

**Karine Dalazoana  
(Organizadora)**

# **A Produção do Conhecimento nas Ciências Biológicas 2**

 **Atena**  
Editora

Ano 2019

Karine Dalazoana  
(Organizadora)

# A Produção do Conhecimento nas Ciências Biológicas 2

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<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Lorena Prestes  
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<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> 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

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
P964	A produção do conhecimento nas ciências biológicas 2 [recurso eletrônico] / Organizadora Karine Dalazoana. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (A produção do conhecimento nas ciências biológicas; v. 2)  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-638-6 DOI 10.22533/at.ed.386192309  1. Ciências biológicas. 2. Biologia – Pesquisa – Brasil. I. Dalazoana, Karine.  CDD 574
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A Produção do Conhecimento nas Ciências Biológicas 2 é uma obra que tem por objetivo dar continuidade à divulgação dos estudos realizados na área das Ciências Biológicas em diversas instituições de ensino e pesquisa no Brasil.

O segundo volume traz onze artigos, que versam sobre temas de grande relevância científica, alinhados com as demandas atuais de conhecimento, com enfoque nas áreas de biologia molecular, microbiologia, biorremediação, epidemiologia, botânica, zoologia, ensino de ciências e campos correlatos.

A pesquisa nas ciências biológicas oferece uma amplitude de vertentes de estudo e busca compreender o funcionamento do mundo microbiológico, promover a manutenção dos ecossistemas naturais, a conservação de paisagens e de espécies em risco ou ameaçadas, compreender o processo de evolução das espécies, o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis e, o mais importante, levar todo o conhecimento produzido à sociedade, de modo a contribuir com o desenvolvimento regional resultando na melhoria da qualidade de vida da população.

A pesquisa nas ciências biológicas tem a preocupação de buscar sempre alternativas sustentáveis para a manutenção da qualidade de vida das populações humanas e a conservação das populações naturais com a manutenção de hábitat, garantindo assim o seu potencial biótico e o fluxo gênico. Tais estratégias, seja com espécies de micro-organismos ou componentes da fauna e da flora, garantem a conservação da biodiversidade brasileira e todas as suas peculiaridades.

Mais além, é necessário divulgar as descobertas científicas e aplicá-las de modo a otimizar as experiências da vida cotidiana. Nesse sentido o ensino de ciências se presta como ferramenta de grande valia, capacitando alunos como multiplicadores de boas práticas para a conservação da biodiversidade e manutenção dos recursos naturais.

Espera-se que a Produção do Conhecimento nas Ciências Biológicas 2 venha contribuir para com os pesquisadores na área da Biologia e, além disso, possa contribuir com a sociedade, uma vez que os conhecimentos produzidos nos centros de ensino superior do Brasil não devem ficar restritos aos muros das instituições e sim subsidiar práticas viáveis ambientalmente, socialmente e economicamente.

Boa leitura.  
Karine Dalazoana

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
A PRODUÇÃO DE ÁCIDO KÓJICO POR <i>Aspergillus flavus</i>	
Hellen Kempfer Phillippsen Alberdan Silva Santos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3861923091</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>9</b>
AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO RADICULAR DA LEGUMINOSA <i>Canavalia ensiformis</i> L. CULTIVADA EM SOLOS CONTAMINADOS POR MEDICAMENTOS	
Maise Menezes dos Santos Souza Juliana do Nascimento Gomides	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3861923092</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>22</b>
CARACTERIZAÇÃO E DIVERSIDADE DOS CRIADOUROS ENCONTRADOS COM FASES EVOLUTIVAS DE <i>Aedes aegypti</i> (LINNAEUS, 1762) E <i>Aedes albopictus</i> (SKUSE, 1894) (Díptera: Culicidae), VETORES DAS ARBOVIROSES NO MUNICÍPIO DO IPOJUCA - PE/BRASIL	
Hallysson Douglas Andrade de Araújo Jussara Patrícia Monteiro Vasconcelos Robson Ramos Lima de Melo Anderson Artenis dos Santos Francelino Odilson Bartolomeu dos Santos Andrea Lopes de Oliveira Juliana Carla Serafim da Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3861923093</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>30</b>
CONSTRUÇÃO DE UM MODELO NIR (ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO) PARA PREDIÇÃO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE POLISSACARÍDEOS EXTRACELULARES DURANTE A FERMENTAÇÃO DOS RESÍDUOS DA PALMA DE ÓLEO POR <i>Pleurotus Ostreatus</i>	
Jhonatas Rodrigues Barbosa Ivone Quaresma da Silva de Aguiar Maurício Madson dos Santos Freitas Raul Nunes de Carvalho Junior Marcos Enê Chaves Oliveira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3861923094</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>40</b>
FAUNA DIGITAL DO RIO GRANDE DO SUL: CRIANDO UMA PLATAFORMA DIGITAL PARA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA	
Filipe Ferreira da Silveira Maria João Veloso da Costa Ramos Pereira Gabriel Matte de Oliveira Heitor Jardim Ferreira Rafaella Migliavacca Marchioretto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3861923095</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 53**

HISTOLOGIA DA VIDA: UMA PROPOSTA DE ATIVIDADE CONTEXTUALIZADA PARA O ENSINO

Luciano Cardoso Santos

Cristina Luísa Conceição de Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.3861923096**

**CAPÍTULO 7 ..... 59**

*Licania tomentosa* (Benth.) FRITSCH: DA ARBORIZAÇÃO URBANA À FITOTERAPIA, REVISÃO DE LITERATURA

Jonathan Augusto da Silva

Maria Ágda Correia Lemos

Maria Lúcia Vieira de Britto Paulino

Helane Carine de Araújo Oliveira

Heloísa Helena Figuerêdo Alves

Karulyne Silva Dias

Mayara Andrade Souza

Thiago José Matos Rocha

Jessé Marques da Silva Júnior Pavão

Joao Gomes da Costa

Aldenir Feitosa dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.3861923097**

**CAPÍTULO 8 ..... 71**

PERCEPÇÕES DE ESTUDANTES DO 4º AO 9º ANO DO ENSINO FUNDAMENTAL

EM DUAS ESCOLAS PÚBLICAS DE ESPERA FELIZ, MG SOBRE OS MORCEGOS (*Chiroptera*, *Mammalia*)

Maria Joventina Ferreira Bendia

Viviane da Silva de Oliveira

Alessandro Brinati

Luciane da Silva Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.3861923098**

**CAPÍTULO 9 ..... 77**

DE ESPERA FELIZ, MG SOBRE OS MORCEGOS (*Chiroptera*, *Mammalia*) SCIENTIFIC PROSPECTION OF THE MOLECULAR CHARACTERIZATION OF LIPASE *RHIZOMUCOR MIEHEI* FREE AND IMOBILIZED FORM

Fabiana Borralho Frazão

Ricardo Henrique Nascimento Frazão

Isadora Fontenelle Carneiro de Castro

Emygdia Rosa do Rêgo Barros Pires Leal

Marcelo Souza de Andrade

Adeilton Pereira Maciel

**DOI 10.22533/at.ed.3861923099**

**CAPÍTULO 10 ..... 88**

TRANSMISSÃO E IMPORTÂNCIA DE STAPHYLOCOCCUS COAGULASE NEGATIVA RESISTENTE A METICILINA

Nahara Cralcev Maróstica

Álex Aparecido Rosini Silva

Natália Reiko Sato Miyasaka

**DOI 10.22533/at.ed.38619230910**

**CAPÍTULO 11 ..... 93**

USO DE TANINO, ÓLEOS FUNCIONAIS E FRACIONANDO DE LEVEDURAS COMO SUBSTITUTOS DA VIRGINIAMICINA EM GRÃOS INTEIROS DE MILHO

Marcelo Penha Silva  
Wallace Vieira da Silva

DOI 10.22533/at.ed.38619230911

**SOBRE A ORGANIZADORA..... 101**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 102**

## A PRODUÇÃO DE ÁCIDO KÓJICO POR *Aspergillus flavus*

**Hellen Kempfer Phillippsen**

Federal University of Pará, UFPa, Institute of  
Biological Sciences – ICB Belém - Pará

**Alberdan Silva Santos**

Federal University of Pará, UFPa, Institute of  
Natural Sciences – ICEN Belém - Pará

**RESUMO:** A molécula 5-hidroxi-2-hidroximetil-pirona ou ácido kójico (AK) é atualmente uma substância importante por ser utilizada como cosmético clareador de pele, como antioxidante, no tratamento de melasma, em medicamentos, ter ação imunomodulatória e antisenescência celular. Devido às suas inúmeras aplicações biotecnológicas, a busca por microrganismos que produzam AK é uma constante. Dentro desse contexto, *Aspergillus flavus* destaca-se como produtor de AK em diferentes condições de cultivo. Assim, o presente capítulo visa apresentar uma visão geral sobre a produção de AK por *A. flavus* estudada por pesquisadores ao longo dos últimos anos.

**PALAVRAS-CHAVE:** ácido kójico; *Aspergillus flavus*; fermentação.

### ACID KOJIC PRODUCTION BY *ASPERGILLUS FLAVUS*

**ABSTRACT:** The 5-hydroxy-2-hydroxymethylpyrone or kojic acid molecule is an important

substance for use as a skin whitening cosmetic, as an antioxidant, without drug treatment, in medicaments, with immunomodulatory and anti aging cellular action. Due to its biotechnological applications, a search for microorganisms that produce AK is a constant. Within this context, *Aspergillus flavus* highlights in the AK effect is a growth in AK. This chapter aims to present an overview of AK production by *A. flavus* studied by researchers over the last few years.

**KEYWORDS:** Acid kojic; *Aspergillus flavus*; fermentation.

### 1 | CARACTERIZAÇÃO E UTILIDADES DO ÁCIDO KÓJICO.

O ácido kójico (AK), ou 5-hidroxi-2-hidroximetil- $\gamma$ -pirona, consiste em um metabólito secundário produzido por microrganismos. Foi descrito primeiramente por Saito, em 1907, ao realizar fermentações de arroz com *Aspergillus oryzae* e observar a formação de um ácido com coloração vermelho púrpura em contato com  $\text{FeCl}_3$ . Porém, sua estrutura foi descrita somente em meados da década de 1920 por Yabuta, que nomeou o ácido como *Koji* (Brtko, et al., 2004).

A estrutura química do ácido kójico

possui a seguinte fórmula molecular:  $C_6H_6O_4$ . É um ácido orgânico, não citotóxico, com peso molecular de 142,11 g/mol, ponto de fusão entre 153-154 °C e tem pKa no valor de 8,03. Solúvel em água, etanol, acetona e acetato de etila e pouco solúvel em piridina, clorofórmio e éter (Batistuzzo, et al., 2002). É constituído por um anel heterocíclico contendo oxigênio, o que permite que a molécula sofra várias reações, como acilação, redução, alquilação, substituição nucleofílica e eletrofílica (Aytemir; Septiooglu; Çahs, 2010, p. 22). A figura 1 apresenta a molécula 5-hidroxi-2-hidroximetil- $\gamma$ -pirona.

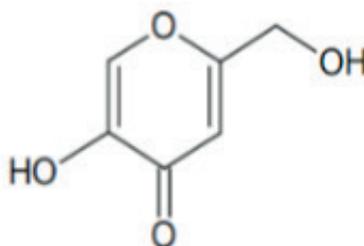


Figura 1. Estrutura da molécula 5-hidroxi-2-hidroximetil- $\gamma$ -pirona.

O AK é amplamente estudado devido sua importância econômica, médica e industrial. Na indústria cosmética, o AK é utilizado como clareador de pele, pois inibe a ação da enzima tirosinase por meio da quelação do íon cobre o que resulta na inibição da reação de oxidação requerida para a formação de melanina. A ação inibitória da melanogênese pelo AK o intitulou como agente clareador primeiramente no Japão, em 1988 (Bentley, 2006). Posteriormente, passou a ser bastante utilizado em cremes/loções clareadoras de pele e em tratamento em pacientes com melasmas, por não ser fotossensível e geralmente não causar irritações cutâneas. Ainda pode ser associado a demais clareadores devido o AK retardar a degradação química e prolongar a vida útil dos produtos (Batistuzzo et al., 2002). Além da ação clareadora, o Ak tem ganhado bastante atenção pela ação de inibição da tirosinase, já que a expressão anormal dessa enzima pode causar melanoma e vitiligo (Niu & Aisa 2017; Hwang et al., 2017).

Na agricultura, o AK também possui papel relevante determinado por sua ação contra escurecimento de vegetais. O escurecimento vegetal pode ser causado por um processo natural de ação de polifenoloxidasas, como forma de combate às infecções. Contudo, como o escurecimento de tecidos vegetais pode causar uma má aceitação do produto pelo mercado consumidor, a utilização de AK nessas estruturas mostrou-se eficiente contra o escurecimento (Monsalve-Gonzalez et al., 1995).

O AK também pode atuar na modulação de células imunes, por meio da ativação da via de sinalização PIK3/Akt envolvida na diferenciação de monócitos a macrófagos (Rodrigues et al., 2014). Da Costa e colaboradores apresentaram em

2018 que tratamento com AK em monócitos induz o aumento da superfície celular, de projeções celulares e diferenciação de monócitos em macrófagos, confirmando a ação do AK como agente imunomodulatório.

AK também possui efeito antiparasitário. Estudos mostram o efeito leishmanicida do ácido por meio de infecção *in vitro* e *in vivo* de *Leishmania amazonensis*. Tratamento de *L. amazonensis in vitro* com concentração de 50 µg/mL de AK diminuiu a 62% e 79% a quantidade de parasita na fase promastigota e amastigota, respectivamente. Em modelo de infecção *in vivo*, em células de mamíferos BALB/c, após quatro semanas de tratamento em animais infectados foi possível observar processo de cura devido a alta produção de fibras colágenas celular. Apesar de *L. amazonensis* produzir proteínas capazes de degradar a superfície de barreira da derme do tecido hospedeiro, houve aumento da produção das fibras de colágeno, diminuição do tamanho das lesões e diminuição da carga parasitária. Animais infectados usados como controle na pesquisa, tratados apenas com triacilgliceróis, apresentaram diminuição das lesões. Entretanto, análises histológicas demonstraram o auxílio dos triacilgliceróis no processo de cura da lesão, mas não na morte do parasita (Rodrigues et al., 2014).

Em relação a medicamentos, o AK tem sido estudado para ser utilizado como potencial substituto de anti-inflamatórios não esteroidais. A partir de moléculas de AK foi sintetizada a 4(1H)-Piridona – molécula com ação analgésica superior ao ácido acetilsalicílico (Öztürk et al., 2002). Wei e colaboradores (2019) apontaram o AK como um potencial fármaco para ser utilizado em pacientes transplantados de córnea que sofrem com a senescência celular e falência tardia do aloenxerto da córnea.

Devido a suas diversas utilidades na indústria, a busca pela obtenção de alta produção de AK por microrganismos têm sido uma constante. Diversas espécies em *Aspergillus* são descritas como produtoras de AK (*A. carbonarius*, *A. niger*, *A. oryzae*, *A. wentii* e *A. flavus*) (Papagini, 2004). Dentre essas espécies destaca-se *A. flavus*.

## 2 | A BIOSÍNTESE DE AK POR *A. FLAVUS*.

A rota metabólica envolvida na produção do ácido kójico por fungos ainda não está totalmente esclarecida. A busca por essa informação tem datação desde 1953, quando Arnstein e Bentley realizaram o cultivo de *A. oryzae* e *A. flavus* em meio aquoso, na presença de glicose como fonte de carbono. Os pesquisadores utilizaram glicose marcada isotopicamente (1-<sup>14</sup>C ou 3:4-<sup>14</sup>C<sub>2</sub>) e puderam verificar que os carbonos constituintes do AK formado após dias de cultivo eram, em quase sua totalidade, oriundos de moléculas de glicose. O experimento permitiu a conclusão de que o AK é uma molécula proveniente principalmente da conversão direta da glicose.

Anos depois, em 1981, foi realizada por Bajpai, Agrawala e Vishwanatha a análise

do perfil enzimático por ensaios de atividade enzimática e análise cromatográfica de seus produtos durante a produção de ácido kójico por *A. flavus*. Ensaios enzimáticos permitiram a verificação da atividade de algumas enzimas, como glicose oxidase, glicose desidrogenase, gluconato desidrogenase, hexoquinase, glicose-6-fosfato desidrogenase e 6-fosfogluconato desidrogenase. As atividades máximas das enzimas glicose desidrogenase, gluconato desidrogenase e hexoquinase ocorreram concomitantemente com a maior produção de AK por *A. flavus*. Já a análise cromatográfica apresentou a formação de ácido glucônico- $\delta$ -lactona, glicose 6-fosfato e ácido 6-fosfogluconico como produtos no processo de formação do AK. Assim, os pesquisadores propuseram três possíveis rotas de produção de AK por *A. flavus* (figura 2).

Análise da atividade das enzimas glicose desidrogenase, gluconato desidrogenase, glicose-6-fosfato desidrogenase, hexoquinase e 6-fosfogluconato desidrogenase foram também avaliadas em 2000 por Rosfarizan e colaboradores. A atividade máxima de desidrogenase, gluconato desidrogenase, glicose-6-fosfato desidrogenase foi observada após 72 h de crescimento de *A. flavus* em meio submerso e hexoquinase e 6-fosfogluconato desidrogenase apresentaram aumento de atividade concomitantemente com o crescimento fúngico, com atividade máxima na fase de crescimento estacionário.

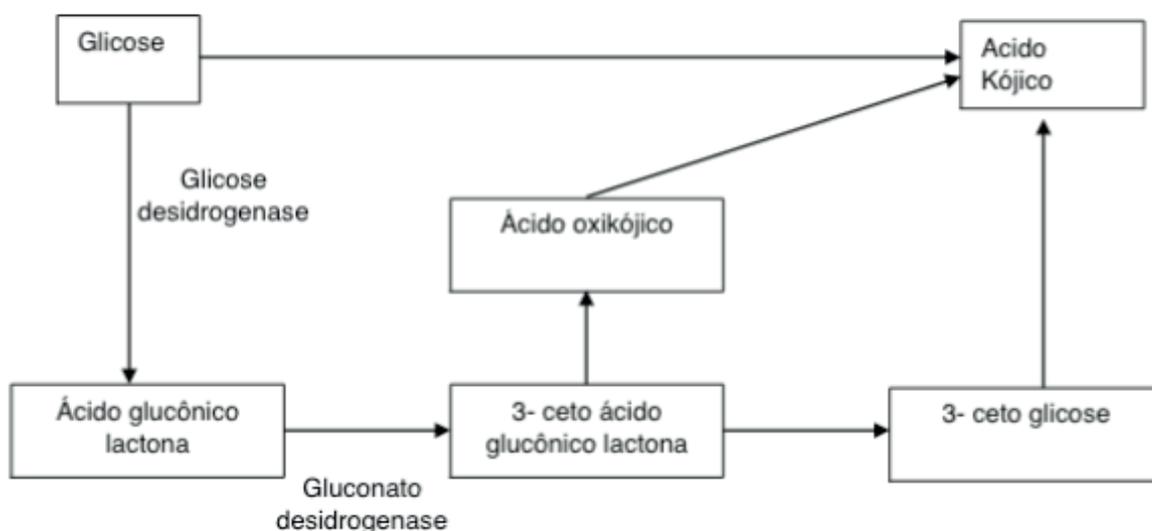


Figura 2. Possíveis rotas de produção de ácido kójico por *A. flavus* propostas por Bajpai, Agrawala e Vishwanathan (1981) (adaptado).

Apesar de ser bastante sugerido que *A. flavus* não realiza nenhuma clivagem da cadeia de carbono da glicose em pequenos fragmentos, produzindo AK diretamente desta e que também pode produzir o ácido por meio de moléculas intermediárias no metabolismo de glicose à formação de AK, a determinação da rota biossintética de

produção de AK pelo fungo necessita de maiores estudos.

### 3 | A PRODUÇÃO DE AK POR *A. FLAVUS* EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO

*A. flavus* produz o AK como um metabólito secundário produzido quando o fungo se encontra sob condições específicas de aeração e em diferentes fontes de carboidratos. Os parâmetros de cultivo, como temperatura, pH, agitação da cultura, composição do meio de cultura e tensão do oxigênio têm sido avaliados, pois podem afetar o processo fermentativo.

As condições de aeração, pH, cinética e condições de cultivo na produção de AK por *A. flavus* já foram avaliadas. Em relação à aeração, Ariff (1996) apresentou que para maior obtenção de AK, o alto nível da demanda de oxigênio total (DOT) deve ser controlado em 80% quando *A. flavus* está em crescimento miceliano e quando o fungo está em processo de produção de AK, o DOT deve ser mantido em 30%. Quanto ao pH, este não deve ultrapassar o limite de 3, pois em pH 2 não fora observado produção de AK por *A. flavus*. Utilizando-se um fermentador de 50 L com pH 3,0 (controlado durante toda a fermentação), foi possível a obtenção máxima de 62g/L de AK, cerca de 20% a mais do que comparado em condições de fermentação similares sem controle de pH (Rosfarizan *et al.*, 2000a). Corroborando com os dados obtidos por Rosfarizan *et al.* (2000a), Zohri e colaboradores (2018) otimizaram a produção de AK por *A. flavus* em resíduos de melão de cana a 60 g/L. Em pH 3, fungo obteve melhor produção de AK, 24.65 g/L, após 9 dias de incubação.

Tratando-se sobre a relação da produção de AK por *A. flavus* e as fontes de carbono ideais disponíveis no meio de cultura, diversos experimentos datados desde o início do século XX já foram realizados. Em 1936, Smits e Barham utilizaram xilose como fonte de carbono para o metabolismo de *A. flavus*. Foi observado que a concentração de xilose a 150 g/L no meio de cultura foi necessária para a obtenção de um bom rendimento na produção de AK.

Utilizando xilose, amido, sacarose, glicose, frutose e lactose como fontes de carbono, Rosfarizan e colaboradores (1998) avaliaram a produção de AK por *A. flavus*. Obtiveram maior produção no cultivo com glicose, alcançando a concentração de 39,9 g/L do ácido. Dois anos depois, Rosfarizan e Ariff (2000b) avaliaram as concentrações de carboidrato na produção de 5-hidroxi-2-hidroximetil- $\gamma$ -pirona. Verificaram que em cultivo submerso, concentrações de glicose e xilose entre 70 – 200 g/L não altera significativamente a produção de AK por *A. flavus*. Porém, quando as concentrações de açúcar atingem 250 g/L, ocorre redução significativa na produção de AK. Em amido de sagu, Rosfarizan e colaboradores (2002) verificaram que *A. flavus* produziu 31g/L em cultivo submerso, em pH não controlado e DOT de 40-50% de saturação em fase de crescimento miceliano.

No ano de 2010, Ferreira *et al* conduziram um estudo para investigar a melhor concentração de sacarose para a produção de AK. Para alcançar seu objetivo, o grupo primeiramente analisou qual meio de cultivo em que *A. flavus* IOC 3974 apresentaria melhor crescimento sob diferentes concentrações de sacarose (30, 60, 120, 240, 360 g L<sup>-1</sup>). Pelo método de biometria dos eixos ortogonais, foi verificado que o melhor crescimento miceliano ocorreu em meio Czapek, com concentrações de sacarose de 120 g L<sup>-1</sup>. No décimo quinto dia de cultivo, na concentração de 120 g L<sup>-1</sup> de sacarose, foi verificado que ocorreu maior rendimento na produção de AK (26 g/L) quando comparado às demais concentrações estudadas.

Em 2011, Coelho e colaboradores obtiveram 48 g/L de AK utilizando como fontes de carbono e nitrogênio, em procedimentos separados: glicose e água de milho; glicerol e água de milho. Os pesquisadores recuperaram e purificaram o AK produzido por cristalização com anti-solvente e clarificação com carvão ativado.

Já em 2014, Zhang e colaboradores utilizaram análogo de glicose, D-glucal, a concentração de 40 mg/L no meio de cultura. A produção de aflatoxinas por *A. flavus* foi diminuída e a produção de AK aumentou. Provavelmente a presença de D-glucal no meio de cultura interferiu diretamente no metabolismo fúngico, especificamente na inibição do ciclo do TCA, o que levou ao aumento de glicose no meio e sua posterior conversão em AK.

A tabela 1 sumariza a produção de AK por *A. flavus*, sob diferentes fontes de carbono de algumas pesquisas nas últimas décadas.

Tipo de Cultivo	Fonte de Carbono/Nitrogênio e/ou condições fermentativas de cultivo	Máxima Produção de Ácido Kójico	Referência
Submerso	Sacarose com controle de tensão de oxigênio dissolvido (80% na fase de crescimento miceliano e 30% na fase de produção de AK).	28,9 g/L	Ariff et al (1996)
Submerso	Glicose	62g/L	Rosfarizan e Ariff (2000a)
Submerso	Amido de sagu	31g/L	Rosfarizan et al (2002)
Submerso	Sacarose	26 g/L	Ferreira et al (2010)
Submerso	Glicose e água de maceração de milho Glicerol e água de maceração de milho	48 g/L 48 g/L	Coelho (2011)
Submerso	D-glucal	48 g/L	Zhang et al (2014)
Submerso	Resíduos de melaço de cana	24.65 g/l	Zohri AA et al (2018)

Tabela 1. Produção de ácido kójico por *A. flavus* em diferentes fontes de carbono

#### 4 | A PRODUÇÃO DE INVERTASE POR *A. FLAVUS* NO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ÁCIDO KÓJICO NA PRESENÇA DE SACAROSE.

Durante a produção de ácido kójico, no processo fermentativo de *A. flavus* IOC

3974 em meio submerso Czapek, utilizando sacarose como fonte de carbono, foi observado que o fungo hidrolisa a sacarose, gerando glicose e frutose. A presença desses açúcares foi mensurada no meio de cultura durante dias. A mensuração permitiu a verificação que houve o declínio inicial da taxa de concentração de glicose; a frutose, por sua vez, não apresentou diferença de taxa de concentração no meio de cultura até o total consumo da glicose, que ocorreu em 168 h. Após 168 h, a frutose passou a ser consumida pelo fungo e a taxa de concentração de glicose passou a aumentar permanecendo com concentração praticamente constante até 264 h (Ferreira et al., 2010). Provavelmente *A. flavus* excretou enzima (s) que converteu (ram) frutose à glicose.

## REFERÊNCIAS

ARIFF, A.B; SALLEHN, M.F; GUANI, B.; HASSAN, M.A.; RUSUL, G.; KARIM, M.I.. **Aeration and yeast extract requirements for kojic acid production by *Aspergillus flavus* link.** Enzyme Microb Technol. 19: 545-550, 1996.

ARNSTEIN HR, BENTLEY R.**The biosynthesis of kojic acid. I. Production from (1-14C) and (3:4-14C2) glucose and (2-14C)-1:3-dihydroxyacetone.** Biochem J. 54(3):493-508, 1953.

AYTEMIR, MS; SEPTIOGLU, E; ÇAHS, U. **Synthesis and Anticonvulsant Activity of New Kojic Acid Derivatives.** Arzne. EVC – Edition Cantor Verlag, v. 60, p. 22-29, 2010

BAJPAI, P. ; AGRAWALA , PK; VISHWANATHAN, L. **Enzymes Relevant to Kojic Acid Biosynthesis in *Aspergillus flavus*.** Microbiology 127: 131-136, 1981.

BATISTUZZO, JAO.; ITAYA, M.; ETO, Y. **Formulário médico farmacêutico.** 2 ed. São Paulo: Tecnopress, 2002.

BENTLEY, R. **From Miso, Sake and Shoyu to Cosmetics: A Century of Science for Kojic Acid.** Natural Product Reports, 23, 1046-1062, 2006.

BRTKO J.; RONDAHL L.; FICKOVÁ M.; HUDECOVÁ D.; EYBL V.; UHER M.**Kojic Acid and its derived : history and present state of art.** Central European Journal of Public Health 506-513,2004.

COELHO, RS.**Produção de ácido kójico: estudo e otimização de processo e utilização de matérias-primas de baixo custo.** Campinas, SP, 2011.

DA COSTA, JP.; RODRIGUES APD.; FARIAS LHS.; FRADE PCR.; Da Silva BJM,.;Do Nascimento JLM.; Silva EO. **Biological effects of kojic acid on human monocytes in vitro.** Biomed Pharmacother. 101:100-106,2018.

FERREIRA, NR.; SARQUIS, M IM.; ALVES, CN.; SANTOS, AS. **Biotransformation of sucrose into 5-hydroxy-2-hydroxymethyl- $\gamma$ -pirone by *Aspergillus flavus*.** 82(3): 569-576, 2010.

MONSALVE-GONZALEZ, A.; BARBOSA-CANOVAS, GV.; CAVALIERI, RP.; MXEVILY, RI. **Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods.** J. Food Sci 58797-800, 1993.

ÖZTÜRK, G.; EROL, DD.; AYTEMIR, MD.; UZBAY, T. **New analgesic and antiinflammatory agents 4(1H)-pyridinone derivatives.** European Journal of Medicinal Chemistry 829-834, 2002.

PAPAGIANNI, M. **Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial process.** Biotechnol Adv 22: 189-260, 2003.

RODRIGUES, APD.; FARIAS, LHS.; CARVALHO, ASC.; SANTOS, AS.; NASCIMENTO, JLM.; SILVA, E. O. **A novel function for kojic acid, a secondary metabolite from *Aspergillus* fungi, as antileishmanial agent.** Plos One. 9 (3): 1259, 2014.

ROSFARIZAN, M.; ARIFF, A. B.; HASSAN, M. A.; KARIM, M. I. A. **Kojic acid production by *Aspergillus flavus* using gelatinized and hydrolyzed sago starch as carbon sources.** Folia Microbiologica, v. 43, n. 5, p. 459-464, 1998.

A.ROSFARIZAN M, A.B. ARIFF, M.A. HASSAN AND M.I.A. KARIM *et al.* **Influence of pH on Kojic Acid Fermentation by *Aspergillus flavus*.** Pakistan Journal of Biological Sciences 3 (6): 977-982, 2000.

B.ROSFARIZAN M ARIFF, M.A. **Kinetics of kojic acid fermentation by *Aspergillus flavus* using different types and concentrations of carbon and nitrogen sources.** Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, v. 25, n. 1, p. 20-24, 2000.

ROSFARIZAN, M.; ARIFF, A.; Hassan, M.; Karim, M.; Shimizu, H.; Shioya A. **Importance of Carbon Source Feeding and pH Control Strategies for Maximum Kojic Acid Production from Sago Starch by *Aspergillus flavus*.** Journal of Bioscience and Bioengineering. v. 94, p. 99-105, 2002.

SMITS, B. L.; BARHAM, H. N. **Production of kojic acid from xylose by *Aspergillus flavus*.** Industrial and Engineering Chemistry. n. 28, n. 5, p. 567-570, 1936.

WEI, X.; LUO, D.; YAN, Y.; YU, H.; SUN, L.; WANG, C.; SONG, F.; GE, H.; QIAN, H.; LI, X.; TANG, X.; LIU P. **Kojic acid inhibits senescence of human corneal endothelial cells via NF- $\kappa$ B and p21 signaling pathways.** Exp Eye Res.180:174-183, 2018.

ZHANG, J.; HAN, L.; YAN, S.; LIU, C. **The non-metabolizable glucose analog D-glucal inhibits aflatoxin biosynthesis and promotes kojic acid production in *Aspergillus flavus*.** BMC Microbiology 14:95, 2014.

ZOHRI, AA.; MAHMOUD, GA.; SADIK, NH.; HANAFY, RA. 2018. **Optimization of kojic acid production conditions from cane molasses using Plackett-Burman design.** European Journal of Biological Research 2449-8955, 2018.

## AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO RADICULAR DA LEGUMINOSA *Canavalia ensiformis* L. CULTIVADA EM SOLOS CONTAMINADOS POR MEDICAMENTOS

### Maise Menezes dos Santos Souza

Universidade Estadual de Goiás (UEG), Estudante do curso de Farmácia, Itumbiara-Goiás

### Juliana do Nascimento Gomides

Universidade Estadual de Goiás (UEG), Docente do curso de Farmácia, Itumbiara-Goiás

**RESUMO:** Riscos ambientais decorrentes do descarte inadequado de medicamentos têm aumentado com o crescimento da população (MEDINA, 2015). Objetivou-se avaliar alterações morfológicas e no crescimento na raiz da leguminosa feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L.), cultivada em solos contaminados com resíduos de medicamentos. A pesquisa foi experimental de caráter quanti-qualitativo. Utilizou-se solo nativo e medicamentos íntegros na presença da leguminosa *feijão-de-porco* para os tratamentos: dipirona sódica, paracetamol, gripeol®, amoxicilina, nimesulida, mistura de todas as classes medicamentosas e controle, totalizando 21 amostras com três repetições. Limitou-se a 2500mg o valor máximo de medicamento por vaso, juntamente com 04 sementes de feijão-de-porco. Desmontou-se o experimento após o ciclo vegetativo da planta, com 70 dias. Os dados obtidos tiveram suas médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. Não houve diferenças estatísticas significativas para o comprimento

de raiz das plantas nos diferentes tratamentos e controle. Contudo, o solo com paracetamol induziu maior crescimento, 43,5 cm, ou seja, 26,8% a mais quando comparado ao controle com 34,3 cm. Justificando-se pela presença do não metal nitrogênio (N) em sua composição química, que possui alta capacidade de fixação biológica (EMBRAPA, 2000). O menor crescimento foi no tratamento com amoxicilina, 29,4 cm, 14,3% a menos em relação ao tratamento controle. Essa atrofia justifica-se pela absorção do não metal enxofre (S) presente no medicamento, inibindo seu crescimento (SZABO; et al., 2003). Conclui-se que mesmo não havendo diferenças estatísticas significativas, os medicamentos foram responsáveis por modificações no crescimento das raízes da *Canavalia ensiformis* L. caracterizando seu potencial fitoextrator para medicamentos.

**PALAVRAS-CHAVE:** poluentes do solo, remediação ambiental, feijão-de-porco, paracetamol, crescimento vegetativo.

### EVALUATION OF ROOT GROWTH OF LEGUMES *CANAVALIA ENSIFORMIS* L. GROWN IN CONTAMINATED SOILS BY MEDICINES

**ABSTRACT:** Environmental hazards arising from the improper disposal of medicines have increased with the growth of population (MEDINA, 2015). The aim was to evaluate

morphological changes and growth in the legume root hog-bean (*Canavalia ensiformes* L.), cultivated in soils contaminated with residues of medicines. The experimental research of quantitative and qualitative character. Using native soil and medicines of integrity in the presence of the pig bean legume for the treatments: metamizole sodium, paracetamol, gripeol®, amoxicillin, nimesulide, mixture of all classes and drug control, totaling 21 samples with three repetitions. Was limited to the maximum amount of medicine than 2500 mg per pot, along with bean seeds 04-pig. Took it apart if the experiment after the vegetative cycle of the plant, with 70 days. The data obtained had their averages compared by Scott Knott test at 5% probability. There were no statistically significant differences for the length of the root of plants in different treatments and control. However, the soil with acetaminophen induced further growth, 43.5 cm, i.e., 26.8% more when compared to the control with 34.3 cm. Justification for the presence of metal not nitrogen (N) in your chemical composition, with high capacity biological fixation ( EMBRAPA, 2000). The lower growth was in the treatment with amoxicillin, 29.4 cm, 14.3% less compared to the control treatment. This atrophy is justified by the absorption of the metal not sulphur (S) present in the medicine, inhibiting your growth (SZABO; et al., 2003). It is concluded that even with no statistically significant differences, the medicines were responsible for changes in growth of roots of *Canavalia ensiformis* L. featuring your fitoextrator for potential medicines.

**KEYWORDS:** soil pollutants, environmental remediation, pig bean, paracetamol, vegetative growth.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os riscos ambientais decorrentes do descarte inadequado de resíduos medicamentosos têm aumentado com o progresso industrial e tecnológico. Assim, destaca-se o aumento da produção, velocidade de geração, e concepção dos produtos, aumentando a cada dia a diversidade com componentes e materiais de difícil degradação e maior toxicidade (MEDINA, 2015).

Ali e colaboradores (2009), destacam que os fármacos presentes nos medicamentos, fazem parte do grupo de poluentes emergentes, de origem sintética, natural de algum microrganismo que não é, normalmente, identificado no ambiente, mas com potencial para entrar neste meio e provocar efeitos ecológicos adversos.

O solo é um dos meios que sofre maior dano ecológico, por ser um componente vital de processos e ciclos, um meio para a recuperação biológica, depósito para acomodar nossos resíduos, um melhorador da qualidade da água, um suporte das infraestruturas urbanas. É um indispensável ponto de fixação para maior parte das plantas, porém, nos últimos anos tem se tornado o maior depósito de resíduos gerados pela indústria farmacêutica (PINTO; LUSTOSA; FERNADES, 2017).

Oliveira e colaboradores (2009), afirmam que na Europa, EUA, Nova Zelândia e Austrália vários estudos são realizados sobre remediação e fitorremediação, sendo

alternativa para despoluição e recuperação da água e solos contaminados.

Para Madalão et al. (2012), dentre as leguminosas mais promissoras no processo de fitorremediação, está o feijão de porco (*Canavalia ensiformis* L), que libera exsudatos radiculares ativando a microbiota do solo estimulando a decomposição dos compostos orgânicos aplicados. São eficientes na fitoextração dos compostos absorvidos pela raiz e acumulados na biomassa da planta, podendo ser degradados ou detoxificados nos seus tecidos aéreos.

Diante das questões abordadas, levantou-se o seguinte problema: a planta apresentou potencial fitorremediador em relação aos resíduos de medicamentos oriundos do descarte incorreto de medicamentos? Foi possível comprovar a alteração radicular e morfológica na leguminosa feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L.) cultivada em solo contaminado por medicamentos?

Mediante o exposto, foi necessário testar a hipótese comprovada em vários estudos relacionados com a absorção de resíduos no ambiente, afirmando a possibilidade da planta em estudo apresentar potencial tóxico quando cultivada em solos com resíduos medicamentosos, oriundos de descarte incorreto, sendo possível observar alterações no crescimento vegetativo da leguminosa feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L.) cultivada em solo contaminado por medicamentos.

Em virtude do elevado uso irracional de medicamentos e do seu descarte incorreto na rede de esgoto ou lixo doméstico, o estudo se fez relevante devido às poucas pesquisas científicas na área, principalmente no que se refere à fitorremediação de solos contaminados por medicamentos, tendo em vista a importância da preservação do meio ambiente para a manutenção da saúde e qualidade de vida da população.

## 2 | OBJETIVO

Avaliar o crescimento radicular da leguminosa feijão-de-porco cultivada em solos contaminados por resíduos de medicamentos.

## 3 | MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi classificada como descritiva experimental de campo de caráter quanti-qualitativo, pois analisou-se a capacidade da planta fitorremediadora, *Canavalia ensiformis* L. em absorver resíduos químicos liberados pelos medicamentos inseridos no solo, averiguando se houve alterações nos aspectos físicos e de crescimento radicular da planta, através da comparação com testemunha (cultivo em solo não contaminado).

O solo utilizado no experimento foi coletado em uma área nativa, próxima ao município de Itumbiara-GO. A escolha do local foi criteriosa, evitando coletas de solo contaminado por algum agente externo, o mesmo foi retirado na profundidade

10-20 cm da superfície, manualmente com uma pá de corte, o qual foi removido à cobertura do terreno, tomando o cuidado para não remover uma camada muito espessa da superfície do solo, conforme a metodologia descrita pela EMBRAPA (2006), formando 21 sub amostras.

Após coleta o solo foi homogeneizado manualmente, destorroado e peneirado, ao ar livre, em peneira de malha de 2,0 mm, formando uma amostra composta. Por fim, as amostras de solo foram colocadas em embalagens plásticas para preservar a qualidade do material, para evitar possíveis contaminações que pudessem o resultado das análises.

Utilizou-se para a pesquisa de campo os seguintes medicamentos sólidos: dipirona sódica 500mg, paracetamol 500mg, associação antigripal [(Gripeol®) (paracetamol 400mg, maleato de clorfeniramina 4mg cloridrato de fenilefrina 4mg)], amoxicilina 500mg e nimesulida 100mg, conforme pesquisa apresentada por Gomides; Teixeira e Cruz (2015).

A pesquisa foi conduzida nas dependências da Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Itumbiara, a partir da contaminação por medicamentos em amostras de solo, o qual foram plantadas sementes da leguminosa, *Canavalia ensiformes* L.-

Para a montagem do experimento, utilizaram-se sete (07) tratamentos na presença da planta *Canavalia ensiformis* L., sendo estes: cinco (05) classes de medicamentos com área de contato superficial íntegro; um (01) tratamento controle, chamado de testemunha, sendo na presença da planta fitorremediadora; uma (01) mistura de classes de medicamentos, todos com três repetições, totalizando 21 amostras.

Limitou-se a 2500mg o valor máximo em miligramas de medicamento por vaso (Figura 1B), essas dosagens foram quintuplicadas em relação aos estudos anteriores propostos pelas autoras Gomides; Teixeira e Cruz, (2015).

Cada vaso recebeu quatro (04) sementes, as quais foram semeadas na profundidade de aproximadamente 02 cm.



Figura 1B. Montagem do experimento

Legenda: A: Montagem do experimento com 2500mg de medicamento; B: 04 sementes de feijão de porco.

Os vasos foram mantidos por um período de 70 dias, se aproximando do ciclo vegetativo da leguminosa, em condições ambientais próprias que se aproximaram ao máximo da realidade presente em um lixão (Figura 2).



Figura 2. Experimento implantado

Legenda: A – 1º dia após o plantio; B – 70 dias após o plantio.

Fonte: Próprio autor (2018).

A planta *Canavalia ensiformes* L. cultivada no experimento, foi escolhida por melhor se adaptar as condições climáticas da região e apresentar respostas positivas em pesquisas sobre a capacidade da planta em retirar contaminantes do meio ambiente.

Depois de verificado as primeiras folhas primárias das plantas, realizou-se o desbaste, deixando apenas uma (01) planta por vaso nas diferentes repetições (Figura 3).

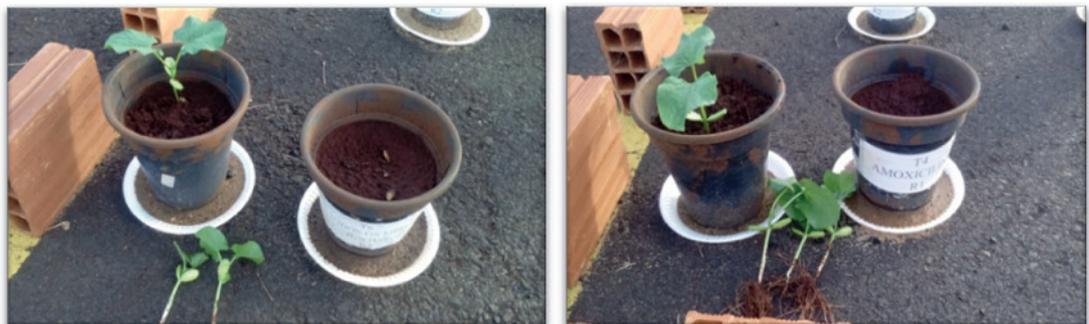


Figura 3. Desbaste após primeiras folhas primárias

Fonte: Próprio autor (2018).

A irrigação foi realizada manualmente com auxílio de um recipiente plástico, no qual, utilizou-se a quantidade de água necessária para manter a umidade do local e não causar déficit hídrico na planta.

Coletou-se as amostras das plantas em triplicatas, que foram identificadas e levadas para o laboratório para a realização das análises morfológicas e anatômicas

da planta. Para mensurar essas variáveis utilizou-se uma balança semi-analítica, régua milimetrada, papel milimetrado e estufa.

Os dados obtidos tiveram suas médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR, versão 5.6 (FERREIRA, 2015).

#### 4 | RESULTADO E DISCUSSÃO

Observou-se com os dados obtidos na tabela 1, que o crescimento da raiz do feijão-de-porco submetido aos tratamentos com medicamentos, não obtiveram diferenças estatísticas significativas, em relação à planta cultivada sem medicamentos, conforme apresentado no teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tratamentos	Comprimento da raiz planta (cm)
Amoxicilina	29,4 a1
Planta com todos os medicamentos	32,1 a1
Dipirona	33,7 a1
Planta sem medicamento (controle)	34,3 a1
Gripeol®	36,2 a1
Nimesulida	38,9 a1
Paracetamol	43,5 a1

**Erro Padrão: 3,8**  
**CV (%): 18,53**

Tabela 1. Valores médios do comprimento de raiz de feijão de porco, submetido a diferentes tratamentos com medicamentos no solo.

Fonte: CV (Coeficientes de Variação). Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de SCOTT KNOTT a 5% de probabilidade.

Porém, vale destacar um maior crescimento para o tratamento com paracetamol 43,5 cm, 26,8% a mais em relação ao tratamento controle 34,3 cm (Figura 4).

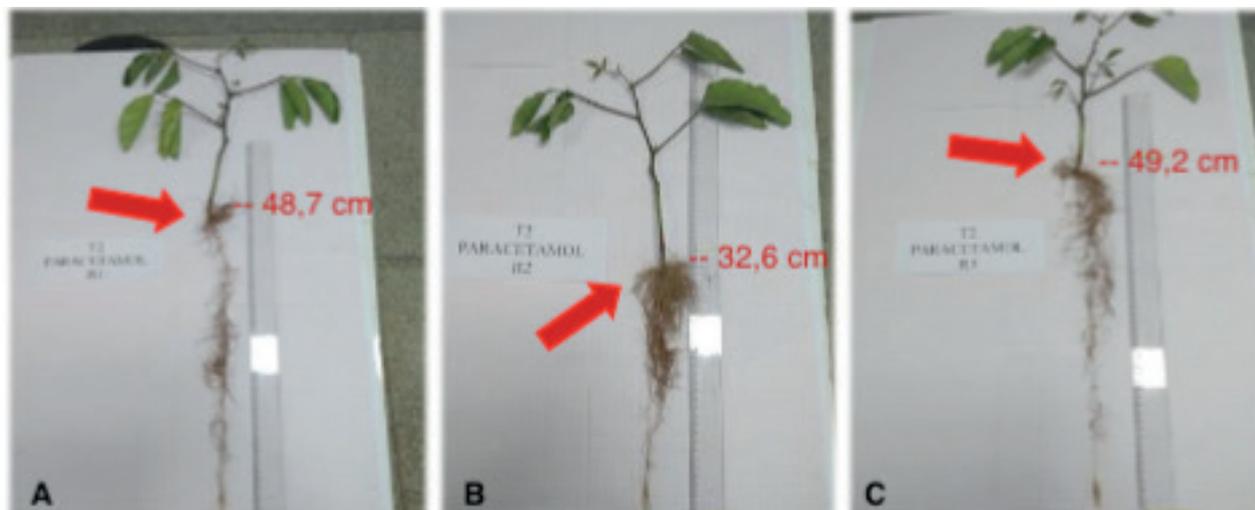


Figura 4. Comprimento da raiz do paracetamol

Legenda: A: Comprimento medio da raiz de de feijão-de-porco R1; B: Comprimento médio da raiz de de feijão-de-porco R2; Comprimento medio da raiz de de feijão-de-porco R3.

Fonte: Próprio autor (2018).

O maior crescimento para o tratamento com paracetamol justifica-se pela sua composição química (Figura 5) apresentar o não metal nitrogênio (N), que possui alta capacidade de fixação biológica, convertendo O N<sub>2</sub> atmosférico em NH<sub>3</sub> (amônio) o que faz com que elevadas quantidades sejam acumuladas em seus nódulos e parte aérea da planta (EMBRAPA, 2004).

Essa reação associada aos macronutrientes orgânicos C, H, O, fornecidos pelo ar, água e os presentes nas moléculas dos medicamentos, poderão ter propiciado maior crescimento dessas plantas.

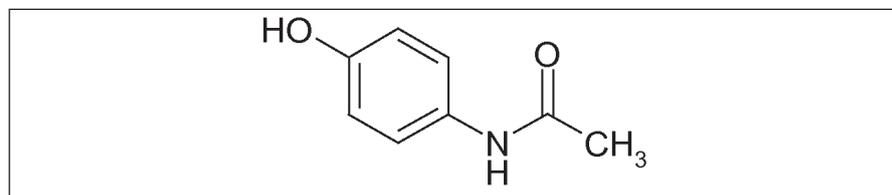


Figura 5. Fórmula estrutural química da substância paracetamol

Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010).

Em contrapartida a amoxicilina apresentou o menor crescimento radicular, 29,4 cm, 14,3% a menos em relação ao tratamento controle. A inibição do crescimento da raiz de feijão-de-porco para esse tratamento justifica-se por ter o não metal enxofre (S) em sua composição química. De acordo com Szabo e colaboradores (2003), o enxofre em altas concentrações inibe o crescimento dos vegetais.

Essa afirmação justifica a atrofia da raiz no tratamento com amoxicilina, devido ao fato da planta ter sido exposta ao medicamento com formulação química contendo o não metal enxofre (S), conforme figura 6.

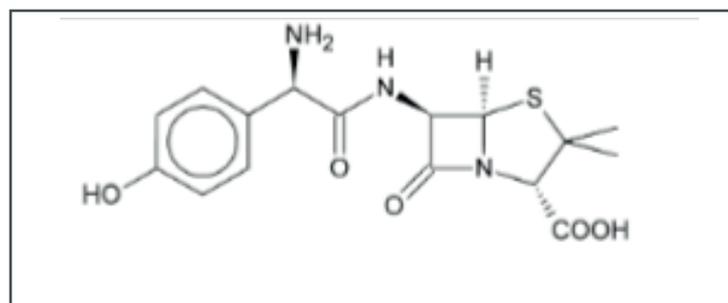


Figura 26. Fórmula estrutural química da substância amoxicilina tri-hidratada

Fonte: Farmacopéia Brasileira (2010).

Embora o tratamento com amoxicilina tenha tido o menor comprimento de raiz, observou-se maior volume de raízes e espessura reduzida na planta com esse tratamento. Observou-se raízes frágeis e quebradiças no momento do desmanche do experimento.

Silva e colaboradores (2004) ressaltam que o aumento das ramificações se deve a alta taxa de mitose, podendo também ser atribuído à redução no comprimento da raiz principal.

O volume de raízes novas no tratamento com amoxicilina se torna evidente no ápice da raiz (Figura 7).



Figura 7. Raízes e espessura reduzida no tratamento com amoxicilina

Legenda: A seta vermelha mostra a raiz de feijão-de-porco cultivada em solo contaminado com amoxicilina.

Fonte: Próprio autor (2018).

Notou-se que, mesmo após 70 dias, os resíduos dos tratamentos com nimesulida, todos os medicamentos e amoxicilina, mantiveram sua forma física ficando aderidos nas raízes da planta (Figura 8), evidenciando sua degradação lenta, mostrando-se persistentes e acumulativos no solo, comprovando a capacidade de fitoextração da leguminosa feijão-de-porco. De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010) esses medicamentos tem a característica de serem fármacos pouco solúveis em água.

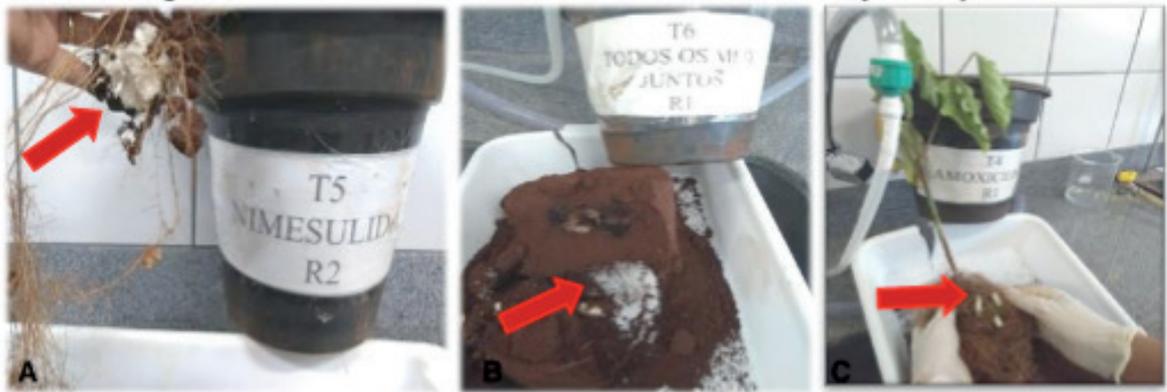


Figura 8. Adesão dos medicamentos às raízes do feijão-de-porco

Legenda: As setas vermelhas indicam: (A): Nimesulida persistente e aderida às raízes da planta; (B): Medicamentos intactos no tratamento com todos os medicamentos; (C): Cápsula de amoxicilina intacta e aderida às raízes da planta.

Fonte: Próprio autor (2018).

Silva (2018) explica que a fitoextração é um processo da fitorremediação que a planta absorve os contaminantes por meio de suas raízes e os acumula internamente. Conforme a planta se desenvolve e seus talos e folhas crescem, o material fitoextraído é transportado para sua parte aérea.

Outro fato observado visualmente nas plantas de feijão-de-porco foi o aspecto físico, que apresentaram visualmente possível deficiência de nutrientes ao final do seu ciclo vegetativo de 70 dias, conforme (Figura 9). As plantas não receberam qualquer tipo de adubação química ou mineral para o aumento da fertilidade do solo. Sabe-se que o ideal para o desenvolvimento de leguminosas como o feijão-de-porco é a adubação nitrogenada ou fosfatada, pois corroboram com desenvolvimento dessas leguminosas (SOUZA; LOBATO, 2004).



Figura 9. Plantas no final do ciclo vegetativo de 70 dias

Legenda: A: As setas vermelhas indicam toxicidade na planta com tratamento com amoxicilina; B: Morte celular da planta com tratamento com todos os medicamentos; C: Planta com tratamento Dipirona totalmente desnutrida.

Fonte: Próprio autor (2018).

Vale destacar que no tratamento com todos os medicamentos, observou-se visualmente possível rompimento da parede celular causando escurecimento e necrose da raiz devido a grande exposição química a qual foi submetido o feijão-de-porco (Figura 10).

Outro fato relevante é o adensamento do solo que também pode ter interferido na redução do crescimento e desenvolvimento radicular da planta, impedindo o enraizamento nas camadas subsuperficiais do solo. O plantio se deu em período chuvoso, após veio a estiagem que provocou visualmente o adensamento.



Figura 10 Feijão-de-porco na presença do tratamento com todos os medicamentos

Legenda: A: As setas vermelhas indicam visualmente o rompimento da parede celular da raiz da planta; B: Escurecimento e possível necrose da raiz da planta.

Fonte: Próprio autor (2018).

Identificou também a presença de nodulações nas radículas e raízes das plantas com os tratamentos com nimesulida e todos os medicamentos.

Observou-se aspectos morfológicos distintos e variação da coloração dos nódulos de marrom escuro a cor acinzentada em todas as repetições com o tratamento nimesulida. Por outro lado, o tratamento controle (planta sem medicamento) apresentou coloração rósea clara, comprovando a fitotoxicidade na planta e sua capacidade de fitoextração (Figura 12). Isso quer dizer que os demais medicamentos inibiram a formação de nódulos.



Figura 12. Nodulações presentes no feijão-de-porco sem a presença de medicamentos e na presença de nimesulida.

Legenda: A: Nódulos na radícula da planta sem a presença de medicamentos; B: Nódulos presentes na radícula e raízes do tratamento com nimesulida.

Fonte: Próprio autor (2018).

A formação de nódulos em leguminosas se deve a sua capacidade de simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, essa reação de fixação biológica de nitrogênio (FBN) ocorre no interior dos nódulos onde a nitrogênase é protegida contra o excesso de oxigênio ( $O_2$ ). Essa proteção confere coloração rósea aos nódulos. O processo é denominado simbiose porque a planta hospedeira beneficia a bactéria pelo fornecimento de carboidratos, e a bactéria beneficia a planta através da produção de amônia (SOUZA; LOBATO, 2004).

## 5 | CONCLUSÃO

A contaminação do solo com medicamentos não alterou significamente o crescimento das raízes da planta feijão-de-porco. Portanto, diante das análises feitas conclui-se que:

- ✓ Os medicamentos não inibiram o crescimento de raízes, porém, inibiram a formação de nódulos característicos das leguminosas para fixação biológica de nitrogênio (N);

- ✓ Os medicamentos utilizados na pesquisa foram responsáveis por causar modificações físicas e morfológicas nas raízes da planta de feijão-de-porco;-

- ✓ Portanto, pode-se afirmar que os medicamentos quando descartados no solo de forma incorreta, podem gerar substâncias químicas tóxicas, que quando expostas a agentes degradantes com a umidade, luz e temperatura, ocasionam na contaminação do solo e plantas.

Em virtude do que foi mencionado e dos dados apresentados, fica evidente o potencial fitoextrator e fitorremediador do feijão-de-porco exposto a contaminantes medicamentosos presentes no solo.

Portanto, se faz necessário mais estudos que possam evidenciar o tamanho da contaminação e quais os impactos ambientais provocados pelo descarte inadequado de medicamentos.

## REFERÊNCIAS

ALI, I, Singh, P, ABOUL-ENEIN, HY e SHARMA, B., **Chiral Analysis of Ibuprofen Residues in Water and Sediments**. *Analytical Letters*, 2009 42 (12): 1747 – 176. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00032710903060768>>. Acesso em: 22 mar. 2017. 14:23:56s.

Brasil. **Farmacopeia Brasileira, volume 2**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 904p., 2v/il.1. Substâncias farmacêuticas químicas, vegetais e biológicas. 2. Medicamentos e correlatos. 3. Especificações e métodos de análise. Título. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/260079/5%C2%AA+edi%C3%A7%C3%A3o++Volume+1/4c530f86-fe83-4c4a-b907-6a96b5c2d2fc>>. Acesso em: 07 Julho 2018. 23:43:54s

EMBRAPA. **Feijão-de-porco: leguminosa para controle de mato e adubação verde do solo**. Recomendações Técnicas n. 12, 2000. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/407266/1/FeijaoPorcoLeguminosa.pdf>>. Acesso em: 13 maio de 2018.

EMBRAPA. Meio Ambiente. FILIZOLA, Heloisa Ferreira et al., **Manual de procedimentos de coleta de amostras em áreas agrícolas para análise da qualidade ambiental: solo, água e sedimentos**. Jaguariúna: Embrapa, 2006. 169p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/129660/1/2006OL-008.pdf>>. Acesso em: 29 out. 2018. 13h e 52 min.

FERREIRA, M. M. M. Sintomas de deficiência de macro e micronutrientes de plantas de milho híbrido BRS 1010. **Revista Agroambiente**, v. 6, n. 1, p. 74-83, janeiro-abril, 2012. Boa Vista, RR. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/940687/1/56925401PB.pdf>>. Acesso em: 01 Abril 2019. 20:34:23s.

GOMIDES, J. N.; TEIXEIRA, J. L. P.; CRUZ, R. M.. Projeto de pesquisa: Investigação da absorção química no solo de medicamentos utilizados pela população de Itumbiara-GO. **Plataforma Athena - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS**. Vinculado a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação – PrP, por meio do Programa de Voluntários em Iniciação Científica (PVIC/UEG). Itumbiara-GO, 2015. Disponível em: <<http://www.athena.ueg.br:8080/athena/modulos/menu/projetos.jsf>>. Acesso: 16 maio, 2017. 13h e 17min.

MADALÃO, J. C.; et al. Uso de leguminosas na fitorremediação de solo contaminado com sulfentrazone. **Pesq. Agropec. Trop.**, v. 42, n. 4, p. 390-396, out./dez. Goiânia, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pat/v42n4/v42n4a01.pdf>>. Acesso em: 01 abr 2017.

MEDINA, F. **Análise da gestão de resíduos industriais e pós-consumo gerados na fábrica de medicamentos da Fiocruz**. Tese (Dissertação de Mestrado em Sistemas de Gestão). Universidade Federal Fluminense, Niterói- RJ, 2015. Disponível em: <<https://app.uff.br/riuff/bitstream/1/4386/1/Dissert%20Flavio%20Medina.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2017. 15:39:10s.

OLIVEIRA, D.L.; et al. Plantas nativas do cerrado: uma alternativa para fitorremediação. **Rev. Estudos, Goiânia**, v. 36, n. 11/12, p. 1141-1159, nov./dez. 2009. Disponível em: <<http://revistas.pucgoias.edu.br/index.php/estudos/article/download/670/824>>. Acesso em 30 Março 2019. 11:54:12s.

PINTO, N. B.; LUSTOSA, J. P. G.; FERNANDES, M. C. A. O descarte incorreto de fármacos e seus

impactos no meio ambiente e na saúde pública. **Revista de Pesquisa Interdisciplinar, Cajazeiras, n.2, suplementar, p.563 - 570, set. de 2017.** Disponível em:<[HTTP://revistas.ufcg.edu.br/cfp/index.php/pesquisainterdisciplinar/article/download/357/pdf](http://revistas.ufcg.edu.br/cfp/index.php/pesquisainterdisciplinar/article/download/357/pdf)>. Acesso em: 09 Abril 2017. 10:34:54s.

SILVA, L. M.; et. al. Sistema radicular de cultivares de feijão em resposta à calagem. **Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v.39, n.7, p.701-707, jul. 2004.** Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v39n7/21313.pdf>>. Acesso em: 14 Maio 2019. 23:04s.

SILVA, J. M. G. **Fitorremediação: um estudo da potencialidade da *canavalia ensiformis* na descontaminação de solos com chumbo.** Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Departamento de Química. Londrina, 2018. Disponível em: <[http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/10404/1/LD\\_COLIQ\\_2018\\_1\\_03.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/10404/1/LD_COLIQ_2018_1_03.pdf)>. Acesso em: 23 Março 2019. 13:14:29s.

SOUZA, D. M. G. de; LOBATO; Edson. **Cerrado: correção do solo e adubação.** Embrapa Informação Tecnológica. 2ª Ed. Brasília – DF. 2004.

SZABO, M. D.; et al. Acúmulo foliar de enxofre e suas relações com alterações no crescimento de plantas jovens de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) expostas nas proximidades do polo industrial de Cubatão, SP. **Revista Brasil. Bot., V.26, n.3, p.379-390, jul.-set. 2003.** Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbb/v26n3/18957.pdf>>. Acesso em 02 Feb 2019. 21:09:32s

## CARACTERIZAÇÃO E DIVERSIDADE DOS CRIADOUROS ENCONTRADOS COM FASES EVOLUTIVAS DE *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) E *Aedes albopictus* (SKUSE, 1894) (DÍPTERA: CULICIDAE), VETORES DAS ARBOVIROSES NO MUNICÍPIO DO IPOJUCA - PE/BRASIL

### **Hallysson Douglas Andrade de Araújo**

Prefeitura Municipal do Ipojuca - Secretaria de Saúde; Rod. PE-60, km 19, s/n, Complexo educacional do Ipojuca (Bloco C), Centro Ipojuca-PE

### **Jussara Patrícia Monteiro Vasconcelos**

Prefeitura Municipal do Ipojuca - Secretaria de Saúde; Rod. PE-60, km 19, s/n, Complexo educacional do Ipojuca (Bloco C), Centro Ipojuca-PE

### **Robson Ramos Lima de Melo**

Prefeitura Municipal do Ipojuca - Secretaria de Saúde; Rod. PE-60, km 19, s/n, Complexo educacional do Ipojuca (Bloco C), Centro Ipojuca-PE

### **Anderson Artenis dos Santos Francelino**

Prefeitura Municipal do Ipojuca - Secretaria de Saúde; Rod. PE-60, km 19, s/n, Complexo educacional do Ipojuca (Bloco C), Centro Ipojuca-PE

### **Odilson Bartolomeu dos Santos**

Prefeitura Municipal do Ipojuca - Secretaria de Saúde; Rod. PE-60, km 19, s/n, Complexo educacional do Ipojuca (Bloco C), Centro Ipojuca-PE

### **Andrea Lopes de Oliveira**

Prefeitura Municipal do Ipojuca - Secretaria de Saúde; Rod. PE-60, km 19, s/n, Complexo educacional do Ipojuca (Bloco C), Centro Ipojuca-PE

### **Juliana Carla Serafim da Silva**

Prefeitura Municipal do Ipojuca - Secretaria

de Saúde; Rod. PE-60, km 19, s/n, Complexo educacional do Ipojuca (Bloco C), Centro Ipojuca-PE

**RESUMO:** As arboviroses tornaram-se um grande problema de saúde pública nas últimas décadas, sendo de suma importância a caracterização dos principais criadouros dos culicídeos transmissores, das mesmas, com destaque para as espécies *Aedes aegypti* e *A. albopictus*. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a distribuição das fases evolutivas do *A. aegypti* e *A. albopictus* em diferentes criadouros no perímetro urbano do município do Ipojuca-PE. A metodologia aplicada foi uma análise ao banco de dados do Sistema de Informação LIRAA - Levantamento de Índice Rápido do *A. aegypti* entre os anos de 2015 a 2017 do município do Ipojuca. Nesta série (2015-2017) foram inspecionados 32.793 imóveis. A caracterização dos criadouros aponta como mais expressivos os reservatórios d'água a nível do solo para ambas espécies, com uma maior predominância das fases evolutivas para a espécie *A. aegypti* sobre o *A. albopictus* ou na série analisada. Portanto, a caracterização dos criadouros dos vetores das arboviroses contribuiu para um conhecimento mais amplo dos potenciais focos de disseminação dos vetores e também quais políticas públicas

devem ser tomadas afim de controlar esses vetores.

**PALAVRAS-CHAVE:** Criadouros, fases larvais, vetores, arbovirozes, Ipojuca.

## CHARACTERIZATION AND DIVERSITY OF BREEDING SITES FOUND WITH EVOLUTIVE PHASES OF *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) AND *A. albopictus* (SKUSE, 1894) (DÍPTERA: CULLICIDAE), VECTORS OF ARBOVIRUSES IN THE CITY OF IPOJUCA - PE / BRAZIL

**ABSTRACT:** Arboviruses have become a major public health problem in the last decades, being of great importance the characterization of the main breeding sites of the mosquitoes that transmit these diseases, with emphasis on the species *Aedes aegypti* and *A. albopictus*. The objective of this work was to characterize the distribution of evolutionary phases of *A. aegypti* and *A. albopictus* in different breeding sites located in the urban perimeter of Ipojuca-PE. The methodology applied was an analysis to the Information System LIRAA - Rapid Index Survey of *A. aegypti* database, between the years of 2015 to 2017, for the city Ipojuca. In this period (2015-2017), 32,793 properties were inspected. The characterization of breeding sites indicates that the water reservoirs at ground level are more expressive for both species, with a greater predominance for the evolutionary phases of *A. aegypti* species over *A. albopictus*. Therefore, the characterization of the breeding sites of the arboviruses vectors contributed to a broader knowledge about the potential sources of dissemination offered by these vectors and what public policies should be taken to control them.

**KEYWORDS:** Breeding sites, larval stages, vectors, arboviruses, Ipojuca.

### 1 | INTRODUÇÃO

As arbovirozes encontra-se em diferentes regiões tropicais, subtropicais e territórios no Mundo (PAIXÃO et al., 2017), inclusive sendo considerada comum nas Américas e recentemente, identificados também no Sul da Europa em período de solstícios de verão (REZZA, 2014). Estas doenças afetam os seres humanos sendo a picada dos mosquitos o método de transmissão (KRAEMER et al., 2015; PATTERSON et al., 2016).

Dentre as arbovirozes, temos a dengue, onde estima-se, que cerca de 50 milhões de infecções ocorram anualmente, sendo que outras 2,5 bilhões de pessoas residam em países ou áreas onde a dengue é endêmica e estão susceptíveis a infecção (SABA et al., 2014a, SABA et al., 2014b). O dengue é hoje a mais importante arbovirose que afeta o homem e constitui-se um sério problema de saúde pública, onde as condições climáticas são favoráveis para o desenvolvimento e manutenção do seu vetor o *Aedes aegypti* e também do inseto *A. albopictus*, este último embora não transmita a dengue no Brasil é considerado um vetor em potencial devido a sua característica intrínsecas, no entanto, já é sabido que transmite outras arbovirozes (CARVALHO et al., 2014; KRAEMER et al., 2015).

Em várias regiões do Brasil, dentre elas no Nordeste (MARTEIS *et al.*, 2013; VALENÇA *et al.*, 2013; BEZERRA *et al.*, 2017) os recipientes utilizados pelos moradores para armazenar água no peri e intradomicílio das residências são considerados os criadouros preferências do *A. aegypti* e *A. albopictus* pela dificuldade de serem controlados, além de apresentar grande diversidade de material e tamanhos variados, o que os tornam excelentes criadouros. Esses dados corroboram, com as observações de que mudanças demográficas e sociais com o crescimento populacional, a urbanização desordenada contribuem para o aumento da incidência e dispersão geográfica dos vetores das arboviroes através desses criadouros (ABÍLIO *et al.*, 2018).

Assim, objetivamos caracterizar os criadouros quanto a positividade, tipo de material e quantidade de larvas/pupas nos domicílios, no Município do Ipojuca entre os anos de 2015 a 2017.

## 2 | METODOLOGIA

O estudo proposto é descritivo e exploratório que foi realizado no mês de agosto de 2018, no município de Ipojuca/PE que se encontra situado na Região Metropolitana Sul de Pernambuco, limítrofe com a mesorregião Agreste, a 57 km de distância da Capital Recife. O município do Ipojuca possui 527,107 km<sup>2</sup> e uma população estimada em 94.709 (IBGE, 2018). Limita-se ao Norte com o município do Cabo de Santo Agostinho, ao Sul com Sirinhaém, ao leste com o Oceano Atlântico e a Oeste com a cidade de Escada. Possui clima quente e úmido. Bacias hidrográficas principais: Rio Ipojuca e bacias de pequenos Rios Litorâneos, Rio Maracaípe, Rio Merepe, Rio Tatuoca e Rio Massangana.

A pesquisa foi realizada através de análise ao banco de dados do Sistema de Informação LIRAA - Levantamento de Índice Rápido do *A. aegypti* entre os anos de 2015 a 2017 do município estudado. Após análise preliminar dos dados foram analisadas as variáveis para processamento e análises dos imóveis inspecionados com água para consumo no peri e intradomicílio e realizada a coleta total de larvas e/ou pupas para investigação entomológica. A metodologia adotada para classificação, definição dos depósitos na pesquisa do Sistema de Informações do LIRAA foi a de Brasil (2013). Os depósitos em potenciais como criadouros de *A. aegypti* e *A. albopictus*, foram classificados e/ou definidos em cinco grupos (Tabela 1).

## 3 | RESULTADOS

Através da Fig. 1 podemos observar o quantitativo de imóveis inspecionados no município do Ipojuca, entre os anos de 2015 a 2017 foram visitados 11.192, 10.604 e 10.997 imóveis respectivamente. A média dos Índices de Infestações Prediais (IIP) para os respectivos anos foram 0,7%, 1,13%, 0,96% para o vetor *A. aegypti* e 0,4%,

0,19%, 0,20% para o *A. albopictus*.

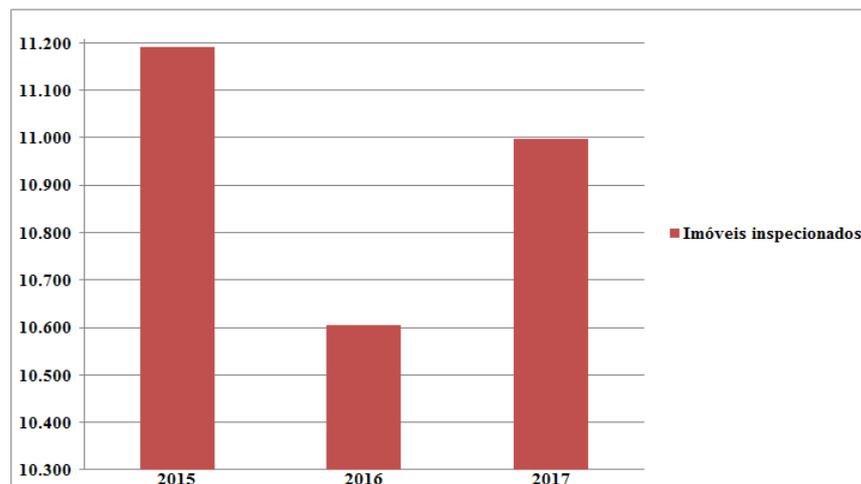


Fig.1. Quantitativo de imóveis inspecionado no município do Ipojuca, entre os anos de 2015 a 2017.

Fonte: Secretária municipal de saúde do Ipojuca.

Em relação aos quantitativos para as diferentes fases evolutivas nos estágios larvais e/ou pupas encontradas no Município do Ipojuca são observado na Fig. 2. Foram encontradas 89, 120 e 106 unidades para *A. aegypti* enquanto para o *A. albopictus* foram 45, 21 e 23 para os anos 2015, 2016 e 2017, respectivamente. Sendo o ano de 2015 o mais favorável para o *A. albopictus* apresentando uma maior quantidade e para o *A. aegypti* correspondeu ao ano de 2016.

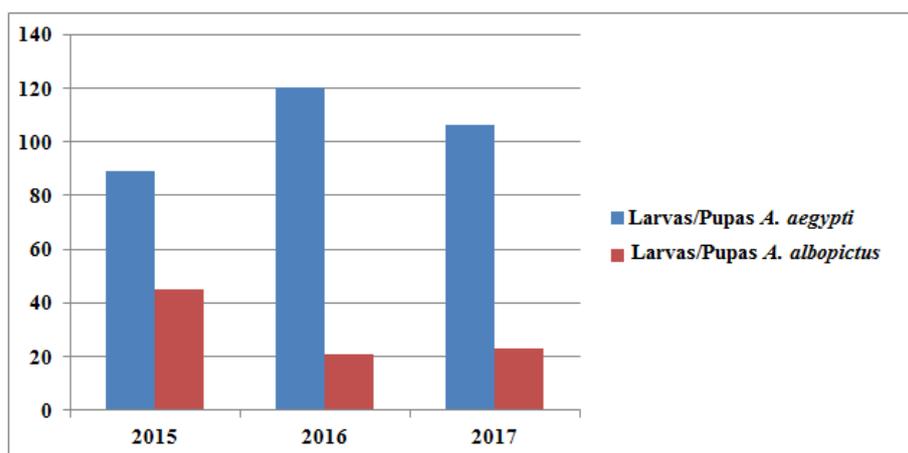


Fig. 2. Quantitativo das diferentes fases evolutivas das espécie *A. aegypti* e *A. albopictus* no município do Ipojuca entre os anos de 2015 a 2017.

Fonte: Secretária municipal de saúde do Ipojuca.

Em relação aos tipos de criadouros e suas variedades são observados na Tabela 1. A caracterização dos tipos de criadouros foram predominantemente encontrados com larvas e/ou pulpas de ambas as espécies para os recipientes ou depósitos d'água a nível do solo (barril, tonel, tambor, potes e caixa d'água) correspondendo a

68,65%, 68,11% e 70,50% respectivamente entre os anos de 2015 a 2017, seguidos de pequenos depósitos móveis (vasos/frascos com água, prato, garrafas, recipientes de degelo em geladeiras e bebedouros) corresponderam a 14,17%, 19,56% e 18,70% dos criadouros caracterizados para os respectivos anos 2015, 2016 e 2017.

<b>Grupos</b>	
<b>Grupo A: Armazenamento de água</b>	<p><b>A1.</b> Depósito(s) d'água elevado cisterna ou mina d'água – caixas d'água, tambores, depósitos de alvenaria.</p> <p><b>A2.</b> Depósito ao nível do solo: tonel, tambor, barril, tina, depósitos de barro (filtros, moringas, potes), cisternas, caixas d'água, captação de água em poço/cacimba/cisterna.</p>
<b>Grupo B: Depósitos móveis</b>	<p><b>B:</b> Vasos/frascos com água, pratos, garrafas retornáveis, pingadeira, recipientes de degelo em geladeiras, bebedouros em geral, pequenas fontes ornamentais, materiais em depósitos de construção (sanitários estocados, canos, etc.), objetos religiosos/rituais</p>
<b>Grupo C: Depósitos fixos</b>	<p><b>C:</b> Tanques em obras de construção civil, borracharias e hortas, calhas, lajes e toldos em desnível, ralos, sanitários em desuso, piscinas não tratadas, fontes ornamentais; cacos de vidro em muros, outras obras e adornos arquitetônicas (caixas de inspeção/passagens).</p>
<b>Grupo D: Passíveis de remoção</b>	<p><b>D1:</b> Pneus e outros materiais rodantes (câmaras de ar, manchões).</p> <p><b>D2:</b> Resíduos sólidos (recipientes plásticos, garrafas PET, latas), sucatas, entulhos de construção.</p>
<b>Grupo E: Naturais</b>	<p><b>E:</b> Axilas de folhas (bromélias, etc.), buracos em árvores e em rochas, restos de animais (cascas, carapaças, etc.).</p>

Tabela 1. Classificação dos tipos de criadouros para os vetores das arboviroses.

Fonte: Brasil, 2013

## 4 | DISCUSSÃO

Apesar de todo advento tecnológico no século XXI, observa-se que as doenças transmitidas por vetores continuam em evidência, estando diretamente associados a fatores sociais de forma individual ou coletivos, bem como a complexidade das ações necessárias para o seu controle (WEAVER, 2013; WILDER-SMITH et al.,

2017). No Brasil, o controle das doenças transmitidas por vetores está baseado em um conjunto de ações vinculadas à vigilância em saúde que parte da esfera federativa para os municípios (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002). Estas ações de enfrentamento as arboviroses são efetuadas de acordo com as problemática existentes, onde as estratégias objetiva estreitamente a saúde da população buscando promover uma vigilância em saúde atuante proporcionando promoção, prevenção e controle de doenças e agravos. Assim, observa-se que a média do índice de infestação predial no Município do Ipojuca encontrado nos três anos, foram de acordo com o preconizado pelo Ministério da Saúde que é de 1% (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002). Observa-se que o maior IIP para o *A. aegypti* ocorreu no ano de 2016, enquanto para o *A. albopictus* foi no ano de 2015. Há várias décadas tem sido discutida uma possibilidade de competição interespecífica entre essas espécies, com um aumento ou redução das populações de *A. aegypti* ou de *A. albopictus*, em diferentes regiões do mundo (BLACK et al., 1989). Por exemplo, em alguns estados dos Estados Unidos da America observou uma diminuição na população dos *A. aegypti* quando o *A. albopictus* neles se estabeleceu. Sendo que em países Asiáticos a situação foi inversa (GILOTRA et al., 1967; HO et al., 1989). Assim, é interessante realizar um estudo entomológico com uma série histórica mais prolongada no Município do Ipojuca, afim de confirmar se a predominância do *A. aegypti* sobre *A. albopictus* de fato foram ou estará sendo resultado de uma competição entre ambas as espécies.

Em relação a caracterização dos depósitos observados, os que se encontravam a nível de solo são normalmente os reservatórios de água que encontra-se no periodomicilio e em áreas sombreadas bem como lixo e pneus. Enquanto os vasos de plantas normalmente estão no intradomicilio e usados como artigos de decoração. Uma maior freqüência do encontro das duas espécies foi observada nos criadouros de armazenamento de água ao nível do solo, porém verificou-se um quantitativo de depósitos positivos com a presença da espécie *A. aegypti* predominantemente maior quando comparado com o quantitativo encontrado com *A. albopictus*. Diferentemente do que foi reportado por Oliveira e Biazoto, (2012) que observaram a preferência de ambas as espécies para criadouros do tipo de depósitos móveis, justificando à facilidade que esses depósitos são encontrados no meio urbano por meio de atividades do cotidiano dos moradores. Em relação a verificação da presença de larvas de *A. aegypti* e *A. albopictus* em diferentes criadouros Silva et al. (2006) observaram um percentual de 12,0% para *A. albopictus* e 88,0% para *A. aegypti*, observa-se que esses percentuais de uma maior freqüência de *A. aegypti* em relação *A. albopictus* corroboram com os nossos resultados. Essa caracterização dos tipos de criadouros mostra ser de suma importância, uma vez que contribui diretamente para o conhecimento em relação aos recipientes de maior preferência por parte dos vetores no Município do Ipojuca, transformando-se em uma ferramenta educativa para o desenvolvimento de políticas públicas entre elas

campanhas informativas e educativas com participação da população, principalmente dos escolares com a finalidade de prevenção e controle dos vetores das arboviroses.

## 5 | CONCLUSÕES

A distribuição dos criadouros no município do Ipojuca mostra-se dentro do perfil observado no país, especialmente na região Nordeste. Foi também observado uma maior predominância de larvas e/ou pupas de *A. aegypti* em comparação ao *A. albopictus*. Sendo caracterizado os reservatórios do tipo armazenamento a nível do solo com maiores percentuais das fases evolutivas dos vetores das arboviroses. Os esforços empreendidos para vigilância em saúde do Ipojuca, mostram que as ações educativas e o controle vetorial estão otimizando os resultados, conforme orienta o Ministério da Saúde.

## REFERÊNCIAS

- ABÍLIO, A. P.; ABUDASSE, G.; KAMPANGO, A.; CANDRINHO, B.; SITOI, S.; LUCIANO, J.; TEMBISSE, D.; SIBINDY, S.; ALMEIDA, A.P.G.; GARCIA, G.A.; DAVID, M.R.; MACIEL-DE-FREITAS, R.; GUDO, E.S.. **Distribution and breeding sites of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in 32 urban/peri-urban districts of Mozambique: implication for assessing the risk of arbovirus outbreaks**. PLOS Neglected Tropical Diseases., v. 12, n.(9):e0006692, 2018.
- BEZERRA, J. M. T.; SANTANA, I. N. S.; MIRANDA, J. P.; TADEI, W. P.; PINHEIRO, V. C. S.. **Breeding sites Of *Aedes Aegypti* (Linnaeus) (Diptera, Culicidae): Study about the containers in dry and rainy seasons in dengue-endemic city**. Revista Pesquisa em Saúde., v. 18, n. 2, p. 102-107, 2017.
- BLACK, W. C.; RAI, K. S.; TURCO, B. J.; ARROYO, D. C.. **Laboratory study of competition between United States strains of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**. Journal of Medical Entomology., v. 26, n. 4, p. 260-271, 1989.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Levantamento Rápido de Índices para *Aedes Aegypti* (LIRAA) para vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil: metodologia para avaliação dos índices de Breteau e Predial e tipo de recipientes**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis - Brasília, 2013, 84p.
- CARVALHO, R. G.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; BRAGA, I. A.. **Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz., v. 109, n. 6, p. 787-796, 2014.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD)**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica Brasília, 2002, 32p.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2018. **Resultado dos Dados População Estimada - 2018**. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pe/ipojuca/panorama>. Acesso 03/12/2018.
- GILOTRA, S.K.; ROZEBOOM, L.E.; BHATTACHARYA, N.C.. **Observations on possible competitive displacement between populations of *Aedes aegypti* Linnaeus and *Aedes albopictus* Skuse in Calcutta**. Bulletin of the World Health Organization. v. 37, n. 3, p. 437-446, 1967.
- HO, B.C.; EWERT, A.; CHEW, LAI-MING.. **Interspecific competition among *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, and *Ae. triseriatus* (Diptera: Culicidae): larval development in mixed cultures**.

KRAEMER, M.U.; SINKA, M.E.; DUDA, K.A.; MYLNE, A.Q.; SHEARER, F.M.; BARKER, C.M.; MOORE, C.G.; CARVALHO, R.G.; COELHO, G.E.; VAN BORTEL, W.; HENDRICKX, G.; SCHAFFNER, F.; ELYAZAR, I.R.; TENG, H.J.; BRADY, O.J.; MESSINA, J.P.; PIGOTT, D.M.; SCOTT, T.W.; SMITH, D.L.; WINT, G.R.; GOLDING, N.; HAY, S.I.. **The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus***. *Elife.*, v. 30, n. 4e08347, p. 1-18, 2015.

MARTEIS, L. S.; STEFFLER, L. M.; ARAÚJO, K. C. G. M.; SANTOS, R. L. C.. **Identificação e distribuição espacial de imóveis chave de *Aedes aegypti* no bairro Porto Dantas, Aracaju, Sergipe, Brasil entre 2007 e 2008**. *Caderno de Saúde Pública.*, v. 29, n. 2, p. 368-378, 2013.

OLIVEIRA, E. S.; BIAZOTO, C. D. S.. **Distribuição de criadouros de *Aedes aegypti* (Linna. Us, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Díptera: Culicidae), no Município de Assis Chateaubriand, PR, Brasil**. *Bioscience Journal.*, v. 28, n. 6, p. 1051-1060, 2012.

PAIXÃO, E. S.; TEIXEIRA, M. G.; RODRIGUES, L. C.. **Zika, chikungunya and dengue: the causes and threats of new and re-emerging arboviral diseases**. *BMJ Global Health.*, v. 4, n. 3e000530. p. 1-6, 2018.

PATTERSON, J.; SAMMON, M.; GARG, M.. **Dengue, Zika and Chikungunya: Emerging Arboviruses in the New World**. *The Western Journal of Emergency Medicine.*, v. 17, n. 6, p. 671-679, 2016.

REZZA, G.. **Dengue and chikungunya: long-distance spread and outbreaks in naïve areas**. *Pathogens and Global Health.* v. 108, n. 8, p.349-55, 2014.

SABA, H.; MIRANDA, J. G. V.; MORET, M. A.. **Self-organized critical phenomenon as a q-exponential decay - Avalanche epidemiology of dengue**. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications.*, v. 413, p. 205-211, 2014a.

SABA, H.; VALE, V. C.; MORET, M. A.; MIRANDA, J. G.. **Spatio-temporal correlation networks of dengue in the state of Bahia**. *BMC Public Health.*, v. 14, n. 1085. p. 1-6, 2014b.

SILVA, V. C.; SCHERER, P. O.; FALCÃO, S. S.; ALENCAR, J.; CUNHA, S. P.; RODRIGUES, I. M.; PINHEIRO, N. L.. **Diversidade de criadouros e tipos de imóveis freqüentados por *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti***. *Revista de Saúde Pública.*, v. 40, n. 6, p. 1106-1111, 2006.

VALENÇA, M. A.; MARTEIS, L. S.; STEFFLER, L. M.; SILVA, A. M.; SANTOS, R. L.. **Dynamics and characterization of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera:Culicidae) key breeding site**. *Neotropical Entomology.*, v. 42, n. 3, p. 11-316, 2013.

WEAVER, S.C.. **Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention**. *Trends Microbiology.*, v. 21, n. 8, p. 360-363, 2013.

WILDER-SMITH, A.; GUBLER, D.J.; WEAVER, S.C.; MONATH, T.P.; HEYMANN, D.L.; SCOTT, T.W.. **Epidemic arboviral diseases: priorities for research and public health**. *The Lancet Infectious Diseases.*, v. 17, n. 3:e101-e106, p.1-6, 2017.

## CONSTRUÇÃO DE UM MODELO NIR (ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO) PARA PREDIÇÃO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE POLISSACARÍDEOS EXTRACELULARES DURANTE A FERMENTAÇÃO DOS RESÍDUOS DA PALMA DE ÓLEO POR *Pleurotus Ostreatus*

### **Jhonatas Rodrigues Barbosa**

Universidade Federal do Pará (UFPA). Instituto de Tecnologia (ITEC), Pós-graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) Belém-PA

### **Ivonete Quaresma da Silva de Aguiar**

Universidade do estado do Pará (UEPA). Centro de Ciências Naturais e Tecnologia (CCNT) Departamento de Tecnologia de Alimentos (DETA). Belém-PA

Universidade Federal do Pará (UFPA). Instituto de Tecnologia (ITEC), Pós-graduação (Doutorado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) Belém-PA

### **Maurício Madson dos Santos Freitas**

Universidade Federal do Pará (UFPA). Instituto de Tecnologia (ITEC), Pós-graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) Belém-PA

### **Raul Nunes de Carvalho Junior**

Universidade Federal do Pará (UFPA). Instituto de Tecnologia (ITEC), Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA). Laboratório de extração (Labex) Belém-PA

### **Marcos Enê Chaves Oliveira**

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Departamento de Agroindústria. Belém-Pará

eficiência de usarmos resíduos provenientes da agroindústria da palma de óleo para cultivo submerso de *Pleurotus ostreatus*, com o interesse de produzir polissacarídeos extracelulares. O presente trabalho teve por objetivo validar um método específico para quantificar polissacarídeos extracelulares por espectroscopia no infravermelho próximo. Os ensaios fermentativos foram conduzidos em frascos agitados por 10 dias, variando a concentração dos resíduos (POME e Borra de tridecanter). Os polissacarídeos produzidos foram extraídos e quantificados pelo método colorimétrico ácido fenol-sulfúrico. Os dados coletados para a concentração de açúcares totais no processo de fermentação foram utilizados para desenvolvimento de um modelo NIR de predição de polissacarídeos extracelular. Este modelo foi validado e mostrou-se adequado como uma ferramenta analítica para acompanhar de forma rápida e de baixo custo à evolução de consumo de carboidratos totais e a produção de polissacarídeos durante a fermentação dos resíduos de palma de óleo por *Pleurotus ostreatus*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Polissacarídeo extracelular; *Pleurotus Ostreatus*; modelo de predição NIR.

**ABSTRACT:** Our previous work proved the efficiency of using residues from the oil palm

**RESUMO:** Nosso trabalho anterior provou a

agroindustry for submerged cultivation of *Pleurotus ostreatus*, with the interest of producing extracellular polysaccharides. The present work aimed to validate a specific method to quantify extracellular polysaccharides by near infrared spectroscopy. The fermentation assays were conducted in shaken flasks for 10 days, varying the concentration of residues (POME and Tridecanter Borra). The polysaccharides produced were extracted and quantified by the phenol-sulfuric acid colorimetric method. The data collected for the concentration of total sugars in the fermentation process were used to develop an NIR model for the prediction of extracellular polysaccharides. This model was validated and proved to be suitable as an analytical tool to quickly and inexpensively accompany the evolution of total carbohydrate consumption and the production of polysaccharides during the fermentation of oil palm residues by *Pleurotus ostreatus*.

**KEYWORDS:** Extracellular polysaccharide; *Pleurotus ostreatus*; NIR prediction model.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os polissacarídeos extracelulares produzidos por diversos microrganismos são objeto de pesquisa e aplicação em diversas áreas, como medicina, cosméticos e alimentos, ambas com o foco de aperfeiçoar seus processos de produção e de análise (SYNYTSYA & NOVÁK, 2013). Grande diversidade de polissacarídeos extracelulares tem sido relatada, em especial os produzidos por fungos formadores de cogumelos, como os do gênero *Pleurotus* spp, que apresentam diversas bioatividades como antitumoral (LIU et al., 2017a; LI et al., 2018), anti-inflamatórias (CASTRO-ALVES & NASCIMENTO, 2018; CHEN et al., 2018) e antioxidante (LIU et al., 2018b).

O processo de produção destes polímeros é feito em cultivo submerso, para tanto devem ser fornecidas as condições necessárias para seu crescimento e produção de metabolitos de interesse. São várias as condições que devem ser controladas durante o processo de fermentação, no entanto a composição nutricional é essencial, em especial a fonte de carbono e nitrogênio (SINGLETON et al., 2017). Diante deste cenário, resíduos como os provenientes das agroindústrias são fontes interessantes de carbono e nitrogênio, que podem ser utilizadas por microrganismos para biossíntese de polissacarídeos extracelulares.

A agroindústria de óleo de palma tem sido relatada como um setor industrial de grande impacto na economia, gerando renda e grande capital de giro entre o setor produtivo e seu mercado consumidor em potencial. Outro impacto importante a ser considerado é o ocasionado ao meio ambiente, devido aos diversos subprodutos gerados na cadeia industrial de processamento de óleo de palma, como fibra, cacho vazio e rejeitos líquidos, que em grande volume são despejados em locais abertos ocasionando grande impacto ambiental (AWALLUDIN et al., 2015).

Estes resíduos ao serem utilizados em processos fermentativos para produção de metabolitos, podem ser monitorados por técnicas espectroscópicas, as quais

apresentam bons resultados e boa reprodutibilidade (PASQUINI, 2018). Em nosso estudo anterior, foi avaliada a produção de biomassa fungica e polissacarídeos extracelular em cultivo submerso do fungo *Pleurotus ostreatus* em resíduos da palma de óleo. Os resultados obtidos demonstraram a eficiência do meio de cultivo na produção de polissacarídeos e revelaram uma correlação linear entre a porcentagem de biomassa de resíduos utilizadas com a produção de polissacarídeos. Demonstrando, portanto que estes resíduos podem ser utilizados para o cultivo e produção de polissacarídeos extracelular (BARBOSA, FREITAS, OLIVEIRA, 2018).

Portanto, considerando as necessidades atuais do processo de produção de polissacarídeos extracelular com máximos rendimentos e mínimos desperdícios de fonte de carbono e nitrogênio, além da necessidade de um método analítico preciso e rápido para quantificar estes polímeros. Esta produção teve por objetivo dar continuidade ao trabalho já desenvolvido com o cultivo e produção de polissacarídeos extracelular, e, portanto, validar um método específico para quantificar estes polímeros por espectroscópica no infravermelho próximo.

## **2 | MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Microrganismo e Manutenção**

O cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* foi adquirida da empresa especializada em produtos micológicos, Brasmicel, localizada em São Paulo. A manutenção da cepa foi feita a cada três meses em BDA (Batata Dextrose Ágar). As placas colonizadas com o micélio fúngico foram utilizadas como inóculo para os ensaios em frascos agitados.

### **2.2 Resíduos da Palma de Óleo Para o Cultivo Submerso**

Para a avaliação de produção dos polissacarídeos extracelular fúngicos foram utilizados resíduos da agroindústria da palma de óleo. Os resíduos utilizados foram o efluente líquido (POME), e a borra sólida de tridecanter, ambos foram adquiridos no polo industrial de produção de óleo de palma da DENPASA, localizada no km 22 da PA 240, município do Tauá, Pará, Brasil.

### **2.3 Produção de Polissacarídeos Extracelular em Frascos Agitados**

As produções dos polissacarídeos extracelulares foram feitas em cultivo submerso utilizando frascos agitados de 250 mL, contendo diferentes formulações de POME e borra sólida, conforme demonstrado no trabalho já desenvolvido (BARBOSA, FREITAS, OLIVEIRA, 2018). Os meios de cultivo foram esterilizados a 121°C e inoculados com a biomassa total de duas placas de BDA de 52,15 mm de diâmetro colonizadas com o micélio fúngico. Os frascos foram incubados em câmara de incubação do tipo SHAKER- MA-420 (MARCONI), velocidade de agitação de 150

rpm a 30 °C por 10 dias. A cada 48 horas uma amostra de 2 mL foi retirada para quantificação dos polissacarídeos extracelulares, e outra de 2 mL para ser analisada por espectroscopia no infravermelho próximo, para as aquisições espectrais das amostras e posterior construção de modelos de predição (SINGLETON et al., 2017).

## 2.4 Extração e Quantificação dos Polissacarídeos Extracelular (Eps)

Amostras de 2 ml coletadas a cada 48 horas de cultivo de todos os tratamentos em triplicata foram centrifugados (14000 rpm; 10 min), para separar a biomassa do sobrenadante. Os polissacarídeos foram precipitados com etanol 95% frio (4°C) a uma proporção de etanol: sobrenadante de 1:4 (v / v) (LI et al., 2018; CASTRO-ALVES & NASCIMENTO, 2018). O total de polissacarídeos precipitado foi suspenso em água deionizada para completar 1 mL e diluído adequadamente. Uma oligota de 0,5 mL foi retirada para determinação da concentração total de açúcares pelo método colorimétrico ácido Fenol Sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). O qual foi subsequentemente analisado em espectrofotômetro UV-Vis (Agilent Technologies) a 490 nm. A construção da curva padrão foi feita com glicose PA, com concentração entre 0,1 a 0,01 g.L<sup>-1</sup>.

## 2.5 Construção do Modelo NIR

### 2.5.1. Aquisições espectrais

Os espectros NIR foram obtidos utilizando espectrômetro MPA FT-NIR (Bruker Optics, Ettlingen, Alemanha). Os dados espectrais foram adquiridos no modo de absorbância, na faixa espectral de 7.500 cm<sup>-1</sup> a 8.500 cm<sup>-1</sup>, com 16 cm<sup>-1</sup> de resolução e média de 32 varreduras por espectro. As amostras foram mantidas em temperatura de 25 ± 1 °C para análise (ANDRIES & KALIVAS, 2010). Para o modelo NIR de predição de polissacarídeos extracelular foram utilizadas as amostras retiradas direto do processo fermentativo a cada 48 horas em triplicata e centrifugadas (14000 rpm; 10 min), para separar o sobrenadante da biomassa micélica, sendo somente o sobrenadante analisado.

### 2.5.2. Desenvolvimento do modelo de predição de EPS

O modelo de predição de polissacarídeos extracelular para o processo fermentativo foi desenvolvido utilizando os espectros das amostras líquidas coletadas conforme descrito na seção anterior. Os dados espectrais foram pré-processados no OPUS 6.5 (Bruker Optics, Ettlingen, Alemanha). Estes espectros tiveram pré-tratamento com primeira derivada mais Normalização vetorial (SNV) e aplicação do modelo de algoritmo de regressão (PLSR). Foram utilizados 58 amostras (N), para a calibração e 9 para o conjunto teste (Rank). Os modelos de NIR-PLSR para predição dos polissacarídeos extracelular foram avaliados através dos valores dos coeficientes de determinação de calibração (R<sup>2</sup>), erro padrão médio de validação

cruzada (RMSECV) e de predição (RMSEP), a relação de desempenho do desvio (RPD) e bias (ANDRIES & KALIVAS, 2010). Os parâmetros foram calculados de acordo com as equações:

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{M} \cdot \sum_{i=1}^M (y_i^{meas} - y_i^{pred})^2} \quad (1)$$

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{M} \cdot \sum_{i=1}^M (y_i^{ref} - y_i^{est})^2} \quad (2)$$

$$R^2 = \left(1 - \frac{1}{RPD^2}\right) \times 100 \quad (3)$$

$$RPD = \frac{\frac{1}{M-1} \cdot \frac{\sum_{i=1}^M (y_i^{meas} - y_m)^2}{\sqrt{\frac{1}{M-1} \cdot \sum_{i=1}^M (y_i^{meas} - y_i^{pred} - bias)^2}}}{\frac{SD}{SEP_{bias}}} = \sqrt{\quad} \quad (4)$$

$$Bias = \frac{\sum_{i=1}^M y_i^{meas} - y_i^{pred}}{M} \quad (5)$$

Onde:

$M$  = número de amostras;

$y_i^{meas}$  = Valor de concentração medido da amostra  $i$ ;

$y_i^{pred}$  = Valor de concentração previsto da amostra  $i$ ;

$y_m$  = Valor médio da concentração.

$y_i^{ref}$  = Valor de referência para amostra  $i$

$y_i^{est}$  = resultado estimado do modelo para amostra  $i$

O processamento de dados e desenvolvimento do modelo NIR descrito foram efetuados utilizando-se os recursos do software OPUS 6.5 da BRUKER (Bruker Optics, Ettlingen, Alemanha). A escolha da região espectral que melhor se correlaciona com a predição de polissacarídeos extracelular foi efetuada pelo operador do software, baseado em informações sobre a composição química, grupos funcionais e bandas de absorção dos grupos funcionais de carboidratos.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Produção de Polissacarídeos Extracelular

A produção de polissacarídeos extracelular foi relatada e discutida em nosso trabalho anterior, onde foi demonstrado a eficiência de produção e a correlação entre o uso de resíduos da agroindústria da palma de óleo e a produção de polissacarídeos extracelular, como demonstrado na (Figura. 1).

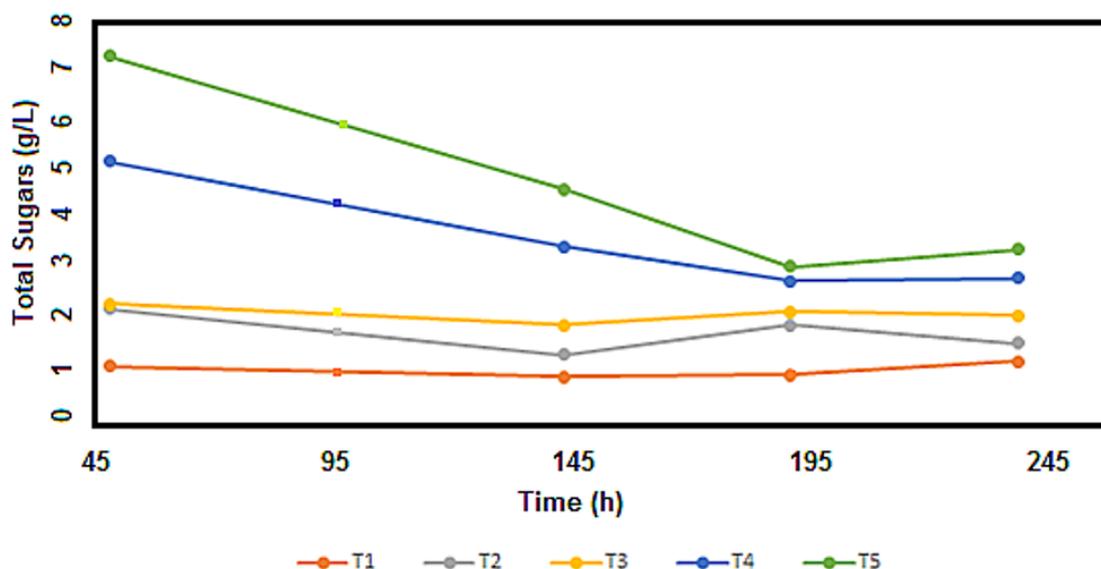


Figura 1 - Perfil dos açúcares solúveis totais de cada tratamento ao decorrer do tempo de fermentação (BARBOSA, FREITAS, OLIVEIRA, 2018)

Os resultados da produção e consumo de açúcares solúveis totais foram usados para construção do modelo de predição de polissacarídeos extracelular durante o processo fermentativo.

### 3.2 Informações Espectrais

Na (Figura. 2), são apresentadas as regiões espectrais utilizadas para o desenvolvimento de modelo preditivo NIR para polissacarídeos extracelular, produzidos pelo fungo *Pleurotus ostreatus* em diferentes tratamentos contendo os resíduos, efluente líquido da palma de óleo (POME), e o resíduo sólido (borra sólida de tridecanter), provenientes da agroindústria da palma de óleo.

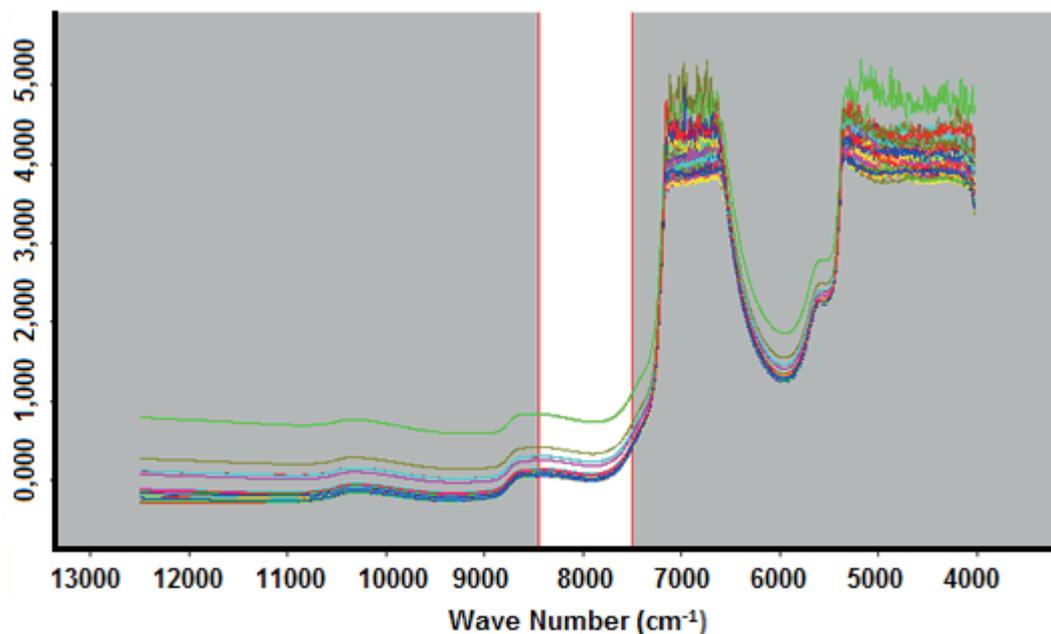


Figura - 2. Região espectral utilizada para o modelo de predição de polissacarídeos extracelular produzidos por *Pleurotus ostreatus* em cultivo submerso com resíduos da Palma de óleo.

Observa-se na (Figura. 2) que a faixa espectral determinada para predição do teor de carboidratos totais (polissacarídeos extracelular) localizou-se entre  $7.500\text{ cm}^{-1}$  a  $8.500\text{ cm}^{-1}$  correspondendo a bandas de absorção das ligações O-H de açúcares, além de N-H e C-H de nitrogênio e outros compostos orgânicos. Este intervalo de número de onda está relacionado principalmente com as bandas de combinação (estiramento mais deformação angular) e coerentes com a complexidade das amostras do material fermentado que apresentam mais de 90% em água, além de nitrogênio e diversos compostos orgânicos como fibras e gotículas de óleo (BAO et al., 2014).

### 3.3 Modelo de Predição de Polissacarídeo Extracelular

Os parâmetros de validação do modelo desenvolvido para predição de polissacarídeos extracelular nas amostras do processo fermentativo deste trabalho estão representados na tabela 1.

Polissacarídeo extracelular	N	Rank	R <sup>2</sup>	RMSECV	RMSEP	RPD	Bias
	58	9	97,6	0,258	0,259	6,46	- 0,0026

Tabela – 1. Parâmetros estatísticos avaliados para validação externa de polissacarídeos extracelular utilizando PLSR.

Observa-se na (Tabela. 1), que o R<sup>2</sup> é de 97,6, o que indica uma boa linearidade

e capacidade do modelo desenvolvido em explicar os resultados observados. Por outro lado, o RPD em 6.46 indica que há uma forte correlação entre o método químico utilizado para quantificar carboidratos e as absorções detectadas na faixa do NIR, ou seja, ambas as técnicas estão avaliando os mesmos tipos de compostos. Tradicionalmente considera-se que os valores de RPD devem estar acima de 2,3, indicando que o resultado do presente modelo se adequa fortemente a este critério (MONRROY et al., 2015).

Os valores de RMSECV e de RMSEP obtidos no modelo estão muito próximos, indicando que o conjunto teste e o conjunto de calibração apresentam variabilidade balanceada. Observa-se, entretanto, que estes desvios ainda são elevados considerando os valores inferiores medidos, chegando a 25% de desvio para os menores valores de concentração de açúcares solúveis totais determinados, indicando uma possível necessidade de aumentar o número de amostras com concentrações nesta faixa inferior. Esta variabilidade, entretanto, está presente nos dados experimentais e foi somente refletida no modelo de predição desenvolvido. Na (Figura. 3), está o gráfico com os valores reais versus valores preditos para os polissacarídeos extracelular, baseados no modelo NIR desenvolvido, e nos dados experimentais quantificados.

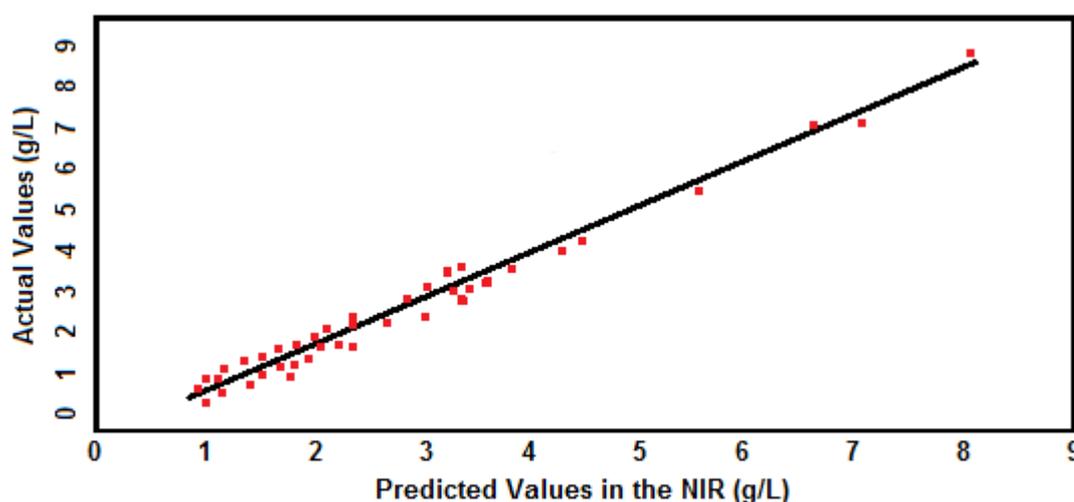


Figura – 3. Valores reais versus valores preditos (NIR) para os conjuntos de validação interna e externa (conjunto teste) da concentração de polissacarídeos extracelular produzidos durante o processo fermentativo.

Esta figura reforça os resultados obtidos anteriormente da adequação dos modelos desenvolvidos para predição dos parâmetros de concentração de polissacarídeos extracelular em amostras do caldo de cultivo, contendo o resíduo, efluente líquido da palma de óleo (POME) e o resíduo sólido (Borra solida de tridecanter), ambos fermentados com o cogumelo *Pleurotus ostreatus*.

Os resultados apresentados anteriormente para a validação do modelo de predição de polissacarídeos extracelular utilizando a espectroscopia no infravermelho

próximo (NIR) mostram que esta tecnologia pode ser utilizada de forma eficiente como uma técnica analítica para acompanhamento da produção ou consumo de açúcares solúveis totais em processos fermentativos com *Pleurotus ostreatus*, utilizando resíduos da agroindústria da palma de óleo como insumos de cultivo.

O pouco preparo de amostras, a rapidez de análise e o não uso de solventes agressivos ao meio ambiente e perigoso para o operador são as principais vantagens do uso do modelo NIR em relação ao método fenol-sulfúrico para análise de açúcares solúveis total em processos fermentativos. O modelo desenvolvido pode ser aplicado na avaliação direta de produção de polissacarídeos extracelular durante o processo fermentativo, não sendo mais necessárias horas de análises desgastante para quantificar estes polímeros por métodos tradicionais.

#### 4 | CONCLUSÃO

A utilização de resíduos da palma de óleo como elementos de formulação de substrato para produção de polissacarídeos extracelular com o fungo *Pleurotus ostreatus* mostrou-se viável para esta finalidade, sem a necessidade de acréscimo de qualquer outra suplementação ao meio de cultivo. O modelo NIR desenvolvido para predição da concentração de polissacarídeos extracelular durante o processo fermentativo foi validado apresentando coeficiente  $R^2$  de 97,6 e RPD de 6,46, ambos, indicativos de uma boa linearidade da resposta e de uma boa correlação entre o método químico utilizado e as absorções detectadas na faixa do NIR.

Os valores de RMSEP e RMSEC de 0,259 e 0,258, respectivamente, indicam que tanto o conjunto teste quanto o conjunto de calibração apresentam a mesma variabilidade. Estes valores, entretanto, foram elevados devido à variabilidade do conjunto de dados experimentais. De forma geral, entretanto, o modelo desenvolvido apresenta adequação para acompanhamento da evolução de açúcares solúveis totais, interpretados como polissacarídeos produzidos ou consumidos durante o processo fermentativo de resíduos de palma de óleo com o cogumelo *Pleurotus ostreatus*.

#### REFERÊNCIAS

ANDRIES, E, KALIVAS, J.H. Multivariate calibration leverages and spectral ratios via the filter factor representation. **J. Chemom**, v. 24, p. 249-260, 2010.

AWALLUDIN, M.F, SULAIMAN, O, HASHIM, R, NADHARI, W.N.A.W. An overview of the oil palm industry in Malaysia and its waste utilization through thermochemical conversion, specifically via liquefaction. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 50, p. 1469–1484, 2015.

BAO, Y, LIU, F, KONG, W, SUN, D, HE, Y, QIU, Z. Measurement of soluble solid contents and pH of White vinegars using VIS/NIR spectroscopy and least squares support vector machine. **Food and Bioprocess Technology**. v. 7, p. 54-61, 2014.

- BARBOSA, J.R, FREITAS, M.M.S, OLIVEIRA, M.E.C. Valorização de Resíduos da Palma De Óleo (*Elaeis* sp) para Produção de Polissacarídeos Extracelulares por *Pleurotus Ostreatus*, em: AS Santos (Eds), Avanços Científicos e Tecnológicos em Bioprocessos, Atena Editora. Ponta Grossa (PR)- Brasil, 2018, pp. 41 – 49.
- CASTRO-ALVES, V.C, NASCIMENTO, J.R.O.  $\alpha$ - and  $\beta$ -D-Glucans from the edible mushroom *Pleurotus albidus* differentially regulate lipid-induced inflammation and foam cell formation in human macrophage-like THP-1 cells. **Int. J. of Biological Macromolecules**. v. 111, p. 1222–1228, 2018.
- CHEN, C.F, SU, C.H, LAI, M.N, NG, L.T. Differences in water soluble non-digestible polysaccharides and anti-inflammatory activities of fruiting bodies from two cultivated *Xylaria nigripes* strains. **Int. J. of Biological Macromolecules**. v. 116, p. 728–734, 2018.
- DUBOIS, M, GILLES, K.A, HAMILTON, J.K, REBERS, P.A, SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**. v. 28, p. 350-356, 1956.
- LI, W, WANG, J, CHEN, Z, GAO, X, CHEN, Y, XUE, Z, GUO, Q, MA, Q, CHEN, H. Physicochemical properties of polysaccharides from *Lentinus edodes* under high pressure cooking treatment and its enhanced anticancer effects. **Int. J. of Biological Macromolecules**. v. 115, p. 994 – 1001, 2018.
- LIU, W.B, XIE, F, SUN, H.Q, MENG, M, ZHU, Z.Y. Anti-tumor effect of polysaccharide from *Hirsutella sinensis* on human non-small cell lung cancer and nude mice through intrinsic mitochondrial pathway. **Int. J. of Biological Macromolecules**. v. 99, p. 258- 264, 2017a.
- LIU, X, CHEN, Y, WU, L, WU, X, HUANG, Y, LIU, B. Optimization of polysaccharides extraction from *Dictyophora indusiata* and determination of its antioxidant activity, **Int. J. of Biological Macromolecules**. v. 103, p. 175–181, 2017b.
- MONRROY, M, GARCIA, J.R, TRONCOSO, E, FREER, J. Fourier transformed near infrared (FT-NIR) spectroscopy for the estimation of parameters in pretreated lignocellulosic materials for bioethanol production. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**. v. 90, p. 1281-1289, 2015.
- PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives e A-Review. **Analytica Chimica Acta**. v. 1026, p. 8-36, 2018.
- SINGLETON, R, NANJUNDASWAMY, A.K, MANDYAM, K, NJITI, V. Fermentation Optimization of Macro-Fungus *Pleurotus Sajor-Caju* on Soymeal. **Fermentation Technology**. v. 6, p. 2-5, 2017.
- SYNYTSYA, A, NOVÁK, M. Structural diversity of fungal glucans. **Carbohydrate Polymers**. v. 92, p. 792–809, 2013.

## FAUNA DIGITAL DO RIO GRANDE DO SUL: CRIANDO UMA PLATAFORMA DIGITAL PARA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

### **Filipe Ferreira da Silveira**

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre, Rio Grande do Sul

### **Maria João Veloso da Costa Ramos Pereira**

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

### **Gabriel Matte de Oliveira**

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre, Rio Grande do Sul

### **Heitor Jardim Ferreira**

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre, Rio Grande do Sul

### **Rafaella Migliavacca Marchioretto**

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre, Rio Grande do Sul

**RESUMO:** Disponibilizar informação científica com linguagem simples à população em geral é parte crucial do processo de conscientização e da construção de uma sociedade mais harmônica com o ambiente natural. Assim, com o objetivo de criar uma plataforma online com dados sobre a fauna do estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil, foi construído o site Fauna Digital do Rio Grande do Sul (FDRS; [www.ufrgs.br/faunadigitalrs](http://www.ufrgs.br/faunadigitalrs)). As informações contidas no site incluem distribuição geográfica, status de conservação, aspectos da biologia e da ecologia, hábito de vida e habitat das espécies fauna que ocorre no RS. Essas informações

são oriundas de fontes confiáveis e publicadas sobre os animais do Estado; as fotografias e os vídeos disponibilizados são oriundos de sites livres de direitos autorais ou obtidos junto a colaboradores. Os textos produzidos são revistos por graduandos, pós-graduandos e docentes em Ciências Biológicas. Para a conclusão deste Trabalho de Conclusão de Curso foi estipulada a inclusão de todos os mamíferos que ocorrem no Estado; o objetivo final, porém, é a inclusão no site de todas as espécies do Reino Animalia existentes no RS. Tal será efetuado através de um projeto de extensão em parceria com todos os laboratórios do Departamento de Zoologia da UFRGS (e de outras instituições do estado). Esse objetivo, pela sua magnitude, e pelo fato de serem constantemente descritas novas espécies, vê-se como eternamente inacabado, permitindo a participação de estudantes de todos os níveis de ensino ao longo de muitos anos.

**PALAVRAS-CHAVE:** fauna; conservação; mídias digitais; divulgação científica.

**DIGITAL FAUNA OF RIO GRANDE DO SUL:**

**CREATING A PLATFORM FOR SCIENTIFIC DISCLOSURE**

**ABSTRACT:** Providing scientific information with simple language to the general population

is essential to the process of raising awareness and building a society more in harmony with the natural environment. Like this, with the objective of creating an online platform with data about the fauna of the state of Rio Grande do Sul (RS), Brazil was created the site Digital Fauna do Rio Grande do Sul (FDRS; [www.ufrgs.br/faunadigitalrs](http://www.ufrgs.br/faunadigitalrs)). The information contained in the site includes geographical distribution, conservation status, aspects of biology and ecology of the animal, habit of life and habitat of the fauna that occurs in RS. This information comes from reliable and published sources on state animals, photographs and videos available come from royalty free sites or obtained from collaborators. The texts produced are reviewed by undergraduates, post-graduates and teachers in Biological Sciences. For the conclusion of this Course Completion Work was stipulated the inclusion of all mammals that occur in the State; the ultimate goal, however, is the inclusion on the site of all Animalia species in the RS. This will be done through an extension project in partnership with all the laboratories of the Department of Zoology of UFRGS (and other state institutions). This objective, by its magnitude, and by the fact that new species are constantly described, is seen as eternally unfinished, allowing the participation of students of all levels of education over many years.

**KEYWORDS:** fauna, conservation, digital media, scientific dissemination.

## 1 | INTRODUÇÃO

### a. O Distanciamento Humano do Mundo Natural

Os seres humanos têm-se aglomerado nas cidades, distanciando-se do meio rural (DO NASCIMENTO & ARAÚJO-DE-ALMEIDA, 2009). Vivendo em meio ao concreto, cercados de muros e deslocando-se pelo asfalto, distanciamos do que tende a ser natural. Essa mudança de hábitos fez com que não nos sintamos mais parte do ambiente natural e conseqüentemente não o valorizamos mais como em outrora. O desenvolvimento dos grandes centros urbanos sempre esteve relacionado inversamente com a conservação ambiental. O solo torna-se praticamente impermeabilizado pelas construções e estradas (MAUS, RIGHES & BURIOL, 2007). A água contaminada por subprodutos, orgânicos ou não, associados ao nosso estilo de vida não sustentável, além de contribuir com a eutrofização do ecossistema aquático, acaba imprópria para o consumo (DE RESENDE, 2002). O natural não é compatível conosco ou seria o contrário?

Nuno Castanheira nos elucida sobre como as atividades humanas acabam por afetar a natureza:

A primeira década do presente milênio mostrou que todos os ecossistemas terrestres sofreram transformações, de um modo ou de outro, devido a intervenção humana, resultando numa série de distúrbios do seu equilíbrio natural – algumas delas irreversíveis. Vários estudos mostram que as atividades humanas estão a conduzir a um declínio na diversidade genética, a uma redução sem precedentes dos recursos naturais, e a ameaçar toda a vida na terra, a nossa incluída

A desvalorização da natureza é originada pelo sentimento de não-pertencimento dos humanos ao ambiente que os rodeia. Aliás, quando falamos de ambiente o que lhe vem ao pensamento? Árvores, rios, animais, sol... Humanos? Esse pensamento é partilhado por muitos de nós e, segundo Salatino, pode ter origem na herança judaico-cristã. Em palestra ministrada no XIII Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, Salatino expressa que:

As raízes da nossa atitude anti-natural são antigas. Um componente, talvez o principal deles, funda-se na nossa tradição judaico-cristã. A antiga nação hebraica, da qual derivaria o cristianismo, originou-se e desenvolveu-se em regiões semiáridas, em meio a uma natureza hostil, o que deve ter contribuído para que, entre os hebreus, não se desenvolvesse o sentimento de veneração por animais e plantas que é tão comum em outras tradições (SALATINO, 2001, pág. 484).

Esse sentimento de não pertencimento do ser humano em relação a natureza acabou por desencadear a atual crise ecológica que vivemos. Um grande conjunto de transformações no ambiente, por meio da ação humana, acaba por resultar no desequilíbrio natural.

Annie Leonard (2010), em sua obra “A história das coisas” (*The Story Of Stuff*) nos explica que houve dois momentos críticos a respeito da produção capitalista no mundo: O primeiro na transição entre o sistema de manufatura e a utilização da máquina a vapor nos séculos XIX e XX. Já no segundo momento, foi a química sintética que ganhou força no início do século XX, aumentando a toxicidade da matéria prima utilizada. A redução na quantidade de pessoas trabalhando, por conta das maquinarias industriais e o aumento na utilização de recursos naturais fizeram com que um sistema linear de produção se instaurasse. Além disso, esse sistema de produção estimularia a compra incessante de produtos, o que influencia diretamente na poluição do ambiente.

Nosso meio de produção atual, linear e baseado no descarte precoce sem a reciclagem desses produtos resulta em um maior uso da matéria prima de produção, mais produtos ao mercado e conseqüentemente mais danos ao ambiente. Ao mesmo tempo que se extrai matéria prima, descarta-se produtos que de modo geral não possuem uma boa capacidade de decomposição. Em contrapartida, a reciclagem permitiria que produtos após utilizados servissem como matéria-prima novamente, diminuindo significativamente a quantidade necessária de matéria-prima para a produção além de esse material não estar disponível ao ambiente, poluindo menos, portanto. Transformar o método linear de produção em cíclico é imprescindível para a conservação.

De fato, a sustentabilidade social, econômica e ambiental não é compatível com sistema de produção linear. Não reconhecer o pertencimento da humanidade à natureza impede a consciência de que a preservação do ambiente natural resulta na preservação das espécies, incluindo o ser humano. De fato, são os humanos que

necessitam da natureza e não o contrário.

#### b. Conhecer para preservar!

Para conservar é necessário conhecer. Afinal de contas, como valorizamos algo que desconhecemos?

Maria Vitória Élide e Elineí (2009) nos alertam que:

É necessário que se criem laços estreitos com o meio ambiente, e dentro desse contexto encontram-se as propostas de educação no meio-ambiente. Esta abordagem reconhece que as atitudes individuais são guiadas mais por emoções e valores do que por conhecimentos (DO NASCIMENTO & ARAÚJO-DE-ALMEIDA, 2009, pág. 360).

Com as aglomerações urbanas do século XIX e XX, devidas ao êxodo rural e a falta de condições mínimas para uma qualidade de vida adequada, doenças alastram-se por entre as grandes cidades. A necessidade de espaços amplos com árvores, como parques torna-se uma realidade. As famílias de maior poder aquisitivo deslocaram-se para mais próximo da natureza, visando escapar da multidão insalubre. Esse movimento ocorreu diversas vezes pelo mundo como em Sintra em Lisboa, Fontainebleau e Versailles em Paris e no Brasil na Floresta da Tijuca. Com o tempo, alguns parques puderam até tornar-se mais asselvajados como o Phoenix Parque em Dublin (MENEZES, 2014).

#### i. Educação Ambiental

A partir dos anos 60, com a crescente preocupação com a preservação dos recursos naturais, começou-se a pensar em educação ambiental. Marcos Regiota, em seu livro “O que é Educação Ambiental? ”, explica que o dever da educação ambiental é:

A educação ambiental deve procurar favorecer e estimular possibilidades de se estabelecer coletivamente uma “nova aliança” (entre os seres humanos e a natureza e entre nós mesmos) que possibilite a todas as espécies biológicas (inclusive a humana) a sua convivência e sobrevivência com dignidade. (REGIOTA, 2017, pág. 8).

Se a educação ambiental tem como eixo principal a reaproximação dos humanos com a natureza, primeiramente temos que recobrir a ideia de pertencimento, afinal somos seres vivos que se relacionam com outros seres, animados ou inanimados, pertencentes ao ambiente, como sua forma natural ou como recurso utilizado. O desenvolvimento da consciência de que tudo que fazemos impacta o ambiente – pois tudo que temos (precisando ou não do que temos) é oriundo dele e deixa uma marca, uma cicatriz, uma pegada ecológica – é imprescindível para o desenvolvimento do respeito pelo ambiente e do consumo consciente. Aproximar, portanto, os estudantes a partir dos anos iniciais do ensino fundamental, dos elementos da natureza, e aqui refiro-me a fatores bióticos e abióticos, traz a esses alunos e alunas uma maior proximidade com assunto, em especial se frisada a história de vida do ser vivo e o impacto da vida humana sobre essas espécies.

O Rio Grande do Sul, apesar da sua localização em região não-tropical, é extremamente biodiverso, englobando dois grandes biomas – Pampa e Mata Atlântica – incluindo várias fitofisionomias, por exemplo, Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Campos de Cima da Serra, Floresta Estacional Decidua, Floresta Estacional Semidecidual, Restinga, Savana Uruguaia, Banhados, entre outras. Todos apresentam grande diversidade de fauna e flora, muitas vezes adaptada especificamente a aquele ambiente, incluindo endemismos vários. Porém, se essas informações não chegam às pessoas em geral e aos estudantes em particular, como podemos esperar que compreendam a importância da conservação da natureza e da biodiversidade?

Temos que ter em mente ainda outros fatores como o distanciamento da Academia com a sociedade. Com efeito, os acadêmicos utilizam uma linguagem científica para a divulgação dos seus estudos, quase exclusivamente acessível a seus pares e, frequentemente, não elaborando materiais de divulgação com linguagem e informação acessíveis à população em geral. Essa retenção de conhecimento leva, por vezes, a um não-reconhecimento da sociedade dos serviços prestados pelos pesquisadores a toda a sociedade. Tendo em mente diminuir esse distanciamento, a criação de uma plataforma digital com disponibilização de informação sobre a fauna do RS demonstrou ser uma possibilidade interessante de aliar o conhecimento científico e confiável à informação objetiva e de linguagem acessível para a população em geral.

#### *ii. Divulgação Científica*

Para o desenvolvimento de uma consciência ética é necessário que haja o discernimento de que não existe consciência dissociada de conhecimento. Quando conversamos com uma pessoa e queremos fazê-la refletir sobre nosso ponto de vista, precisamos ter argumentos. Do mesmo modo funciona a divulgação científica. Para que as pessoas pensem conservação precisam saber o que precisa ser conservado. Podemos realizar esse tipo de conscientização através de artes de divulgação, inserções na comunidade, atividades pedagógicas direcionadas e tudo aquilo mais que a criatividade permitir. Materiais de divulgação científica são, portanto, essenciais para realizar essa ponte entre o ambiente acadêmico e a sociedade através de ações educativas que podem ocorrer tanto em bairros quanto em escolas.

Existem, no Brasil, várias iniciativas nesse sentido. Uma delas é o Projeto Marsupiais – Os Marsupiais do Brasil: Importância e Conservação. A iniciativa realizada pela ONG Últimos Refúgios busca instigar a empatia pelos marsupiais brasileiros através de ações de Difusão Científica, adaptando informações técnicas e de linguagem acadêmica ao público em geral. Quando em uma aula de biologia em uma escola perguntamos aos estudantes sobre exemplos de marsupiais, a primeira opção citada é o canguru. Porque tal acontece se cangurus são marsupiais da Oceania que não ocorrem no Brasil? Através da mídia, de algum modo, as

curiosidades relativas a este animal foram apresentadas a estes estudantes. Isso não significa que não haja marsupiais no Brasil, muito pelo contrário. De fato, o Brasil, e o RS apresentam uma grande diversidade de cuícas, guaiquicas e gambás, sendo que algumas espécies, por exemplo *Didelphis aurita* e *Didelphis albiventris*, ocorrem inclusive em cidades, podendo aparecer frequentemente em forros de casas, quintais e jardins.

### 3 | METODOLOGIA

#### a. Domínio do site

A utilização de um domínio público obtido através da UFRGS se faz essencial para que atividades de extensão e pesquisa utilizando o site sejam construídas na academia. Além disto, torna o projeto em si gratuito quanto à hospedagem do domínio. Carregar na URL do site o nome de uma instituição acadêmica como a UFRGS traz respaldo e seriedade à iniciativa, deixando implícito que são os pesquisadores, alunos/alunas e professores/professoras desta universidade os responsáveis pelas informações ali presentes.

#### b. Estrutura do site

A estruturação do site conta com o logo e identificação do site (Figura 1 – quadro vermelho); a página principal apresenta um breve texto a respeito da preservação e do motivo da iniciativa deste site (Figura 8). Existe um menu horizontal de navegação que contém os endereços para as páginas de divulgação científica (Figura 1 – quadro azul-marinho), objetivo da iniciativa (Figura 1 – quadro verde) e de colaboradores (Figura 1 – quadro roxo). No menu vertical esquerdo temos uma breve descrição do objetivo do site (Figura 1 – quadro rosa), assim como o menu dinâmico denominado “Animais Catalogados” dos links para táxons animais, em categorias taxonômicas decrescentes de inclusão (Figura 1 – quadro laranja) e a barra de pesquisa (Figura 1 – quadro ciano).

Quanto ao *layout* da página especificamente estão presentes: o título da página (Figura 1 – seta 1); as imagens dos animais pertencentes aos táxons subsequentes com seus respectivos hiperlinks (Figura 1 – seta dupla 2); um breve resumo das características do táxon (Figura 1 – seta 3); Referências utilizadas (Figura 1 – seta 4) e informações sobre autoria, revisão da página assim como a imagem do logo do laboratório responsável por sua confecção (Figura 1 – seta 4).

# FAUNA DIGITAL DO RIO GRANDE DO SUL



FAUNA DIGITAL DO RIO GRANDE DO SUL

DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

OBJETIVO DA INICIATIVA

COLABORADORES



Este projeto procurará proporcionar a todos os cidadãos interessados informações de qualidade referentes as espécies da fauna do Rio Grande do Sul.

ANIMAIS CATALOGADOS

Pesquisar...

LOGIN

Administração

Sair

Posts RSS

RSS dos comentários

WordPress.org

## 1 → FAMÍLIA MUSTELIDAE



*Galictis cuja*



*Eira barbara*



*Pteronura brasiliensis*



*Lontra longicaudis*

3 → Esta família é a mais diversa da ordem Carnívora ocorrendo naturalmente em todos os continentes exceto na Oceania - onde foram introduzidos - e a Antártida. No Brasil ocorrem seis espécies, três destas possuem distribuição no Estado do Rio Grande do Sul e uma está localmente extinta. Os mustelídeos são animais de pequeno ou médio porte, patas curtas e cauda alongada. Possuem glândulas anais bem desenvolvidas que produzem secreções com um forte odor, utilizados para a marcação de território e outros comportamentos. Apesar de possuírem hábitos diversificados desde semiaquático (*Lontra longicaudis* e *Pteronura brasiliensis*), desta família dificilmente são avistadas. Suas dietas estão frequentemente relacionadas a disponibilidade de presas sendo desde carnívoros restritos a onívoros. Além disso, comportamentos alusivos, vorazes e ágeis são característicos no grupo.

### 3 → Referências Bibliográficas:

The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2018-1. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Downloaded on 22 September 2018.

SILVA, Flávio. Mamíferos silvestres, Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 1994.

WILSON, D. E.; MITTERMEIER, R. A. Handbook of the Mammals of the World. Vol. 1. Carnívoros. (Lynx Edicions: Barcelona, Spain), 2009.

4 → Autor: Filipe Ferreira da Silveira - BiMaLab (UFRGS)



Figura: 1-Imagem da página “Mustelidae” visando a exemplificação do Layout do site e da página. Acesso em: 17 de novembro de 2018 –(<https://www.ufrgs.br/faunadigital/mamiferos/ordem-carnivora/familia-mustelidae/>)

As informações referentes ao *status* de conservação das espécies serão

obtidas através de duas fontes principais: o site da IUCN (International Union for Conservation of Nature – [www.iucn.org](http://www.iucn.org)) que apresenta o estado global de conservação das espécies e a lista de animais ameaçados do Rio Grande do Sul (atualmente em vigor o DECRETO n° 51.797, 2014), onde se encontra o estado estadual.

A IUCN é uma organização civil dedicada à conservação da natureza. Fundada em 1948 e reunindo mais de 1250 organizações, engloba atualmente mais de 10.000 membros. A sua sede está localizada em Gland, na Suíça. O Programa de Espécies da IUCN trabalhando com a Comissão de Sobrevivência de Espécies, vem avaliando os *status* de conservação das espécies, subespécies, variedades e subpopulações em escala global nos últimos 50 anos, afim de destacar espécies ameaçadas de extinção e conseqüentemente promover sua conservação. A Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas elaborada pela IUCN é referência quando o assunto é *status* de conservação de espécies no mundo (IUCN, 2018).

Em 08 de setembro de 2014 o Governo do Estado do Rio Grande do Sul, por meio do Decreto n° 51.797 foram listadas as espécies da fauna silvestre ameaçadas de extinção, quase ameaçadas e com dados insuficientes do Estado. Essa listagem foi confeccionada pela Comissão Técnica, constituída pesquisadores da fauna do RS sob a coordenação da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (FZBRS). A reavaliação da lista é de responsabilidade da Secretaria Estadual de Meio Ambiente (SEMA). Os procedimentos técnicos e metodológicos para a atribuição dos *status* de conservação das espécies respeitaram os meus critérios de avaliação definidos pela IUCN.

Para complementar as informações das espécies serão utilizados vídeos e fotos de pesquisadores e laboratórios que os cedam gratuitamente e, quando isso não for possível, do Arkive ([www.arkive.org](http://www.arkive.org)), uma iniciativa global que tem como principal função promover a conservação da natureza e da biodiversidade através de um banco digital de fotos, vídeos e áudios livres de direitos autorais, de animais de todo o mundo, em especial dos que estão presentes na lista vermelha de animais ameaçados da IUCN. O Arkive conta com os maiores cineastas de vida selvagem do mundo, conservacionistas e cientistas, visando registrar a vida na terra de forma inspiradora. O Arkive torna-se um recurso inestimável, um banco de dados com fotos e vídeos de espécimes do mundo todo, em alta qualidade, colaborando, portanto, com a conservação, educação e conscientização ambiental.

Outras referências também foram usadas para o enriquecimento do site e das páginas das espécies de animais. De modo geral, objetivou-se que as referências seriam mais regionais como: Mamíferos do Rio Grande do Sul (WEBER, 2013; GONÇALVES 2014), Mamíferos Silvestres (SILVA, 1994). Isso não impediu que bibliografia variada mais específica fosse utilizada, incluindo dissertações, teses e artigos científicos.

A elaboração do estilo do tema do site, das informações presentes na página de cada animal e a conseqüente construção da página foram criadas do zero. Foi

necessário um período de adaptação do autor com a ferramenta de criação de site, neste caso o Wordpress.

No menu fixo do site constam ainda páginas de colaboradores, página principal com descrição do objetivo da iniciativa, página de disponibilização de materiais de divulgação científica como pôsteres e futuramente o álbum de figurinhas do site que está em construção. Já a porção do site onde a maior parte das informações estão em maior parte relacionadas é o menu vertical, em especial a aba “Animais Catalogados”. Quando o leitor passa o cursor sobre esse menu, uma aba secundária com as Classes presentes no site se abre. Se o cursor for direcionado a essas Classes, conseqüentemente serão expostas as Ordens inclusas nesta Classe. E assim sucessivamente, até que chegue na espécie desejada (Figura 2).

A navegação através das páginas em si também é viável, tendo em vista que cada imagem possui um hiperlink para a próxima página, exceto na página da espécie, pois é o fim da hierarquia. Uma vez elaboradas as páginas das espécies, foi imprescindível a elaboração das páginas taxonômicas mais inclusivas (Família, Ordem e Classe). Utilizando das imagens das espécies e dos seus correspondentes hiperlinks, construímos uma navegação dinâmica entre páginas onde é possível, clicando nas imagens, acessar às páginas submetidas a essa hierarquia.



Figura 2- Demonstração da hierarquia do menu Animais Catalogados do FDRS. Acesso em 17 novembro de 2018 – (<https://www.ufrgs.br/faunadigitalrs/>)

Clicando na página “Animais Catalogados”, temos acesso aos grupos que já foram adicionados ao portal, neste caso, a Classe Mammalia, a Classe Aves e a

Classe Reptilia. Através desse menu interativo o visitante pode explorar os mais diversos clados já cadastrados no site. Por conta deste trabalho ter sido um Trabalho de Conclusão de Curso que tinha como período de elaboração o segundo semestre de 2018 apenas o grupo dos Mamíferos está concluído. Porém os trabalhos seguiram e hoje o site já foi ampliado para Aves, répteis e está começando a catalogar os peixes cartilagosos. Esse tipo de possibilidade de navegação, trás ao leitor uma classificação taxonômica mais visual e palatável contribuindo para a difusão do conhecimento acerca das espécies que ocorrem no estado do Rio Grande do Sul.

Ao clicar na página correspondente a espécie de algum animal, o leitor encontrará tanto o acervo de fotos e vídeos quanto informações a respeito do Grau de Ameaça, Distribuição, Habitat, Hábito de Vida, Características Gerais, Palavras-Chave e Referências Bibliográficas, informações de autoria e revisão. *Grau de Ameaça* seguiu as informações diretamente do site da IUCN e do Decreto de 2014 sobre a Fauna Ameaçada do RS (RIO GRANDE DO SUL, 2014). O mapa de distribuição de cada espécie, no campo *Distribuição*, utiliza de um hiperlink que redireciona ao mapa de distribuição da espécie respectiva no site da IUCN. Tal opção nos pareceu mais adequada, pois os mapas da IUCN são atualizados periodicamente e isso garante que o mapa é sempre o mais atual de acordo com aquela instituição de referência. Os campos *Habitat*, *Características Gerais*, *Hábito de Vida*, foram obtidos através da bibliografia acima referida, e que é sempre indicada em cada página individual da espécie.

Todos as páginas incluídas até o momento foram revisadas por pesquisadores do Laboratório de Evolução, Sistemática e Ecologia de Aves e Mamíferos da UFRGS (BiMaLab; [www.ufrgs.br/bimalab](http://www.ufrgs.br/bimalab)). Em um grande esforço colaborativo conseguimos elevar a qualidade do material produzido, pois, além de serem sinalizados erros de português, grafia e aspectos de formatação, os revisores e revisoras verificaram a procedência das informações, proporcionando quando possível a atualização de dados dos animais conforme artigos mais recentes do que as referências bibliográficas originalmente utilizadas, além de contribuírem com vídeos e fotos do próprio acervo do laboratório e pessoal para o enriquecimento das páginas.

#### 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até ao momento foram desenvolvidas 285 páginas, cinco páginas externas de menu, três classe (Mammalia), 14 ordens, 43 famílias e 212 espécies de animais atualmente reconhecidas como ocorrentes no Rio Grande do Sul. O FDRS possui um acervo de mais de 300 imagens (aproximadamente 330) e 45 vídeos, obtidos diretamente do Arkive, Wikimedia ou de colaboradores. Atualmente cerca de 10 pessoas trabalham voluntariamente no Fauna Digital do RS ou em projetos oriundos dele.

Além disto, está ainda em desenvolvimento a ideia de elaboração de um álbum de figurinhas, para ser utilizado como ferramenta instigadora em sala de aula com os animais que constam no site. Este material irá conter 7 sessões, cada uma representando um ambiente (Banhado, Litoral, Campos de Cima da Serra, Cidades, Mata Atlântica, Pampa e Mata de Araucária) e cada uma dessas sessões conterà uma figurinha composta do ambiente, seis figurinhas de mamíferos comuns a esse ambiente, uma breve descrição, o link para o site, assim como uma imagem do tamanho A4 para os estudantes colorirem.

## 5 | CONCLUSÃO

Os maiores desafios quanto a busca de informação na imensidão da internet está na confiabilidade de informação e aglutinação de dados. Por exemplo, no que respeita espécies da fauna e flora mundiais, o site da IUCN tem escassa informação sobre biologia e ecologia das espécies analisadas, sendo que tem como objetivo principal a disponibilização de dados sobre a distribuição e *status* de conservação dos mesmos. Assim, uma plataforma unificadora de informação biológica, com respaldo acadêmico-científico preenche esta lacuna, possibilitando que qualquer pessoa, independentemente de ser acadêmica ou não, tenha acesso a este tipo de informação e possa utilizá-lo sem receio. Professoras e professores de ciências e biologia terão um site confiável para indicar aos seus alunos e alunas, com o objetivo da elaboração de trabalhos a partir da plataforma. Estudantes de graduação que tenham interesse em estudar poderão elaborar páginas de outras espécies ainda não contempladas no FDRS, valorizando suas pesquisas e aprimorando/especificando seus conhecimentos a respeito da fauna nativa do RS. Além disso, a criação do FDRS como um projeto de extensão unificará os estudos desenvolvidos pelos diversos laboratórios do Departamento de Zoologia e do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal (assim como de outros Departamentos e Programas de Pós-Graduação da UFRGS que gerem informação pertinente) com objetivo de constante atualização das informações sobre as espécies inseridas no site; tal representa um trabalho infinitamente incompleto já que novas informações sobre a história de vida das espécies, novas hipóteses filogenéticas, mudanças taxonômicas e, inclusive, novas espécies são publicadas em contínuo. Toda essa união de informação, oriunda de bibliografia especializada aliada à experiência dos pesquisadores da UFRGS agrega a este portal de informação ainda mais confiabilidade e respeito. Apesar de ser um projeto iniciado BiMaLab no interior da UFRGS isso não significa que estamos limitados apenas à esfera desta universidade. Nada impede, aliás pelo contrário, parcerias com outros projetos e iniciativas como ONG, outras universidades, projetos de divulgação em escolas como o PIBID, projetos de divulgação acadêmica com a parceira do PET-UFRGS, entre outras iniciativas que visem a divulgação,

enaltecimento e enriquecimento da plataforma em si. Com efeito, várias das fotos de espécies de Chiroptera inclusas no FDRS foram obtidas através de uma parceria com o blog Morcegos do Brasil (<http://morcegosdobrasil.blogspot.com/p/about.html>). Clicando em cada uma dessas fotos, o visitante é encaminhado para a página do blog, permitindo também essa interação e integração digitais.

A possibilidade de trabalhar com um espectro tão grande de vida, apesar de só ter trabalhado com mamíferos até então devido a limitação do tempo deste trabalho, proporcionou uma maior generalização dos meus aprendizados dentro desta área. Apesar de os mamíferos não serem o grupo animal mais diverso da fauna de nosso Estado, é inegável o aprendizado imenso que é obtido ao analisar e agregar dados de tantos animais. É como o efeito contrário que a graduação propõe, ao invés de ficarmos especialistas em um grupo muito pontual, sabendo muito de pouco, acabamos com uma formação mais generalista, sabendo um pouco mais de muito. A possibilidade de trabalhar em conjunto com pesquisadores dos laboratórios, cada qual em seus estudos específicos com seus saberes já consolidados e por eles apropriados, traz a quem confecciona as páginas dos animais do site ainda a experiência de trabalho em equipe e de conseguir um olhar externo àquele que está imerso no trabalho de aglutinação de dados sobre as espécies. A crítica externa, construtiva, acaba por enriquecer e colaborar ainda mais com a veracidade e respaldo da iniciativa, pois no final das contas, quem somos nós sem a ajuda de ninguém?

## REFERÊNCIAS

CASTANHEIRA, Nuno Pereira. **Ser humano desalojado: para uma compreensão da crise “ecológica”**. *Philosophica*, v. 40, p. 57-68, 2012.

DE RESENDE, A. V. **Agricultura e qualidade da água: contaminação da água por nitrato**. Embrapa Cerrados-Documents (INFOTECA-E), 2002.

DO NASCIMENTO, Maria Vitória Élide; ARAÚJO-DE-ALMEIDA, Elineí. **Importância da realização de trilhas participativas para o conhecimento e conservação da diversidade biológica: uma análise da percepção ambiental**. *REMEA-Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental*, v. 23, 2009.

HOFSTATTER, Lakshmi Juliane Vallim. FORMAS DE CONHECER A BIODIVERSIDADE. **Educação Ambiental para a conservação da biodiversidade**, p. 56.

IUCN SPECIES SURVIVAL COMMISSION et al. **IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1**. [http://www.iucnredlist.org/documents/redlist\\_cats\\_crit\\_en.pdf](http://www.iucnredlist.org/documents/redlist_cats_crit_en.pdf), 2001.

LEONARD, Annie. **The story of stuff: How our obsession with stuff is trashing the planet, our communities, and our health-and a vision for change**. Simon and Schuster, 2010.

MAUS, Victor Wegner; RIGUES, Afranio Almir; BURIOL, Galileo Adeli. **Pavimentos permeáveis e escoamento superficial da água em áreas urbanas**. SIMPÓSIO DE RECURSOS HÍDRICOS DO NORTE E CENTRO-OESTE, v. 1, p. 17, 2007.

MENEZES, PEDRO DA CUNHA. **Conhecer para conservar: um pouco de história (parte 1)**.

OECO. 11 de março de 2014. Disponível em: <<https://www.oeco.org.br/colunas/pedro-da-cunha-e-menezes/28087-conhecer-para-conservar-um-pouco-de-historia-parte-1/>> Acesso em: 18 de novembro de 2018.

GONÇALVES, L. G. et al. **Mamíferos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Pacartes, 2014. 212 p.; il. Color. ISBN 978-85-62689-93-2.

IUCN 2018. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2018-2. <http://www.iucnredlist.org>. Downloaded on 14 November 2018.

SILVA, Flávio. **Mamíferos Silvestres, Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 1994.

REIGOTA, Marcos. **O que é educação ambiental**. Brasiliense, 2017.

RIO GRANDE DO SUL. 2014. Decreto Estadual nº 51.797, de 08 de setembro de 2014. Declara as Espécies da Fauna Silvestre Ameaçadas de Extinção do Rio Grande do Sul. Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SALATINO, Antônio. **Nós e as plantas: ontem e hoje**. Revista Brasileira de Botânica, v. 24, n. 4, p. 482, 2001.

WEBER, M. de M.; ROMAN, C.; CÁCERES, N. C. **Mamíferos do Rio Grande do Sul**. UFSM, 2013.

## HISTOLOGIA DA VIDA: UMA PROPOSTA DE ATIVIDADE CONTEXTUALIZADA PARA O ENSINO

### Luciano Cardoso Santos

Universidade Estadual de Santa Cruz, Mestrando  
no Programa de Pós-Graduação em Ciência  
Animal, Ilhéus, Bahia

### Cristina Luísa Conceição de Oliveira

Universidade Estadual de Santa  
Cruz, Departamento de Ciências Biológicas  
Ilhéus, Bahia

**RESUMO:** A Histologia tem por finalidade o estudo dos tecidos corporais que inclui desde as células até a matriz extracelular. Seu ensino se torna um desafio para o professor, sobretudo na Educação Básica, por limitações de tempo, materiais didáticos e falta de laboratórios, fatores que podem gerar uma participação passiva dos alunos durante as aulas. Nesse sentido, uma abordagem contextualizada, que é orientada nos documentos normativo-legais, constitui uma das alternativas para melhorar a participação do estudante durante as aulas por incorporar suas vivências, experiências pessoais e seu ambiente sociocultural. Nesse relato, buscamos apresentar a experiência de uma atividade rica em contexto, intitulada “Histologia da Vida”, desenvolvida com estudantes de licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Santa Cruz, na qual, para além de trabalhar de forma contextualizada, procuramos apresentar essa alternativa de ensino para

esses estudantes. Assim, essa atividade proporcionou um momento interativo, com debate de opiniões e relatos de experiências pessoais, contribuindo nessa disciplina para a compreensão dos conteúdos em Histologia e na formação docente para uma abordagem contextualizada no ensino de Ciências.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ensino de Biologia. Contextualização. Histologia.

### HISTOLOGY OF LIFE: A PROPOSED CONTEXTUALIZED ACTIVITY FOR TEACHING

**ABSTRACT:** Histology aims at the study of the body tissues that includes from the cells to the extracellular matrix. His teaching becomes a challenge for the teacher, especially in Basic Education, due to limitations of time, didactic materials and lack of laboratories, factors that can generate a passive participation of the students during the classes. In this sense, a contextualized approach, which is oriented in legal normative documents, is one of the alternatives to improve student participation during classes by incorporating their experiences, personal experiences and their socio-cultural environment. In this report, we seek to present the experience of a rich activity in context, entitled “Histology of Life”, developed with undergraduate students in Biological

Sciences of the State University of Santa Cruz, in which, in addition to working in a contextualized way, teaching alternative for these students. Thus, this activity provided an interactive moment, with discussion of opinions and reports of personal experiences, contributing in this discipline to the understanding of the contents in Histology and in the teacher training for a contextualized approach in the teaching of Sciences.

**KEYWORDS:** Biology teaching.Contextualization. Histology.

## 1 | INTRODUÇÃO

A finalidade do ensino da Histologia é o estudo do tecido, que inclui dois componentes fundamentais: as células e a matriz extracelular (OLIVEIRA, et al, 2016), na intenção **de desenvolver noções sobre** os órgãos e sistemas corporais a partir da organização celular (DIAS; CARLAN, 2018). Todo esse conhecimento, mais detalhado na graduação, **é importante para compreensão de outros aspectos do organismo, como o funcionamento, evolução**, condições patológicas e outros (DIAS; CARLAN, 2018). Na Educação Básica, a histologia (área do conhecimento) acaba sendo um tópico dentro da Biologia e não um componente curricular como na graduação. Assim, muitas vezes por falta de tempo para a quantidade de conteúdos a serem trabalhados, há uma caracterização superficial da histologia dos tecidos fundamentais que, segundo Buttow e Cancino (2007), leva os estudantes a participarem de forma passiva na relação ensino-aprendizagem. Além disso, ainda por falta de tempo suficiente, por vezes os conteúdos de histologia não são ministrados no ensino médio e os estudantes chegam no Ensino Superior sem ter tido contato com esses conhecimentos.

Nesse sentido, a falta de tempo, de materiais didáticos e de laboratórios de Ciências, fazem do ensino de histologia um desafio para o professor da Educação Básica. Porém, mesmo em meio a essas dificuldades, os futuros professores devem procurar alternativas para trazer o conteúdo para mais próximo da realidade do estudante, ou seja, ensinar de forma contextualizada.

A contextualização, orientada nos Parâmetros Curriculares Nacionais (PCNs), é fundamental no processo de ensino-aprendizagem. Quando se fala em trabalhar de maneira contextualizada, é relacionar o conhecimento acadêmico com as experiências e vivências pessoais do estudante assim como sua realidade sócio-cultural. É deixar claro para os estudantes a amplitude dos saberes e complexidade dos conteúdos, mas apresentar os caminhos que os permita acessar tal complexidade (ALMEIDA, 2011). Assim, é presente a defesa de uma escola, um ensino e uma aprendizagem que são centrados nos saberes repletos de contexto integrados que, segundo Festas (2015, p.715) são “alternativos aos conhecimentos acadêmicos que se apresentavam como os principais objetivos da escola tradicional”.

Além do exposto acima, o ensino contextualizado e interdisciplinar é também

importante para a Educação Superior, sendo base para a formação inicial de professores. Assim, objetivou-se relatar uma experiência de ensino nas aulas de Histologia para uma turma de graduação em Ciências Biológicas, com intuito de correlacionar conhecimentos e aspectos do dia a dia com os conteúdos da disciplina estudados ao longo do semestre, além de apresentar uma alternativa aos licenciandos para abordagem contextualizada desses conteúdos e próxima a realidade dos estudantes quando se tornarem docentes na Educação Básica.

## 2 | CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE

A atividade foi proposta no início do semestre em uma aula de Histologia ministrada para a licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Tratou-se de uma das avaliações da disciplina para ser apresentada ao final no último crédito teórico com o objetivo de encerrar o semestre relacionando os conteúdos de Histologia com curiosidades do corpo. Para explicar a proposta de trabalho, foram feitas as seguintes perguntas: Como os dentes, fixos no osso, são deslocados lentamente com o uso prolongado de aparelhos ortodônticos? Qual é a explicação histológica para o caso? Logo após, as perguntas foram respondidas, usando a explicação apresentada por Aarestrup (2012) sobre a interação entre as células do tecido ósseo no princípio da ação dos aparelhos ortodônticos. Onde é aplicada força, ocorre estímulo absorvivo na matriz óssea feito pelas células denominadas osteoclastos e no lado oposto da força, ocorre maior deposição de osso feito pelas células chamadas osteoblastos. Comentou-se também que o mesmo princípio é seguido pelos aparelhos ortopédicos. Outros exemplos foram citados durante o semestre para o estudo dos tecidos e dos sistemas.

A turma foi dividida em duplas e o assunto foi escolhido pelos discentes ao longo do semestre, bem como a forma de apresentação. Ao final do semestre, no dia das apresentações, cada dupla teve aproximadamente 10 minutos para mostrar o seu trabalho. A avaliação foi feita em dois critérios: apresentação (clareza, objetividade e desenvoltura individual), e relação com a histologia (exploração dos conteúdos de Histologia nos assuntos apresentados).

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Notícias e assuntos do dia a dia foram apresentados e correlacionados com a Histologia. A tabela 1 mostra os temas das apresentações de cada dupla, bem como, as correlações feitas com os conteúdos estudados na disciplina.

Tema	Conteúdo de Histologia explorado
Revestimento do estômago	Tecido epitelial
Nossas estrias de cada dia	Tecido conjuntivo
Queloides	Tecido conjuntivo
Células-tronco do dente de leite	Tecido conjuntivo embrionário
Cranioestenose	Tecido ósseo
Osteogênese imperfeita	Tecido ósseo
Anestesia	Tecido nervoso
Interstício, o 'novo órgão' do corpo humano	Espaço intersticial – tecido conjuntivo
Autotomia e regeneração da cauda da lagartixa	Vários tecidos (cartilaginoso, nervoso e ósseo)
Câncer de estômago (morte de youtuber)	Vários tecidos (epitelial, conjuntivo e muscular)
Esclerose múltipla	Vários tecidos (nervoso e sanguíneo) e sistema imunológico
Cultivo de órgãos em laboratório	Vários tecidos

Tabela 1 - Temas das apresentações e conteúdos de Histologia explorados.

As apresentações foram, de forma geral, divididas em dois momentos: o primeiro com explanação sobre o tema e outro, relacionando com aspectos da Histologia. Algumas duplas apresentaram slides com o uso do projetor multimídia (datashow), algumas levaram artigos impressos e cartazes e outras, mostraram pequenos vídeos para complementar a explicação do tema. Todos os tecidos fundamentais e características inerentes a cada um foram abordados, sendo os tecidos ósseo e conjuntivo os mais frequentes (Figura 1).

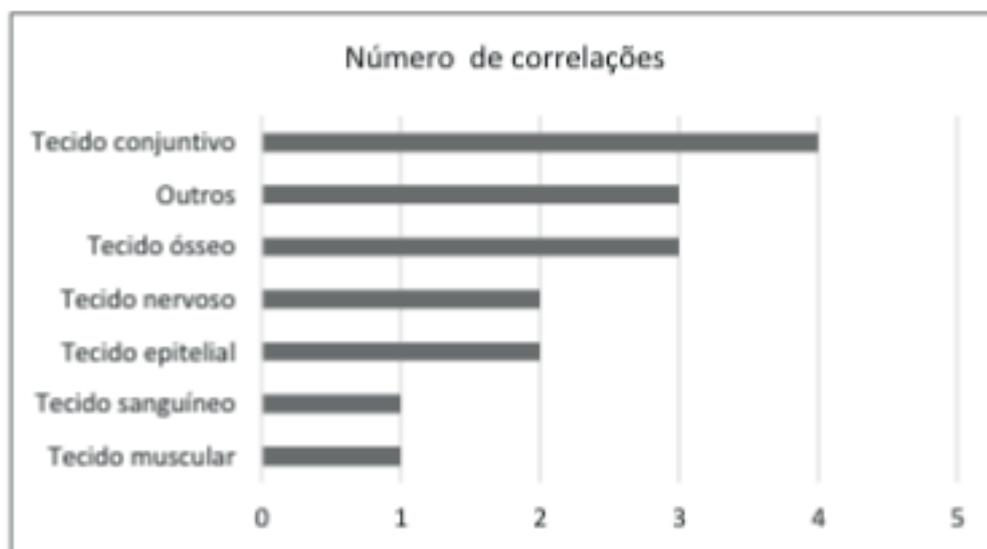


Figura 1- Frequência dos tecidos apresentados

Em relação ao tipo de correlação, observou-se que, apesar de alguns trabalhos tratarem superficialmente o conteúdo de Histologia, a maioria soube explorar o

tema. As apresentações que foram correlacionadas com tecido ósseo, por exemplo, abordaram aspectos das células e suas funções no crescimento do osso, assim como foram correlacionadas as funções de algumas células do tecido nervoso no funcionamento de anestésicos e no aparecimento de doenças, como a esclerose múltipla.

Como complemento para a formação, a atividade incentivou os alunos a buscarem na literatura e em sites os assuntos que consideraram importantes. A procura por assuntos oportunizou a leitura de outros artigos ou textos com curiosidades até a escolha definitiva. Nesse sentido, é um meio acessível para o professor estimular o uso de diversas fontes para pesquisa bibliográfica, com informações confiáveis, além de servir como treinamento, já que a própria graduação exige constante atualização. Campos et al. (2009) apontam que, muitas vezes, a investigação e a produção do conhecimento é dificultada pela falta de estímulo no sistema educacional.

Além disso, a Histologia foi abordada em curiosidades do dia a dia, como o aparecimento de queloides e estrias, havendo, após cada apresentação, alguns minutos de comentários, discussão e relatos de experiências dos alunos sobre o conteúdo abordado, sendo necessário o uso de mais um encontro para finalizar as apresentações. A aula proporcionou um momento interativo em que os estudantes puderam perceber que a Histologia faz parte de suas vidas.

Conforme orientam os PCNs, esse tratamento contextualizado do conhecimento pode ser uma alternativa para escola retirar o aluno da condição de espectador (BRASIL, 2000). Cada vez mais os livros de Biologia e até mesmo os de Histologia estão trazendo, separados do texto, curiosidades, aplicações clínicas e fisiológicas relacionados ao tema. Estes devem ser explorados, e quando são usados no início das aulas, atraem a atenção dos estudantes para os conteúdos. Dias e Carlan (2018), analisando um livro de Biologia do ensino médio, perceberam que o conteúdo é o mesmo nos últimos 16 anos, mas há uma alteração na abordagem dos conceitos, com maior contextualização, investigação, fazendo o estudante interagir com o objeto de aprendizagem.

Como parte da formação docente, se faz importante trazer o tema tratado para a realidade do seu aluno, uma vez que é uma base para o professor em formação compreender que os conteúdos de Histologia podem ser muito abstratos para o público da Educação Básica. Além disso, como parte da formação de professores, muito se discute sobre a necessidade da alfabetização científica e, conforme mostra Wartha (2011), a contextualização dos conceitos científicos pode ser um caminho para se atingir esse objetivo.

## 4 | CONCLUSÃO

Através desta atividade foi possível perceber o envolvimento dos alunos na procura dos assuntos, na dúvida em escolher entre dois temas considerados

interessantes, na apresentação e nos debates. A participação dos colegas ouvintes durante a apresentação da dupla se estendeu além do tempo previsto, mostrando até mesmo a participação ativa dos discentes que pouco se manifestavam durante as aulas, ressaltando novamente a importância da contextualização dos conteúdos e que esta pode ser realizada em qualquer nível de ensino.

## REFERÊNCIAS

- AARESTRUP, B. J. **Histologia essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
- ALMEIDA, G. P. **Transposição didática: por onde começar?** 2. ed. São Paulo: Cortez, 2011.
- BRASIL. Ministério da Educação. Secretaria de Educação Fundamental. **Parâmetros Curriculares Nacionais (Ensino Médio)**, Brasília, 2000.
- BUTTOW, N. C.; CANCINO, M. E. C. Técnica histológica para a visualização do tecido conjuntivo voltado para os Ensinos Fundamental e Médio. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, v. 11, n. 2, p. 36-40, 2007.
- CAMPOS, F. G. G.; SANTOS, R. F.; SANTOS, F. C. P. A importância da pesquisa científica na formação profissional dos alunos do curso de educação física do UNILESTEMG. **Movimentum-Revista digital de Educação Física**, v. 4, n. 2, 2009. Disponível em: <[https://www.unilestemg.br/movimentum/Artigos\\_V4N2\\_em\\_pdf/Campos\\_Santos\\_Santos\\_Movimentum\\_v4\\_n.2\\_2\\_2009.pdf](https://www.unilestemg.br/movimentum/Artigos_V4N2_em_pdf/Campos_Santos_Santos_Movimentum_v4_n.2_2_2009.pdf)>. Acesso em 26 Jun. 2018.
- DIAS, M. S.; CARLA, F. de A. Os livros didáticos “Bio”: uma análise temporal do tema “Histologia”. **Revista Práxis**, v. 10, n. 20, p. 83-94, 2018.
- FESTAS, M. I. F. A aprendizagem contextualizada: análise dos seus fundamentos e práticas pedagógicas. **Educação e Pesquisa**, v. 41, n. 3, p. 713-727, 2015.
- OLIVEIRA, M. I. B. et al. Uma proposta didática para iniciar o ensino de Histologia na Educação Básica. **Revista Ciência em Extensão**, v. 12, n. 4, p. 71-82, 2016.
- WARTHA, E. J. Alfabetização científica. In: **História e metodologia da Ciência**. Maringá: Eduem, 2011. p. 13-30.

## *Licania tomentosa* (Benth.) FRITSCH: DA ARBORIZAÇÃO URBANA À FITOTERAPIA, REVISÃO DE LITERATURA

### **Jonathan Augusto da Silva**

Instituto Federal de Alagoas - IFAL | Centro  
Universitário Cesmac  
Maceió - AL

### **Maria Ágda Correia Lemos**

Centro Universitário CESMAC, Curso de  
Graduação em Farmácia  
Maceió – AL

### **Maria Lúcia Vieira de Britto Paulino**

Centro Universitário CESMAC, Curso de  
Graduação em Medicina  
Maceió – Alagoas

### **Helane Carine de Araújo Oliveira**

Centro Universitário CESMAC - Mestrado Análise  
de Sistemas Ambientais  
Maceió – Alagoas

### **Heloísa Helena Figuerêdo Alves**

Centro Universitário CESMAC - Mestrado  
Pesquisa em Saúde  
Maceió – Alagoas

### **Karulyne Silva Dias**

Centro Universitário CESMAC - Mestrado  
Pesquisa em Saúde  
Maceió – Alagoas

### **Mayara Andrade Souza**

Centro Universitário CESMAC - Mestrado Análise  
de Sistemas Ambientais  
Maceió – Alagoas

### **Thiago José Matos Rocha**

Centro Universitário CESMAC - Mestrado Análise  
de Sistemas Ambientais

Maceió – Alagoas

### **Jessé Marques da Silva Júnior Pavão**

Centro Universitário CESMAC - Mestrado Análise  
de Sistemas Ambientais  
Maceió – Alagoas

### **Joao Gomes da Costa**

Centro Universitário CESMAC - Mestrado Análise  
de Sistemas Ambientais  
Maceió – Alagoas

### **Aldenir Feitosa dos Santos**

Centro Universitário CESMAC - Mestrado Análise  
de Sistemas Ambientais  
Maceió – Alagoas

Universidade estadual de Alagoas – Curso de  
Licenciatura em química  
Arapiraca - Alagoas

**RESUMO:** *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch, popularmente conhecida como oiti, é uma planta pertencente à família *Chrysobalanaceae*. A família é constituída de aproximadamente 530 espécies e algumas dessas espécies são muito utilizadas na medicina popular no tratamento de doenças como malária, diarreia, diabetes, e reações inflamatórias. A oiti, especificamente, é muito utilizada na arborização de diversas cidades e também como hipoglicêmico, diurético e anti-inflamatório, de modo empírico. O presente trabalho teve como objetivo sistematizar, por meio de uma revisão de

literatura, o que já foi descoberto a respeito da *L. tomentosa* e seus usos. Consiste em uma extensa pesquisa através de artigos e trabalhos publicados e indexados nas seguintes bases de dados PubMed e SciELO, como também através do buscador Google Acadêmico, utilizando os descritores: *Chrysobalanaceae*, metabólitos secundários, *Licania tomentosa*, arborização, uso medicinal. Foram incluídos trabalhos e artigos publicados em português e inglês, no período entre 1998 e junho 2018. Foram obtidos resultados referentes a diversos usos do oiti, desde uso para arborização a, principalmente, usos fitoterápicos, ação bactericida, antiviral, antitumoral, bem como sua constituição química. A avaliação e sistematização das referências mostram o alto potencial fitoquímico da *L. tomentosa* e a importância de ampliar-se os estudos a seu respeito.

**PALAVRAS-CHAVE:** Oiti, *Licania tomentosa*; *Chrysobalanaceae*, metabólitos secundários.

### *Licania tomentosa* (Benth.) FRITSCH: FROM URBAN AFFORESTATION TO PHYTOTHERAPY, LITERATURE REVIEW

**ABSTRACT:** *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch, popularly known as oiti, is a plant belonging to the family *Chrysobalanaceae*. The family consists of approximately 530 species and some of these species are widely used in folk medicine in the treatment of diseases such as malaria, diarrhea, diabetes, and inflammatory reactions. Oiti, specifically, is widely used in afforestation of several cities and also as hypoglycemic, diuretic and anti-inflammatory in an empirical way. The present work had as objective to systematize, through a review of literature, what has already been discovered about *L. tomentosa* and its uses. It consists of an extensive research through articles and works published and indexed in the following PubMed and SciELO databases, as well as through the Google Scholar search engine, using the descriptors: *Chrysobalanaceae*, secondary metabolites, *Licania tomentosa*, afforestation, medicinal use. The papers and articles published in Portuguese and English were included in the period between 1998 and June 2018. Results have been obtained referring to various uses of oiti, from the use for afforestation to, mainly, phytotherapeutic uses, bactericidal, antiviral and antitumor action, as well as their use. chemical constitution. The evaluation and systematization of the references show the high phytochemical potential of *L. tomentosa* and the importance of expanding the studies about it.

**KEYWORDS:** Oiti, *Licania tomentosa*, *Chrysobalanaceae*, Secondary metabolites.

## 1 | INTRODUÇÃO

Popularmente conhecida, na região Nordeste do Brasil, como oiti, mas também chamada de oiti-da-praia, oiti-cagão, oiti-mirim e goiti, a *Licania tomentosa* (Benth.) é uma árvore pertencente à família *Chrysobalanaceae*. Esta família abrange 19 gêneros e aproximadamente 530 espécies arbustivas e arbóreas, espalhadas por

regiões tropicais e subtropicais (Sothers et al. 2014). Das 214 espécies registradas, de gênero *Licania*, 210 são predominantemente neotropicais. Especificamente no Brasil, ocorrem 7 gêneros e aproximadamente 250 espécies, estando a maioria localizada na Amazônia (MONTEIRO *et al.*, 2012).

*L. tomentosa* é predominante na arborização urbana de diversas cidades brasileiras, principalmente em regiões de clima quente do Brasil, partindo de São Paulo ao Norte do país, devido ao fato de sua copa frondosa proporcionar sombra (FERREIRA, GASPAROTTO e LIMA, 2001). A nível de medicina popular, espécies do gênero *Licania* são amplamente utilizadas. Na Venezuela como anti-inflamatório (PITTIER, 1978 *apud* FEITOSA, XAVIER e RANDAU, 2012), no Nordeste do Brasil, as folhas da *Licania rigida* (Benth.) são usadas para tratar diabetes (AGRA *et al.*, 2007; ALBUQUERQUE *et al.*, 2007), dor de estômago, diarreia e disenteria (CARTAXO *et al.*, 2010).

O fato de ser bastante disponível em quase todo o território brasileiro, torna a *L. tomentosa* (Benth.) um objeto favorável para estudos. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo sistematizar, por meio de uma revisão de literatura, o que já foi descoberto a respeito da espécie *L. tomentosa*, sobretudo dos seus usos.

## 2 | PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

Trata-se de um estudo exploratório e retrospectivo. O trabalho foi constituído a partir da busca por artigos científicos, monografias e dissertações publicados e indexados nas bases de dados PubMed e SciELO, bem como no buscador Google Acadêmico, utilizando os descritores: *Chrysobalanaceae*, metabólitos secundários, *Licania tomentosa* e o operador booleano *and* para compor as expressões de pesquisa. Em um primeiro momento, foram incluídos neste estudo trabalhos em língua portuguesa (PT) e em língua inglesa (EN), disponíveis em textos completos e gratuitos, compreendidos entre o período de 1998 e junho de 2018, sendo recuperados cerca de 60 artigos. Em um segundo momento, foi realizada a leitura dos títulos e resumos dos trabalhos, em que foram selecionados os trabalhos que apresentasse de modo original os diversos aspectos das características e usos da *L. tomentosa*, sobretudo os relacionados a sua capacidade antioxidante. Após a segunda etapa, os 18 artigos selecionados foram lidos em sua totalidade e incluídos na pesquisa.

## 3 | RESULTADOS

### Botânica (morfologia)

A oiti, especificamente, é uma árvore arbórea característica da Mata Atlântica, com altura entre 8 e 15 m e diâmetro entre 30 e 50 cm. De ramos tomentosos-lanosos, a madeira é pesada, dura, resistente, grã direita, textura média para grossa, de

longa durabilidade, com alburno quase indistinto (LORENZI, 2008 *apud* MONTEIRO *et al.*, 2012).

Os frutos do oiti são drupáceos, elípticos, monospérmicos, carnosos, indeiscentes e fixados em pedúnculos não articulados. [...] O pericarpo é formado pelo epicarpo liso, glabro, delgado e, quando maduro, amarelo a alaranjado e, quando imaturo, esverdeado; mesocarpo carnoso, fibroso, espesso, amarelo a alaranjado e endocarpo membranáceo, de coloração branca a creme (MONTEIRO *et al.*, 2012).

Quanto às sementes do oiti, Monteiro *et al.* (2012) destacam que

são exalbuminosas, de forma elíptica e com funículo aderido, tegumento liso, coloração marrom, de cartáceo a coriáceo, com rafe visível longitudinalmente, micrópila e hilo inconspícuos, com cotilédones elípticos e plano-convexos, crassos, de coloração creme a levemente róseo (MONTEIRO *et al.*, 2012).

As folhas são oblongo-elípticas a oblongo-lanceoladas cartáceas, apiculada-acuminada no ápice, lanosas ou tomentosas, com tricomas simples e intensamente enrolados. Possuem de 7 a 14 cm de comprimento e de 3 a 5 cm de largura (MONTEIRO *et al.*, 2012).

## O Potencial Medicinal da Família *Chrysobalanaceae*

Algumas *Chrysobalanaceae spp.* têm sido utilizadas como fitoterápicos na medicina popular, principalmente em casos de disenteria, diarreia, leucorréia, também como hipoglicêmico, anti-inflamatório e diurético. No Brasil, a *Chrysobalanus icaco* e a *L. rigida* são empregadas no tratamento de diabetes, possuindo comprovação científica seus efeitos hipoglicemiantes e diuréticos (PRESTA e PEREIRA, 1987 *apud* MACEDO, 2011).

Estudos fitoquímicos ainda são incipientes, no entanto, têm-se obtido da *Licania spp.*, triterpenos, que substâncias precursoras de bioativos importantes como fitoesteróis, saponinas, alcaloides esteroidais, entre outros; e também no isolamento de flavonóides, classe de substâncias as quais são atribuídos diversos efeitos biológicos, tais como: ação anti-inflamatória, hormonal, anti-hemorrágica, anti-alérgica, anti-câncer e, principalmente, antioxidante (CASTILHO *et al.*, 2000; CASTILHO e KAPLAN, 2008).

No que se refere a *L. tomentosa* (Benth.), ainda existem pouco estudos farmacológicos e fitoquímicos. Porém, a medicina popular indica usos no tratamento de diversos distúrbios biológicos como inflamação (PITTIER, 1978 *apud* FEITOSA, XAVIER e RANDAU, 2012), diabetes (AGRA, FREITAS, BARBOSA-FILHO, 2007; ALBUQUERQUE *et al.*, 2007) dor de estômago, diarreia e disenteria. (CARTAXO *et al.*, 2010), o que condiz com o esperado pela literatura de acordo com os constituintes apresentados pela planta.

## **Licania Tomentosa: Arborização e Parâmetro de Qualidade do Ar**

O processo de urbanização trouxe consigo problemas socioambientais de alta complexidade. Desenvolvimento sustentável, qualidade de vida e saúde são temas que se aproximam cada vez mais, devido aos impactos ambientais que levam ao desenvolvimento de doenças, como por exemplo, o aquecimento global e excesso de CO<sub>2</sub> na atmosfera. Nesse sentido, a arborização surge como uma alternativa à recuperação do desequilíbrio entre meio ambiente e meio urbano. São benefícios da arborização: embelezamento paisagístico, restabelecimento do equilíbrio do solo, regulação do microclima, promoção de abrigo à fauna, redução da poluição sonora e diminuição da velocidade do vento, aumento da umidade relativa do ar, redução de CO<sub>2</sub> no ar e conseqüente redução da temperatura do meio. O que promove saúde física e mental, assim como bem-estar à população (BIONDI e ALTHAUS, 2005 *apud* ZAMPRONI, BIONDI e BOBROWSKI, 2016).

Conforme estudos desenvolvidos por Zamproni, Biondi e Bodrowski (2016), a espécie *L. tomentosa* é predominante na arborização do município de Bonito-MS, devido principalmente a sua capacidade de promover sombra (FERREIRA, GASPAROTTO e LIMA, 2001). Apesar disso, os autores alertam as preocupações com relação ao plantio em larga escala e sugerem a necessidade de um controle de plantio da espécie, tendo em vista a possibilidade de uma ferrugem causada por *Phakopsora tomentosae* parasitar a árvores, levando-a à morte, e que pode contribuir para um surto de praga ou doença (FERREIRA, GASPAROTTO e LIMA, 2001).

Além de utilizada para a arborização, é sabido que espécies vegetais também podem ser bons indicadores de qualidade do ar por meio estudos bioquímicos. Ao realizar os processos de respiração e fotossíntese, os vegetais absorvem gases da atmosfera por meio dos estômatos. Assim como o CO<sub>2</sub>, outros gases poluentes são absorvidos, como é o caso dos óxidos de nitrogênio, óxidos de enxofre, ozônio, entre outros. Como é de se imaginar, essa absorção causa diversas alterações fisiológicas, bioquímicas, anatômicas e comportamentais às espécies vegetais.

Partindo dessa premissa, Maioli *et al.* (2008), desenvolveram um trabalho que buscou avaliar as alterações do padrão físico-químico e bioquímico (pH, BCI, ácido ascórbico, atividade de peroxidase e clorofilas totais - parâmetros avaliados da oiti) das folhas de duas espécies vegetais - *Licania tomentosa* (Benth.) e *Bauhinia forficata* (Link.) - devido ao estresse resultante da poluição e considerando, também, a influência do solo. As plantas analisadas estavam localizadas nas estações da Enseada do Suá (ENS), Laranjeiras (LAR), Ibes (IBV) e na Reserva Ecológica de Duas Bocas (RDB). A partir desse estudo mostram que as espécies podem ser potenciais indicadores de poluição.

A respeito da *L. tomentosa* (Benth.) foram observadas alterações nos parâmetros bioquímicos, principalmente devido ao ozônio. Uma espécie química que quando dentro do organismo é responsável por inúmeras injúrias celulares, devido ao estresse oxidativo. No caso das plantas, afeta principalmente as quantidades de ácido ascórbico e de  $\beta$ -caroteno, podendo levar à peroxidação lipídica (MAIOLI *et al.*, 2008).

### Constituintes Químicos da *Licania Tomentosa*

Um estudo realizado por Andrade, Zoghbi e Maia (1998), buscou determinar os constituintes voláteis do fruto do oiti, a partir de amostras colhidas em Belém do Pará. A polpa e a casca do fruto foram submetidas à hidrodestilação, com remoção de aroma por pentano. A determinação dos constituintes foi feita por GC/EM, onde foram identificados, principalmente 1-hexanol (11,1%), 4-heptanol (10,5%), butanoato de 3-metilbutila (7,4%), hexanal (7,1%), mirceno (6,4%) e butanoato de etenila (5,4%).

Castilho, Oliveira e Kaplan (2005), obtiveram um Licanolídeo, triterpeno lactona inédito, identificado como 3 $\beta$ -hidroxilupano-20, 28-olide, por meio de estudos onde foram utilizados extratos hexano-metanólico de sucessivas extrações do fruto da *L. tomentosa* (Benth.) O extrato hexânico obtido pelos autores, foi eluído em cromatografo de sílica gel com mistura binária de hexano, EtOAc e MeOH para dar as fracções 1-100, obtendo o licanolídeo e o palmitoléico. As substâncias obtidas foram purificadas por cristalização com pentano e diclorometano, originando dois compostos cristalinos em forma de agulhas. A figura a seguir apresenta a estrutura do Licanolídeo obtido (Fig. 1), disponibilizada pelos autores, após análise detalhada dos espectros.

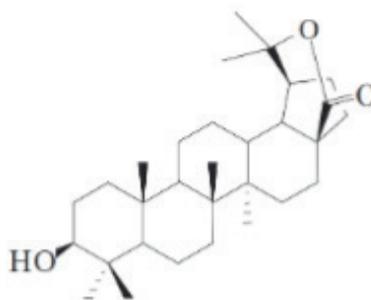


Fig. 1: Estrutura do Licanolídeo obtido da *L. tomentosa* (Castilho, Oliveira e Kaplan, 2005).

Em um outro estudo (CASTILHO e KAPLAN, 2008) com o extrato hexânico dos frutos (sem semente), foram obtidos: ácido betunílico, licanolídeo e ácido palmitoléico. Após passar pelo GC em coluna de sílica gel, da fração de AcOEt foi isolado o ácido oleanólico, um sólido de coloração amarelo pálido. Do extrato hexânico das folhas, foi isolado o lupenol e uma mistura de estigmasterol sitosterol. A fração de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  do

extrato foi cromatografada em coluna de sílica gel, obtendo uma mistura contendo ácido tormêntico, ácido betulínico e ácido ursólico.

### **Atividade Antioxidante e Antitumoral da *Licania tomentosa***

O extrato metanólico da folha e do fruto da *L. tomentosa* também foi estudado por Fernandes *et al.* (2003), referente a citotoxicidade de triterpenos obtidos de duas *Chrysobalanaceae* (*L. tomentosa* e *Chrysobalanus icaco*) à linhas celulares leucêmicas multirresistentes e sensíveis. A purificação do extrato com o uso de diclorometano da fração das folhas da *L. tomentosa* resultou em uma mistura de triterpenos ricos em ácido betulínico (79% betulínico, 13,1% de ácido ursólico e 7,9% de ácido tormêntico) e ácido betulínico purificado, que também apresentou inibição da linha tumoral considerada. A partir dos frutos do oiti e das folhas de *C. icaco*, via fração AcOEt, foi obtido outros dois triterpenos: o ácido oleanólico e pomóllico, ambos apresentando inibição do crescimento de K562. De modo semelhante ao ácido betulínico, inibem atividade a depender da concentração, induzindo à morte celular por apoptose. Conforme ressaltam os autores, apesar de a atividade citotóxica dos ácidos betulínicos e oleanólico contra variados tipos de tumores ser bem conhecida, não haviam relatos de seus efeitos sobre células leucêmicas humanas. Com seus estudos eles mostram que os triterpernos isolados das folhas da *L. tomentosa*, possuem a capacidade inibir o crescimento de células leucêmicas humanas K562 (propriedades anti-MDR) de um modo dose-dependente, e também são muito eficazes no bloqueio da proliferação de Lucena 1, um derivado resistente à vincristina de K562.

Pessoa *et al.* (2016) realizou a caracterização e quantificação de compostos fenólicos do extrato das sementes da *L. tomentosa* e *L. rigida*, de modo a estimar a capacidade antioxidante e determinar a citotoxicidade para as linhagens de Células MCF-7 e células Caco-2. Ambos os extratos apresentaram alta concentração de espécies como atividade antioxidante, sendo os flavonóides (quercetina, quercitrina e catequina) preponderantes na ação contra os radicais livres e os ácidos fenólicos mais eficientes em condições de estresse. Apesar disso, não apresentaram citotoxicidade para as linhas celulares testadas.

### **Atividade Antiviral (herpes simplex tipo 1) da *Licania tomentosa***

O estudo de Miranda e colaboradores (2012), com o extrato das sementes da *L. tomentosa* (Benth.) mostrou que este é capaz de inibir a replicação produtiva extracelular do vírus herpes simplex tipo 1 e também interferiu em uma infecção celular precoce a uma concentração não citotóxica (ACVr-HSV1). Para o preparo do extrato, primeiramente foram secas as sementes, logo em seguida adicionou-se às mesmas 100 mL de solução de NaCl à 0,85%. A mistura foi filtrada e ao filtrado foi adicionado volume igual de metanol e congelada à -20 °C, resultando em uma

concentração de 100 mg/mL (p/v) em NaCl:glicerol (1:1).

A toxicidade foi medida por meio das alterações morfológicas nas culturas celulares de HEp-2 e pela viabilidade celular por captação de corante vermelho neutro (MIRANDA *et al.* 2002). Em sua conclusão, os autores ressaltam que o extrato das sementes de *L. tomentosa*, protege as células da infecção pelo referido vírus herpes *in vitro* em concentrações não tóxicas e também possui efeito virucida.

### **Atividade Antibacteriana da *Licania tomentosa***

Silva *et al.* (2012) a partir de um extrato folha preparado por maceração estática com etanol e água (1:1) à temperatura ambiente, estudou com pioneirismo a atividade antibacteriana e antioxidante *in vitro* da *L. tomentosa* (Benth.). Após preparado o extrato, foi realizada uma triagem fitoquímica da planta, que identificou a presença de taninos, saponinas, alcalóides, esteróides e triterpenos. Conforme apresentado pelos autores, o extrato apresentou atividade antioxidante e antimicrobiana contra *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Uma investigação a respeito da atividade antibacteriana do extrato etanólico da folha do oiti frente a cepas gram positivas e negativas, sugeriu que a *L. tomentosa* devido a sua baixa toxicidade e alta disponibilidade, seja uma potencial candidata à busca por bioativos bactericidas (CAMPOS *et al.*, 2017). O extrato foi obtido por meio de maceração estática a frio, concentrado em rotaevaporador e posteriormente purificado com hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol. Por meio de cromatografia em camada delgada, foi identificada a presença de flavonóides e triterpenos. A fração AcOEt, onde ficam os flavonóides, evidenciou maior atividade, apresentado menores valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), sendo todas as cepas sensíveis, de bactérias gram-positivas. Quanto à atividade citotóxica, observou-se que uma Concentração Mínima Citotóxica entre 500 e 250  $\mu\text{g/mL}$ .

## **4 | DISCUSSÕES**

Os principais achados referentes aos estudos realizados com a espécie *Licania tomentosa* estão sumarizados e organizados por assunto no quadro 1.

TÓPICO	REFERÊNCIA	ASSUNTO
Botânica (morfologia)	LORENZI (2008) <i>apud</i> MONTEIRO <i>et al.</i> (2012);	Características da árvore do oiti
	MONTEIRO <i>et al.</i> (2012);	Características do fruto, semente e folhas
	MACEDO (2011);	Características das folhas
O potencial medicinal da família <i>Chrysobalanceae</i>	PRESTA, PEREIRA (1987) <i>apud</i> MACEDO, (2011); PITTIER (1978) <i>apud</i> FEITOSA; XAVIER, RANDAU (2012); AGRA, FREITAS, BARBOSA-FILHO (2007); ALBUQUERQUE <i>et al.</i> , (2007); CARTAXO <i>et al.</i> , 2010;	Alguns usos das <i>Chrysobalanceae</i> na medicina popular
	CASTILHO <i>et al.</i> , (2000); CASTILHO, KAPLAN (2008);	Alguns usos na medicina popular e alguns fitoquímicos obtidos: triterpenos e flavonóides.
<i>Licania tomentosa</i> : arborização e parâmetro de qualidade do ar	BIONDI, ALTHAUS (2005) <i>apud</i> ZAMPRONI, BIONDI, BOBROWSK (2016);	Arborização com uso do oitizeiro em Bonito-MS
	MAIOLI <i>et al.</i> , (2008)	<i>Licania tomentosa</i> como indicador de poluição
Constituintes químicos e metabólitos secundários	ANDRADE, ZOGHBI, MAIA (1998)	Constituintes voláteis do fruto do oitizeiro
	CASTILHO, OLIVEIRA, KAPLAN (2005)	Isolamento do licanolídeo inédito (3 $\beta$ -hidroxilupano-20, 28-olide)
	CASTILHO, KAPLAN (2008)	Isolamento de ácido betunílico, licanolídeo, ácido palmitoléico e ácido oleanólico a partir dos frutos. Isolamento de lupenol, uma mistura de estigmasterol sitosterol e uma mistura contendo ácido tormêntico, ácido betulínico e ácido ursólico.
Atividade antioxidante e antitumoral	FERNANDES <i>et al.</i> , (2003)	Inibição do crescimento de células leucêmicas humanas K562 e bloqueio da proliferação de Lucena 1.
	PESSOA <i>et al.</i> , (2016)	Alta concentração de antioxidantes no oiti, mas não citotóxico para linhagens de Células MCF-7 e células Caco-2
Atividade antiviral (herpes simplex tipo 1)	MIRANDA <i>et al.</i> , (2002)	Inibição da infecção pelo vírus herpes simplex tipo 1 e atividade virucida.
Atividade antibacteriana	SILVA <i>et al.</i> , (2012)	O extrato hidroalcoólico possui atividade antioxidante e antimicrobiana contra <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i>
	CAMPOS <i>et al.</i> , (2017)	Potencial bactericida. Inibiu tanto bactérias gram-positivas, quanto gram-negativas.

Quadro 1: Referências e assuntos abordados, organizado em tópicos.

Diante dos resultados obtidos é possível verificar que *L. tomentosa* é uma

planta promissora. Sendo eficiente no paisagismo, desde que de modo controlado, e também um eficiente bioindicador de poluição, principalmente para ozônio. Possui alto potencial antioxidante, o que torna a mesma uma boa fonte de estudos, uma vez que o a ação dos radicais livres dentro do organismo humano e animal, pode causar inúmeras mutações e alterações biológicas a saber: processos inflamatórios, desenvolvimento de tumores, destruição celular devido à peroxidação lipídica, entre outros. Possui também propriedades anti-MDR e inibe a proliferação de Leucena 1. Contudo não apresentam citotoxicidade frente à Células MCF-7 e células Caco-2. Por outro lado, possui efeito virucida frente ao herpes tipo 1 e efeito bactericida frente a algumas cepas bacterianas.

No entanto, apesar de a medicina popular apontar indícios empíricos de sua ação citotóxica, anti-inflamatória, antibacteriana e hipoglicemiante, estudos a respeito do oiti ainda são incipientes, sendo necessário novos estudos, levando em conta as variantes farmacológicas para habilitação de tal planta como fitoterápica eficiente e não tóxica.

O presente trabalho não teve a pretensão de esgotar todos os estudos sobre o oiti. Nesse sentido, alcançou seu objetivo de apresentar as informações mais relevantes e recentes a respeito dos estudos com a planta. Apontando possibilidades de pesquisas e de novos estudos, relacionados, principalmente, ao seu potencial antioxidante.

## 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A oiti, *Licania tomentosa* é uma planta versátil, possuindo bastante potencial fitoterápico. Algumas espécies de sua família, *Chrysobalanaceae*, possuem diversas aplicabilidades na medicina popular. Porém, existem pouco estudos sobre os aspectos fitoquímicos e farmacológicos. A partir do oiti, são muito obtidos flavonóides e terpenóides importantes, contudo, a *L. tomentosa*, bem como outras espécies da *Chrysobalanaceae*, ainda permanecem como fonte não tão explorada para o isolamento e caracterização de bioativos que podem ter grande aplicabilidade farmacêutica. Desse modo, novos estudos podem abrir caminhos alternativos à descoberta de novas substâncias com ação terapêutica, bem como o desenvolvimento de novas drogas.

## REFERÊNCIAS

AGRA, M.F. *et al.* **Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil.** *Jornal of Ethnopharmacology*, v.111, n.2, p.383-395, Mai. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.12.007>>. Acesso em: 23 jun. 2019.

ANDRADE, Eloisa H. A; ZOGHBI, Maria das G. B; MAIA, José Guilherme S. **Constituintes voláteis dos frutos de *Licania tomentosa* Benth.** *Acta Amaz., Manaus*, v. 28, n. 1, p. 55, Mar. 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1809-43921998281058>>. Acesso em: 23 jun. 2019.

- CAMPOS, M. F. *et al.* **Atividade antibacteriana e citotóxica dos extratos foliares de *Licania tomentosa***. In: *Simpósio Brasileiro de Farmacognosia & Simpósio Latino Americano de Farmacobotânica, XI & XVI*, Curitiba. Resumo. 2017. Disponível em: <[http://www.sbfgnosia.org.br/xisimposio/uploads/173\\_102%20Resumo%20Mariana%20Campos%20ACEITO.pdf](http://www.sbfgnosia.org.br/xisimposio/uploads/173_102%20Resumo%20Mariana%20Campos%20ACEITO.pdf)>. Acesso em: 22 jun. 2019.
- CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. A., ALBUQUERQUE, U. P. **Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil**. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 131, n. 2, p. 326-342, Set. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.003>>. Acesso em: 24 de jun. 2019.
- CASTILHO, R. O. *et al.* **A survey of chemistry and biological activities of Chrysobalanaceae**. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, Rio de Janeiro, v. 72, n. 2, p. 292-293, Jun. 2000. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652000000200020>>. Acesso em: 22 jun. 2019.
- CASTILHO, R. O.; KAPLAN, M. A. C. **Constituintes químicos de *Licania tomentosa* Benth. (*Chrysobalanaceae*)**. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 66-69, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000100014>>. Acesso em: 23 jun. 2019.
- CASTILHO, R. O.; OLIVEIRA, R. R.; KAPLAN, M. A. C. **Licanolide, a new triterpene lactone from *Licania tomentosa***. *Fitoterapia*, v.76, n.6, p.562-566, set. 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2005.04.018>>. Acesso em: 24 jun. 2019.
- FEITOSA, E. A.; XAVIER, H. S.; RANDAU, K. P. **Chrysobalanaceae: traditional uses, phytochemistry and pharmacology**. *Rev. bras. farmacogn.* v.22, ed.5, p.1181-1186, Set./Out. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000080>>. Acesso em: 21 jun. 2019.
- FERNANDES, J. *et al.* **Pentacyclic triterpenes from *Chrysobalanaceae* species: cytotoxicity on multidrug resistant and sensitive leukemia cell lines**. *Cancer Letters*, v.190, ed.2, p.165-169, Fev. 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(02\)00593-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(02)00593-1)>. Acesso em: 22 de jun. 2019.
- FERREIRA, F.A., GASPAROTTO, L. & LIMA, M.I.P.M. **Uma ferrugem (*Phakopsora tomentosae* sp. nov.) no oiti, em Manaus**. *Fitopatologia Brasileira* 26:206-208, 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582001000200016>>. Acesso em: 22 de jun. 2019.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5.ed. Nova Odessa: Platarum, 2008. 384p.
- MACEDO, José Benilson Martins. **Capacidade antioxidante in vitro e avaliação da toxicidade aguda in vivo de extratos de folhas de *Licania rígida* Benth., *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch e *Couepia impressa* Prance (*Chrysobalanaceae*)**. 2011. 105 f. Dissertação (Mestrado em Bioanálises e Medicamentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.
- MAIOLI, O. L. G. *et al.* **Parâmetros bioquímicos foliares das espécies *Licania tomentosa* (Benth.) e *Bauhinia forficata* (Link.) para avaliação da qualidade do ar**. *Quím. Nova* v.31, ed.8, p.1925-1932, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000800002>>. Acesso em: 22 de jun. 2019.
- MIRANDA, M. M. F. S. *et al.* **Anti-herpes simplex virus effect of a seed extract from the tropical plant *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (*Chrysobalanaceae*)**. *Phytomedicine*, v.9, ed.7, p.641-645, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1078/094471102321616463>>. Acesso em: 22 de jun. 2019.
- MONTEIRO, K. L. *et al.* **Caracterização morfológica de frutos, de sementes e do desenvolvimento pós-seminal de *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch**. *Cienc. Rural* v.42, ed.1, p.90-97, Dez./2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782011005000147>>. Acesso em: 22 de jun. 2019.

PESSOA, I. P. *et al.* **Polyphenol Composition, Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Seeds from Two Underexploited Wild Licania Species: *L. rigida* and *L. tomentosa*.** *Molecules* v.21, p. 1755-1771, Dez. 2016. Disponível em: < <https://doi.org/10.3390/molecules21121755> >. Acesso em: 22 de jun. 2019.

SILVA, J. B. N. F. *et al.* **Antibacterial and antioxidant activities of *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (*Crhysobalanaceae*).** *Arch. Biol. Sci.*, v.64, ed.2, p.459-464, 2012. Disponível em: < <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0354-4664/2012/0354-46641202459S.pdf> >. Acesso em: 22 de jun. 2019

Sothers, C.A.; Prance, G.T.; Buerki, S.; Kok, R. & Chase, M.W. 2014. **Taxonomic novelties in neotropical *Chrysobalanaceae*: towards a monophyletic *Couepia*.** *Phytotaxa* 172(2): 176–200. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.172.3.2>>. Acesso em: 22 de jun. 2019.

ZAMPRONI, K.; BIONDI, D.; BOBROWSKI, R. **Avaliação quali-quantitativa da espécie *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch. na arborização viária de Bonito-MS.** *REVSBAU*, v.11, ed.2, p. 45-58, Jun./2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.5380/revsbau.v11i2.63421>>. Acesso em: 22 de jun. 2019.

## PERCEPÇÕES DE ESTUDANTES DO 4º AO 9º ANO DO ENSINO FUNDAMENTAL EM DUAS ESCOLAS PÚBLICAS DE ESPERA FELIZ, MG SOBRE OS MORCEGOS (*Chiroptera, Mammalia*)

### **Maria Joventina Ferreira Bendia**

Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG)  
Carangola, Minas Gerais

### **Viviane da Silva de Oliveira**

Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG)  
Carangola, Minas Gerais

### **Alessandro Brinati**

Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG)  
Carangola, Minas Gerais

### **Luciane da Silva Oliveira**

Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG)  
Carangola, Minas Gerais

**RESUMO:** Morcegos são geralmente percebidos pela população como animais assustadores, indesejáveis e perigosos. Tais características, subestimam a importância do grupo e dificultam as ações de conservação. Este trabalho teve como objetivo investigar o conhecimento sobre morcegos de estudantes do 4º ao 9º ano do ensino fundamental de duas escolas públicas do município de Espera Feliz/MG. Foi aplicado um questionário contendo questões de múltipla escolha e dissertativas para verificar a percepção sobre os morcegos que estão inculcidos nos estudantes. Analisou-se 541 questionários, avaliando informações referentes ao conhecimento, abrigo, dieta, comportamento, importância, mitos e

ameaças. Os resultados demonstram que os estudantes de Espera Feliz/MG apresentam determinado conhecimento sobre os morcegos, especialmente, sobre os aspectos classificativos. Entretanto, observou-se também que possuem conceitos distorcidos no que se refere a sua importância ecológicas e mitos que cercam o grupo, dificultando ações de preservação. Recomenda-se utilizar espaços diversos para realização de trabalhos de educação ambiental de forma contínua e gradual, a fim de reforçar os aspectos positivos dos quirópteros, bem como sua importância ecológica que está relacionada aos seus hábitos alimentares, considerando que, mesmo apresentando hábito alimentar bastante diversificado e de grande importância para a manutenção do meio ambiente, o hábito hematófilo se sobrepõe aos demais, aumentando os mitos e superstições sobre os morcegos.

**PALAVRAS-CHAVE:** educação ambiental; quirópteros; preservação.

### 1 | INTRODUÇÃO

Os morcegos são animais de fundamental importância nos ecossistemas onde estão presentes (LASSEN; ALLEGRETTI; MEGIER, 2013), sendo responsáveis pela manutenção de florestas, polinização de diversas espécies

vegetais, inclusive aquelas utilizadas na arborização urbana (CAPAVERDE JÚNIOR, 2012).

Além disso, os morcegos representam o grupo mais versátil na exploração de alimentos, participam da sua dieta, frutos, néctar, pólen, partes florais, folhas, insetos, outros artrópodos, pequenos peixes, anfíbios, pequenos mamíferos (BREDT; ARAUJO; CAETANO JÚNIOR, 1998). Entretanto destaca-se a hematofagia, dieta baseada na ingestão de sangue (LAURINDO; NOVAES, 2015) que é utilizada por apenas três espécies restritas às Américas, possuem esse comportamento alimentar peculiar (RANUCCI *et al.*, 2014; ANDRADE; TALAMONI, 2015; LAURINDO; NOVAES, 2015; LIMA; AVANZI, 2016).

Embora sejam animais de grande importância ecológica a maioria dos morcegos, são lembrados pelas pessoas, como animais indesejáveis e causadores de doenças (CAPPARROS; MAGALHÃES JÚNIOR, 2015) ou são associados a vampiros sedentos de sangue, ou animais sujos (FREITAS; BRANDÃO, 2013). Tal associação é parcialmente influenciada pela mídia, que associa esses animais à imagem do mal ou mitos, não informando a importância ecológica desses mamíferos no ambiente (SCAVRONI; PELEARI; UIEDA, 2008).

Dessa forma, a falta de conhecimento acerca dos morcegos, dificulta a definição de estratégias de preservação para esse grupo animal (SILVA; MANFRINATO; ANACLETO, 2013). De acordo com Paiva (2010), a Educação Ambiental é uma alternativa para fornecer informação sobre a importância ecológica dos morcegos e alertar para a ameaça de extinção de algumas espécies, melhorando assim, a percepção ambiental que a população tem sobre estes animais.

Reconhecendo a importância ecológica e a necessidade de minimizar o extermínio injustificado dos animais da Ordem Quiróptera, esse trabalho teve como objetivo investigar a percepção sobre os morcegos de estudantes do 4º ao 9º ano do ensino fundamental do município de Espera Feliz/MG, a fim de definir ações que contribuam na preservação e desmistificação dos quirópteros.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em duas escolas públicas do município de Espera Feliz, com alunos do 4º ao 9º ano do Ensino Fundamental, com faixa etária entre 07 e 16 anos, provenientes da zona urbana e rural, por meio de questionários semiestruturados, aplicados pelo “Projeto Morcegos do Caparaó – Conhecer para Preservar”. Para verificar o conhecimento dos alunos acerca da importância dos morcegos, utilizou-se como referência uma adaptação do modelo de entrevista semiestruturada, proposto por Marconi e Lakatos (2003). Este modelo consiste na aplicação de questionários semiestruturados, contendo questões, de múltipla escolha e dissertativas. Para análise dos dados foram definidos alguns critérios

de organização relacionados aos quirópteros, onde foram agrupados em sete categorias: *Conhecimento*, *Abrigos*, *Dieta*, *Comportamento*, *Importância*, *Mitos* e *Ameaças*, adaptados de Silva et al., (2013).

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados 541 questionários, mediante os critérios adotados. Inicialmente, avaliou-se a categoria *Conhecimento*, que buscou identificar a percepção sobre morcegos e suas tipologias de caracteres. O subitem *Classificativo* foi o mais abordado, citado por 62% dos participantes, relacionando-os a grupos taxonômicos. Os resultados mostraram que os alunos possuem noções de classificação, onde relacionam os morcegos a determinado grupo taxonômico. Ao contrário de Silva et al., (2013) que utilizando a mesma abordagem em duas escolas, uma particular e outra pública, obteve uma maior abordagem no Subitem *Nocivo*, no qual as crianças expressam a personalidade dos morcegos como “maus”. Somente depois de uma intervenção, ao reapplicar o mesmo questionário, atingiu uma maior conceituação classificativa. Nessa categoria, aproximadamente, 79% dos alunos demonstraram interesse em saber mais sobre os morcegos.

Na categoria *Abrigo*, avaliou-se a percepção sobre os abrigos dos morcegos. Os locais mais citados foram Grutas e Cavernas (87%), seguido de ambientes naturais (46%). Os abrigos devem oferecer condições que permitam o acasalamento, o parto e a criação de filhotes, as interações sociais e a digestão do alimento consumindo durante a noite, e, ainda, proteção contra intempéries ambientais (chuvas, vento e insolação) e contra possíveis predadores (BREDT; ARAUJO; CAETANO JÚNIOR, 1998).

Em relação a *Dieta*, quando questionados sobre o que os morcegos comem, 63% abordaram Sangue de Animais e 59% Frutas. Ao questionarmos se “Todos os morcegos se alimentam de Sangue” 22 % responderam *Sim*. E quando questionados se “Os morcegos se alimentam de Sangue Humano, 41% dos alunos participantes responderam *Não*, 29% responderam *Sim* e 30% não souberam responder. Esse último dado revela um número relevante de alunos que não possuem conhecimento se ocorre ou não o consumo de sangue humano pelos morcegos. Sabemos que os morcegos possuem uma grande diversidade de dieta, porém, seu hábito alimentar hematófita se destaca devido aos conceitos conturbados que envolvem os morcegos. Em uma pesquisa com visitantes do Parque da Prainha no Rio de Janeiro, Novaes (2008) conseguiu resultados semelhantes, ele afirma que o vago conhecimento sobre o hábito alimentar de algumas espécies acaba sendo pior que o total desconhecimento, já que todos os morcegos acabam sendo chamados de vampiro, reforçando a imagem negativa sobre os quirópteros.

Na categoria *Comportamento*, questionou-se sobre o motivo dos morcegos entrarem em residências ou irem na direção de pessoas, 49% atribuíram tal

comportamento à busca por alimento e 12% ao ataque ou mordida. Na questão referente ao motivo da ocorrência de morcegos nas cidades, 48% atribuíram o motivo à Procura de Abrigo e Alimento, 40% ao Desmatamento das Florestas. Ainda referente ao *Comportamento*, quando questionados se os morcegos causam prejuízo para as pessoas, 52% responderam que *Não*, 13% que afirmam que *Sim* e 36% não souberam responder. Dos que responderam que os morcegos causam prejuízos, a maioria (42%), acredita que os morcegos Transmitem Doenças e causam a Morte. Resultado semelhante foi encontrado por Andrade e Talamoni (2015), em pesquisa com estudantes em uma trilha interpretativa no município de São Paulo, onde 78% dos entrevistados responderam que os morcegos podem transmitir doenças. Laurindo e Novaes (2015) ressaltam que os morcegos podem transmitir algumas doenças, assim como muitos outros animais silvestres e domésticos, porém, essas doenças só são passíveis de serem transmitidas aos humanos se a pessoa fizer contato direto com um morcego.

Sobre a *Importância* dos morcegos na natureza, 41% responderam que os morcegos são importantes para controlar a quantidade de insetos no ambiente, seguido da disseminação de sementes (36%). Entretanto, 12% acreditam que os morcegos não tem nenhuma importância na natureza. Esse resultado pode estar relacionado com a desinformação acerca do papel ecológico das diversas espécies de quirópteros. Mendonça (2008), analisando a contribuição da fauna de quirópteros no Morro do Coco no município de Viamão, observou que os morcegos frugívoros são muito importantes na manutenção das espécies vegetais do ambiente, pois através da dispersão de sementes auxiliam no estabelecimento de novos indivíduos, proporcionando a regeneração de áreas degradadas e o aumento da diversidade vegetal.

Na categoria *Mitos*, avaliou-se a percepção dos alunos em relação aos mitos e crendices, na qual se observou que 29% alunos acreditam que os morcegos são seres venenosos e, 37% tem medo desses animais. Quando os alunos foram questionados se evitam locais onde possuem morcegos, 43% afirmaram que *Sim*. Dentre estes, 52% apresentaram como principal motivo, Medo e Repúdio. Essa percepção pode estar ligada diretamente a informações difundidas pela mídia. Capparros e Magalhães Júnior (2015), investigaram os conteúdos sobre morcegos transmitidos pela mídia brasileira, concluindo que frequentemente as ideias transmitidas sobre morcegos são cercadas de mitos e lendas.

Em relação a *Ameaça*, questionou-se sobre os principais fatores que ameaçam os morcegos, foram citados com maior frequência a Exterminação por Humanos (33%) e a Destruição do Meio Ambiente e Habitats (30%). Segundo Mendonça (2008), os morcegos sofrem diversas ameaças, que envolve desde a perseguição direta, uso de pesticidas e descaracterização do habitat até a perturbação e destruição de seus abrigos. Em relação aos projetos de preservação, 59% dos alunos acreditam que a realização de tais projetos representa uma ação positiva, porém, pode-se observar

que 21% dos estudantes participantes não reconhecem a importância de ações que visam minimizar o impacto sofridos pelos quirópteros. Esse último resultado também corrobora a necessidade de trabalhos educativos voltados a desmitificação dos morcegos e seus hábitos. Diversos estudos ressaltam que as pesquisas envolvendo mudança conceitual mostram que determinadas concepções globais, modificam-se gradualmente, por meio de mudanças conceituais provocadas por campanhas educativas, que por sua vez devem ser realizadas frequentemente (BERNARD *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2013).

## 4 | CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que os estudantes apresentam determinado conhecimento sobre os morcegos, porém, podemos observar conceitos distorcidos, principalmente, relacionado com sua importância ecológicas e o mitos que cercam o grupo, dificultando ações de preservação.

É recomendável utilizar-se espaços diversos para realização de trabalhos de educação ambiental de forma contínua e graduais que reforçam seus aspectos positivos quanto aos seus hábitos alimentares, que mesmo sendo diverso e de grande importância para a manutenção do meio ambiente, o hábito hematófilo se sobrepõe aos demais, aumentando os mitos e superstições sobre os morcegos.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, T. Y. I.; TALAMONI, J. L. B.; **Morcegos, anjos ou demônios? Desmitificando os morcegos em uma trilha interpretativa.** Rev. Simbio-Logias. V. 8, n.11. 2015.

BERNARD, E. AGUIAR, L. M. S.; BRITO, D.; CRUZ-NETO, A. P.; GREGORIN, R.; MACHADO, R. B.; OPREA M.; PAGLIA, A. P.; TAVARES, V. C.; **Uma análise de horizontes sobre a conservação de morcegos no Brasil.** In: Mamíferos do Brasil: genética, sistemática, ecologia e conservação, v. 2. 2012.

BREDDT, A.; ARAUJO, F. A. A.; CAETEANO-JUNIOR, J.; **Morcegos em áreas urbanas e rurais: manual de manejo e controle.** Fundação Nacional de Saúde. Brasília. 1998.

CAPAVARDE-JÚNIOR, U. D. C.; **Diversidade e abundância de quirópteros na área urbana de Boa Vista.** Monografia. Faculdade Cathedral. Roraima. 2012.

CAPPARROS, E. M.; MAGALHÃES-JÚNIOR, C. A. O.; **A Representação Social Sobre Morcegos Apresentada Pela Mídia Brasileira.** Revista Contexto & Educação, v. 30, n. 97, p. 94-116. 2015.

FREITAS, F. S.; BRANDÃO, G. O.; **Elaboração de uma cartilha sobre a importância ecológica e econômica dos morcegos.** Faculdade de Ciências da Educação e Saúde – FACES. Brasília. 2013.

LASSEN, M. F. M.; ALLEGRETTI, L. T.; MEGIER, A. P. A.; **Análise e levantamento da quiropterofauna (Mammalia: Chiroptera) existente em cinco pontos do perímetro urbano de Ijuí RS.** Salão do Conhecimento. Ijuí. 2013.

LAURINDO, R. S.; NOVAES, R. L. M.; **Desmitificando os morcegos.** Série Cartilhas de Educação

Ambiental. Monte Belo. 2015.

LIMA, J. M.; AVANZI, M. R.; **Conservação de morcegos: Uma proposta de ação dialógica com estudantes do Ensino Fundamental.** Revista SBE-nBIO, N. 9, 2016.

MARCONI, M.A.; LAKATOS, E.M.; **Técnicas de Pesquisa.** 5. ed. Atlas, São Paulo. 2003.

MENDONÇA, C. M.; **Contribuição ao Conhecimento da Fauna de Quirópteros do Morro do Coco, Área de Domínio Mata Atlântica do Sul Do Brasil.** Trabalho de Conclusão de Curso. UNILASALLE – Centro Universitário La Salle. Canoas. 2008.

NOVAES, R. L. M.; **Neotropicais Morcegos: Biologia, ecologia e técnicas de coleta.** Projeto Pró-Morcegos. Rio de Janeiro. 2008.

PAIVA, V. M. F.; **Educação ambiental: impacto na percepção e mudança de atitudes em relação aos morcegos.** Dissertação. Universidade de Lisboa. Departamento de Biologia Animal. 2010.

RANUCCI, L.; JANKE, L.; AGUIAR, E. S.; ORTÊNCIO-FILHO, H.; MAGALHÃES-JÚNIOR, C. A. O.; **Concepção de Estudantes sobre a Importância dos Morcegos no Ambiente.** Revista de Ensino, Educação e Ciências Humanas, v. 15, n. 1, Londrina. 2014.

SCAVRONI, J.; PALEARI, L. M.; UIEDA, W.; **Morcegos: realidade e fantasia na concepção de crianças de área rural e urbana de Botucatu, SP.** Simbio-Logias, v. 1, n. 2, p. 1-18, Botucatu. 2008.

SILVA, E. M. V. G.; RODOLFO-SILVA R.; SILVA-FILHO T. P.; OLIVEIRA, P. J. A.; CUNHA, M. T. S.; TOMAZ-OLIVEIRA J. C.; MENEZES-SILVA, L. A. **Morcegos Amigos Ou Vilões? - A Percepção Dos Estudantes Sobre Morcegos.** Educação Ambiental em Ação, n. 43. 2013.

SILVA, S. G.; MANFRINATO, M. H. V.; ANACLETO, T. C. A.; **Morcegos: Percepção dos alunos do Ensino Fundamental 3º e 4º ciclos e práticas de Educação Ambiental.** Ciência & Educação (Bauru), v. 19, n. 4. 2013.

## SCIENTIFIC PROSPECTION OF THE MOLECULAR CHARACTERIZATION OF LIPASE *Rhizomucor miehei* FREE AND IMOBILIZED FORM

### **Fabiana Borralho Frazão**

Post-Graduate Program in Biotechnology, Federal University of Maranhão, São Luís -MA, Brazil

### **Ricardo Henrique Nascimento Frazão**

Post-Graduate Program in Biotechnology, Federal University of Maranhão, São Luís -MA, Brazil

### **Isadora Fontenelle Carneiro de Castro**

Department of Pathology, State University of Maranhão, São Luís - MA, Brazil

### **Emygdia Rosa do Rêgo Barros Pires Leal**

Department of Cellular and Molecular Biology  
Federal University of Maranhão  
São Luís -MA, Brazil

### **Marcelo Souza de Andrade**

Department of Cellular and Molecular Biology  
Federal University of Maranhão  
São Luís -MA, Brazil

### **Adeilton Pereira Maciel**

Department of Chemistry, Federal University of Maranhão, São Luís -MA, Brazil

**RESUMO:** Este artigo teve por objetivo fazer uma prospecção científica dos avanços da caracterização molecular da lipase *Rhizomucor miehei* livre e imobilizada. A prospecção científica foi realizada entre os meses de outubro de 2018 à janeiro de 2019, por meio de buscas nas bases de artigos nos portais de periódicos Web of Science, Scopus, Scientific Eletronic Library Online (Scielo) e Periódicos Capes. A plataforma

online Periódico Capes (1.025) é a que detém o maior número de publicações considerando o termo “*Rhizomucor miehei* lipase”, seguido do Web of Science (360) e da *Scopus* (307). Quanto a base de dados Scielo, esta é que menos fornece informações sobre a lipase *Rhizomucor miehei* de forma livre ou até mesmo inexistindo dados sobre a forma imobilizada. Quanto os métodos de caracterização molecular, verificou-se que a Reação em Cadeia da Polimerase – PCR foi a mais dotada nas pesquisas, sendo publicados um total de 197 artigos distribuídos entre as quatro bases de dados. Os resultados da prospecção demonstraram que ainda existem poucas pesquisas com enfoque na relação da biologia molecular com o processo de imobilização de lipases. Porém, houve um percentual de crescimento desde 1988 até 2018 nas pesquisas com a temática “*Rhizomucor miehei* lipase”. Portanto, conclui-se que o Brasil está no ranking dos países que mais publicam sobre esta lipase fúngica, caracterizando o grande potencial em biodiversidade e biotecnológico que este país apresenta.

**PALAVRAS-CHAVE:** Prospecção. Enzima. Biologia molecular. Métodos de imobilização. Suportes.

**ABSTRACT:** This article aimed to make a scientific prospection of the molecular characterization of *Rhizomucor miehei* lipase

free and immobilized form. The scientific prospection was carried out from October 2018 to January 2019, through searches of articles bases in the Web of Science, Scopus, Scientific Electronic Library Online (SciELO) and Capes Journals portals. The Capes Online Journals platform (1.025) has the largest number of publications considering the term “*Rhizomucor miehei* lipase”, followed by Web of Science (360) and Scopus (307). As for the SciELO database, this is the one that provides information about *Rhizomucor miehei* lipase free form or even lacking data on the immobilized form. As for the molecular characterization methods, it was verified that the Polymerase Chain Reaction - PCR was the most endowed in the research, and a total of 197 articles distributed among the four databases were published. The results of the prospection showed that there are still few researches focusing on the relationship between molecular biology and the lipase immobilization process. However, there was a percentage of growth from 1988 to 2018 in the researches with the theme “*Rhizomucor miehei* lipase”. Therefore, it is concluded that Brazil is in the ranking of the countries that publish the most about this fungal lipase, characterizing the great potential in biodiversity and biotechnology that this country presents.

**KEYWORDS:** Prospection. Enzyme. Molecular biology. Methods of immobilization. Brackets.

## 1 | INTRODUCTION

The multidisciplinary area of biocatalysis is currently undergoing extensive development. Research in various fields of chemistry and molecular biology has as its main objective, the development of new catalysts for industrial use. Despite the great development of molecular biology techniques aiming to obtain enzymes with their specificities altered, the exploration of biodiversity with the selection of new microorganisms and enzymes is still the most frequently used method for the development of biocatalysis on an industrial scale. Enzyme cloning and expression in host microorganisms that are easy to grow are of more immediate usage, because they lead to the production of biocatalysts in quantities which are compatible with their use in industrial processes (CONTI et al., 2001).

The enzymes, known industrially as biocatalysts, are generally proteins which are formed by long chains of amino acids with peptide bonds. For thousands of years, enzymes have been used in traditional processes. These biocatalysts can be extracted from animal, plant and microorganism tissues (SENAI, 2009).

The Enzyme Commission of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) divides the enzymes into six main groups, oxidoreductases (1), transferases (2), hydrolases (3), lyases (4), isomerases (5) and ligases (6) in which subclasses are included according to the type of catalyzed reaction. In such a system, each enzyme receives its recommended name, usually formed by the name of the catalyzed substrate and the suffix *-ase*. Each enzyme also receives its systematic name consisting of four digits, each number describing the enzyme in a

progressively more detailed way. (IUBMB, 2013).

Lipases, which are classified as EC 3.1.1.3, in which: EC stands for Enzyme Commission of the IUBMB: first digit (3 – Hydrolase Class); second digit (1 – Esterase Subclass); third digit (1 - Carboxylic ester hydrolase sub-subclass) and fourth digit (3 - Triacylglycerol lipase) (LOPES et al., 2011).

Lipases (Glycerol ester hydrolases; EC 3.1.1.3) present promising applications in a wide range of biotechnological activities and industrial processes, including flavor enhancement in the food industry, biodiesel production and use in the pharmaceutical industry. These enzymes hydrolyze triacylglycerols to fatty acids, glycerol and partial acylglycerols. This reaction is reversible; thus, lipases also catalyze the formation of glycerol acylglycerols and free fatty acids by means of esterification. Other valuable properties of most lipases are the ability to catalyze enzymatic interesterification reactions rearranging a triglyceride molecule, as well as those of transesterification between oily compounds, alkyl or aryl esters, and alcohols. Lipases can also be used to accelerate the degradation of fatty residues and polyurethane (TAKÓ et al., 2017).

From the industrial point of view, lipases are considered very important due to their catalytic properties and easy production on a large scale. The lipases can be produced by several microorganisms such as *Bacillus* sp., *Candida rugosa*, *Candida antarctica*, *Burkholderia cepacia*, *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Rhizomucor miehei* among others (SOUZA et al., 2013; CARVALHO et al., 2015).

Thermophilic fungi are important microorganisms producing thermostable enzymes that can be used in temperature bioprocesses. For a long time, *R. miehei* as a thermophilic fungus has been used mainly as a producer of proteases and industrial lipases. The aspartic protease produced by *R. miehei* has been widely used as a substitute for calf chymosin in industrial cheese manufacturing. However, *R. miehei* lipases are quite studied and commercially available in the soluble and immobilized forms, with very high activity and good stability (Morgenstern et al., 2012; ZHOU et al., 2014).

The extracellular lipase enzyme (EC 3.1.1.3) from *Rhizomucor miehei* (RML) was first described in the 1970s and, in subsequent years, has been reported for its application in the food industry. This lipase is a highly versatile biocatalyst, also widely used in the agrochemical industry, in the field of biodiesel, biofuel, as well as in the pharmaceutical industry. However, the application of RML in industries is still limited due to its high price (HE et al., 2015; LI et al., 2016).

*Rhizomucor miehei* lipases are extracellular proteins of fungal origin constituted of 269 amino acids having a molecular mass of 31.6 kDa and an isoelectric point (pI) of 3.8 (HE et al, 2015;. Rodrigues; Fernandez Lafuente, 2010). Nevertheless, in the studies of ZHOU et al. (2014), the molecular mass of *R. miehei* was estimated to be approximately 55 kDa by means of the SDS-PAGE type of electrophoresis. In the case of filamentous fungi, the molecular mass of lipases generally ranges between 25 and 70 kDa.

The catalytic sites of the *R. miehei* lipase are formed by the residues of serine 144, histidine 257 and aspartate 203 amino acids. The backbone of serine 82 and leucine 145 residues constitute the “oxyanion cavity”. The hydrophobic lid region (lid) consists of amino acids residues ranging from position 85 to position 91 (OLIVEIRA et al., 2018).

Currently, this enzyme is marketed in a soluble form (Palatase 200L) or in an immobilized form (Lipozyme RM IM) by manufacturers such as Sigma and Novozymes (OLIVEIRA et al., 2018). There is still a great potential for the improvement of RML’s performance. In addition to this, the cost of this enzyme itself corresponds to the majority (more than 90%) of the total costs of the enzymatic process. Thus, the challenge in the field of research is to increase the expression of this enzyme and to reduce its production costs (HE et al., 2015).

The immobilized form of *R. miehei* lipase is especially attractive in biotechnological processes in order to meet the requirements for industrial application, such as reactions of biotransformation. The improvement of catalytic efficiency leads to an increase in the value added in the face of the principles of green chemistry and sustainability (CARVALHO et al., 2015).

In addition, in comparison to *R. miehei* free lipase, the immobilized lipase has a good capacity for reuse and stability, resulting in cost savings (LI et al., 2016).

Enzymatic immobilization may be defined as: enzymatic molecules confined to a solid matrix/support other than that in which the substrate or products are present. That is, by binding the enzymes or inserting them into a suitable carrier material. Various materials may be used as a support to immobilize the enzymes, but inert polymers and inorganic materials are commonly used. The ideal carrier must be of a low cost, inert, stable, exhibiting physical strength, capacity to increase enzyme specificity, capacity to reduce product inhibition and to prevent non-specific adsorption and bacterial contamination (SIRICHA, VL et al., 2016).

The physical, chemical and morphological modifications of the carriers, by means of the application of additives, can produce immobilized biocatalysts with higher catalytic efficiency due to the minimization of the diffusional effects of substrates and products during the reaction, besides the improvement of the operational stability in continuous and discontinuous processes, and, for this reason, it also arouses the industrial interest for these biocatalysts (CARVALHO et al., 2015 , OLIVEIRA et al., 2018).

The current methods of enzymatic immobilization can be divided into three categories: chemical interaction (adsorption, ionic bonds, covalent bonds), physical retention (encapsulation) and cross-linking binding (SANTOS et al., 2014).

Because of the advantages provided, the application of *Rhizomucor miehei* lipase in its process of immobilization and molecular characterization has become a very promising field of research in the world market. In the present work, a review and scientific prospecting study was carried out in order to map the existing

publications in the area and analyze the perspectives on the subject.

## 2 | MATERIAL AND METHODS

In the present study a literature review was carried out to identify researches that used molecular biology techniques and the *Rhizomucor miehei* lipase immobilization process.

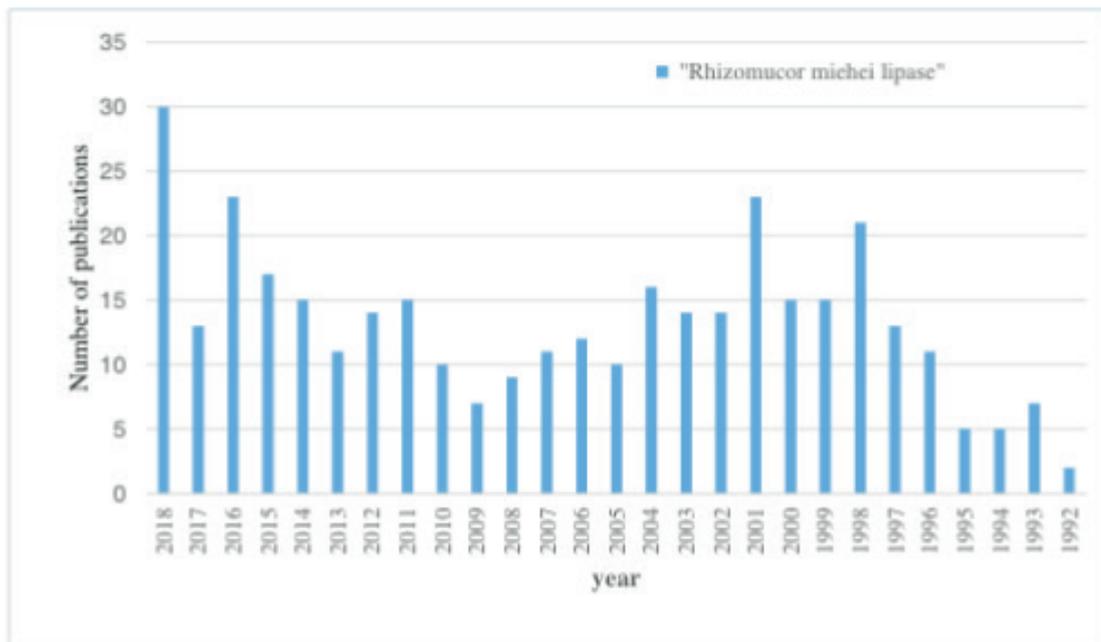
The scientific prospection was carried out from October 2018 to January 2019, through searches on articles databases in the Web of Science, Scopus, Scientific Electronic Library Online (SciELO) and Capes periodicals portals.

The searched terms were chosen based on keywords that frequently appear in articles related to the area and in evaluating the relevance of the results of previously searched terms. The keywords searched were “*Rhizomucor miehei* lipase”, “*Rhizomucor miehei* lipase and Immobilization”, “*Rhizomucor miehei* and lipase immobilized and molecular characterization or molecular biology” among others. All the terms were used for the international databases and their respective translations in Portuguese were used for the searches in the Brazilian database. The expressions were selected so that they varied from more general terms to more specific terms, in order to compare and map the scientific and technological productions of effluent treatment with other applications of lipase enzymes.

Inclusion criteria was defined as: articles published between 1992 and 2018, since initial surveys identified that in the period prior to 1992 there is a shortage of articles that describe in greater detail the molecular characterization and immobilization of *R. miehei* lipase. Finally, the scientific works, where more accurate expressions were detected, were organized based on the countries of origin and also on the temporal distribution of their publications.

## 3 | RESULTS AND DISCUSSION

The publication of articles is a means of democratizing science and reveals to society the scientific content of research being carried out by groups, institutions and companies; which allows other scientists to use it and evaluate it on other aspects (BROFMAN, 2012). Interest in fungal lipase can be assessed by the increasing number of articles published and indexed in the Web of Science database. The results of the bibliometric analysis for the search for the keyword “*Rhizomucor miehei* lipase”, in the last 27 years, are presented in Figure 1.



**Figure 1:** Evolution of the number of records of articles published in Web of Science on the keywords “*Rhizomucor miehei* lipase”, from the period from 1992 to 2018.

Source: Own authorship (2019).

According to Figure 1, publications for the general topic “*Rhizomucor miehei* lipase” increased by 91.06% in the year 2018, in which it evolved from 2 manuscripts in the year 1992 to 356 articles published by 2018.

After analyzing the documents, it was found that the United States and China had the largest number of publications on *Rhizomucor miehei* lipase (Figure 2), with 40 and 39, respectively, representing about 21.94% of all publications.

Considering only the publications with authors and co-authors of Brazilian institutions, Brazil will be in the 12th place in the list of countries with publications in the topic “*Rhizomucor miehei* lipase”, with 16 (4.44%) articles published until this year.

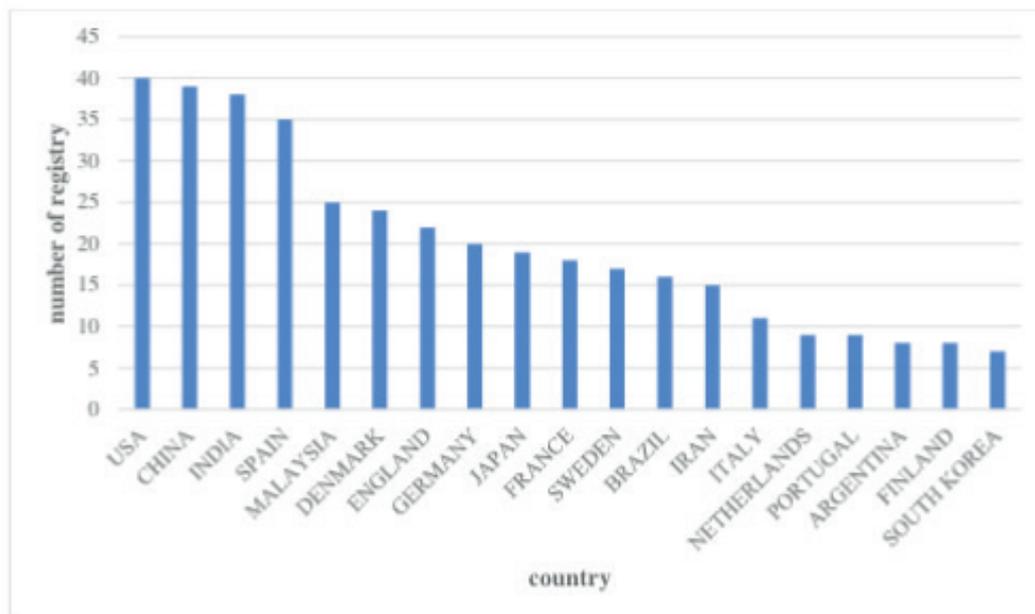


Figure 2: Participation of countries with the largest number of articles publications related to *Rhizomucor miehei* lipase in the Web of Science, from 1992 to 2018.

Source: Own authorship (2019).

Scientific publications in indexed journals generate recognition and a higher rate of approval of projects by the development agencies, especially with regard to research in Brazil. However, in addition to publishing results to disseminate knowledge to society, the researcher must ensure the protection of research and the availability of its results as assets for society (Giese et al., 2010; Federman 2010).

#### **Scientific prospection of the molecular characterization of *Rhizomucor miehei* lipase in free and immobilized form**

In analyzing the results for molecular characterization of lipase, it is possible to observe the difference in the number of scientific productions when compared to the term “*Rhizomucor miehei* lipase” with the term “*Rhizomucor miehei* lipase and molecular characterization OR molecular biology” (Table 1), using the Boolean operators properly in the journals database of Scopus, Capes Periodical, Scielo and Web of Science. The Capes Online Journals platform holds the largest number of publications for both terms.

KEYWORDS	JOURNALS DATABASE			
	PERIODIC CAPES	WEB OF SCIENCE	SCIELO	SCOPUS
“Rhizomucor miehei lipase”	1025	360	1	307
“Rhizomucor miehei lipase” and immobilization and molec- ular	293	4	0	9
“Rhizomucor miehei lipase” and immobilization and “mo- lecular biology”	37	0	0	0
“Rhizomucor miehei lipase” and immobilization	361	68	0	87
“Rhizomucor miehei lipase” and (“molecular characteriza- tion” OR “molecular biology”)	90	2	0	1
<b>Total</b>	<b>1806</b>	<b>434</b>	<b>1</b>	<b>395</b>

Table 1. Number of articles published on lipase on free and immobilized form *Rhizomucor miehei* and its relationship with molecular biology in the journal databases, from 1992 to 2018.

Source: Own authorship (2019).

Considering *R. miehei* free form, the keyword “*Rhizomucor miehei* lipase”, according to table 1, the Capes Online Journals platform (1025) is the one with the largest number of publications, followed by the Web of Science (360) and Scopus (307). However, the keywords “*Rhizomucor miehei* lipase” and “Immobilization” show that for immobilized lipase presents a smaller number of publications on the Capes Online Journals platform (361), Web of Science (68) and Scopus (87).

And, by relating the terms “*Rhizomucor miehei* lipase” and immobilization and “molecular biology” (table 1), it can be seen that Capes Journal is the only database that holds 37 publications. Demonstrating few published papers showing the relationship in the area of molecular biology with this lipase immobilized. Also considering the term “*Rhizomucor miehei* lipase” and “molecular characterization OR molecular biology”, Capes Journal (90) again holds the largest number of publications, followed by Web of Science (2) and Scopus (1). As for the Scielo database, this is the least that provides information about *Rhizomucor miehei* lipase (only 1 scientific article). It is noteworthy that this represents a small amount of scientific articles that involve the molecular characterization of this lipase.

By relating the term “*Rhizomucor miehei* lipase” with molecular biology techniques, it was found that Polymerase Chain Reaction (PCR) was the most endowed in the research, and a total of 58 published articles distributed among the four databases (Table 2).

KEYWORDS	JOURNALS DATABASE			
	PERIODIC CAPES	WEB OF SCIENCE	SCIELO	SCOPUS
“ <i>Rhizomucor miehei</i> lipase” and “electrophoresis”	3	3	0	9
“ <i>Rhizomucor miehei</i> lipase” and “Polymerase chain reaction”	54	1	0	3
“ <i>Rhizomucor miehei</i> lipase” and “Reverse transcriptase Chain Reaction”	0	0	0	0
“ <i>Rhizomucor miehei</i> lipase” and “PCR Multiplex”	0	0	0	0
“ <i>Rhizomucor miehei</i> lipase” and “Restriction fragment length polymorphisms”	0	0	0	0
“ <i>Rhizomucor miehei</i> lipase” and “Molecular Markers”	2	0	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>59</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>12</b>

Table 2: Total number of articles published on the key word *Rhizomucor miehei* lipase and its relationship with molecular methods on the basis of journals, from 1992 to 2018.

According to table 2, the Capes Online Journals Platform (59) is the one that holds the largest number of publications, for all the terms researched.

The Polymerase Chain Reaction (PCR) technique uses an enzyme called DNA polymerase capable of producing multiple copies of double-stranded DNA molecules and involves repeating a three-step cycle: denaturation, annealing, and synthesis. PCR is considered a sensitive and specific technique and made possible the analysis and detection of DNA from any organisms, even from small amounts. By allowing large amounts of DNA copies to be obtained from genes of interest, PCR became a technique of great importance in different areas (Hepp and Nonohay 2016).

Second, according to table 2, the technique most used in lipase *R. miehei* searches is electrophoresis, and a total of 15 published articles were distributed among three databases (Capes Journal, Web of Science and Scopus).

Electrophoresis is a molecular technique that allows visualization of DNA by separating molecules based on their size through an electric field. In this method, the DNA is applied to a gel formed by a polymer (agarose or polyacrylamide) and a buffer (chemical solution capable of transmitting electricity and keeping the constant pH). Due to the electronegative character, when submitted to an electric current, the DNA is attracted to the positive pole, migrating through the gel. The smaller the molecule, that is, fewer nucleotides, the faster the migration will be and the DNA will travel a greater distance inside the gel. In this way, the electric current separates DNA molecules by size, from the smallest to the largest. Molecules of the same size migrate together, stopping at the same position on the gel and forming a region called a band, visible through dyes that bind to DNA (Hepp and Nonohay 2016).

It is worth mentioning that the relationship of this lipase with the Reverse

Transcriptase Chain Reaction, PCR Multiplex and Restriction fragment length polymorphisms (Table 2) techniques, was not cited in any database. This shows that, until now, the application of these techniques in molecular studies of this lipase is nonexistent.

As for the Scielo database, it does not provide information on *Rhizomucor miehei* lipase with the respective molecular techniques.

## 4 | CONCLUSION

The results of the prospection showed that there is still few researches focusing on the relationship between molecular biology and the lipase immobilization process. However, there was a percentage of growth from 1988 to 2018 in the researches with the theme “*Rhizomucor miehei* lipase”, these results show trend and perspectives of growth of the number of publications for the future. Brazil is in the ranking of the countries that publish the most about this fungal lipase, characterizing the great potential in biodiversity and biotechnology that this country presents.

## ACKNOWLEDGMENTS

To the Foundation for Research and Scientific and Technological Development of Maranhão (FAPEMA) for the financing and granting of the doctoral scholarship.

## REFERENCES

- CARVALHO, N. B.; LIMA, A.S.; SOARES, C. M. F. Uso de sílicas modificadas para imobilização de lipases. **Quim. Nova**, v.38, n.1, p.399-409, 2015.
- CONTI, R.; RODRIGUES, J. A. R.; MORAN, P. J. S. Biocatálise: avanços recentes. **Quim. Nova**, v.24, n.1, p.672-675, 2001. doi: 10.1590/S0100-40422001000500014
- FEDERMAN SR. Publicar ou depositar a patente? **Conhec Inov** [online] 6:48-49, 2010.
- GIESE, E. C. Biocatalisadores imobilizados: prospecção de inovações tecnológicas na última década immobilized biocatalysts: prospect of technological innovations in the last decade. **Revista GEINTEC**, v.5, n.1, p.2296-2307, 2015. doi: 10.7198/S2237-0722201500030007
- HE D, LUO W, WANG Z, LV P, YUAN Z. Combined use of *GAP* and *AOX1* promoters and optimization of culture conditions to enhance expression of *Rhizomucor miehei* lipase. **J Ind Microbiol Biotechnol.**, v.42, p.1175-1182, 2015. doi: 10.1007/s10295-015-1633-6.
- IUBMB - International Union of Biochemistry and Molecular Biology (2013). Disponível em: [www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/](http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/). Acesso em: 11 nov. 2018.
- LI, K.; PAN, D.; FAN, Y.; HE, Y.; ZENG, L.; XU, L.; YAN, Y. *Rhizomucor miehei* Lipase Immobilized on Macroporous Resin and its Application in Biodiesel Synthesis. **Insights Enzyme Res.**, v.1, n.1, p.1-9, 2016. doi: 10.21767/2573-4466.100001

- LOPES, D. B.; FRAGA, L. P.; FLEURI, L. F.; MACEDO, G. A. Lipase and esterase - to what extent can this classification be applied accurately? **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.31, p.608-613, 2011.
- MORGENSTERN, I.; POWLOWSKI, J.; ISHMAEL, N.; DARMOND, C.; MARQUETEAU, S.; MOISAN, M. C.; QUENNEVILLE, G.; TSANG, A. A molecular phylogeny of thermophilic fungi. **Fungal Biol.**, v.116, p.489–502, 2012.
- OLIVEIRA, U. M. F.; LIMA DE MATOS, L. J. B.; DE SOUZA, M. C. M.; PINHEIRO, B. B.; SANTOS, J. C. S.; GONÇALVES, L. R. B. Effect of the Presence of Surfactants and Immobilization Conditions on Catalysts' Properties of *Rhizomucor miehei* Lipase onto Chitosan. **Appl Biochem Biotechnol**, v.184, p.1263-1285, 2018. doi: 10.1007/s12010-017-2622-1.
- RODRIGUES, R. C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Lipase from *Rhizomucor miehei* as an industrial biocatalyst in chemical process. **J Mol Catal B Enzym.**, v.64, p.1–22, 2010.
- SANTOS, B. L.; TAKAHASHI, G. S.; FLEURI, L. F.; PEDROSA, V. A. Artigo Revisão Diferentes técnicas de imobilização enzimática para obtenção de catalisadores. **Trend Biosci Biotechnol.**, v.1, p.16-21, 2014.
- SENAI. Revista Processos Químicos. Goiânia: SENAI/DR. v.3. Gerência de Educação Profissional/ Faculdade de Tecnologia SENAI Roberto Mange. 2009.
- SIRICHA, V. L.; JAIN, A.; JAIN, A. Enzyme immobilization: An overview on methods, support material, and applications of immobilized enzymes. **Advances in Food and Nutrition Research**, v.79, p.79-211, 2016. doi: 10.1016/bs.afnr.2016.07.004.
- SOUZA, R. L.; FARIA, E. L. P.; FIGUEIREDO, R. T.; FREITAS, L. S.; IGLESIAS M, MATTEDI S, ZANIN GM, SANTOS OAA, COUTINHO JAP, LIMA AS, SOARES, C. M. F. Protic ionic liquid as additive on lipase immobilization using sol-gel. **Enzyme Microb Technol**, v.52, p.141-150, 2013.
- TAKÓ, O. M.; KOTOGÁN, A.; PAPP T, KADAIKUNNAN S, ALHARBI NS, VÁGVÖLGYI C. Purification and Properties of Extracellular Lipases with Transesterification Activity and 1,3-Regioselectivity from *Rhizomucor miehei* and *Rhizopus*. **J Microbiol Biotechnol.**, v.27, p.277–288, 2017. doi:10.4014/jmb.1608.08005.
- VASCONCELLOS, A.; BERGAMASCO, J.; MILLER, A. H.; SILVA, D. A.; MORAES, R. F.; ARANDA, D. A. G.; NERY, J. G. Potential new biocatalysts for biofuel production: the fungal lipases of *Thermomyces lanuginosus* and *Rhizomucor miehei* immobilized on zeolitic supports ion exchanged with transition metals, **Microporous and Mesoporous Materials**, v.214, p.166-180, 2015. doi: 10.1016/j.micromeso.2015.05.007.
- ZHOU, P.; ZHANG, G.; CHEN, S.; JIANG, Z.; TANG, Y.; HENRISSAT, B.; YAN, Q.; YANG, Q.; CHEN, Q. F.; ZHANG, B.; DU, Z. Genome sequence and transcriptome analyses of the thermophilic zygomycete fungus *Rhizomucor miehei*. **BMC Genomics** v.15, p.294, 2014. doi: 10.11.

## TRANSMISSÃO E IMPORTÂNCIA DE STAPHYLOCOCCUS COAGULASE NEGATIVA RESISTENTE A METICILINA

### **Nahara Cralcev Maróstica**

Universidade São Francisco  
Bragança Paulista– São Paulo

### **Álex Aparecido Rosini Silva**

Universidade São Francisco  
Bragança Paulista– São Paulo

### **Natália Reiko Sato Miyasaka**

Universidade São Francisco  
Bragança Paulista– São Paulo

**RESUMO:** *Staphylococcus* coagulase negativa (CoNS) presentes na microbiota anfibiônica de mucosas e na pele são oportunistas típicos de infecções nosocomiais principalmente em meio hospitalar devido a associação de corpos estranhos internos ou implantados, produzindo biofilmes, transmitidos através de procedimentos médicos. Foram testadas 29 amostras isoladas a partir da coleta de mãos de estudantes (CAAE: 66315317.3.0000.5514) que apresentaram crescimento em meio Ágar manitol salgado após incubação a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas. Posteriormente, foi realizado teste de sensibilidade a antibióticos, por disco difusão, de penicilina 10U e cefoxitina 30 $\mu\text{g}$ , método laboratorial indicado pelo CLSI para detecção de linhagens resistentes a meticilina. Todas as amostras foram submetidas a testes de catalase e coagulase em tubos. Foi

detectada a resistência para penicilina em 10 amostras (40%) de CoNS e 3 amostras (75%) de *Staphylococcus* coagulase positiva. Porém para cefoxitina a resistência ocorreu em 1 amostra (3,44%) de CoNS. Todas as 29 amostras foram catalase positivas, sendo 25 amostras Coagulase Negativa e 4 amostras foram Coagulase Positiva. *Staphylococcus* resistente a Meticilina foi Coagulase Negativa denominada MRCoNS que indica possível transmissão de bactéria resistente pelas mãos de estudantes, futuramente profissionais da Saúde. Sendo a meticilina um antibiótico semi-sintético, a resistência a este tipo de antibiótico dificulta o tratamento de infecções principalmente de pacientes internados em UTI, geralmente envolvidos em sepse neonatal.

**PALAVRAS-CHAVE:** Estafilococos, resistente, antimicrobianos.

### TRANSMISSION AND IMPORTANCE OF STAPHYLOCOCCUS COAGULASE NEGATIVE RESISTANT TO METHICILLIN

**ABSTRACT:** *Staphylococcus* Coagulase Negative (SCoN) present in the amphibiotic microbiota mucosal and skin are typical opportunistic common in nosocomial infections mainly in the hospital environment due to the association of internal foreign bodies or implanted, producing biofilms, transmitted

through medical procedures. 29 isolated sample were collected and tested from students hands (CAAE: 66315317.3.0000.5514) which presented grew on mannitol salt agar after incubation at  $36 \pm 1$  ° C for 24 hours. Subsequently, an antibiotic sensitivity test was performed, by disk diffusion, of penicillin 10U and cefoxitin 30µg, a laboratory method indicated by CLSI to detect methicillin resistant strains. All samples were submitted to catalase and coagulase tests in tubes. Resistance to penicillin was detected in 10 samples (40%) of SCoN and 3 samples (75%) of Staphylococcus Coagulase Positive. However for cefoxitin the resistance occurred in only 1 sample (3.44%) of SCoN. All 29 samples were catalase positive, 25 Coagulase Negative samples and 4 Coagulase Positive samples. Staphylococcus resistant to methicillin was negative coagulase called MRCoNS indicating possible transmission of bacteria resistant the hands of students, in the future, health professionals. Being methicillin a semi-synthetic antibiotic the resistance to such antibiotics complicates treatment of mainly patients infections hospitalized in ICU, generally involved in neonatal sepsis.

**KEYWORDS:** Staphylococcus, resistant, antimicrobials.

## 1 | INTRODUÇÃO

*Staphylococcus* coagulase negativa (CoNS) presente na microbiota anfibiônica de mucosas e pele, são oportunistas típicos de infecções nosocomiais, apresentam grande habilidade em formação de biofilmes (ROSA et al., 2009), conferindo proteção ao microrganismo e capacidade de adesão a superfícies abióticas, particularmente associados ao uso de corpos estranhos internos ou implantados transmitidos em procedimentos médicos e de enfermagem (BECKER et al., 2014).

As fontes que favorecem a resistência de *Staphylococcus sp.* são decorrentes de indicações médicas precoces no uso de drogas, a interrupção da terapêutica e a higienização inadequada de profissionais da saúde contribuindo para propagação intra e inter hospitalar. Deve-se ter condescendência que CoNS é multirresistente, inclui à penicilina, meticilina/oxacilina, eritromicina, clindamicina, gentamicina, quinolonas, tetraciclina, cloranfenicol e trimetoprim/sulfametoxazol (ÖHMAN et al., 2004).

O Ministério da Saúde em 1998 instituiu o anexo IV na Portaria MS 2616/98, o qual instrui sobre o programa de controle de infecções nos estabelecimentos de assistência à saúde no país. A mão é o principal meio de transmissão de microrganismo através de contato direto com a pele, além de possuir dois tipos de população de microrganismos, microbiota resistente a qual é mais difícil ser removida por lavagem mecânica das mãos e a microbiota transitória, superficial na pele sendo capaz de removê-la com higienização mecânica (BRASIL, 1998).

Devido ao *Staphylococcus sp.* ser oportunista iria afetar aqueles com suscetibilidade, portanto a identificação prévia das cepas nas mãos de estudantes ou profissionais da saúde, indica um dos maiores meios de transmissão e evolução

genética destes microrganismo já que proporciona a propagação intra e inter hospitalar, assim é primordial a maior preocupação e atenção aos CoNS.

## 2 | OBJETIVO

Ressaltar o risco dos MRCoNS que atuam como depósito de determinantes de resistência a antibióticos que viabiliza a transmissão para comensais e outros patógenos dificultando o tratamento de infecções principalmente em UTI neonatal.

## 3 | MÉTODOS

Foram testadas 29 amostras isoladas a partir da coleta de mãos de acadêmicos da saúde (CAAE: 66315317.3.0000.5514) da Universidade São Francisco campus de Bragança Paulista-SP que apresentaram crescimento em meio Ágar manitol salgado após incubação a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas.

Posteriormente foi realizado o teste de sensibilidade com discos difusão de penicilina (10U) e cefoxitina (30 $\mu\text{g}$ ), para identificação de linhagens resistentes, MRCoNS, método laboratorial indicado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S23. A fim de comprovar sua resistência a penicilina e cefoxitina foram medidos os halos através do diâmetro total da zona de inibição em torno do disco conforme as medidas expostas na Tabela 1.

Amostras	Antibióticos	
	Penicilina 10U	
Staphylococcus sp.	S	R
	$\geq 29\text{mm}$	$\leq 28\text{mm}$
	Cefoxitina 30 $\mu\text{g}$	
	S	R
CoNS	$\geq 25\text{mm}$	$\leq 24\text{mm}$
Staphylococcus aureus	$\geq 22\text{mm}$	$\leq 21\text{mm}$

Tabela 1: Halos em diâmetros para resistentes a penicilina e cefoxitina

Todas as amostras foram submetidas a teste de catalase conforme, utilizando uma gota de peróxido de hidrogênio 3% (CLSI, 2013), bem como teste de coagulase em tubo, isolados suspensos em caldo BHI, incubados por 24 horas a  $35^\circ\text{C}$ , distribuídos em tubos estéreis com plasma, permanecendo em banho maria por 4 horas a  $35^\circ\text{C}$  (BRASIL, 2013).

## 4 | RESULTADOS

Obteve-se do teste de coagulase, 25 *Staphylococcus sp.* coagulase negativa e 4 *Staphylococcus aureus* de 29 amostras isoladas, então submetidos a teste de disco de difusão a partir da medida do diâmetro de resistência, penicilina resistente  $\leq 28\text{mm}$  e cefoxitina resistente  $\leq 24\text{mm}$  (CLSI, 2013).

Resultados	N	%
Total de Amostra	29	100%
Sensíveis	18	56,56%
Resistentes à penicilina	10	40%
MRCoNS	1	3,44%

Tabela 2. Suscetibilidade de *Staphylococcus coagulase negativa* aos antibióticos.



Imagem 1. Resultado da *Staphylococcus sp.* resistente a penicilina e cefoxitina.

A identificação de resistência à penicilina ocorreu em 40% (n=10) das amostras para *Staphylococcus sp.* (Tabela 1) a partir desta análise observou que ocorreu em 3,44% (n=1) a resistência à cefoxitina (Imagem 1), identificando-a por MRCoNS devido ao diâmetro dos halos.

## 5 | CONCLUSÃO

Diante da cepa resistente a penicilina e cefoxitina denominada MRCoNS indica multirresistência a várias categorias. Há genes presentes nestes tipos de cepas como o gene *blaZ*, o qual produz a enzima extracelular beta-lactamase e o gene *mecA*, um complexo gênico móvel capacitado em codificar a proteína ligante a penicilina PBP2 e promover troca de resistências possibilitando a outros microrganismos este benefício.

A ampliação de microrganismos resistentes a antimicrobianos, dificulta o

tratamento de infecções principalmente de pacientes internados com suscetibilidade a infecções.

## REFERÊNCIAS

BECKER et al. **Coagulase-Negative Staphylococci**. Journals.ASM.org, v.27, nº4, p. 870-926, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria nº 2616, de 12 de maio de 1998. **Estabelece diretriz e normas para a prevenção e o controle das infecções hospitalares**. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil. Brasília, 13.mai. 1998.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. **Módulo 6 : detecção e identificação de bactérias de importância médica**. Brasília: Anvisa, 2013.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.

ÖHMAN et al. **Multiresistant coagulase-negative staphylococci disseminate frequently between intubated patients in a multidisciplinary intensive care unit**. Critical Care, v. 8, nº 1, p. R42-R47, 2004.

ROSA et al. **Detecção do gene mecA em estafilococos coagulase negativa resistentes à oxacilina isolados da saliva de profissionais da enfermagem**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.42, nº 4, p.398-403, 2009.

## USO DE TANINO, ÓLEOS FUNCIONAIS E FRACIONANDO DE LEVEDURAS COMO SUBSTITUTOS DA VIRGINIAMICINA EM GRÃOS INTEIROS DE MILHO

### **Marcelo Penha Silva**

Universidade Estadual de Goiás, Faculdade de Zootecnia e Medicina Veterinária, São Luís de Montes Belos – GO

### **Wallace Vieira da Silva**

Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Goiânia - GO

**RESUMO:** O presente estudo avaliou o desempenho de alguns produtos naturais em comparação com a virginiamicina para que se possa substituir essa molécula sintética, na dieta de bovinos. Os produtos são: Tratamento 1 – 25 mg de virginiamicina/kg de MS da ração; tratamento 2 – 1,5 g de tanino/kg MS da ração; tratamento 3 – 1,5 g de tanino mais 150mg de óleos essenciais / kg MS da ração; tratamento 4 – 150mg de óleos essenciais/kg MS da ração e tratamento 5 – 7g/cabeça dia, de fracionado de levedura, na MS da ração. Foi realizada uma adaptação, por 15 dias, antes do confinamento com feno a vontade, sendo inseridas a cada 2 (dois) dias 500g de ração até a completa retirada do volumoso. Todas as manhãs, 7h foram fornecidas as rações para os bois, na proporção de 2% do peso vivo. As sobras foram pesadas e a ração fornecida também. Foram avaliados pH do fluído ruminal, degradação in situ. 24h, nitrogênio ureico no sangue, amido

fecal, alimentos e sobra. Foi utilizado análise estatística SAS 9.0 com variáveis com medidas no tempo para comportamento ingestivo, pH do fluído ruminal e nitrogênio ureico no sangue. Variáveis sem medidas repetidas no tempo para consumo médio de matéria seca, amido fecal e degradação in situ. Significância declarada para  $P < 0,05$  e tendência declarada quando  $P < \text{ou} = 0,10$ . Entre todas as análises só houve efeito significativo na degradação in situ da matéria seca do farelo de soja, na associação virginiamicina x óleos essenciais sendo  $P = 0,01$ .

**PALAVRAS-CHAVE:** Substituição. Produtos. Tratamento. Nitrogênio. pH.

### USE OF TANNER, FUNCTIONAL OILS AND FRACTIONING OF YEAST AS SUBSTITUTES OF VIRGINAMYCIN IN WHOLE CORN GRAINS

**ABSTRACT:** The present study evaluated the performance of some natural products in comparison to virginiamycin in order to replace this synthetic molecule in the bovine diet. The products are: Treatment 1 - 25 mg of virginiamycin / kg of dietary DM; treatment 2 - 1.5 g tannin / kg DM of feed; treatment 3 - 1.5 g of tannin plus 150 mg of essential oils / kg DM of feed; treatment 4 - 150mg of essential oils / kg DM of the ration and treatment 5 - 7g / day,

day of fractionation of yeast, in the MS of the ration. An adaptation was made, for 15 days, before confinement with hay at will, being inserted every 2 (two) days 500g of ration until the complete removal of the roughage. Each morning at 7 am the rations for the steers were given, at the rate of 2% of the live weight. Leftovers were weighed and ration provided as well. Ruminal fluid pH was evaluated in situ degradation. 24h, urea nitrogen in the blood, fecal starch, food and leftovers. Statistical analysis SAS 9.0 was used with variables with time measurements for ingestive behavior, ruminal fluid pH and urea nitrogen in the blood. Variables without measures repeated in time for average dry matter consumption, fecal starch and in situ degradation. Significance declared for  $P < 0.05$  and stated trend when  $P < \text{or} = 0.10$ . Among all the analyzes, there was only a significant effect on the in situ degradation of the dry matter of soybean meal, in the association virginiamycin x essential oils, being  $P = 0.01$ .

**KEYWORDS:** Substitution. Products. Treatment. Nitrogen. pH.

## 1 | INTRODUÇÃO

O uso de aditivos tem sido associado à suplementação da dieta de bovinos em pastagem ou confinamentos, com o objetivo de melhorar o desempenho produtivo e ou a eficiência alimentar. O efeito primário de alguns aditivos é a melhoria da conversão alimentar e ou ganho em peso, embora benefícios secundários possam ocorrer, tais como: redução da incidência de acidose, coccidiose, timpanismo e abscessos de fígado (NICODEMO, 2002). Em busca de novas descobertas e novas moléculas que apresentem respostas à maximização da produção a indústria de alimentação animal têm investido em pesquisas.

Os aditivos podem ser classificados em: tecnológicos, sensoriais, nutricionais, zootécnicos, anticoccidianos e os beta-agonistas (Sindirações, 2009). O grupo dos aditivos zootécnicos é engloba as enzimas, ácidos orgânicos, os modificadores da flora intestinal, os oligossacarídeos, os promotores de crescimento, os extratos vegetais e óleos funcionais (Sindirações, 2009). No Brasil, o MAPA autoriza na composição de pré-misturas e rações o uso simultâneo de apenas um aditivo antimicrobiano e um aditivo anticoccidiano, não podendo ser utilizado dois promotores de crescimento ao mesmo tempo (MDIC, 2012).

A inclusão de alguns aditivos na alimentação de ruminantes tem a finalidade de alterar a dinâmica fermentativa ruminal, podendo selecionar grupos específicos de microrganismos e permitindo que os alimentos sejam utilizados mais eficientemente (Oliveira *et al.*, 2005). O objetivo é melhorar a conversão alimentar obtendo um melhor ganho de peso, diminuindo o custo de produção e produzir uma carne com maior maciez.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

Para o experimento foram utilizados cinco bovinos com idade média de 3 anos, machos, castrados, mestiços nelore, fistulados no rúmen. Os animais foram alojados em baias individuais cobertas, cimentadas, com dimensões de 1,5 x 2,1 m, equipadas com comedouro e bebedouros individuais. O local das estruturas fica no Campus Samambaia da UFG.

O delineamento utilizado foi o quadrado latino 5 x 5, com cinco períodos experimentais e cinco animais. As durações dos períodos experimentais foram de 21 dias e foram avaliados cinco tratamentos compostos por concentrado proteico contendo: 1 - virginiamicina (25 mg de virginiamicina/kg de MS da mistura); 2 - tanino (1,5 g de tanino/kg de MS); 3 - óleos essenciais (150 mg de óleos essenciais/kg de MS); 4 - tanino mais óleos essenciais (tanino 1,5g/kg de MS mais 150 mg de óleos essenciais/kg de MS) e 5 - fracionado de leveduras (7 g de fracionado de leveduras/cab/dia).

As rações foram compostas por 15% de concentrado proteico contendo os aditivos e 85% grão de milho inteiro. Os animais foram adaptados ao consumo de ração por um período de 15 dias. A oferta inicial 2% do peso vivo mais feno de Tifton 85 à vontade, o aumento da ração de alto grão foi de (+ 0,5 kg) a cada dois dias, até retirada completa do feno da dieta. A ração foi ofertada uma vez ao dia, às 07h00min da manhã. A oferta e a sobras foram monitoradas por meio de pesagens diárias da oferta e das sobras, o ofertado permitiu de 3 a 5% de sobras. O cálculo do consumo médio observado foram os valores encontrados do 15º ao 17º dia dos períodos experimentais.

Amostras da digesta ruminal foram coletadas através das cânulas no 18º e 20º dia dos períodos experimentais. Em uma alíquota o pH foi determinado, imediatamente, após a coleta utilizando pHmetro portátil.

A degradação *in situ* da MS de farelo de soja e milho grão moído grosso foram determinadas em período incubação no rúmen de 24 horas. Foram utilizadas sacolas de TNT de 5x5 cm que foram incubadas em duplicata no rúmen no 17º dia dos períodos experimentais. Em cada sacola foi colocada um grama de alimento que foram adicionadas no rúmen antes da refeição da manhã. As sacolas foram retiradas no 18º dia dos períodos experimentais. Após a retirada das sacolas, estas, foram lavadas e secadas em estufa de ventilação forçada por 48 horas. Após a secagem em estufa as sacolas foram pesadas para cálculo do desaparecimento da matéria seca do alimento.

Para a quantificação do nitrogênio ureico no sangue, foram coletadas amostras sangue da veia jugular no 21º dia dos períodos experimentais. Os horários de coleta foram antes da alimentação da manhã e 2, 6, e 12 horas após a alimentação, em seguida as amostras foram armazenadas em freezer até a centrifugação e coleta do soro que foram feitas em duas etapas, sendo a primeira às 14h e a segunda

às 19h, do mesmo dia da coleta. O soro foi armazenado em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  até a determinação do nitrogênio.

Para determinação da excreção de amido fecal, coletas de fezes foram feitas na ampola retal no 18º e 20º dia dos períodos experimentais, foram feitas duas coletas por dia, foram feitas amostras compostas por animal e armazenadas em freezer para material biológico, posteriormente, foram secadas por 48h em estufa de ventilação forçada. Em seguida foram encaminhadas ao laboratório 3Rlab para determinação do amido fecal. Foi realizada a quantificação do nitrogênio insolúvel em detergente ácido ou alterações no teor de nitrogênio fecal. O teor de amido nas fezes pode variar de 2 a 18%.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi realizada análise de variância com as médias de taxa de consumo de cada tratamento e observou que  $Pr > F$ , onde  $Trt = 0,68$ , logo não houve significância entre os tratamentos.

Observa-se também, que não houve diferença significativa comparando a virginiamicina com os outros tratamentos, assim foi demonstrado que para a taxa de consumo a hipótese foi rejeitada, ou seja, sem diferença entre as comparações. Quando o pH ruminal se eleva ou cai abaixo do intervalo normal, que fica entorno de 6,2 a 6,8 os microrganismos ruminais ficam com dificuldade de digestão e aumenta o tempo de colonização, isso compromete a eficiência da fermentação (VAN SOEST, 1994).

O maior consumo foi no tratamento com o BP, com média de 9,3kg de MN por cab/dia, chegando a ingerir 1,94% do PV com o pH ruminal próximo de 6, evidenciando a menor variância no consumo, entorno de 4,9% do PV da MN, deixando a entender que existia um conforto para permanecer comendo.

O segundo maior consumo foi com o AC, com média de consumo de 8,8kg de MN por cab/dia, ingerindo 1,78% do PV, um pouco menor que no BP, com o pH mais baixo, próximo de 5,82 mostrando um desconforto maior pelo nível de acidez no rúmen. Mesmo assim foi o segundo menor, na variação de consumo, de certa forma pelo conforto ruminal para ingerir a ração. Esse tratamento revelou a maior taxa de consumo de MN / hora, deixando a entender, certa influência de palatabilidade.

O menor coeficiente de variância no consumo foi com o tratamento Bypro, mostrando, estabilidade na ingestão, com o pH próximo de 6 e um consumo de matéria natural 1.94% do PV em MN.

Tratamentos	VG	AC	BP	FA	BA	Pr> F
Consumo de MN, kg/dia	7,4	8,8	9,3	7,4	6,9	Trt = 0,12
Consumo de MN, % PV	1,55	1,78	1,94	1,50	1,38	
CV de consumo, %	27,3	7,1	4,9	25,6	26,8	
pH do fluido ruminal	5,81	5,82	5,98	5,84	6,15	
Taxa de consumo %/h	24,4	30	25,8	20,3	17,1	Trt = 0,68

Tabela 1 – Consumo de matéria natural (MN) da Virginiamicina (VG), Activo Premium – óleos essenciais (AC), Bypro - tanino (BA), Factor SC – fracionado de levedura (FA) e Bypro mais Activo Premium (BA) de acordo com cada tratamento experimental.

PV: PESO VIVO e CV: COEFICIENTE DE VARIAÇÃO

Observando os dados na degradação *in situ* da MS em 24h do milho e farelo de soja, não foi encontrado significância entre os tratamentos em comparação com a virginiamicina. Em relação ao farelo de soja o  $Pr < F$ , onde o TRT = 0,1, logo foi significativo o efeito da virginiamicina para com os óleos essenciais. Grão de milho que passa no intestino, praticamente não tem digestão devido ao pericarpo, o que dificulta a ação das enzimas digestivas (KOZLOSKI, 2011).

Tratamentos	VG	AC	BP	FA	BA	Pr> F
Milho quebrado %	19,1	18,7	19,2	17,4	22,3	Trt = 0,48
Farelo de soja %	52	43,8	53,1	49,8	51,4	Trt = 0,0001

Tabela 2 – Degradação *in situ* matéria seca em 24h da Virginiamicina (VG), Activo Premium (AC), Bypro (BA), Factor (FA) e Bypro mais Activo Premium (BA) de acordo com cada tratamento experimental.

Efeito significativo de Virginiamicina x Activo Premium para farelo de soja.

Observando as médias de pH do fluido ruminal observou-se que não houve efeito significativo entre os tratamentos.

Observando os dados do amido fecal e digestibilidade do amido, não houve efeito significativo.

Tratamentos	VG	AC	BP	FA	BA	Pr> F
Milho quebrado %	19,1	18,7	19,2	17,4	22,3	Trt = 0,48
Farelo de soja %	52	43,8	53,1	49,8	51,4	Trt = 0,0001

Tabela 3 – Amido fecal e digestibilidade do amido da Virginiamicina (VG), Activo Premium (AC), Bypro (BA), Factor (FA) e Bypro mais Activo Premium (BA) de acordo com cada tratamento experimental.

Digestibilidade estimada a partir da equação proposta por Zinnet al, 2007. J.Anin. Sci. 85:1727-1730

Observando os dados do nitrogênio ureico no sangue, não houve efeito significativo nos tratamentos.

Tratamentos	VG	AC	BP	FA	BA	Pr> F
Nitrogênio ureico no soro, mg/dl	13	12,9	13,5	12,6	16,6ns	

Tabela 4 – Nitrogênio ureico no soro, mg/dL dos tratamentos com a Virginiamicina (VG), Activo Premium (AC), Bypro (BA), Factor (FA) e Bypro mais Activo Premium (BA) de acordo com cada tratamento experimental.

Médias da concentração de nitrogênio ureico no soro (mg/dl)

## 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O experimento mostrou efeito não significativo entre os tratamentos, porém evidenciou que é possível utilizar aditivos naturais em substituição a Virginiamicina, pois os resultados em consumo, degradação in situ, pH, amido fecal e nitrogênio no sangue, são bem próximos, assim entendemos que mais pesquisas poderão evidenciar a possibilidade de substituição das moléculas sintéticas, sem perda econômica.

## REFERÊNCIAS

Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.65, n.6, p.1593-1602, 2013

ARAMBEL, M.J.; TUNG, R.S. **Effect of yeasts on the rumen ecosystem**. In: XIX RUMEN FUNCTION CONFERENCE, 9., 1987, Chicago, IL. Proceeding Chicago, 1987.

BELTRAMEN, J.M. **Dieta 100% concentrado com grão de milho inteiro para terminação de bovinos de corte em confinamento**. Dissertação apresentada para Universidade de Tuiuti do Paraná, 2011.

- BERCHIELLI, T.T.; Bertipaglia, L.M.A. Bovinocultura de corte (Volume I): **Utilização de aditivos na produção de bovinos de corte**. FEALQ, Piracicaba, São Paulo, p.295-330, 2010.
- BURT, S. Essential oils: **their antibacterial properties and potential applications in foods-a review**. International Journal of Food Microbiology, v. 94, p. 233-253, 2004.
- CORONA, L.; OWENS, F. N.; ZINN, R. A. **Impact of corn vitreousness and processing on site and extent of digestion by feedlot cattle**. Journal of animal science, 84:3020-3031, 2006.
- DENEV, S.A. et al. **Yeast cultures ruminant nutrition**. Bulgarian Journal of Agricultural Science, Sófia, n.13, p.357-374, 2007.
- FERRÃO, S.P.B., BRESSAN, M.C. **O uso de agentes anabolizantes na produção de carnes e suas implicações**. Vet. Not.,Uberlândia, v. 12, n. 1, p. 69-78, jan.-jun. 2006.
- HASLAN, E. **Chemistry of vegetable tannins**. London: Academic Oress. p. 179, 1966.
- HASLAN, E. **Vegetable tannins** . In: Conn E.E. (9ed.) **The biochemistry of plants**. London : Academic Press, P. 527 – 556,1981.
- HOFFMANN,A.; MORAES, E.H.B.K.; MOUSQUER, C.J.; SIMONI, F. Gomes, J. **Produção de bovinos de corte no sistema de pasto-suplemento no período seco**. Nativa, Sinop, v. 02, n. 02, p. 119-130, 2014.
- KHIAOSA-ard R, ZEBELI Q. **Meta-analysis of the effects of essencial oils and their bioactive compounds on rumen fermenteition characteristics and feed efficiency in ruminants**. J. Anim. Sci 2013; 91:1819-30
- KIMS tandford, PHD, **Development and validation of methodology for NIRS analysis of fecal samples**. Fine tuning fecal starch can cut your feed bill, p. 2, 2015.
- KRAUSE, D. O. et al. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen; microbiology, ecology, and genomics. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, p. 663 – 693, 2003.
- LANNA, D. P. D.; MEDEIROS, S. R, **Uso de aditivos na bovinocultura de corte**. In: Santos, F.A.P.; Moura, J.C.; Faria, V.P. **Requisitos de qualidade na bovinocultura de corte**. Piracicaba: Fealq, 2007, cap. 15, p. 297-324.
- LUND, A. et al. **Yeast and moulds in the bovine rumen**. Journal of General Microbiology, London, v.81, p.453-462, 1974
- MARINO, C. G. G. et al. **Cut and puncture accidents involving health care workers exposed to biological materials**. The Brazilian Journal of Infectious Diseases, Salvador, v. 5, n. 5, p. 235-242, Oct. 2001.
- McSWEENEY, C.A.; PALMER, B.; MCNEILL, D.M.; KRAUSE, D.O. **Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants**. Animal feed Science and Technology, Amsterdam, v.91, p. 83-93, 2001.
- MDIC – Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. **Estudo de Viabilidade Técnica e Econômica** destinado à Implantação do Parque Produtivo Nacional de Aditivos da Indústria de Alimentação de Animais de Produção. p.226, 2012.
- MELLOR, S. **Alternatives to antibiotic**. PigProgress, v.16,18-21, 2000.
- MEZZOMO, R.; PAULINO, P.V.R.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.

MULLER-HARVEY, I.; Mc ALLAN, A.B. **Tannins: their biochemistry and nutritional properties**. London: JAI Press, 1988. P.151-217. (Advances in Plant Cell Biochemistry and Biotechnology, 1).

Nagaraja, T. G.; Titgemeyer, E. C. **Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional**. Journal of Dairy Science, 90:17-38, 2007.

NICODEMO, M.L.F. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001, p. 54 (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1517-3747; 106).

Oliveira, J.S.; Zanine, A.M.; Santos, E.M. 2005. Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111105/110505> - consultada em 10/09/2017.

Pacheco, R. D. L.; Millen, D. D.; DiLorenzo, N.; Martins, C. L.; Marino, C. T.; Fossa, M. V.; Beier, S. L.; Diconstanzo, A.; Rodrigues, P. H. M.; Arrigoni, M. D. B. **Effects of feeding a multivalent polyclonal antibody preparation on feedlot performance, carcass characteristics, rumenitis, and blood gas profile in Bos indicus biotype yearling bulls**. Journal of animal science, 90:1898-1909, 2012.

PAULINO, M.F.; MONNERAT, J.P.I.S.; DUARTE, M.S.; SILVA, L.H.P.; MOURA, L.S. **Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet**. Livestock Science, v.141, n.1, p.1-11, 2011.

OCDE-FAOPerspectivas Agrícolas 2016-2025

POSSENTI, R.A.; FRANZOLIN, R.; SCHAMMAS, E.A. et al. **Efeitos de dietas contendo *Leucaena leucocephala* e *Saccharomyces cerevisiae* sobre a fermentação ruminal e a emissão de gás metano em bovinos**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.37, n.8, p.1509-1516, 2008.

PUBVET. **Mercado de carne bovina no Brasil**. 2015. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/> - consultada em 20/07/2017.

RESTLE, J., et al. Produção animal em pastagens com gramíneas de estação quente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1491-1500, 2002.

Richardson L, Raun A, Potter E, Cooley C, Rathmacher R. Effect of monensin on rumen fermentation in vitro and in vivo. **Journal of Animal Science**. 1976;43(3):657-64.

SARTORI, J. R.; Fascina, V. B.; Carvalho, F. B.; Gonzáles, E. **Atualidades em aditivos: óleos essenciais, prebióticos e probióticos**. In: IX Simpósio Goiano De Avicultura, Anais... Goiânia, 2009.

SHELLING GT. **Monensin mode of action in the rumen**. J Anim Sci. 1984;58(6):1518.

SILVA DG. **Isolamento e caracterização do óleo essencial Da Lippia Alba (Mill) N.E. Brown (erva cidreira) e investigação de atividade biológica**. UFSC. 2008.

Sindirações. **Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal: Guia de aditivos**. p.66, 2009.

VELLUTI, A. SANCHIS, V., RAMOS, A.J., EGIDO, J., MARI, S. **Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain**, International Journal of Animal Science, v. 15, p. 1458, 2003.

VERONSI R., Focaccia R. **Tratado de Infectologia**. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2006.

ZAIA, D.A.M.; ZAIA, C.T.B.V.; LICHTING, J. **Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes**. Química Nova, v.21, p.787-793, 1998.

## **SOBRE A ORGANIZADORA**

**KARINE DALAZOANA:** Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, Ponta Grossa, PR. Especialista em Educação e Gestão Ambiental pelo Instituto de Estudos Avançados e Pós- Graduação, ESAP, Londrina, PR. Especialista em Educação Inclusiva pela Universidade Cidade de São Paulo, UNICID, SP. Especialista em Gestão Educacional pela Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG, Ponta Grossa, PR. Mestre em Gestão do Território, Área de Concentração Gestão do Território: Sociedade e Natureza pela Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, Ponta Grossa, PR. Professora de Biologia do Quadro Próprio do Magistério da Secretaria de Estado de Educação, SEED, PR. Professora Adjunta do Centro de Ensino Superior de Campos Gerais, CESCAGE, Ponta Grossa, PR S

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Ácido kójico 1, 3, 4, 6, 7  
Antimicrobianos 88, 91  
Arboviroses 22, 23, 26, 27, 28  
Aspergillus Flavus 1, 7, 8

### B

Biologia molecular 77

### C

Chrysobalanaceae 59, 60, 61, 62, 65, 68, 69, 70  
Conservação 40, 41, 42, 44, 46, 47, 50, 51, 71, 75, 76  
Contextualização 53, 54, 57, 58  
Crescimento vegetativo 9, 11  
Criadouros 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29

### D

Divulgação científica 40, 44, 45, 48

### E

Educação ambiental 43, 51, 52, 71, 72, 75, 76  
Ensino de biologia 53  
Enzima 2, 7, 77, 91  
Estafilococos 88, 92

### F

Fases larvais 23  
Fauna 40, 41, 44, 47, 49, 50, 51, 52, 63, 74, 76  
Feijão-de-porco 9, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20

### H

Histologia 1, 5, 30, 31, 35, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 96, 100

### I

Ipojuca 22, 23, 24, 25, 27, 28

### L

Licania tomentosa 59, 60, 61, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70

### M

Metabólitos secundários 60, 61, 67  
Métodos de imobilização 77  
Mídias digitais 40  
Modelo de predição NIR 30

## **N**

Nitrogênio 6, 9, 15, 19, 31, 32, 36, 63, 93, 95, 96, 98

## **O**

Oiti 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69

## **P**

Paracetamol 9, 10, 12, 14, 15

Pleurotus Ostreatus 30, 31, 32, 35, 36, 37, 38, 39

Polissacarídeo extracelular 30, 36

Poluentes do solo 9

Preservação 11, 42, 43, 45, 71, 72, 74, 75

Produtos 2, 4, 10, 32, 42, 93

Prospecção 77, 86

## **Q**

Quirópteros 71, 72, 73, 74, 75, 76

## **R**

Remediação ambiental 9

Resistente 61, 65, 88, 89, 91

## **S**

Substituição 2, 93, 98

Suportes 77

## **T**

Tratamento 1, 2, 3, 9, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 33, 35, 57, 59, 62, 88, 90, 92, 93, 96, 97, 98

## **V**

Vetores 22, 23, 24, 26, 27, 28

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-638-6



9 788572 476386