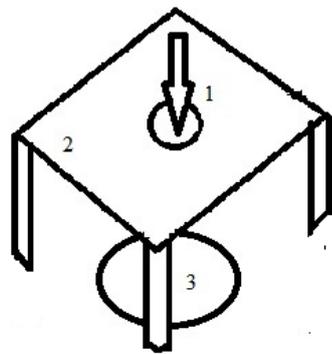
2.1 Materiais

O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* cepa ICBC 425 foi utilizado sob a forma de esporos puros em pó, armazenados à temperatura de $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. A cepa foi adquirida no laboratório Biocontrol, localizada na cidade de Sertãozinho-SP.

2.2 Métodos

Quinze mililitros de meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) dispostos em placas de petri de 11cm de diâmetro foram esterilizados a 121°C por 20 minutos. Após, o meio solidificar à temperatura ambiente, o fungo foi cultivado com unicamente uma pincelada de esporos no centro geométrico das placas de petri, isto em câmara de fluxo laminar marca Marconi modelo MA1550/1. Imediatamente, o conjunto foi colocado em câmara climatizada BOD marca Adamo à temperatura de $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 07 dias. Periodicamente, as placas de petri com o fungo foram retiradas da BOD para serem fotografadas e posteriormente analisadas mediante o software “Image pro plus (Media Cybernetics)” na versão gratuita.

O sistema completo para as fotografias consistiu em um suporte de isopor quadrado de 17 cm de lado e 17 cm de altura. O suporte contou com uma perfuração redonda de 5 cm de diâmetro, conforme apresentado no esquema da Figura 1, para localizar a lente da câmera fotográfica Sony modelo DSC-W230 de 12.1 Mega Pixels. As condições de iluminação foram sempre controladas para garantir a padronização das fotos.



- 1- Perfuração para lente da câmera;
- 2- Suporte da câmera;
- 3- Placa de Petri.

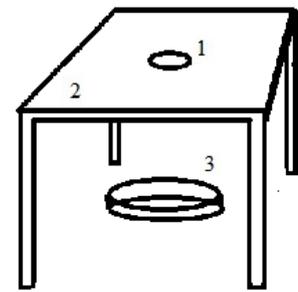


Figura 1- Suporte para fotografia.

A superfície das placas de petri foram fotografadas, as imagens digitalizadas e em seguida contabilizada a área, o raio e o diâmetro de crescimento do fungo mediante o software Image ProPlus, conforme esquema da Figura 2. Os valores referentes ao raio, diâmetro e área foram todos disponibilizados pelo software, onde os valores se encontravam em pixels e após uma simples conversão de unidades foi transformado para centímetros ou centímetros quadrados.

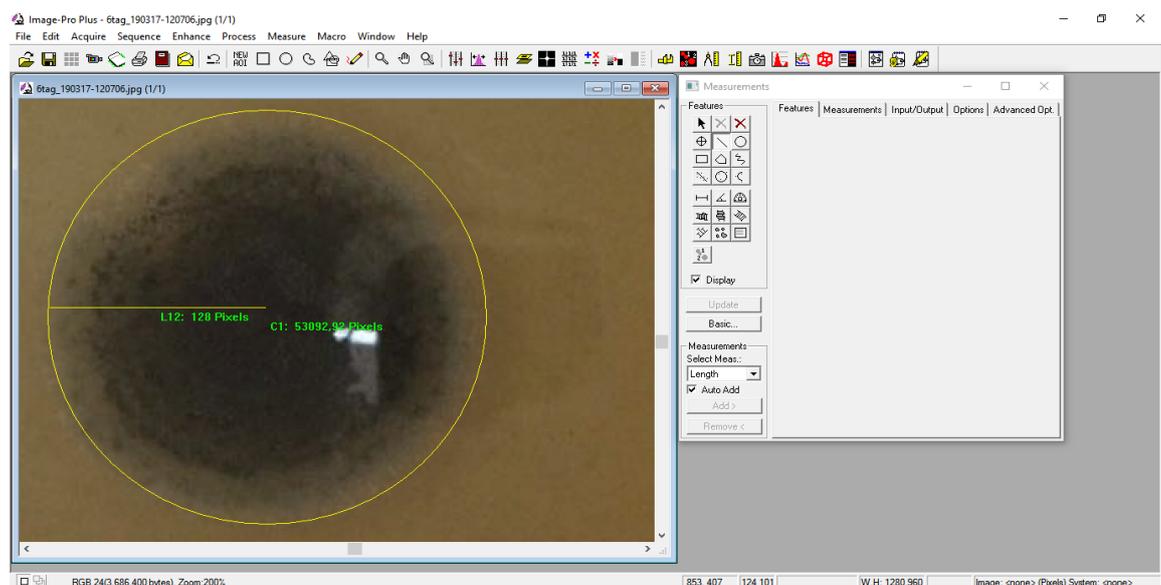


Figura 2- Layout da análise de imagem

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com as informações de área e raio obtidas foram realizados gráficos da sua variação em função do tempo para posteriormente, analisar cada estágio da curva de crescimento, ou seja, detectar o momento em que o fungo inicia e termina a fase lag, exponencial, estacionária e de morte (Bastos, 2010). As Figuras 3 e 4 mostram a variação do raio e de área em função do tempo.

Pode-se observar que até o tempo de 24 horas após o processo de inoculação,

o fungo ainda estava se adaptando ao meio, permanecendo na fase lag. Segundo Dickinson & Bottomley (1980) os fungos são capazes de manter-se até encontrar-se em condições favoráveis para retomar seu crescimento, portanto todo esse tempo que não houve crescimento micelial do fungo foi devido ao processo de adaptação. A partir das 36 horas se inicia a curva de crescimento exponencial, a qual é a de maior interesse nesse estudo já que visa analisar o seu período de maior eficiência, com o início do crescimento micelial percebe-se que com 12 horas do início desse crescimento, o fungo obteve um crescimento praticamente dobrado e a cada 12 horas percebeu-se esse comportamento. De acordo com Bastos (2010) após o final da fase de adaptação os microrganismos começam a se multiplicar rapidamente, dobrando seu número em espaços regulares de tempo, conforme foi observado.

Observe-se que no momento de 108 horas o fungo apresentou uma pequena diminuição de seu crescimento e após 12 horas desse decaimento de velocidade houve um novo aumento de velocidade, retomando o padrão de dobramento de tamanho. Essa pequena modificação na estrutura de crescimento do fungo de acordo com Nielsen (2002) e Dutta (2008) pode ter se dado pelo esgotamento de um ou mais nutrientes ou por algum pequeno acúmulo de subproduto tóxico para o seu crescimento, pois com o ambiente em acelerada mudança acontece de o microrganismo muitas vezes ter o crescimento desequilibrado.

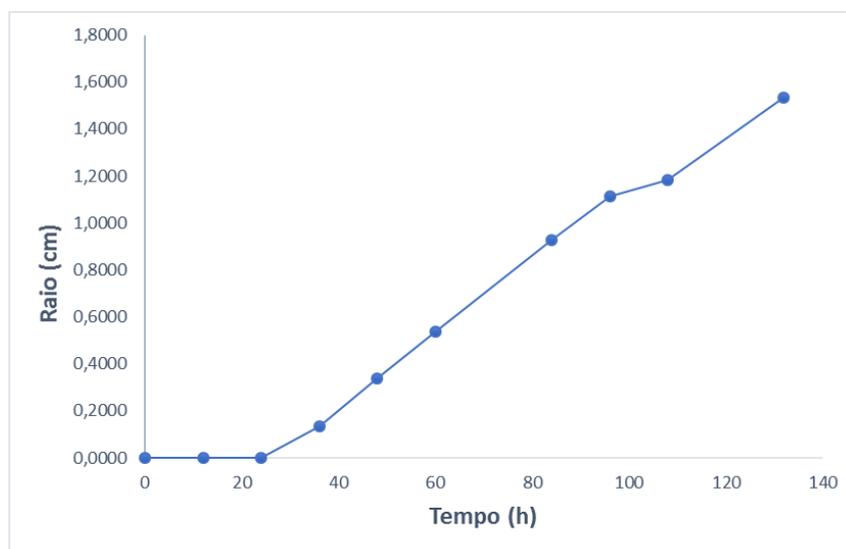


Figura 3 – Crescimento radial do fungo em função do tempo.

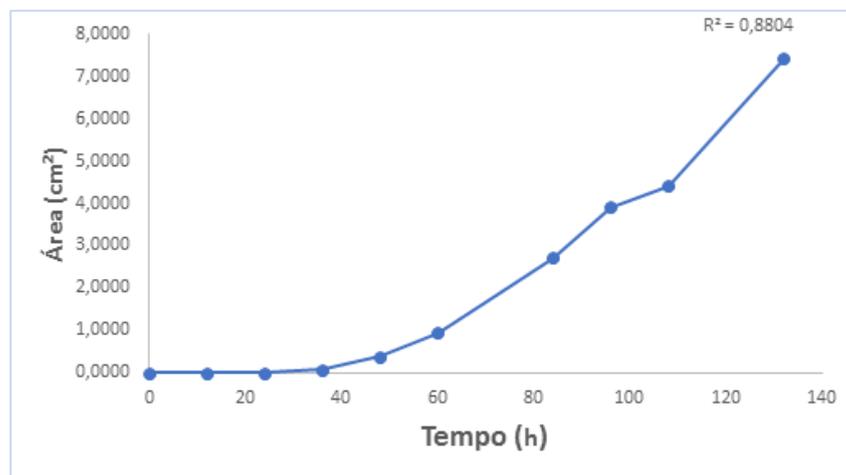


Figura 4 – Aumento de área do fungo em função do tempo.

Pretende-se continuar avaliando o crescimento do *M. anisopliae* após 130 horas de experimentos, com o objetivo de determinar a fase estacionária e fase de morte do microrganismo, podendo assim gerar modelos matemáticos completos que permitam determinar a cinética de crescimento do mesmo.

4 | CONCLUSÃO

De acordo os objetivos esperados, pode-se perceber que os mesmos foram alcançados com extremo êxito, verificando que em um período de sete dias é o período no qual o fungo melhor se desenvolve e a partir destes resultados conclui-se que sua velocidade de crescimento a cada 12 horas nesse período de sete dias de crescimento manteve um padrão de praticamente dobrar sua velocidade de crescimento radial.

REFERÊNCIAS

BALABAN, M. O. Quantifying Nonhomogeneous Colors in Agricultural Materials Part I: Method Development. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 73, n. 9, p. 431 – 437, 2008.

BARBOSA, B. C. Controle biológico. Disponível em: < <http://www.infoescola.com/ecologia/controle-biologico/>> Acesso em 20 de Março de 2017

BASTOS, G. R. Tecnologia das fermentações: Fundamentos de bioprocessos. Coleção UAB-UFSCar, p. 92-93, 2010.

BUENO, V. H. P.; V. L. , J. C.. Controle biológico de pragas em cultivos protegidos. *Ciência & Ambiente*, v. 43, p. 211-230, 2011

DA SILVA, R. S. F. Cinética de crescimento de fungos: I. Modelo matemático para o *Eremothecium Ashbyik*. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, v. 2, n. 8, p. 199-201, 2004.

DE MOURA, R. M. Agrotóxicos: Heróis ou vilões? A face da questão que todos devem saber. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, v. 4, p. 23-49, 2014.

DUTTA, R. Fundamentals of biochemical engineering. v.1, p. 106-140, 2008.

GOMES, M. I. S. Monitorização do crescimento de um biofilme fotossintético por análise de imagem. 2008. Tese de Doutorado. FCT-UNL.

GRAJALES, L. M. Avaliação de um biorreator rotativo para fermentação em estado sólido. 2010.

GRAVENA, S. Os fungos no controle de insetos, 2000. Disponível em: < <http://www.grupocultivar.com.br/artigos/os-fungos-no-controle-de-insetos/>> Acesso em 19 de Março de 2017.

GRAVENA, S. Controle biológico no manejo integrado de pragas. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 27, n. 13, p. 281-299, 1992.

MESSIAS, C. L. Fungos, sua utilização para controle de insetos de importância médica e agrícola. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 84, p. 57-59, 1989.

NIELSEN, J. H.; VILLADSEN, J.; LIDÉN, G. Bioreaction Engineering Principles. V.2, p.10, 2002.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas—uma visão empresarial. Biocontrole de Doenças de Plantas, p. 239, 2009.

REGINA, M. Cinética do crescimento miceliano de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler em bagaço de cana-de-açúcar e serragem de eucalipto. 2001.

SARMENTO, C. M. P. Modelagem do crescimento microbiano e avaliação sensorial no estudo da vida de prateleira da mortadela e da linguiça defumada em armazenamento isotérmico e não isotérmico. 2006.

VIEIRA, R. A. M.; PEREIRA, J. C.; MALAFAIA, P. A. M.; QUEIROZ, A. C.; JORDÃO, C. P.; GONÇALVES, A. L. Simulação da dinâmica de nutrientes no trato gastrointestinal: aplicação e validação de um modelo matemático para bovinos a pasto. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 29, n. 3, p. 898-909, 2000.

CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DE ISOLADOS DE FUNGOS “DARK SEPTATE”

Carlos Vergara

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Departamento de Agronomia Seropédica – Rio de
Janeiro

Karla Emanuelle Campos Araujo

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Departamento de Agronomia Seropédica – Rio de
Janeiro

Ivan de Alencar Menezes Júnior

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde

Jerri Édson Zilli

Embrapa Agrobiologia, Seropédica – Rio de
Janeiro

RESUMO: Os fungos “dark septate” atuam na promoção do crescimento vegetal, podendo reduzir gastos com fertilizantes, contudo, as funções ecológicas destes fungos ainda permanecem obscuras. Este trabalho teve como objetivo caracterizar morfofisiologicamente isolados de fungos “dark septate”. Isolados de fungos “dark septate”, obtidos de *Oryza glumaepatula*, foram caracterizados quanto a (i) capacidade para alterar o pH em meio batata-dextrose-ágar (BDA) contendo azul de bromotimol, quanto ao (ii) crescimento em diferentes faixas de pH (4, 5, 7 e 8), quanto a (iii) capacidade para solubilizar fosfato de cálcio e (iv) utilizar fontes orgânicas e/ou inorgânicas

de nitrogênio. Os resultados mostraram que os fungos ERR 02 e ERR 04 alcalinizaram o meio e os demais o acidificaram. As diferentes faixas de pH aplicadas no meio BDA influenciaram o crescimento de todos os isolados, com exceção dos fungos ERR 02 e ERR 46. Nenhum dos isolados testado foi capaz de produzir halo de solubilização de fosfato ao redor da colônia fúngica. O isolado ERR 04 desenvolveu-se melhor na presença de fontes orgânicas e/ou inorgânicas de nitrogênio, e o isolado ERR 02 utilizou melhor o meio SHA (solução de Hoagland a ½ força iônica com 1% dextrose, agarizado com 1,5% de ágar) acrescido de nitrato de amônio ou de glicina, comparativamente aos demais isolados. O estudo sugere que pode haver uma grande variabilidade, entre isolados de fungos “dark septate”, em termos da alteração do pH em meio do cultivo, do uso de fontes orgânicas e/ou inorgânicas de nitrogênio, mas não para solubilizar fosfato de cálcio.

PALAVRAS-CHAVE: DSE, crescimento, fosfato, pH, fonte orgânica de N

MORPHOPHYSIOLOGICAL

CHARACTERIZATION OF DARK SEPTATE FUNGAL ISOLATES

ABSTRACT: Dark septate endophytic fungi act in the promotion of plant growth, and can

reduce expenses with fertilizers, however, the ecological functions of these fungi still remain obscure. This work aimed to characterize morphophysiological dark septate fungi isolates. Thirteen dark septate fungi isolates obtained from *Oryza glumaepatula* were characterized for (i) the ability to alter the pH of the potato-dextrose-agar medium (PDA) containing bromothymol blue, with respect to (ii) growth in different ranges of pH (4, 5, 7 and 8) for (iii) ability to solubilize calcium phosphate and (iv) use of organic and/or inorganic sources of nitrogen. The results showed that the fungi ERR 02 and ERR 04 alkalized the medium and the others acidified it. The different pH ranges applied in the PDA medium influenced the growth of all the isolates, with the exception of ERR 02 and ERR 46 fungi. None of the isolates tested was able to produce phosphate solubilization halo around the fungal colony. Isolate ERR 04 was better developed in the presence of organic and/or inorganic nitrogen sources, and ERR 02 isolate used SHA medium better (Hoagland solution at ½ ionic strength with 1% dextrose, agarose with 1.5% agar) plus ammonium nitrate or glycine, compared to the other isolates. The study suggests that there may be great variability between isolates of dark septate fungi in terms of changing the pH of the culture medium, the use of organic and/or inorganic sources of nitrogen, but not to solubilize calcium phosphate.

KEYWORDS: DSE, growth, phosphate, pH, organic N source

1 | INTRODUÇÃO

Os fungos “dark septate” (fungos DSE) podem ser encontrados em plantas oriundas dos mais variados ecossistemas como habitats árticos, antárticos, temperados, boreais e tropicais (ŠRAJ-KRŽIČ et al., 2006; VERGARA; ARAUJO; SOUZA; et al., 2019), onde atuam como colonizadores de aproximadamente 600 espécies de plantas, formando hifas e microescleródios que crescem de forma intercelular e intracelular às células da epiderme e córtex sem causar sintomas de doenças (ADDY; PIERCEY; CURRAH, 2005; JUMPPONEN; TRAPPE, 1998).

Muitos aspectos das funções ecológicas dos fungos “dark septate” ainda permanecem obscuras, contudo, estudos indicam que estes fungos podem atuar como promotores do crescimento vegetal, através da proteção da planta hospedeira contra estresses abióticos, ou por facilitarem o acesso da planta a nutrientes que se encontravam imobilizados, principalmente em compostos orgânicos recalcitrantes (USUKI; NARISAWA, 2007; VERGARA; ARAUJO; SPERANDIO; et al., 2019; VERGARA; ARAUJO; URQUIAGA; et al., 2018; VERGARA et al., 2017; WEI et al., 2016).

Nos agrossistemas tropicais, onde predominam solos ácidos, limitantes ao crescimento vegetal, que comprometem a produção das culturas em até 70%, naturalmente ocorrem problemas de fixação fósforo, e a calagem é frequentemente utilizada, mas não é uma prática sustentável (DIENE; WANG; NARISAWA, 2013), por comprometer a colonização da planta hospedeira por alguns microrganismos benéficos, como fungos “dark septate” (RUOTSALAINEN; ESKELINEN, 2011), que

são sensíveis aos aumentos de pH (POSTMA; OLSSON; FALKENGREN-GRERUP, 2007; RUOTSALAINEN; ESKELINEN, 2011; SHARMA; JHA, 2012). Neste contexto, microrganismos solubilizadores de fosfatos e mitigadores do estresse provocado pela acidez ganham destaque na ciência. Por exemplo, POSTMA et al. (2007) e DIENE et al. (2013), observaram que os fungos “dark septate” protegem a planta hospedeira contra danos causados por elevados níveis de acidez, promovendo um incremento de até 92% na biomassa.

Grande diversidade de microrganismos pode solubilizar fosfatos insolúveis presentes no solo. Contudo, os estudos com as bactérias estão mais avançados. Na literatura, há relatos de bactérias solubilizadoras de fosfatos pertencentes aos gêneros *Bradyrhizobium* (MARRA et al., 2011) e *Rhizobium* (TORRES-JÚNIOR et al., 2014), embora apresentem baixa eficiência de solubilização.

Os estudos de solubilização de fosfatos insolúveis envolvendo os fungos DSE são escassos na literatura. Contudo, isolados fúngicos dos gêneros *Rhizopus*, *Penicillium* e *Aspergillus*, pertencentes a outros grupos fúngicos têm sido apontados como solubilizadores de fosfato de cálcio, mas não como solubilizadores de fosfato de ferro (SILVA FILHO; VIDOR, 2000).

Neste contexto, as hipóteses deste estudo são de que os fungos “dark septate” são capazes de (i) alterar o pH em meio batata-dextrose-ágar (BDA) contendo azul de bromotimol, de que (ii) apresentam crescimento diferenciado sob diferentes faixas de pH (4, 5, 7 e 8), de que (iii) solubilizam o fosfato de cálcio, e de (iv) que utilizam fontes orgânicas e/ou inorgânicas de nitrogênio. Portanto, o objetivo deste capítulo é de caracterizar morfofisiologicamente os isolados de fungos “dark septate”. Para atingir este propósito, foi avaliado o crescimento micelial e massa de isolados de fungos DSE em meios de cultivo sob diferentes pHs e em meios contendo fontes orgânicas e inorgânicas de N. Além disso, foi avaliada a capacidade para alterar o pH em meio BDA e para solubilizar fosfatos insolúveis.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de isolados de fungos “dark septate” e inoculação

Os isolados de fungos “dark septate” aqui estudados, foram isolados de raízes de *Oryza glumaepatula* (RIBEIRO, 2011; VERGARA; ARAUJO; ALVES; et al., 2018), e são mantidos na coleção de culturas do Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner (www.embrapa.br/agrobiologia/crb-jd).

O inóculo foi preparado a partir do crescimento dos isolados fúngicos em placas de Petri contendo o meio batata-dextrose-ágar (BDA) a 28 °C por sete dias. Posteriormente, discos de micélios com diâmetro de aproximadamente 6 mm, foram inoculados no centro de placas de Petri contendo diferentes meios apresentados a

seguir.

Crescimento de fungos “dark septate” em diferentes faixas de pH e alteração do pH em meio de cultivo

A capacidade de crescimento em diferentes pHs (4; 5; 7 e 8) e a alteração de pH em meio de cultivo foi avaliada no meio BDA em delineamento de blocos ao acaso com três repetições. O ajuste de pH foi feito utilizando KOH e HCl. Para observar alteração de pH em meio do cultivo, o azul de bromotimol foi adicionado ao meio BDA e ajustou-se o pH para 6,8. As placas de Petri foram incubadas por até doze dias. A avaliação do crescimento dos fungos em diferentes faixas de pH foi feita aos 6 dias após a inoculação dos fungos, medindo-se o diâmetro das colônias fúngicas usando um paquímetro digital. A característica de alteração do pH foi observada através da mudança de coloração do meio de cultivo, sendo que a coloração amarela ou azul identificou fungos que alteraram o pH do meio para ácido ou alcalino, respectivamente. Foi utilizado o sinal positivo (+) para representar a alteração do pH neutro para ácido ou alcalino.

Teste solubilização de fosfato de cálcio

O meio GL foi preparado através da adição de 10g de glicose, 2 g extrato de levedura e 18g de ágar por litro de meio e o pH ajustado para 6,5 (SYLVESTER-BRADLEY et al., 1982). Após a esterilização e à temperatura de aproximadamente 50°C, foram adicionados 50 ml de K_2HPO_4 (10%) e 100 ml de $CaCl_2$ (10%) em 850 ml do meio, para formação de precipitado insolúvel de $CaHPO_4$. Cada placa constituiu uma unidade experimental e foi avaliada em delineamento de blocos casualizados com três repetições. A presença de halo translúcido ao redor da colônia fúngica foi o critério utilizado para avaliar a capacidade para solubilizar fosfato de cálcio. As observações foram feitas aos 3, 6, 9 e 12 dias. O crescimento dos fungos foi representado pelo sinal positivo (+) e ausência do halo de solubilização foi identificada pelo sinal negativo (-).

Avaliação do uso de fontes orgânicas e/ou inorgânicas de nitrogênio por fungos “dark septate”

Para avaliar o uso de fontes orgânicas e/ou inorgânicas de nitrogênio, os fungos foram inoculados nos seguintes meios: 1) meio SHA, contendo solução de Hoagland a ½ força iônica, agarizada com 1,5% de ágar e acrescido de 1% de dextrose; 2) meio SHA + aa, contendo meio SHA acrescido de glicina; 3) meio SHA + NA, composto de meio SHA acrescido de nitrato de amônio; 4) meio EC1% + NA, composto de 1% de extrato de *Canavalia ensiformis* (L.) agarizado com 1,5% de ágar, acrescido de nitrato de amônio. A glicina e o nitrato de amônio (NI) foram utilizadas como fontes orgânica

e inorgânica de N. Os meios que continham apenas a solução de Hoagland como a única fonte de nutrientes, receberam a dextrose como fonte de carbono. A glicina foi adicionada aos diferentes meios, quando os mesmos estavam com temperatura de 35-40 °C, tendo sido filtrada em membrana de Millipore. A proporção de N utilizada foi de 0,3% p/v. Os teores de nutrientes presentes no extrato vegetal (VERGARA et al., 2017) e na solução de Hoagland são representados na Tabela 1. Essas placas foram incubadas a 28 °C por até 12 dias. As plantas de *Canavalia ensiformis* foram cultivadas para fins de adubação verde e coletadas com aproximadamente 60-70 dias após germinação, na época de floração (VERGARA et al., 2017). O extrato vegetal que possui de 3-4% de N na sua constituição foi obtido pela moagem e pulverização da parte aérea seca das plantas (por 72h; 65 °C) e esterilização através de irradiação com raios gama (dose de 25 kgy) (VERGARA et al., 2017). Aos 12 dias após a inoculação, mediu-se o diâmetro das colônias fúngicas usando um paquímetro digital e determinou-se a velocidade de crescimento micelial por meio da razão entre o diâmetro micelial e os respectivos dias de crescimentos (12 dias), retirando-se o diâmetro (6 mm) do disco utilizado para inoculação. Foi removida a colônia do meio de cultura utilizando-se uma espátula e a mesma foi colocada em recipiente de peso conhecido para a determinação do peso fresco da colônia fúngica.

Fonte	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Zn	Mn	B	C
	g L ⁻¹						mg L ⁻¹					%
Extrato de <i>Canavalia ensiformis</i>	23,80	2,00	5,80	12,30	3,25	1,90	10,00	792,00	39,00	50,00	27,00	38,20
Solução de Hoagland 1/2 FI	0,23	0,03	0,06	0,02	0,02	0,02	0,01	0,06	0,03	0,32	0,26	1,00

Tabela 1. Teores de nutrientes presentes na solução de Hoagland modificada com metade da força iônica e no extrato de *Canavalia ensiformis* (L.) agarizado.

FI: Força iônica.

Análises estatísticas

Os experimentos foram conduzidos em delineamento de blocos ao acaso com três repetições, e os dados submetidos à análise de variância (ANOVA), e ao agrupamento do teste de Scott Knott ($p < 0.05$). ANOVA foi realizada após a determinação da normalidade dos erros (Shapiro-Wilk) e da homogeneidade de variância (Bartlett) dos dados. O software SISVAR versão 5.6.86 foi usado para análises dos dados (FERREIRA, 2011).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crescimento de fungos “dark septate” em diferentes faixas de pH e alteração

do pH em meio de cultivo

Analisando a alteração do pH em meio BDA, pode-se constatar que os isolados ERR 02 e ERR 04 alcalinizaram o meio de cultivo e os demais o acidificaram (Tabela 2, Figura 1).

Fungos “dark septate”	pH do meio de cultivo aos 12 dias após a inoculação		
	Ácido	Neutro	Alcalino
ERR 01	+		
ERR 02			+
ERR 04			+
ERR 16	+		
ERR 26	+		
ERR 31	+		
ERR 32	+		
ERR 33	+		
ERR 42	+		
ERR 43	+		
ERR 44	+		
ERR 45	+		
ERR 46	+		

Tabela 2. Alteração do pH em meio BDA com azul de bromotimol por fungos “dark septate”.

(+) Alteração de pH do meio para ácido ou alcalino.

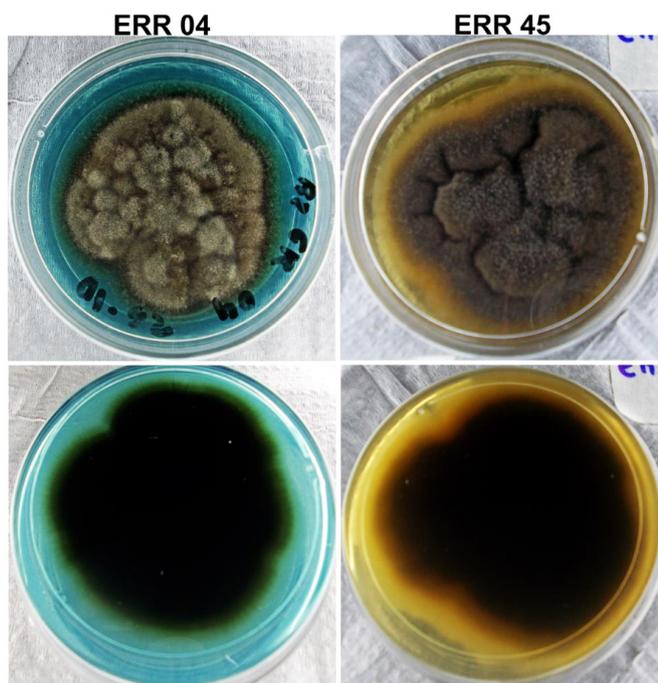


Figura 1. Alteração de pH do meio para alcalino ou ácido pelos fungos ERR 04 ou ERR 45.

Em geral, todos os isolados de fungos DSE testados cresceram no meio

BDA sob todas as faixas de pH (Tabela 3). As colônias fúngicas foram, de maneira geral, maiores no pH 7. Os fungos ERR 02 e ERR 46 não foram influenciados pelos diferentes pH, o que é um indício de que estes fungos possuem mecanismos para se adaptarem a diferentes faixas de pH. Cinco isolados (ERR 16, ERR 32, ERR 33, ERR 42 e ERR 43) mostraram seu melhor crescimento somente quando o pH do meio BDA foi ajustado para 7. O fungo ERR 04 com capacidade para alcalinizar o meio e o fungo ERR 45 com capacidade para acidificar (Tabela 2) apresentaram o seu melhor crescimento no meio com pH ajustado para 8 (Tabela 3). O fungo ERR 26 cresceu melhor nos valores de pH acima de 5 e o fungo ERR 01 apresentou melhor crescimento com os pHs 4 e 7 (Tabela 3). A maioria dos isolados testados teve seu crescimento micelial afetado pelo pH. Os Fungos ERR 01, ERR 02 e ERR46, que na presença de acidez apresentaram maior crescimento micelial (Tabela 3), podem ser considerados como mais tolerantes à acidez. Estes resultados mostram, de maneira geral, uma vantagem ecológica dos fungos “dark septate” para se adaptarem em ambientes com diferentes pH.

Esta habilidade de crescimento dos fungos DSE em condições *in vitro* contendo diferentes faixas de pH, abre possibilidade para testes de avaliação da tolerância das interações plantas-fungos DSE à diferentes pHs. Com efeito, foi mostrado que no pH 3, classificado como ultra-ácido, as plantas de repolho-chinês inoculadas com *Pseudosigmoidea ibarakiensis* sp. nov. apresentaram incremento de 92% na biomassa, comparativamente ao tratamento controle não inoculado (DIENE et al., 2013). Numa condição de estresse abiótico mais acentuado, as interações planta-fungos DSE tendem a aumentar (READ; HASELWANDTER, 1981).

Fungos endofíticos “dark septate”											
pH	ERR 01	ERR 02	ERR 04	ERR 16	ERR 26	ERR 32	ERR 33	ERR 42	ERR 43	ERR45	ERR 46
6 Dias											
4,0	58,2A	38,6A	25,9B	39,7C	28,6B	46,6B	37,5B	45,9B	46,3B	42,6C	43,7A
5,0	55,0B	39,3A	27,9B	44,5B	33,8A	47,4B	36,9B	50,2B	46,8B	41,6C	41,3A
7,0	57,7A	41,7A	27,7B	48,7A	38,2A	51,4A	42,5A	54,1A	52,7A	46,1B	40,7A
8,0	54,2B	40,8A	32,0A	44,0B	36,0A	48,7B	35,7B	48,9B	49,2B	50,5A	40,4A
CV%)	4,8										

Tabela 3. Diâmetro micelial (mm) de fungos “dark septate” em diferentes pHs.

Letras maiúsculas iguais nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Solubilização de fosfato de cálcio

Quanto à capacidade para solubilizar fosfato de cálcio, os treze isolados fúngicos

testados cresceram, no entanto, nenhum produziu halo de solubilização no meio GL (Tabela 4). Neste estudo, apenas a glicose foi utilizada como fonte de carbono. Assim, a incapacidade para solubilizar fosfato de cálcio, pode ser atribuída a falta de atividade solubilizadora nos fungos testados ou ao fato de a glicose ser uma fonte inadequada para a expressão desta característica. De fato, isolados fúngicos dos gêneros *Rhizopus*, *Penicillium* e *Aspergillus*, pertencentes a outros grupos fúngicos têm sido apontados como solubilizadores de fosfato de cálcio, mas não como solubilizadores de fosfato de ferro (SILVA FILHO; VIDOR, 2000). Na literatura, há relatos, de que a fonte de carbono utilizada nos testes de solubilização de fosfatos *in vitro*, influencia a atividade solubilizadora em algumas bactérias e fungos (SILVA FILHO; VIDOR, 2000; TORRES-JÚNIOR et al., 2014).

Fungos “dark septate”	Teste de solubilização de fosfato de cálcico				Halo
	Dias de crescimento				
	3	6	9	12	
ERR 01	+	+	+	+	-
ERR 02	+	+	+	+	-
ERR 04	+	+	+	+	-
ERR 16	+	+	+	+	-
ERR 26	+	+	+	+	-
ERR 31	+	+	+	+	-
ERR 32	+	+	+	+	-
ERR 33	+	+	+	+	-
ERR 42	+	+	+	+	-
ERR 43	+	+	+	+	-
ERR 44	+	+	+	+	-
ERR 45	+	+	+	+	-
ERR 46	+	+	+	+	-

Tabela 4. Resposta de fungos “dark septate” à solubilização de fosfato de cálcio.

(+) Foi observado o crescimento da colônia fúngica. (-) Ausência do halo translúcido ao redor da colônia.

Uso de fontes orgânicas e/ou inorgânica de nitrogênio por fungos “dark septate”

Todos os isolados fúngicos testados, apresentaram crescimento micelial em todos os meios utilizados (Tabela 5 e Figura 2). A massa da colônia fúngica do fungo ERR 02, aumentou significativamente nos meios SHA+NA e SHA+aa, enquanto que a do ERR 44 aumentou apenas no SHA+NA, comparativamente a massa da colônia observada nos demais meios (Tabela 5). Entre os meios testados, o fungo ERR 04 apresentou maior massa fresca da colônia no meio EC1%+NA. A massa da colônia fresca do fungo ERR 46, aumentou significativamente nos meios SHA+NA, SHA+aa e EV1%+NA, comparativamente ao meio SHA sem suplementação com glicina ou

nitrito de amônio. No meio SHA+NA, os isolados ERR 02 e ERR 44 apresentaram maior massa da colônia comparativamente aos demais, mas diferiram no diâmetro micelial e velocidade de crescimento, uma vez que o isolado ERR 02 apresentou valores menores que os observados no ERR 44. No meio SHA+aa, os isolados ERR 02 e ERR 04 apresentaram maior massa da colônia comparativamente aos demais, contudo diferiram no diâmetro micelial e velocidade de crescimento micelial, uma vez que o fungo ERR 02 apresentou valores maiores que os observados no ERR 04. O fungo ERR 04 destacou-se ainda, no meio SHA, pois apresentou maior massa da colônia, menor diâmetro micelial e velocidade de crescimento micelial que os demais isolados. A presença de qualquer das fontes de N parece não trazer benefícios no crescimento dos demais isolados, uma vez que apresentaram menor massa da colônia fúngica quando comparados aos isolados ERR 02, ERR 04 e ERR 44. Os resultados mostram a ocorrência de diferentes perfis de isolados quanto à habilidade para utilizar diferentes fontes de nitrogênio.

Um estudo realizado *in vitro* avaliou a utilização de sete fontes de N, nomeadamente glutamina, glicina, leucina, fenilalanina, valina, NaNO_3 e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ na espécie de fungo DSE *Heteroconium chaetospira* em meio ágar basal (USUKI & NARISAWA, 2007). Os autores observaram aumento significativo na massa seca do fungo em meios modificados com fontes orgânicas de N, comparativamente ao meio suplementado com nitrito de amônio ou sem N. Neste estudo, o fungo ERR 04 utilizou melhor o meio contendo o extrato de *Canavalia ensiformis* (L.) e SHA acrescido de glicina, enquanto os isolados ERR 02 e ERR 44 utilizaram melhor o meio SHA acrescido de nitrito de amônio, sendo que o fungo ERR 02 ainda foi capaz de usar o meio SHA contendo glicina, comparativamente aos demais isolados.

O diâmetro micelial da colônia variou, de maneira geral, de três a seis centímetros (Tabela 5). Este diâmetro da colônia é similar àquele observado durante a identificação uma nova espécie de fungos “dark septate” (*Harpophora oryzae*), na China, que foi de 4,5 cm no meio BDA ou no meio ágar malte quando o fungo foi crescido durante sete dias sob uma temperatura de 25°C (YUAN et al., 2010).

Estudos realizados com fontes orgânicas e/ou inorgânicas de nitrogênio em condições “in vitro”, são importantes porque podem facilitar a especulação sobre os mecanismos pelos quais os fungos “dark septate” promovem o crescimento vegetal, contribuindo para o entendimento das funções ecológicas deste grupo de fungos. Por exemplo, a partir da informação de que fungos DSE produzem uma série de enzimas extracelulares, que degradam compostos complexos de C, N e P (MANDYAM, 2008; SURONO; NARISAWA, 2017), suplementou-se o tomate e o arroz com *Canavalia ensiformis* triturada e marcada com átomos de ^{15}N como a única fonte de N, e observou-se maior recuperação ^{15}N tanto na parte aérea de tomate (VERGARA et al., 2017), como em grãos de plantas de arroz (VERGARA; ARAUJO; URQUIAGA; et al., 2018), comparativamente às plantas não inoculadas, o que indicou que o fungo auxiliou a planta hospedeira na aquisição deste nutriente

essencial para crescimento. Por outro lado, ao suprir plantas de arroz inoculadas com fungos “dark septate” com fontes inorgânicas de N, observou-se maior crescimento radicular (VERGARA; ARAUJO; ALVES; et al., 2018), maior atividade da bomba de prótons da membrana plasmática – PM H⁺-ATPase –, e maior acúmulo do ¹⁵N na parte aérea, comparativamente às plantas não inoculadas (VERGARA; ARAUJO; SPERANDIO; et al., 2019).

Meio de cultura	Fungos endofíticos “dark septate”											
	ERR 02	ERR 04	ERR 16	ERR 26	ERR 31	ERR 32	ERR 33	ERR 42	ERR 43	ERR 44	ERR 45	ERR 46
	Massa fresca da colônia fúngica (mg)											
SHA	60 Bb	950 Ca	40 Ab	100 Ab	90 Ab	40 Ab	90 Ab	50 Ab	60 Ab	50 Bb	40 Ab	50 Bb
SHA+NA	1270 Aa	860 Cb	90 Ac	160 Ac	230 Ac	110 Ac	180 Ac	130 Ac	150 Ac	1330 Aa	120 Ac	840 Ab
SHA +aa	1400 Aa	1140 Ba	110 Ac	180 Ac	190 Ac	180 Ac	210 Ac	90 Ac	170 Ac	40 Bc	110 Ac	710 Ab
EC1%+NA	530 Bc	1690 Aa	80 Ac	100 Ac	110 Ac	50 Ac	100 Ac	60 Ac	50 Ac	170 Bc	120 Ac	1040 Ab
CV(%)	40,07											
	Diâmetro micelial (mm)											
SHA	52,4Ab	36,6Ac	60,8Aa	54,0Bb	60,8Aa							
SHA+NA	50,6Ab	26,9Bc	53,1Bb	60,8Aa	60,8Aa	54,3Bb	60,8Aa	60,8Aa	52,0Bb	60,8Aa	52,9Bb	60,8Aa
SHA +aa	53,3Ab	39,2Bc	55,6Bb	60,8Aa	60,8Aa	55,8Bb	60,8Aa	60,8Aa	55,1Bb	60,8Aa	53,2Bb	60,8Aa
EC1%+NA	45,2Bb	39,6Bc	60,8Aa	60,8Aa	46,8Bb	60,8Aa	60,8Aa	60,8Aa	60,8Aa	48,9Bb	60,8Aa	60,8Aa
CV(%)	4,42											
	Velocidade de crescimento (mm dia⁻¹)											
SHA	3,9Ab	2,6Ac	4,6Aa	4,0Bb	4,6Aa							
SHA+NA	3,7Ab	1,7Bc	3,9Bb	4,6Aa	4,6Aa	4,0Bb	4,6Aa	4,6Aa	3,8Bb	4,6Aa	3,9Bb	4,6Aa
SHA +aa	3,9Ab	2,8Ac	4,1Bb	4,6Aa	4,6Aa	4,2Bb	4,6Aa	4,6Aa	4,1Bb	4,6Aa	3,9Bb	4,6Aa
EC1%+NA	3,3Bb	2,8Ac	4,6Aa	4,6Aa	3,4Bb	4,6Aa	4,6Aa	4,6Aa	4,6Aa	3,6Bb	4,6Aa	4,6Aa
CV(%)	4,97											

Tabela 5. Massa fresca da colônia fúngica (mg), diâmetro micelial (mm) e velocidade de crescimento (mm dia⁻¹) de isolados de fungos endofíticos “dark septate”, crescidos em meios de cultura contendo fontes orgânicas e/ou inorgânicas de nitrogênio até aos 12 dias após a inoculação.

Letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade. SHA: solução de Hoagland agarizada com 1,5% de ágar + 1% de dextrose; SHA+ NA: solução de Hoagland agarizada com 1,5% de ágar + 1% de dextrose + 0,3 % de N na forma de nitrato de amônio; SHA + aa: solução de Hoagland agarizada com 1,5% ágar + 1% de dextrose + 0,3 % de N na forma da glicina; EC1% + NA: 1,5% de ágar + 1% de extrato *Canavalia ensiformis* (L.) + 0,3 % de N na forma de nitrato de amônio.

4 | CONCLUSÕES

Todos os isolados cresceram nas faixas de pH testadas. Os isolados ERR 02 e ERR 04 alcalinizam o meio BDA contendo azul de bromotimol e os demais o acidificam. Nenhum isolado solubiliza fosfato de cálcio.

O fungo ERR 04 utiliza melhor fontes orgânicas e inorgânicas de nitrogênio. O fungo ERR 02 utiliza melhor o meio SHA acrescido tanto de N inorgânico (nitrato de amônio) quanto de orgânico (glicina). O fungo ERR 44 utiliza melhor o meio SHA acrescido de nitrato de amônio. Portanto, estes isolados de fungos dark “septate” mostram-se promissores para testes de avaliação da transferência de nutrientes em direção à planta hospedeira.

REFERÊNCIAS

ADDY, H. D.; PIERCEY, M. M.; CURRAH, R. S. Microfungal endophytes in roots. **Canadian Journal**

of **Botany**, v. 83, n. 1, p. 1-13, 2005.

DIENE, O.; WANG, W.; NARISAWA, K. *Pseudosigmoidea ibarakiensis* sp. nov., a Dark Septate Endophytic Fungus from a Cedar Forest in Ibaraki, Japan. **Microbes and Environments**, v. 28, n. 3, p. 381-387, 2013.

FERREIRA, D. F. SISVAR : A Computer statistical analysis system. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

JUMPPONEN, A.; TRAPPE, J. M. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. **New Phytologist**, v. 140, n. 2, p. 295-310, 1998.

MANDYAM, K. **Dark septate fungal endophytes from a tallgrass prairie and their continuum of interactions with host plants**. 2008. Kansas State University

MARRA, L. M. et al. Solubilisation of inorganic phosphates by inoculant strains from tropical legumes. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 603-609, 2011.

POSTMA, J. W. M.; OLSSON, P. A.; FALKENGREN-GRERUP, U. Root colonisation by arbuscular mycorrhizal, fine endophytic and dark septate fungi across a pH gradient in acid beech forests. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 2, p. 400-408, 2007/02/01/ 2007.

READ, D. J.; HASELWANDTER, K. Observations on the mycorrhizal status of some alpine plant communities. **New Phytologist**, v. 88, n. 2, p. 341-352, 1981.

RIBEIRO, K. G. **Fungos endofíticos dark septates em arroz silvestre *Oryza glumaepatula* Steud**. 2011. 68-68 Dissertation, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista,RO.

RUOTSALAINEN, A. L.; ESKELINEN, A. Root fungal symbionts interact with mammalian herbivory, soil nutrient availability and specific habitat conditions. **Oecologia**, v. 166, n. 3, p. 807-17, Jul 2011.

SHARMA, B. B.; JHA, D. K. Arbuscular mycorrhiza and dark septate fungal associations in medicinal and aromatic plants of Guwahati. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 2, p. 212-222, 2012.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Solubilização de fostatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 311-319, 2000.

ŠRAJ-KRŽIČ, N. et al. Mycorrhizal colonisation in plants from intermittent aquatic habitats. **Aquatic Botany**, v. 85, n. 4, p. 331-336, 2006/11/01/ 2006.

SURONO; NARISAWA, K. The dark septate endophytic fungus *Phialocephala fortinii* is a potential decomposer of soil organic compounds and a promoter of *Asparagus officinalis* growth. **Fungal Ecology**, v. 28, p. 1-10, 2017.

SYLVESTER-BRADLEY, R. et al. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fostatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 12, p. 15-22, 1982.

TORRES-JÚNIOR, C. V. et al. Diversity and symbiotic performance of peanut rhizobia from Southeast region of Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 8, n. 6, p. 566-577, 5 February 2014.

USUKI, F.; NARISAWA, K. A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*, and a nonmycorrhizal plant, Chinese cabbage. **Mycologia**, v. 99, n. 2, p. 175-184, 2007.

VERGARA, C. et al. Contribution of dark septate fungi to the nutrient uptake and growth of rice plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 67-78, 2018/01/01/ 2018.

VERGARA, C. et al. Plant-mycorrhizal fungi interaction and response to inoculation with different growth-promoting fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, 2019.

VERGARA, C. et al. Dark septate endophytic fungi increase the activity of proton pumps, efficiency of ¹⁵N recovery from ammonium sulphate, N content, and micronutrient levels in rice plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2019/05/14 2019.

VERGARA, C. et al. Dark Septate Endophytic Fungi Increase Green Manure-(¹⁵N) Recovery Efficiency, N Contents, and Micronutrients in Rice Grains. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 613, 2018.

VERGARA, C. et al. Dark Septate Endophytic Fungi Help Tomato to Acquire Nutrients from Ground Plant Material. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. 2437, 2017-December-11 2017.

WEI, Y. F. et al. Functional and transcript analysis of a novel metal transporter gene EpNramp from a dark septate endophyte (*Exophiala pisciphila*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 124, p. 363-368, 2016.

IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE FATORES DE INOVAÇÃO E COMPETITIVIDADE DA BIOINDÚSTRIA: UM MODELO APLICADO AO SEGMENTO DE BEBIDAS NA REGIÃO DO MEIO OESTE DE SANTA CATARINA

Cristiane Bonatto de Morais

Universidade do Oeste de Santa Catarina
Videira/SC

Eduardo Gelinski Junior

Universidade Federal do Paraná
Curitiba/PR

Dirceu Scaratti

Associação Nacional dos Serviços Municipais de
Saneamento, ASSEMAE
Florianópolis/SC

Patricia Padilha Bitencourt Mores

Universidade do Oeste de Santa Catarina
Videira/SC

RESUMO: As bioindústrias são empresas com que utilizam em escala, os artefatos da biotecnologia em seus produtos. A inovação é um dos fatores prioritários para a vantagem competitiva de qualquer empresa. Neste sentido, o problema de pesquisa propõe identificar fatores que podem influenciar a inovação nas bioindústrias para competitividade. Diante disto, o presente trabalho tem como objetivo propor um modelo para a identificação e análise de fatores de inovação e competitividade na gestão de bioindústrias de bebidas, do meio oeste de Santa Catarina. O trabalho se compõe por meio de pesquisa de natureza qualitativa, com estratégia de estudo de campo e abordagem descritiva. Foi possível concluir que o modelo

de matriz é apropriado como metodologia e favorável a adequações em outros contextos, beneficiando outras bioindústrias a se estabelecerem na bioeconomia emergente.

PALAVRAS-CHAVE: Bioeconomia. Modelo. Inovação. Vantagem Competitiva.

IDENTIFICATION AND ANALYSIS OF
BIOINDUSTRIAL INNOVATION AND
COMPETITIVENESS FACTORS: A MODEL
APPLIED TO THE BEVERAGE SEGMENT IN
THE WEST REGION OF SANTA CATARINA

ABSTRACT: Bio-industries are companies with which they use in scale, the artifacts of biotechnology in their products. Innovation is one of the priority factors for the competitive advantage of any company. In this sense, the research problem proposes to identify factors that can influence innovation in bio-industries for competitiveness. In view of this, the present work aims to propose a model for the identification and analysis of innovation and competitiveness factors in the management of beverage industries, in the western half of Santa Catarina. The work is composed by qualitative research, with a field study strategy and a descriptive approach. It was possible to conclude that the matrix model is appropriate

as a methodology and favorable to adjustments in other contexts, benefiting other bioindustries to establish themselves in the emerging bioeconomy.

KEYWORDS: Bioeconomics. Model. Innovation. Competitive advantage.

1 | INTRODUÇÃO

Empreendimentos inovadores são mais atrativos para investidores. A inovação e a capacidade competitiva são fatores que impulsionam os negócios, assim como as estatísticas de crescimento e desenvolvimento econômico de uma nação. Neste contexto, as bioindústrias são empresas que utilizam em seus produtos, inovações resultantes de pesquisa e desenvolvimento na área da biotecnologia (JUDICE; BAÊTA, 2002).

A biotecnologia como ciência, abre novas tecnologias à realidade industrial (ANPROTEC, 2014). Atualmente, como insumo de um setor, a biotecnologia está integrada no conceito das bioindústrias e o setor é formado principalmente por empresas de micro, pequeno e até médio porte representando uma oportunidade de elevar o crescimento e o desenvolvimento econômico de um país, região, setor, segmento, entre outros (JUDICE; BAÊTA, 2002).

O cenário para a biotecnologia está despontando com as inúmeras possibilidades geradas a partir da grande biodiversidade do Brasil, condição essa que fortalece um contingente de negócios do país. E, de acordo com a Associação Brasileira de Desenvolvimento Industrial (ABDI, 2017) o país está inserido na rota tecnológica da biotecnologia em setores como a saúde, biofármacos, agroindústrias, biocombustíveis e meio ambiente.

Com a crescente tendência e interesse para os negócios em ciência e biotecnologia, o governo brasileiro tem concentrado esforços através de políticas públicas e incentivos para fomentar o desenvolvimento de empresas, bem como para promover o crescimento do setor empresarial ligado à biotecnologia (BRASIL, 2007).

A bioeconomia, em seu contexto geral é capaz de contribuir principalmente com a problemática ligada à sustentabilidade. O incentivo no surgimento de mais bioindústrias e empresas com soluções sustentáveis, inovadoras e competitivas, no âmbito ambiental, social e financeiro. O Brasil reúne condições para abrigar, mas o índice de inovação é baixo.

Diante de um cenário globalizado, competitivo, mas positivo, as bioindústrias estão despontando em decorrência à bioeconomia, e a busca por melhor posicionamento passa pela possibilidade de identificar fatores de inovação e competitividade dos setores envolvidos, objetivo pelo qual o presente trabalho investiga tais elementos para ampliar o desempenho das empresas de micro, pequeno e médio porte do setor de bebidas, especificamente em microcervejarias.

Nesta perspectiva, a ciência e a biotecnologia despontam como um assunto

de notável tendência para negócios. No entanto, ainda há falta de clareza no enquadramento das áreas nos segmentos da economia. As empresas de biotecnologia têm estruturas produtivas de alto custo. Falta profissionalização da gestão, questões de burocracia, regulações, capacitação de mão-de-obra especializada, investimento em pesquisas e adequação de modelos empresariais.

A bioindústria como segmento da biotecnologia está pouco explorado e tem uma crescente participação no mercado. Dentre os segmentos da bioindústria, os resultados do setor de bebidas, especialmente o mercado cervejeiro, indicam uma tendência a um melhor posicionamento, no que diz respeito ao atendimento de uma demanda que está correlacionada ao crescimento econômico e novos padrões de consumo e possui boas perspectivas, sobretudo nos segmentos de maior valor agregado (CERVIERI JÚNIOR et al., 2014).

Diante das atuais perspectivas e tendências na utilização da biotecnologia na economia da região, o problema de pesquisa questiona os fatores que influenciam o comportamento inovador nas bioindústrias do setor de bebidas, em específico das microcervejarias, com propósito de fortalecer capacidades e favorecer a competitividade no setor.

Desta forma, o presente artigo procurou apresentar uma afinidade das potencialidades dos fatores existentes de inovação e competitividades que se quer investigar para qualificar a região do meio oeste de Santa Catarina como potencial para bioeconomia emergente.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Com base nos objetivos, a pesquisa se classifica em exploratória por ter o caráter de uma investigação inovadora em relação a melhoria dos conceitos estudados. E, por ser uma pesquisa do tipo flexível, foi realizada de forma bibliográfica (GIL, 2002, p. 42).

Quanto a abordagem foi uma pesquisa qualitativa, utilizou-se de métodos indutivos, por ter uma fundamentação na experiência dos elementos (GIL, 2008). Com base nos procedimentos foi usada a pesquisa bibliográfica e a pesquisa de campo (MARCONI & LAKATOS, 2002; STRIEDER, 2009; GIL, 2012).

Após a análise do conteúdo dos artigos, na pesquisa bibliográfica foram levantados os oito fatores de inovação para a competitividade: capital intelectual, infraestrutura, ambiente regulatório, alianças estratégicas, custos, capital humano, produção e sistemas de controle, bem como os subfatores dimensionados no ambiente interno e externa da organização, estudados de acordo com os autores: Machado-da-Silva (2002), Roman et al. (2012), Pugatch Consilium (2015) e PINTEC (2016).

O modelo foi validado inicialmente por especialistas da academia e aplicado em

bioindústrias do segmento de bebidas do ramo de microcervejarias, com gerentes e proprietários, dos municípios que faziam parte da região estudada (GIL, 2002).

Foram analisados os fatores existentes e aqueles não existentes, comparado aos fatores identificados no levantamento das publicações, gerando interpretações e visualizações gráficas, com reflexões sobre a importância dessa matriz para o cenário regional.

3 | ANÁLISE E RESULTADOS

As bioindústrias do segmento de bebidas, objeto deste estudo, fazem parte das rotas estratégicas do Programa de Desenvolvimento Industrial Catarinense - PDIC. No programa, o setor agroalimentar e de biotecnologia são setores identificados para serem potencializados como setores portadores de futuro para Santa Catarina. Para os desafios, “a inovação é peça fundamental no crescimento sustentado”, sendo que Santa Catarina registrou sua participação nas empresas inovadoras nacionais com um aumento de 9,2% (2006-2008) para 9,7% (2009-2011) (FONSECA et al., p. 359, 2014).

Dentre as estratégias para atingir o propósito do trabalho, procedeu-se de forma sistemática: a) se classificou os fatores apropriados à inovação e competitividade; b) identificou-se as bioindústrias existentes na macrorregião do meio oeste de Santa Catarina; c) desenvolveu-se um modelo para identificar e analisar os fatores de inovação e competitividade das bioindústrias; d) procedeu-se uma classificação dos fatores de inovação e competitividade para bioindústrias e, por fim, e) implementou-se a aplicação em cervejarias do meio oeste catarinense e avaliando frente ao cenário regional.

No modelo proposto, também estão elencados os itens para identificação dos fatores com base no Manual de Oslo Organização de Cooperação e de Desenvolvimento Econômico (OCDE, 2005). Este manual é um instrumento internacional que serve para orientar a coleta e mensuração de dados sobre inovação e é referência para acompanhar as atividades de inovação na indústria do país, parâmetro para competitividade em nível internacional.

3.1 Fatores de Inovação e Competitividade

A inovação é sinônimo de mudança para melhorias constantes. Semelhante à qualidade, o conceito de inovação é uma norma no mundo organizacional. Assim, quando percebido o que incrementa a competitividade, identificar os fatores no âmbito interno e externo se tornam importantes.

Por essa razão, tais elementos devem ser identificados pelas organizações. A origem dessas informações faz parte da cadeia produtiva e o processamento aplicado permite maior assertividade à decisão dos gestores. Com os elementos

identificados, seriam estimados habilmente, os volumes de investimentos em capital humano e infraestrutura de P&D, considerados fatores decisivos para se tornar ou permanecer competitivo na bioeconomia (FISCHER,2014).

Para o presente estudo, a composição da matriz dispõe da observação dos fatores de inovação no âmbito interno e externo da organização. Os fatores são referentes a capital intelectual (conhecimento), capital humano, infraestrutura de P&D (Pesquisa e Desenvolvimento), ambiente regulatório, aliança estratégica, custos, produção e sistemas de controle.

A dimensão externa faz referência ao espaço em que qualquer a empresa está inserida. No presente estudo, essa esfera é observada e se expande a partir de indicadores que influenciam a performance do negócio.

3.1.1 Capital Intelectual

O capital intelectual está ligado ao conhecimento, notável importância para qualquer organização, sendo um dos diferenciais para se ter destaque no ambiente empresarial. Este fator diz respeito ao patrimônio de inteligência e criatividade através das pessoas, fundamental para gerar novos conhecimentos em uma organização (ALAZMI, 2003 *apud* ROMAN et al., 2012).

3.1.2 Infraestrutura para P&D

Neste fator, se tem refletido vários indicadores a nível de país, incluindo a despesa total em P&D; patentes de intensidade; despesas de P&D em biotecnologia; níveis de investimento em ciências da vida; parcerias público-privadas; e citações acadêmicas e científicas. (PUGATCH, 2015).

3.1.3 Ambiente regulatório

Ao identificar as regulamentações que as organizações precisam se adequar, assegura-se a manutenção do padrão de qualidade competitivo frente ao mercado, beneficiando os usuários de novas tecnologias. Para a pesquisa da Pugatch (2015) “O ambiente regulatório desempenha um papel importante na formulação de incentivos à inovação e ao estabelecer níveis adequados de qualidade e segurança”. Para este autor, as condições adequadas aumentam as vendas e a qualidade dos produtos.

3.1.4 Alianças estratégicas

O elemento inovador das alianças estratégicas revela a capacidade de inovar através de parcerias e redes de cooperação. Para Roman et al. (2012, p. 34) “O fator está fundamentado em princípios que procuram articular relacionamentos entre

concorrentes, distribuidores e fornecedores de matéria prima e de material, visam distribuir riscos e aumentar a competitividade”. No âmbito organizacional, as parcerias caracterizam competências quanto a cooperação e fortalecimento de setores.

3.1.5 Custos

Os custos representam um elemento muito importante em qualquer organização. Na bioindústria, a revisão dos custos para aumentar a produtividade e competitividade se apoia nas estratégias para o posicionamento de mercado das organizações. A identificação sistematizada desse fator, relacionado às ações tomadas no sentido de modificar processos ou o próprio produto, em busca da redução do seu preço final demonstram essa capacidade (SLACK, 1997 apud ROMAN et al. 2012).

3.1.6 Capital humano

Capital humano é uma das esferas de maior sensibilidade nas organizações. O capital humano altamente qualificado e tecnicamente treinado é uma das características fundamentais para a inovação bem-sucedida. A falta do capital humano adequado torna inviável as condições de inovação (PUGATCH, 2015).

3.1.7 Produção

O atendimento aos planos e programas de qualidade para o processo de produção em uma organização são bons indicativos para medir a competência frente ao mercado. Para mensurar a abrangência de um bom controle de produção, Roman et al. (2012) cita os fatores: gerenciamento de projetos; gestão da qualidade total; planejamento, gestão holística, estratégia organizacional, produção enxuta, *just in time*, melhoria da produção, dentro outros elementos, que em conjunto garantem excelência produtiva.

3.1.8 Sistemas de controle

Sem mecanismos de controle, dificilmente uma empresa consegue se manter competitiva no mercado, com a nova geração de consumidores cada vez mais exigentes, se faz necessário adotar medidas que viabilizem cada vez mais o negócio, assim como adotar iniciativas de sustentabilidade e responsabilidade social. O reconhecimento dos fatores de inovação e de competitividade para a gestão nas bioindústrias contribuem para priorizar a enorme quantidade de informações disponíveis para delinear ideias e soluções.

3.2 Matriz dos Fatores de Inovação e Competitividade

O modelo para identificação dos fatores constitui uma ferramenta essencial para que os gestores possam planejar e dar cumprimento às atividades que possuem importância para a inovação nas bioindústrias, otimizando suas ações para o bem-estar das organizações.

O modelo de identificação busca quantificar, identificando quais os fatores de inovação e competitividade tem maior incidência e significado para a eficácia desses elementos nas decisões por inovação para manter e elaborar estratégias de mercado, dando uma visão da influência destes na dimensão interna e externa das bioindústrias investigadas.

Dimensão interna		Dimensão externa	
Inovação	Competitividade	Inovação	Competitividade
Capital intelectual (conhecimento)	(1) Tem Proteção à Propriedade Intelectual	(22) Tem patentes depositadas	(38) Tem posição de <i>Benchmarking</i>
	(2) Paga Royalties	(23) Tem patentes em produção	(39) Tem Redes e Parcerias
	(3) Recebe royalties		(40) Tem Reserva de mercado
Infraestrutura para P&D	(4) Tem instalações próprias	(24) Tem eficiência em equipamentos	(41) Desenvolve novos produtos a partir da P&D
	(5) Tem instalações terceirizadas	(25) Tem valor agregado a partir da P&D	(42) Dispõe de elementos de Confiabilidade do cliente (conformidades e medidas de confiança)
	(6) Tem instalações subsidiadas pelo Poder Público	(26) Tem apoio à pesquisa básica	
	(7) Tem investimentos em P&D	(27) Possui crédito para investimento em fábrica/ equipamento	
Ambiente regulatório	(8) Tem informatização para agilidade dos processos de registros	(28) Possui incentivos fiscais	(43) Tem Certificações de qualidade
	(9) Tem registro: Tecnológico/ Saúde/ Alimento/ Bebida		(44) Tem registros em órgãos de fiscalização
	(10) Possui contrato de licença de uso/ comercialização		

Alianças estratégicas	(11) Mantém redes de cooperação com empresas privadas ou públicas locais	(29) Mantém redes de cooperação nacionais com universidade ou ICT's	(45) Mantém redes de cooperação Internacional
Custos	(12) Tem sistema de custos Definidos	(30) Dispõe de rotinas administrativas e operacionais flexíveis	(46) O preço é determinado: pela própria empresa
Capital humano	(13) Tem funcionários com níveis de educação superior (G/M/D)	(31) Tem gestão Estratégica de RH com investimento em Formação e Desenvolvimento	(47) Tem políticas de intraempreendedorismo
	(14) Tem programas de estímulo à criatividade e inovação		
Produção	(15) Tem PCP – Programa de planejamento e controle da produção	(32) Desenvolve novos produtos a partir da produção	(48) Tem conformidades no produto
	(16) Tem programas de gestão da qualidade	(33) Tem programa de melhoria do ciclo de produção	(49) Tem condições de demanda
	(17) Dispõe de resposta rápida à reorganização de processos	(34) Tem valor agregado aos produtos a partir da produção	(50) Tem eficiência em máquinas e equipamentos
Sistemas de controle	(18) Tem gestão verde de recursos e cadeia de suprimentos	(35) Tem gestão de resíduos	(51) Tem programa de Rastreabilidade
	(19) Mantém tecnologias limpas	(36) Tem iniciativas verdes	(52) Tem medidas de desempenho
	(20) Tem medidas de confiabilidade	(37) Tem gestão da informação para minimizar riscos e perdas	(53) Tem sistemas de informação para grandes movimentação de dados
	(21) Tem programa de Investimento em T.I.		

Quadro 01 – Matriz dos fatores de inovação e competitividade

(continua)

Fonte: os autores, 2018.

O modelo tem a prerrogativa de apresentar um retrato da bioindústria em relação aos fatores de inovação reconhecendo o potencial competitivo. Com esse arquétipo, se aumenta as chances de se identificar a prática inovativa.

A busca por entender e avaliar a dinâmica da bioindústria do setor de bebidas

remetem a identificação de fatores de inovação e competitividade. Estas estão associadas a *expertises*, iniciativas empreendedoras com visão estratégica de atuar em nichos específicos, pioneirismo em produtos e serviços inovadores na região com a utilização de biotecnologia em seus processos produtivos. Estas constatações vêm ao encontro de pesquisas de Judice, Silva e Baêta (2005) que avaliaram a gestão de inovação e dos fatores de competitividade na bioindústria brasileira, como desafios à evolução do cluster de biotecnologia no Estado de Minas Gerais, onde chegaram as semelhantes constatações.

Neste sentido, estes conjuntos de fatores têm potencial para consolidar um ambiente que estimula os negócios, contribuindo para o surgimento e manutenção de várias micro, pequenas e médias empresas.

4 | CONCLUSÃO

A biotecnologia faz parte dos setores “portadores de futuro”. A densidade desta afirmação constitui uma forte motivação para que empresas e instituições realizem planejamentos relacionando iniciativas considerando as “rotas estratégicas” voltadas a caminhos e concepção de futuro vinculados a nova economia evolucionária em setores promissores da bioeconomia.

As indústrias de bebidas no Brasil vêm se caracterizando como um nicho de negócios pelas grandes possibilidades de expansão. O aspecto econômico favorável, reconhece que as empresas que investem em capacidade produtiva e inovação são as aquelas que conseguem maior crescimento.

Os fatores identificados indicam a necessidade de se estruturar iniciativas de estudo para instalações de clusters em bioindústrias, uma vez que o cenário com o potencial da região para a inovação proporciona uma vertente para articulações que inovariam o fator de custos, de regulações, de produção, de sistemas de controle como vetores de negócios.

Os resultados obtidos permitem apresentar que as principais limitações da metodologia proposta são: (1) os fatores identificados a partir da matriz dão base, mas não garantem o cumprimento das ações de inovação e competitividade; (2) a checagem da matriz avalia, mas não confirma a efetividade das ações; (3) o modelo deveria prever uma dimensão de alocação de pesos aos subfatores, que tivesse a função de priorizar os fatores e subfatores relevantes em cada uma das dimensões.

Ademais, a matriz pode se adequar ao contexto e realidade das bioindústrias de bebidas do meio oeste de Santa Catarina como instrumento de identificação de fatores de inovação e competitividade, para a verificação das informações para o planejamento estratégico da empresa e alavancagem de estratégias para inovar e competir no setor de bebidas utilizando a biotecnologia. A metodologia proposta pode ser útil, com as devidas adaptações, para qualquer outra organização que

tenha como objetivo instituir a cultura da inovação.

Como sugestão para futuros estudos, sugere-se a aplicação desse modelo em outras organizações que desenvolvem seus produtos e serviços utilizando a biotecnologia, bem como empresas que desenvolvem P&DI, como forma de verificar a validade do modelo proposto em realidades distintas ao setor de bebidas.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO DA INDÚSTRIA (ABDI). Estudo prospectivo Visão de Futuro e Agenda INI - Biotecnologia: 2008-2025. In.: **Biotecnologia: Relatório Final Iniciativa Nacional de Inovação**. 2006. Disponível em: <<http://www.abdi.com.br/Estudo/Estudo%20Prospectivo%20Biotecnologia.pdf>>. Acesso em: 04 fev. 2017.

Associação Brasileira de Pesquisa e Inovação Industrial – EMBRAPII. **Relatório Anual 2016**. – Brasília :EMBRAPII, 2016. 84 p. Disponível em:<https://embrapii.org.br/wp-content/uploads/2016/01/embrapii_relatorio-de-desempenho-embrapii-2016_anual1.pdf>. Acesso em: 18mai. 2017.

BAETA, Adelaide Maria Coelho; JUDICE, Valéria Maria Martins. Gestão de inovação e fatores de competitividade na bioindústria brasileira – desafios à evolução do cluster de biotecnologia em Belo Horizonte (MG). **Revista Ciências Administrativas**, Fortaleza, v. 9, n. 2,p. 172-180,Dez.2003. Disponível em: DOI: <http://dx.doi.org/10.5020/2318-0722.9.2.%25p>. Acesso em: 16 jan. 2018.

BRASIL. Decreto Lei nº 6.041, de 8 de fevereiro de 2007. Institui a Política de Desenvolvimento da Biotecnologia, cria o Comitê Nacional de Biotecnologia e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 8 fev. 2007. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/decreto/d6041.htm. Acesso em 27 fev. 2017.

CEBRAP. BRBIOTEC. **Brazil Biotech Map 2011**. São Paulo. 2011. Disponível em: <https://www.clustercollaboration.eu/sites/default/files/international_cooperation/brazil_biotech_map_2011.pdf> Acesso em 21 jan. 2017.

CENTRO BRASILEIRO DE ANÁLISE E PLANEJAMENTO (CEBRAP). **Brazil Biotech Map 2011**. Disponível em: <https://www.clustercollaboration.eu/sites/default/files/international_cooperation/brazil_biotech_map_2011.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2017.

CERVBRASIL. **ANUÁRIO 2016**. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DA CERVEJA - **CERVBRASIL**. 2016. Disponível em:<http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/anuario2016/161130_CervBrasil-Anuario2016_WEB.pdf>. Acesso em:22 dez. 2017.

CERVIERI JÚNIOR, Osmar et al. **O setor de bebidas no Brasil**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 40, p. [93]-129. 2014

FISCHER, Bruno Brandão. O sistema de certificação bioeconômica integrada: uma abordagem dos desafios do paradigma bioeconômico. **Revista FACEF Pesquisa: Desenvolvimento e Gestão**, v.17, n.1 - p.5-20 - jan/fev/mar/abr 2014. Disponível em: <http://periodicos.unifacef.com.br/index.php/facefpesquisa/article/view/752>. Acesso em: 18 jan. 2017.

FONSECA, Carlos Henrique Ramos et al. Programa de desenvolvimento industrial catarinense 2022: uma rota para o futuro. In: **MONTORO**, Guilherme Castanho Franco et al. (Org.). Um olhar territorial para o desenvolvimento: Sul. Rio de Janeiro : Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2014. p. [348]-377. Disponível em: <<https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/3675>>. Acesso em: 21 fev. 2017.

GIL, Antonio Carlos. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2002. 175 p.

GIL, Antonio Carlos. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 6. ed. – 5. reimpr. – São Paulo : Atlas, 2012.

JUDICE, V.M.M. Parque Nacional de Empresas de Biotecnologia. **Fundação Biominas**. 2001. Disponível em: <<http://biominas.org.br/wp-content/uploads/2015/06/Parque-Nacional-de-Empresas-de-Biotecnologia.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2018.

JUDICE, Valéria M. M.; SILVA, Sandro Márcio da; BAETA, Adelaide M. C.. Inovação e internacionalização bioindustrial em Minas Gerais 2001-2004: como potencializar oportunidades e avançar rumo a 2020?. **Cadernos EBAPE.BR**, Rio de Janeiro, p. 1 a 17, jan. 2005. ISSN 1679-3951. Disponível em: <<http://bibliotecadigital.fgv.br/ojs/index.php/cadernosebape/article/view/5407/4141>>. Acesso em: 15 Jan. 2018.

JUDICE, Valéria M.M.; BAÊTA, Adelaide Maria Coelho. Clusters em bioindústria e biotecnologia em minas gerais - habitats construídos de inovação, competitividade e desenvolvimento regional. **Revista Gestão & Tecnologia**, [S.l.], v. 1, n. 1, set. 2010. ISSN 2177-6652. Disponível em: <<http://revistagt.fpl.edu.br/get/article/view/107>>. Acesso em: 21 jan. 2017. doi:<http://dx.doi.org/10.20397/2177-6652/2002.v1i1.107>.

_____. Modelo empresarial, gestão de inovação e investimentos de venture capital em empresas de biotecnologia no Brasil. **Rev. adm. contemp.**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 171-191, Mar. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-65552005000100009&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 21Jan. 2017.doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-65552005000100009>.

MACHADO, Lucas. **Identificação dos fatores de competitividade para exportação do setor moveleiro** – um estudo realizado no polo de São Bento do Sul – SC. 2017. 126 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia da Produção) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2017. Disponível em: <<http://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/46981>>. Acesso em 12 jan. 2018.

MACHADO-DA-SILVA, Clóvis L.; BARBOSA, Solange de Lima. Estratégia, fatores de competitividade e contexto de referência das organizações: uma análise arquetípica. **Rev. adm. contemp.[online]**. 2002, vol.6, n.3, pp.7-32. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-65552002000300002>. Acesso em: 20 fev. 2017.

MARCUSSO, Eduardo Fernandes. **As microcervejarias no Brasil atual: sustentabilidade e territorialidade**. 2015. 171 p. Dissertação (Mestrado em Sustentabilidade na Gestão Ambiental) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015. Disponível em: <<http://www.ppgsga.ufscar.br/alunos/banco-de-dissertacoes/2015/eduardo-marcusso-versao-final.pdf>>. Acesso em 11 jan. 2018.

MARCUSSO, Eduardo Fernandes; MÜLLER, Carlos Vitor. A cerveja no brasil: O ministério da agricultura informando e esclarecendo. Ministério da Agricultura, 2017. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pastapublicacoes-DIPOV/a-cerveja-no-brasil-28-08.pdf>> Acesso em: 15 já. 2018.

ORGANIZAÇÃO para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico. **Manual de Oslo**: diretrizes para coleta e interpretação de dados sobre inovação. 3. ed. Paris: OCDE, 2005.

ORGANIZAÇÃO para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico. OECD. **The Bioeconomy to 2030: Designing a policy agenda – main findings and policy conclusions**. 2009. 18p. Disponível em: <<http://www.oecd.org/sti/futures/long-termtechnologicalsocietalchallenges/42837897.pdf>>Acesso em 07 jan. 2017.

PINTEC - **Pesquisa de inovação**: 2014 / IBGE, Coordenação de Indústria. – Rio de Janeiro : IBGE, 2016. 105 p. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv99007.pdf>>. Acesso em: 12 jan.. 2017.

_____. **Estratégia competitiva: técnicas para análise de indústrias e da concorrência.** 7. ed. Rio de Janeiro: Campus, 1991. 362 p.

PUGATCH Consilium, 2014. **Building the Bioeconomy: examining National Biotechnology Industry Development Strategies.** 74 pp. Disponível em: <<http://biominas.org.br/downloads/building-the-bioeconomy-examining-national-biotechnology-industry-development-strategies/>> Acesso em 02 out. 2016.

PUGATCH Consilium, 2015. **Building the bioeconomy 2015Annex: enabling factors and economy case studies.** 44 pp. Disponível em:<<http://www.pugatch-consilium.com/reports/Pugatch%20Consilium,%20Building%20the%20Bioeconomy%202015,%20Annex.pdf>>. Acesso em 02 out. 2016.

PUGATCH Consilium, 2015. **Building the Bioeconomy: examining National Biotechnology Industry Development Strategies Globally.** 102 pp. Disponível em: <<http://www.pugatch-consilium.com/reports/Pugatch%20Consilium,%20Building%20the%20Bioeconomy%202015.pdf>>. Acesso em 02 out. 2016.

ROLDAN, Lucas Bonacina. **Modelo para identificação dos fatores críticos de sucesso na gestão de cadeias de suprimentos: os casos de uma indústria automobilística e de um varejo supermercadista.** 2010. 149 p. Dissertação (Mestrado em Administração e Negócios)- Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

ROMAN, Darlan José et al. Fatores de competitividade organizacional. **Brazilian Business Review.** Vitória-ES: v. 9, n.1, jan-mar. 2012, p.27-46, 2007. Disponível em:https://www.researchgate.net/profile/Darlan_Roman2/publication/280554839_Fatores_de_Competitividade_Organizacional/links/55b8caa408aed621de07ae40.pdf. Acesso em: 05 fev. 2017.

SINDIVINHO. Sindicato das Indústrias do Vinho de Santa Catarina. **Vinícolas.** Disponível em: <<http://www.sindivinho.com.br/vinicolas.php>>. Acesso em: 24 fev. 2017.

STRIEDER, Roque. **Diretrizes para elaboração de projetos de pesquisa.** Joaçaba: Ed. Unoesc, 2009.

TRIAS DE BES, Fernando; KOTLER, Philip. **A bíblia da inovação: o modelo A-F.** São Paulo: Leya, 2011. 327 p.

SOBRE AS ORGANIZADORAS

RAISSA RACHEL SALUSTRIANO DA SILVA-MATOS Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade de Pernambuco - UPE (2009), Mestre em Agronomia - Solos e Nutrição de Plantas pela Universidade Federal do Piauí - UFPI (2012), com bolsa do CNPq. Doutora em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba - UFPI (2016), com bolsa da CAPES. Atualmente é professora adjunta do curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (CCAA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em fitotecnia, fisiologia das plantas cultivadas, propagação vegetal, manejo de culturas, nutrição mineral de plantas, adubação, atuando principalmente com fruticultura e floricultura. E-mail para contato: raissasalustriano@yahoo.com.br Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0720581765268326>

GEISA MAYANA MIRANDA DE SOUZA Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade de Pernambuco (2010). Foi bolsista da FACEPE na modalidade de Iniciação Científica (2009-2010) e do CNPq na modalidade de DTI (2010-2011) atuando na área de Entomologia Aplicada com ênfase em Manejo Integrado de Pragas da Videira e Produção Integrada de Frutas. Doutora em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba, na área de concentração em Agricultura Tropical, linha de pesquisa em Biotecnologia, Melhoramento e Proteção de Plantas Cultivadas. Possui experiência na área de controle de insetos sugadores através de joaninhas predadoras. E-mail para contato: geisamayanas@gmail.com Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5484806095467611>

ANA CAROLINA SOUSA COSTA Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade de Pernambuco - UPE (2009). Mestre em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba-PB (2012), com bolsa da CAPES. Doutora em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba-PB (2017), com bolsa da CAPES. Tem experiência na área de Fisiologia, com ênfase em Pós-colheita, atuando principalmente nos seguintes temas: qualidade, atmosfera modificada, vida útil, compostos de alto valor nutricional. E-mail para contato: anna_karollina@yahoo.com.br Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9930409169790701>

ÍNDICE REMISSIVO

A

Água 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 13, 14, 15, 20, 25, 69, 73, 94, 95, 98, 99

Allium Cepa 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20

Amendoim 7, 89, 90, 91, 92, 93

Análise de Imagem 117, 119, 120, 123

Arachis Hypogaea L 89, 90

Ar Atmosférico 11, 12, 15

B

Biodiversidade 5, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 30, 31, 33, 34, 35, 113, 114, 137

Bioeconomia 136, 137, 138, 140, 144

Bioética 5, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54

Bionematicida 95

Broca do Broto 106

C

Câncer Colorretal 79, 80, 81, 84, 85

Coliformes 1, 2, 3, 5, 7, 8

Conhecimento Científico 36, 67

Contaminação 1, 3, 4, 8, 69

Controle Natural 95

Crescimento 4, 12, 16, 20, 39, 81, 97, 101, 107, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 130, 131, 132, 133, 137, 138, 139, 144

Crescimento Radial 117, 122

Criança 5, 46, 47, 48, 50, 51, 52, 53, 54, 59, 60, 63, 65

Curso d'água 3, 7

D

Direito à Saúde 46, 48, 51, 52

Documentário 21, 25

DSE 124, 125, 126, 129, 130, 132

E

Educação Ambiental 21, 22, 33, 34, 44

Educação em Saúde 57, 62, 67, 74, 76, 77, 78

Ensino Aprendizagem 36, 43

Enzimas 83, 84, 105, 106, 107, 108, 109, 111, 112, 113, 132

Escherichia Coli 1, 2, 3, 5, 8, 9

Etnobotânica 36, 37, 102

F

Fauna 11, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 32, 34

Fixação Biológica do Nitrogênio 89

Fonte Orgânica de N 124

Fosfato 124, 126, 127, 130, 131, 133

Fungo Entomopatogênico 117, 118, 119

G

Glicosidases Extracelulares 8, 105, 108, 111, 112

H

Hypsipyla Spp 8, 105, 106, 108

I

Inoculação Cruzada 89, 91, 93

Inovação 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147

Intersexo 46, 47, 50, 51, 52, 53

L

Lepidoptera 8, 105, 106, 108, 113, 114, 115, 116, 117

Leveduras 8, 105, 108, 109, 110, 111, 112, 113

M

Material Particulado 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20

Metarhizium Anisopliae 8, 117, 118, 119

Microbiota Intestinal 8, 3, 79, 80, 83, 105, 108, 110

Mídias Audiovisuais 21

Modelo 41, 81, 117, 118, 119, 122, 123, 136, 138, 139, 142, 143, 144, 145, 146, 147

Mutagênica 14, 17, 19

N

Nematoide-das-Galhas 95

Neonatalogia 55, 59, 60

O

Obstetrícia 55, 59, 60

P

Parasitoses 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78

Pediatria 20, 53, 55, 59, 60, 64, 65, 66, 87, 88

PH 6

Potabilidade 1, 3, 7, 8

Prébióticos 79

R

Recém-Nascido 47, 55, 60

S

Saber Popular 36

Simbióticos 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 108

T

Triagem Neonatal 56, 65, 66

U

Unidade Básica de Saúde 67

V

Vantagem Competitiva 136

Vitavax®-Thiram 89, 90, 91, 93

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-601-0

