

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Consolidação do Potencial Científico e Tecnológico das Ciências Biológicas

2



Atena
Editora
Ano 2020

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Consolidação do Potencial Científico e Tecnológico das Ciências Biológicas

2



Atena
Editora
Ano 2020

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. 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.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
 Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
 Prof. Dr. Daniel Richard Sant'Ana – Universidade de Brasília
 Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
 Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
 Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
 Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
 Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
 Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
 Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
 Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
 Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
 Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
 Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
 Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
 Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
 Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
 Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
 Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
 Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
 Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
 Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
 Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
 Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
 Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
 Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
 Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
 Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
 Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
 Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
 Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
 Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
 Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
 Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
 Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
 Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
 Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
 Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
 Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
 Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
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. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás

Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
 Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
 Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
 Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
 Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
 Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
 Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
 Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
 Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
 Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
 Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
 Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
 Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
 Prof. Me. Gustavo Krah – Universidade do Oeste de Santa Catarina
 Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
 Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
 Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
 Prof. Me. Javier Antonio Alborno – University of Miami and Miami Dade College
 Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
 Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
 Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
 Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
 Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
 Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
 Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
 Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
 Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
 Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
 Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
 Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
 Profª Drª Livia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
 Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
 Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
 Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
 Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
 Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior

Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Maria Alice Pinheiro
Correção: Kimberly Elisandra Gonçalves Carneiro
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizador: Benedito Rodrigues da Silva Neto

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C755 Consolidação do potencial científico e tecnológico das ciências biológicas 2 / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-649-2

DOI 10.22533/at.ed.492200212

1. Ciências biológicas. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da (Organizador). II. Título.

CDD 570

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos.

APRESENTAÇÃO

A obra “Consolidação do potencial científico e tecnológico das Ciências Biológicas – volume 2” que aqui apresentamos, trata-se de mais um trabalho dedicado ao valor dos estudos científicos realizados pelo campo promissor das Ciências Biológicas.

As Ciências Biológicas constituem uma vasta área de conhecimento com aplicabilidade direta no dia-a-dia da população. O avanço desta área representa inúmeras possibilidades no campo do desenvolvimento social, já que este campo se correlaciona diretamente com a saúde coletiva, educação, pesquisa básica e aplicada dentre outros, já que a Ciências Biológicas é a área que tem como objetivo estudar todos os tipos de vida: flora, fauna, seres humanos e animais, desde a escala atômica até a taxonomia.

A consolidação desta área é ainda fundamental na descoberta de aplicações de organismos na medicina, e seu potencial científico no desenvolvimento de medicamentos e na indústria, em áreas de fabricação de bebidas e de alimentos.

Como principais aspectos temáticos, abordados neste volume, temos os estudos sobre aclimação aquática, biologia experimental, perfil epidemiológico, acidente domésticos, plantas medicinais, coagulação sanguínea, atividade antimicrobiana, fungos, mucosa intestinal, cirurgia bariátrica, ensino-aprendizagem, coleta de resíduos sólidos, gestão pública, Sistemas de Informação geográfica, meio ambiente, políticas públicas, tecnologia, biodiversidade, inovação, fitoterápicos, produtos naturais,

Essa é uma premissa que temos afirmado ao longo das publicações da Atena Editora: evidenciar publicações desenvolvidas em todo o território nacional, deste modo, este e-book da área de Ciências Biológicas tem como principal objetivo oferecer ao leitor uma teoria bem fundamentada desenvolvida pelos diversos professores e acadêmicos de todo o território nacional, maneira concisa e didática.

Desejo a todos uma excelente leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

A IMPORTÂNCIA DA RELAÇÃO FAMÍLIA - ESCOLA - COMUNIDADE NA ESCOLA SÔNIA HENRIQUES BARRETO

Angela Mendes Santos
Luany Jaíne de Araújo Souza
Maria Lucita Garcia Ferreira
Gislany Reis de Moraes
Martana Mara Martins Cunha
Joely Pires Aragão
Kelem Patrícia Marciel de Lima

DOI 10.22533/at.ed.4922002121

CAPÍTULO 2..... 7

ADAPTAÇÃO DE PEIXES AMAZÔNICOS EM AMBIENTE CONTROLADO PARA SEREM UTILIZADOS EM ENSAIOS DE ECOTOXICOLOGIA COMPORTAMENTAL

Daniela Andressa Ferreira Viana
Nataniely Cristina Pinto Pimentel
Soraia Baia dos Santos
João David Batista Lisboa
Milena de Sousa Vasconcelos
Ruy Bessa Lopes
Maxwell Barbosa de Santana

DOI 10.22533/at.ed.4922002122

CAPÍTULO 3..... 15

ANÁLISE DE ACIDENTES DOMÉSTICOS EM CRIANÇAS EM UMA UNIDADE DE PRONTO ATENDIMENTO 24H NO INTERIOR DA AMAZÔNIA

Carlos Eduardo Branches de Mesquita
Aríssia Micaelle Coelho Sousa
Francileno Sousa Rêgo
Línive Gambôa Lima
Adrienne Carla de Castro Tomé
Marcus Matheus Lobato de Oliveira
João Vitor Ferreira Walfredo
Layze Carvalho Borges
Juliana Ferreira da Silva
Ana Caroline de Macedo Pinto
Susan Karolayne Silva Pimentel
Adriele Feitosa Ribeiro

DOI 10.22533/at.ed.4922002123

CAPÍTULO 4..... 25

AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE ANTICOAGULANTE E ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES EXTRATOS DAS PLANTAS *Cordia salicifolia* E *Chrysobalanus icaco* L

Ana Luísa Ferreira Giupponi

Beatriz da Silva Cunha
Marco Túlio Menezes Carvalho
Mateus Goulart Alves
Marlon Vilela de Brito
Sérgio Ricardo Ambrósio
Larissa Costa Oliveira
Pedro Pereira Orsalino
Caio Cesar da Silva Teixeira

DOI 10.22533/at.ed.4922002124

CAPÍTULO 5.....40

**BIOATIVIDADE ANTICOAGULANTE E ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS VEGETAIS
EXTRAÍDOS DA *COPAIFERA PAUPERA* E *COPAIFERA PUBIFLORA***

Marco Túlio Menezes Carvalho
Anna Karolina Pereira de Souza
Daniela Gontijo Tsutake
Ana Luísa Ferreira Giupponi
Beatriz da Silva Cunha
Mateus Goulart Alves
Marlon Vilela de Brito
Sérgio Ricardo Ambrósio

DOI 10.22533/at.ed.4922002125

CAPÍTULO 6.....53

CONTROLE BIOLÓGICO, *IN VITRO*, DE FITOPATÓGENOS DE ESPÉCIES FLORESTAIS

Bruno Rodrigo de Jesus dos Santos
Jéssica Carine do Nascimento de Matos
Rayssa Xavier Rebelo
Katiane Araújo Lourido
Geomarcos da Silva Paulino
Bruna Cristine Martins de Sousa
Thiago Almeida Vieira
Denise Castro Lustosa

DOI 10.22533/at.ed.4922002126

CAPÍTULO 7.....68

**EFEITOS DA DERIVAÇÃO DUODENOJEJUNAL SOBRE A MORFOLOGIA DO DUODENO
EM RATOS OBESOS COM DIETA DE CAFETERIA**

Lia Mara Teobaldo Tironi
Allan Cezar Faria Araujo
Sandra Lucinei Balbo
Marcia Miranda Torrejais
Angelica Soares

DOI 10.22533/at.ed.4922002127

CAPÍTULO 8.....	80
EFEITOS DO EFLUENTE CONTAMINADO COM COMPOSTOS NITROAROMÁTICOS NA INDUÇÃO DE ESTRESSE OXIDATIVO EM <i>AZOLLA SP</i>	
Bruna Durat Coelho Patrícia Carla Giloni-Lima Vanderlei Aparecido de Lima	
DOI 10.22533/at.ed.4922002128	
CAPÍTULO 9.....	90
HERBÁRIOS COMO ESPAÇOS NÃO FORMAIS DE EDUCAÇÃO: A EXPERIÊNCIA DO SAMES NO NORTE DO ESPÍRITO SANTO	
Kamila Jesus de Souza Elisa Mitsuko Aoyama Luis Fernando Tavares de Menezes	
DOI 10.22533/at.ed.4922002129	
CAPÍTULO 10.....	105
MAPEAMENTO DOS PONTOS DE DESCARTE INADEQUADO DE RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS NO BAIRRO CENTRO, BRAGANÇA/PA	
Izabelle Victória Silva Lopes Tiago Cristiano Santos de Oliveira Luiz Antonio Soares Cardoso	
DOI 10.22533/at.ed.49220021210	
CAPÍTULO 11.....	119
OCORRÊNCIA DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS (MNT) EM PRIMATAS NÃO HUMANOS EM SANTARÉM-PARÁ	
Adjanny Estela Santos de Souza Renata Estela Souza Viana Welligton Conceição da Silva Eveleise Samira Martins Canto Maurício Morishi Ogusku	
DOI 10.22533/at.ed.49220021211	
CAPÍTULO 12.....	127
PARASITOFAUNA DO TRATO INTESTINAL DO ACARI-BODÓ (<i>LIPOSARCUS PARDALIS</i>, CASTELNAU 1855) COMERCIALIZADO NAS FEIRAS DE MANAUS	
Suzana da Silva de Oliveira Martins Denise Corrêa Benzaquem	
DOI 10.22533/at.ed.49220021212	
CAPÍTULO 13.....	139
PDDE ESCOLAS SUSTENTÁVEIS COMO INSTRUMENTO DE FINANCIAMENTO PARA A EDUCAÇÃO AMBIENTAL	
José Flávio Rodrigues Siqueira Angela Maria Zanon	
DOI 10.22533/at.ed.49220021213	

CAPÍTULO 14.....	147
PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROBIANA UTILIZANDO O VINHOTO COMO SUBSTRATO	
Amanda Ribeiro Veloso	
Danielle Marques Vilela	
Vitória Caroline Gonçalves Miraglia	
Maricy Raquel Lindenbah Bonfá	
DOI 10.22533/at.ed.49220021214	
CAPÍTULO 15.....	157
PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DA <i>ACHYROCLINE SATUREIODES</i> (LAM.) DC. (MACELA)	
Ana Graziela Soares Rêgo Lobão	
DOI 10.22533/at.ed.49220021215	
CAPÍTULO 16.....	164
PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DA <i>ECHINODORUS GRANDIFLORUS</i> (<i>CHAPÉU-DE-COURO</i>)	
Ana Graziela Soares Rêgo Lobão	
DOI 10.22533/at.ed.49220021216	
CAPÍTULO 17.....	172
PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DA <i>SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS</i> RADDI (ANACARDIACEAE) – AROEIRA VERMELHA	
Ana Graziela Soares Rêgo Lobão	
DOI 10.22533/at.ed.49220021217	
CAPÍTULO 18.....	180
<i>SYZYGIUM CUMINI</i>: UMA PLANTA MEDICINAL COM PROPRIEDADE VASORELAXANTE	
Rachel Melo Ribeiro	
Matheus Brandão Campos	
Carlos José Moraes Dias	
Herikson Araujo Costa	
Raphael Ferreira Faleiro	
Vinícius Santos Mendes	
Gabriel Gomes Oliveira	
Fernanda Maria dos Santos Ribeiro	
Fabio de Souza Monteiro	
Marilene Oliveira da Rocha Borges	
Antonio Carlos Romão Borges	
DOI 10.22533/at.ed.49220021218	
SOBRE O ORGANIZADOR.....	190
ÍNDICE REMISSIVO.....	191

CAPÍTULO 1

A IMPORTÂNCIA DA RELAÇÃO FAMÍLIA - ESCOLA - COMUNIDADE NA ESCOLA SÔNIA HENRIQUES BARRETO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Angela Mendes Santos

IFAP, Graduanda Licenciatura em Ciências
Biológicas
Laranjal do Jari-AP
<http://lattes.cnpq.br/5551808863954119>;

Luany Jaine de Araújo Souza

IFAP, Prof. Mestre Orientadora
Macapá-AP
<http://lattes.cnpq.br/2031246919578580>

Maria Lucita Garcia Ferreira

IFAP, Graduanda Licenciatura em Ciências
Biológicas
Laranjal do Jari-AP
<http://lattes.cnpq.br/3604616190991137>;

Gislany Reis de Moraes

IFAP, Graduanda Licenciatura em Ciências
Biológicas
Laranjal do Jari-AP
<http://lattes.cnpq.br/2349623821906025>

Martana Mara Martins Cunha

IFAP, Graduanda Licenciatura em Ciências
Biológicas
Laranjal do Jari-AP
<http://lattes.cnpq.br/5262203584601936>

Joely Pires Aragão

IFAP, Graduanda Licenciatura em Ciências
Biológicas
Laranjal do Jari-AP
<http://lattes.cnpq.br/1937415565690832>

Kelem Patrícia Marciel de Lima

IFAP, Graduanda Licenciatura em Ciências
Biológicas
Laranjal do Jari-AP
<http://lattes.cnpq.br/5384821735313708>

RESUMO: O trabalho foi realizado na Escola Estadual Professora Sônia Henriques Barreto/Laranjal do Jari/AP. O objetivo foi verificar a importância da relação da família com a escola e a participação da comunidade no processo de ensino-aprendizagem, realizando a relação desses fatores com o desempenho intelectual do aluno, por meio de um levantamento bibliográfico, e em seguida um estudo de campo de caráter descritivo e abordagem qualitativa, baseada na observação, conforme a necessidade e preocupação. A presença dos pais na escola é importante para ajudar a identificar as dificuldades do aluno, existentes dentro e fora da escola. A aproximação da família e comunidade com a escola, em relação ao ensino de Ciências/Biologia é de grande valia, pois relaciona o conhecimento empírico e científico.

PALAVRAS - CHAVE: Escola, Comunidade, Família.

THE IMPORTANCE OF FAMILY - SCHOOL - COMMUNITY RELATIONSHIP AT SÔNIA HENRIQUES BARRETO SCHOOL

ABSTRACT: The work was carried out at the State School Professor Sônia Henriques Barreto / Laranjal do Jari / AP. The objective was to verify the importance of the family's relationship with

the school and the community's participation in the teaching-learning process, making the relationship of these factors with the student's intellectual performance, through a bibliographic survey, and then a field study of descriptive character and qualitative approach, based on observation, according to need and concern. The presence of parents at school is important to help identify the student's difficulties, both inside and outside the school. The approximation of the family and community with the school, in relation to Science / Biology teaching is of great value, since it relates the empirical and scientific knowledge.

KEYWORDS: School, Community, Family.

INTRODUÇÃO

A família tem papel muito importante na parceria com a escola e a comunidade, servindo como ponte para a relação, uma vez que muitos dos alunos de determinada escola moram no mesmo bairro, é de suma importância que a escola abra as portas para que os pais e a população venham participar e acompanhar do desenvolvimento intelectual dos alunos.

Os pais e/ou responsáveis devem se sentir acolhidos pela escola de forma geral, principalmente pelo setor pedagógico formando canais efetivos de comunicação com a escola. Dessa forma, a escola aproxima a população, e cria reconhecimento e reputação positiva junto à comunidade, fortalecendo o serviço realizado pela escola. A comunidade, de certa forma, participa e usufrui dos benefícios oferecidos pela escola.

A qualidade do ensino nas escolas públicas amapaenses é um tema complexo e desafiador. Os futuros docentes precisam debater no meio acadêmico sobre as problemáticas que afligem nosso sistema educacional e propor soluções que possam melhorar o processo ensino-aprendizagem.

Esse estudo buscou evidenciar um trabalho pedagógico de qualidade na escola Sônia Henriques Barreto sobre a importância da relação da família com a escola e a participação da comunidade no processo de ensino-aprendizagem, realizando a relação desses fatores com o desempenho intelectual do aluno. Uma vez que o espaço do entorno da Escola Estadual Prof.^a Sônia Henriques Barreto (EESH) pode influenciar diretamente na relação escola/aluno/família/comunidade. Onde as intempéries relacionadas à ocupação desordenada das margens do rio, assim como o modo de vida da população do local, podem influenciar diretamente nos aspectos comportamentais, e refletir no rendimento escolar do aluno e, conseqüentemente, no processo de ensino-aprendizagem do mesmo.

REFERENCIAL TEÓRICO

Relação Família-Escola-Comunidade

Discutir a educação tem-se tornado algo de suma importância atualmente, com isso o papel de educar torna-se muito pesado para estar só com a escola ou só com a família,

ambos são pontos principais que sustentam o indivíduo. Essa educação partilhada ajuda na construção do caráter do cidadão consciente, que a sociedade busca a cada dia. Temos primeiramente a educação pela família, seguida da escola e refletida na sociedade.

Família e escola são as duas principais instituições que atuam no processo da educação, ambas conduzem o indivíduo para que tenha um futuro próspero. Segundo a Lei de Diretrizes e Bases (1996) no seu Art. 2º, diz que: “a educação, dever da família e do estado, inspirada nos princípios de liberdade e nos ideais de solidariedade humana, tem por finalidade o pleno desenvolvimento do educando, seu preparo para o exercício da cidadania e sua qualificação para o trabalho”, tomando a família de extrema relevância na aprendizagem e fortemente ligada à escola.

Segundo Ballenato (2009, p. 27), com a educação se constrói uma sociedade, constituindo “a pedra basilar sobre a qual assenta a convivência, o bem-estar e o progresso social”. Com efeito, face aos múltiplos desafios do futuro, a educação surge como um trunfo indispensável à humanidade, pelo seu papel essencial no desenvolvimento contínuo das sociedades, sendo uma necessidade e uma exigência à qual não é possível nem desejável escapar.

Fatores Escolares Associados ao Desempenho Escolar

Segundo Albernaz (2002), em sua pesquisa com base nos dados do Sistema Nacional de Avaliação Básica (SAEB) 1999, concluiu que os determinantes do desempenho dos alunos do ensino fundamental de escolas públicas podem ser agrupando em duas categorias: as características dos fatores individuais e familiares e a categoria das variáveis escolares.

As características dos fatores individuais e familiares envolve o conjunto de características inerentes apenas a um indivíduo especificamente, pode-se citar, por exemplo, a dedicação ao estudo, o comprometimento com a realização das atividades escolares, dentre outras. Já a categoria das variáveis escolares, refere-se aos recursos disponíveis para os indivíduos, afim de os auxiliarem na internalização do conhecimento por parte dos alunos, pode-se citar, por exemplo, a infraestrutura escolar, equipamentos disponíveis na escola, recursos e técnicas didáticas empregadas, dentre outros.

METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no município de Laranjal do Jarí, localizado no extremo sul estado do Amapá, surgiu por conta da instalação de um projeto agroindustrial no final dos anos 1960, causando forte impacto territorial, como a substituição de florestas por monocultura, e no sistema socioeconômico, gerando uma desorganização das redes comerciais do extrativismo (GREINSSING, 2010 P.49).

A Escola Estadual Professora Sônia Henriques Barreto foi a escolhida para realização das atividades. Fundada em 1974 (SEED) foi a primeira instituição de ensino municipal de

Laranjal do Jari, presta serviços à comunidade há 44 anos. Atende cerca de 1450 alunos nas modalidades de Ensino Fundamental, Médio e EJA (Educação de Jovens e Adultos).

Trata-se de um levantamento bibliográfico sobre a importância da presença familiar na escola, e o seu papel na organização na dinâmica escolar. De acordo com aspectos pertinentes presentes no Projeto Político Pedagógico (PPP) da EEP SHB, ao sugerir que a escola aproxime a família/comunidade na construção de um aprendizado/fazer coletivo. Realizou-se também, um estudo de campo de caráter descritivo com abordagem qualitativa, baseada na observação, conforme a necessidade e preocupação em estudarmos os processos complexos, sendo realizada a sua interpretação através do pesquisador.

Retratou-se com questionamentos subjetivos a relação família-escola-comunidade, com o objetivo que levantar discussões que pudessem dar novos horizontes à temática. Tal abordagem não pode ser quantificada, pois segundo Minayo (2010) devemos atentar para os processos sociais que pouco são conhecidos referentes a grupos específicos, proporcionando novas abordagens e conceitos durante a investigação.

A observação ocorreu durante a realização de reuniões e plantões pedagógicos (com entrega de boletins), mediante entrevista informal com os pais e a comunidade em geral, sobre como se dava a participação da comunidade com relação à escola.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a realização de reuniões e plantões pedagógicos observou-se que os pais e/ou responsáveis sentiram-se bem e valorizados ao perceberem que a escola estava lhes proporcionando opinar, trocar experiências, intervir e ter mais espaço dentro da escola de seus filhos, além do que, conhecer e conversar abertamente com a família proporcionou aos professores e a equipe pedagógica conhecimentos a respeito dos alunos que só foi possível mediante as reuniões realizadas com mais descontração, uma vez que muitos pais não conseguem participar ativamente da vida escolar dos filhos.

Tais fatos corroboram com Zagury (2002 p.175), que diz que:

“Hoje, a aproximação da instituição educativa com a família incita-nos a repensar a especificidade de ambas no desenvolvimento. São ainda muitos os discursos sobre o tema que tratam à família de modo contraditório, considerando – a ora como refúgio do aluno, ora como uma ameaça ao seu pleno desenvolvimento”.

De acordo com alguns pais entrevistados informalmente, os mesmos veem os professores como pessoas superiores a eles, os que lhes causava um certo receio para aproximação, e esse fato também contribuía para que os pais deixassem de participar da vida escolar de seus filhos, ou até mesmo a se submeterem às exigências da escola sem o poder de indagar ou expor suas necessidades, todos esses fatores eram barreiras para o diálogo entre ambos.

Dos resultados obtidos temos que a aplicação de novos modelos de trabalho traz diversos benefícios à escola enquanto formadores de pessoas, principalmente com relação à aproximação da família com a escola, que possibilitou tanto aos professores, à equipe pedagógica, os funcionários, a direção geral e auxiliares, e pais e alunos, com um diálogo antes considerado difícil, principalmente para a família.

Voltando a discussão para o ensino de Ciências/Biologia, quando esta disciplina é bem trabalhada em sala de aula ajuda os alunos em questões cotidianas e faz com que exercitem o raciocínio, e busquem o interesse gradativo pelo conhecimento (KRASILCHIK, 2000). O intuito de aproximar a família e a comunidade de uma forma geral da escola, é de grande importância uma vez que podemos relacionar os conteúdos de Ciências/Biologia à vida diária do aluno e às experiências por eles vividas, sendo que a família e a comunidade podem auxiliar no processo de ensino-aprendizagem, relacionando os conteúdos com as compreensões do mundo, suas relações e demandas sociais.

Atualmente, é importante que no ensino da Ciências/Biologia haja uma ponte que interligue questões sociais, políticas e econômicas com a ciência, tecnologia e sociedade geral (LORENZETTI; DELIZOICOV, 2001), pois muitas vezes a realidade de um aluno é muito diferente do que é aprendido no ambiente escolar, este fato acaba tornando as aulas desinteressantes, sem significar ou até mesmo irrelevantes do ponto de vista do aluno (OVIGLI; BERTUCCI, 2009).

A família então passa a participar da escola, com intervenções no processo educacional, gerando mudanças de comportamento e aprendizado. A presença dos pais na escola é importante para ajudar a identificar as dificuldades do aluno, existentes dentro e fora da escola (comunidade). Observou-se a oportunidade para se ampliar discussões sobre a relação escola- família-comunidade, em âmbito nacional, complementando trabalhos já existentes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Maranhão (2004, p.89-90) traz à tona a real importância na relação família-escola, em sua afirmação:

“O que família e escola julgavam suficiente no que tange à educação, já não é. O ideal é que pais, professores e comunidade estreitem seus laços e torne a educação um processo coletivo. Mas não cabe aos professores educar os pais. Seu alvo é o aluno, independente da história familiar que carrega e o influencia”.

A heterogeneidade é um dos fatores que dificulta a interação escola-família, tendo em vista a necessidade de se repensar o tempo e o espaço escolar, bem como, a formação de professores, de forma a garantir melhor qualidade de ensino. É importante a valorização da relação da escola com as famílias e comunidade, onde as instituições devem buscar

alternativas para o despertar de interesse por parte.

A presente análise é relevante para a comunidade no entorno da escola, pois através dele, seu trabalho terá direcionamento com base nas demandas apresentadas, para buscar a garantia de uma melhor qualidade de vida aos moradores. O resultado de aprendizagem dos alunos é reflexo do envolvimento das famílias na educação dos filhos e participação ativa na vida escolar do mesmo.

A aproximação da família e comunidade com a escola, em relação ao ensino de Ciências/Biologia também é de grande valia, uma vez que os alunos podem trazer de casa o seu conhecimento empírico e este pode ser trabalhado em sala de aula pelos professores, uma atividade que relaciona atividades do cotidiano dos discentes incorporados aos embasamentos científicos.

REFERÊNCIAS

ALBERNAZ, A.; FERREIRA, F. H. G.; FRANCO, C. **Qualidade e equidade no ensino fundamental brasileiro**. Pesquisa e Planejamento Econômico. Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 453-476, 2002.

BALLENATO, G. **Educar sem gritar**. Lisboa: A esfera dos Livros. 2009.

BRASIL. **Lei de Diretrizes e Bases** da Educação Nacional, LDB. 9394/1996.

E. E. SÔNIA HENRIQUES BARRETO. **Breve Histórico da E.E. Prof.ª Sônia Henriques Barreto - SHB**. 2017. Disponível em: <<http://soniahenriquesbarreto74.blogspot.com/?m=0>>. Acesso em: 24 de nov. 2018.

GREISSING, A. **A região do Jari, do extrativismo ao agronegócio: as contradições do desenvolvimento econômico na Amazônia florestal no exemplo do projeto Jari**. REU, v. 36, n. 3, p. 43-75, Sorocaba – SP. 2010.

KRASILCHIK, M. **Reformas e realidade o caso do ensino das ciências**. São Paulo em Perspectiva, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 85-93. 2000.

LORENZETTI, L.; DELIZOICOV, D. **Alfabetização científica no contexto das séries iniciais**. Ensaio: Pesquisa em Educação em Ciências, v. 3, n. 1. 2001.

MARANHÃO, M. A. **Educação brasileira: resgate, universalização e revolução**. Brasília, Plano. 2004.

MINAYO, M.C. S. **O desafio do conhecimento: Pesquisa Qualitativa em Saúde**. (12ª edição). São Paulo: Hucitec-Abrasco. 2010.

OVIGLI, D. F. B.; BERTUCCI, M. C. S. **A formação para o ensino de ciências naturais nos currículos de pedagogia das instituições públicas de ensino superior paulistas**. Ciências & Cognição, v. 14, n. 2. 2009. Disponível: <http://www.cienciasecognicao.org/revista/index.php/cec/article/view/134/92>. Acesso em: 02/07/2019.

ZAGURY, T. **O professor refém: para pais e professores entenderem por que fracassa a educação no Brasil**. Rio de Janeiro. 2006.

CAPÍTULO 2

ADAPTAÇÃO DE PEIXES AMAZÔNICOS EM AMBIENTE CONTROLADO PARA SEREM UTILIZADOS EM ENSAIOS DE ECOTOXICOLOGIA COMPORTAMENTAL

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 30/10/2020

Daniela Andressa Ferreira Viana

Universidade Federal do Oeste do Pará
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/2260421138062892>

Natanielly Cristina Pinto Pimentel

Universidade Federal do Oeste do Pará
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/3338934482296983>

Soraia Baia dos Santos

Universidade Federal do Oeste do Pará
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/4444064052533730>

João David Batista Lisbôa

Universidade Federal do Oeste do Pará
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/5668751238219223>

Milena de Sousa Vasconcelos

Universidade Federal do Oeste do Pará
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/1116575420740791>

Ruy Bessa Lopes

Universidade Federal do Oeste do Pará
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/4195469692527946>

Maxwell Barbosa de Santana

Universidade Federal do Oeste do Pará
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/5049355107877753>

RESUMO: Aclimatar organismos aquáticos a serem utilizados em ensaios biológicos demanda técnicas utilizadas para determinado fim, isso inclui, tarefas desenvolvidas em sequências ordenadas, por prioridades e ajustes, tais como, controles de qualidade da água de manutenção pelos seguintes parâmetros: pH, temperatura, níveis de oxigênio dissolvido na água, alcalinidade, dureza, salinidade, amônia, e também do fotoperíodo. Este relato de experiência buscou mencionar as atividades de adaptação de alevinos de tambaqui (*C. macropomum*) desenvolvidas em biotério e laboratório por acadêmicas de graduação da Universidade Federal do Oeste do Pará em etapas de preparação para a utilização de modelos in vivo nativos da região amazônica em ensaios ecotoxicológicos. Objetivou através deste relato demonstrar através de relato de experiência a importância das ações desempenhadas em biotério e laboratório envolvidas na aclimação dos peixes usados em ensaios ecotoxicológicos em ambiente controlado. Foi realizado um levantamento literário acerca da “importância dos métodos de aclimação e manutenção de animais em ambientes controlados como laboratórios” e foram aplicadas atividades práticas/observacionais no dia a dia. Os resultados *in lócus* foram anotados durante as atividades e expostos de forma descritiva. Durante os períodos de ensaios experimentais as atividades de aclimação/manutenção dos organismos testes foram responsáveis em garantir antecipadamente que estes fossem mantidos sob as condições reguladas pelo guia 203 da OECD, necessárias para experimentação de toxicidade aguda com peixes. Após o seguimento de todas

os trâmites necessários para o preparo prévio dos animais a serem usados nos ensaios experimentais, decorridos em duas etapas, fase de biotério e de laboratório, garantiu-se que os animais apresentassem os resultados esperados.

PALAVRAS - CHAVE: Acclimação Aquática; *Colossoma macropomum*; Tambaqui; Ecotoxicologia Comportamental Aquática; Biologia Experimental

ADAPTATION OF AMAZONIAN FISH IN A CONTROLLED ENVIRONMENT TO BE USED IN BEHAVIORAL ECOTOXICOLOGY TESTS

ABSTRACT: Acclimating aquatic organisms to be used in biological tests requires techniques used for a specific purpose, this includes tasks developed in sequences ordered by priorities and adjustments, such as maintenance water quality controls by the following parameters: pH, temperature, levels of oxygen dissolved in water, alkalinity, hardness, salinity, ammonia, and also of the photoperiod. This experience report sought to mention the activities of adaptation of tambaqui juvenile (*C. macropomum*) developed in a vivarium and laboratory by undergraduate students from the Federal University of Western Pará in stages of preparation for the use of *in vivo* models native to the Amazon region. in ecotoxicological tests. The objective of this report was to demonstrate through an experience report the importance of the actions performed in a vivarium and laboratory involved in the acclimatization of fish used in ecotoxicological tests in a controlled environment. A literary survey was carried out on the “importance of methods of acclimatization and maintenance of animals in controlled environments such as laboratories” and practical / observational activities were applied on a daily basis. The *in locus* results were recorded during the activities and exposed descriptively. During the periods of experimental tests, the activities of acclimatization / maintenance of the test organisms were responsible for ensuring in advance that they were kept under the conditions regulated by the OECD guide 203, necessary for the experimentation of acute toxicity with fish. After following all the necessary procedures for the prior preparation of the animals to be used in the experimental tests, which took place in two stages, the vivarium and laboratory phase, it was ensured that the animals presented the expected results.

KEYWORDS: Acclimatization; *Colossoma macropomum*; Tambaqui; Aquatic Behavioral Ecotoxicology. Experimental Biology.

Os organismos aquáticos da natureza usados como modelos experimentais *in vivo* quando remanejados de seus hábitat natural para ambientes controlados, como biotérios ou laboratórios, devem receber cuidados indispensáveis para obter o sucesso desejado de sobrevivência (Zagatto e Bertoletti, 2006). Entretanto, necessitam serem aclimatados e mantidos através do desenvolvimento de técnicas aplicadas, e algumas vezes adaptadas de acordo com as necessidades percebidas. Este relato busca abordar e atribuir a importância dessas práticas laboratoriais para ensaios de Ecotoxicologia Aquática desenvolvidas no Laboratório de Química Aplicada a Toxicologia, Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos da Universidade Federal do Oeste do Pará. A atuação em métodos de aclimação/manutenção de peixes nativos da Região Amazônica, são experiências vividas baseadas nas atividades desempenhadas por alunas da iniciação científica, ingressas

recentemente na graduação.

Os animais modelos aquáticos utilizados para os estudos conduzidos no laboratório supracitado são espécies de peixe de fácil adaptabilidade e nativas da Região Amazônica. Algo que deve ser estabelecido antes da aquisição do organismo-teste é encontrar espécies que possuam potencial destinado aos tipos de experimentos direcionados (Zagatto e Bertoletti, 2006). Nesse caso, segundo a NBR 15088:04 (ABNT, 2004), as espécies elegíveis necessitam possuir alguns pré-requisitos, tais como: (1) tamanho adequado aos experimentos propostos, (2) baixo custo de manutenção, (3) ubiquidade na região, (4) facilidade de reprodução; e (5) tolerância à uma faixa não estreita de espectro de variação de fatores abióticos. Tão logo, os estudos ecotoxicológicos que ocorrem no laboratório geralmente estão voltados para situações e/ou problemas voltados à contaminações aquáticas de corpos hídricos relacionados à Amazônia. Por isso, preferencialmente, são utilizados peixes nativos de fácil acesso dessa região, e atendendo a estes requisitos, elegemos o alevino de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816) para a descrição neste trabalho como espécie modelo. O tambaqui é uma espécie nativa da região amazônica. As características descritas a seguir podem ser generalizadas para outras potenciais espécies desta região.

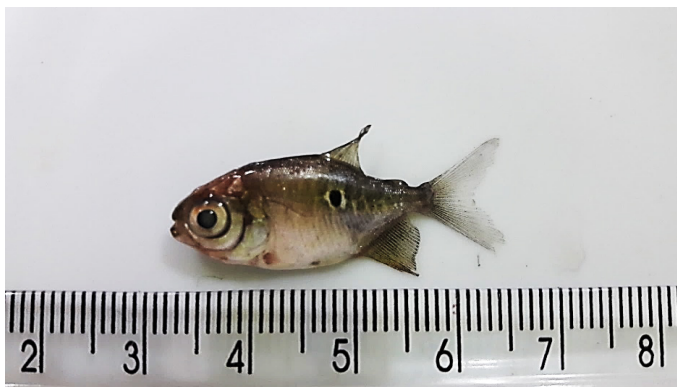


Figura 1: Juvenil de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Autora: Soraia Santos

A primeira etapa que antecede um ensaio ecotoxicológico com peixes é a adequação do animal ao novo ambiente ao qual ele será exposto, sob condições consideradas controles. Estas condições são mimetizadas, primeiramente no biotério aquático, onde é mantido o controle biótico e abiótico de qualidade da água, dentro da faixa de tolerância própria da espécie, como oxigenação, temperatura, pH e fotoperíodo para manter a regulação do ritmo circadiano. Tanto Navarro^{1,2} (2012) como Veras et al (2013) mencionam a influência do relógio biológico dos peixes a ponto de afetar o ganho de peso, a ingestão de alimentos, eficiência alimentar, o gasto de energia, a atividade locomotora, a reprodução bem como

outros parâmetros fisiológicos relacionados ao estresse.

Os alevinos possuem peso médio de $1,02 \pm 0,06\text{g}$, e comprimento padrão de $2,8 \pm 0,16\text{cm}$. Os tanques de manutenção destes animais no biotério aquático são caixas d'água de polietileno de 250 L, onde é mantido uma relação mínima de 1 animal para cada 2 litro de água, equiparados com oxímetros com saídas de ar por mangueiras conectadas com pedras porosas para a distribuição de oxigênio no meio, mensurado periodicamente para ser mantido acima do valor mínimo recomendado de $6,0\text{mg/L}$. A temperatura da água apresentou variáveis entre 26 a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A água utilizada na manutenção diária foi de origem subterrânea, oriunda de poço artesiano, cujo pH era 4,2 a 4,5, e foi posteriormente corrigido com sal de Bicarbonato de Sódio (NaHCO_3) entre 6,8-7,5, 24h antes de ser utilizado com os animais.



Figura 2: Biotério Aquático do Laboratório de Química Aplicada a Toxicologia, Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos



Figura 3: Controle de temperatura no biotério

O controle biótico e abiótico realizado é a limpeza por sifonagem, que acontece regularmente, com a retirada de impurezas da água como restos de alimentos não aproveitados e os dejetos dos animais como forma de controlar o nível de amônia tóxica no local. Neste processo, cerca de 40% da água é renovada, para equilibrar a acidificação da água, o que garante o controle no acúmulo de amônia nos tanques, além de manter um equilíbrio biológico estabelecido por estes animais, uma relação simbiótica com os microorganismos presentes no meio. Isso porque, são esses microrganismos os elementos que nitrificam a amônia, transformando-a em formas menos tóxicas, o nitrito e o nitrato.

A alimentação é fornecida diariamente, em dois períodos, manhã e tarde, recebendo ração balanceada em flocos para peixes, até que os indivíduos obtenham o peso e tamanho necessário para os testes (Dairik e Silva, 2011). Assim que o animal possua todos os requisitos necessários para os testes acontece o transporte do tanque para os aquários onde ocorrerão os experimentos. Nesse processo os espécimes têm seus sinais de respostas fisiológicas como o batimento opercular acelerado observados para serem usados como marcadores de bem estar, desse modo não interferindo com os seus comportamentos padrões, pois, assim como na manutenção e aclimação, o “novo ambiente controlado” em que os animais são expostos é regulado de acordo com protocolo experimental de avaliação de toxicidade aguda, seguindo as normas de Número 203 do Guia de Testes Químicos da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento (OCDE).



Figura 4: Aclimação prévia nos aquários: 24 horas antes dos ensaios

Finalmente, quando todos os processos supracitados estão cumpridos, os animais estarão preparados para serem submetidos aos experimentos de toxicidade. Ao serem expostos a um ambiente fora do padrão natural, passam a ser monitorados para análise de comportamento, desse modo o processo de aclimação é essencial. Durante os experimentos nos aquários testes, são mensurados os parâmetros físico-químicos da água: pH, condutividade elétrica, temperatura, oxigênio dissolvido, alcalinidade, amônia e dureza no decorrer dos testes utilizando instrumentos multiparamétricos. Desse modo, tais atividades são muito imprescindíveis para a otimização dos resultados no âmbito toxicológico.



Figura 5: Utilização de kits de análise no laboratório.



Figura 6: Análise da água, utilizando o multiparâmetro de análise de água no laboratório

Foi possível perceber como resultado das aprendizagens empíricas aliadas aos conhecimentos científicos adquiridos no decorrer atividades que os critérios estabelecidos e desenvolvidos para manejar, aclimatar e manter os organismos-teste, são fatores fundamentais, para atender a necessidade da matriz elementar dos parâmetros seguidos, não só para proporcionar o bem estar dos animais, mas com a intenção de minimizar as condições variáveis externas, que possam causar interferências nos desempenhos experimentais intrínsecas aos organismos. Uma vez que o ambiente acondicionado vai molda-los para que detenham os requisitos exigidos pelo protocolo de experimentação que está sendo seguido. Desse modo, consegue-se diminuir o estresse ocasionado no animal, minimizando a perda de material para análise ao longo do estudo realizado. Vale reiterar que Santos em 2010 referiu em seu trabalho sobre a necessidade e relevância dos ensaios utilizando peixes nativos da Região Amazônica como ferramentas de estudo, e isso tem se tornado cada vez mais promissor, por serem potenciais bioindicadores de

qualidade de água, e por sofrerem potenciais alterações neurobiológica frente a exposição a contaminantes ambientais.

Por fim, é necessário que haja estudos laboratoriais para comprovar o efeito que o ambiente possui sobre estes organismos, demonstrando o valor do bem-estar do animal antes e durante os procedimentos experimentais. Este relato oportuno dar ideia dos processos que precedem os ensaios biológicos de toxicidade e o papel importante que estes desempenham para a adaptação dos animais modelos utilizados, além do aprimoramento das técnicas de manejo em testes ecotoxicológicos, como forma de fornecer uma base mais sólida para obter resultados mais otimizados.

REFERÊNCIAS

ABNT NBR 15088:04 (Associação Brasileira de Normas Técnicas), **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes**. 19 p., 2004.

CUVIER, G. (1816). **Le Règne Animal distribué d'après son organisation pour servir de base à l'histoire naturelle des animaux et d'introduction à l'anatomie comparée**. *Les reptiles, les poissons, les mollusques et les annélides*. Edition 1. 2(i-xviii): 1-532, [Pls. 9-10, in v. 4].

DAIRIKI, J. K.; SILVA, T. B. A. (2011). **Exigências nutricionais do tambaqui – Compilações de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/931300>>. Acesso em: 05 de abril de 2016.

NAVARRO¹ F.K.S.P., NAVARRO², R.D., (2012). **Importância do fotoperíodo no crescimento e reprodução dos peixes**. Instituto de biologia, Universidade de Brasília, campos Universitário Darcy Ribeiro, Brasília, DF, Brasil.

SANTOS, M. C. F. (2010). **Caracterização da diversidade genética de populações naturais de tambaqui (*Colossoma macropomum*) através de marcadores moleculares: uma contribuição para conservação da espécie**. Tese de Doutorado (Bacharelado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas. 76 f. Manaus (AM).

VERAS, G.C.^{1*}; MURGAS, L.D.S.²; ZANGERONIMO, M.G.²; OLIVEIRA, M.M.²; ROSA, P.V.³ E FELIZARDO, V.O.² (2013). **Biological rhythms and photoperiod in fish**. ¹Faculdade de Engenharia de Pesca. Instituto de Estudos Costeiros. Universidade Federal do Pará. Bragança, Pará. ²Departamento de Medicina Veterinária. Universidade Federal de Lavras. Lavras, Minas Gerais. Brasil. ³Departamento de Zootecnia. Universidade Federal de Lavras. Lavras, Minas Gerais. Brasil.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (2006). **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, 13-25 p.

CAPÍTULO 3

ANÁLISE DE ACIDENTES DOMÉSTICOS EM CRIANÇAS EM UMA UNIDADE DE PRONTO ATENDIMENTO 24H NO INTERIOR DA AMAZÔNIA

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Carlos Eduardo Branches de Mesquita

Universidade do Estado do Pará (UEPA) -
Campus XII – Medicina - Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/5293919220166201>

Aríssia Micaelle Coelho Sousa

Universidade do Estado do Pará (UEPA) -
Campus XII – Medicina - Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde
Santarém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/3827622969204499>

Francileno Sousa Rêgo

Universidade do Estado do Pará (UEPA) -
Campus XII – Medicina - Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde
Santarém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/7085803853904651>

Línive Gambôa Lima

Universidade do Estado do Pará (UEPA) -
Campus XII – Medicina - Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde
Santarém - Pará
<https://orcid.org/0000-0002-8118-1864>

Adrianne Carla de Castro Tomé

Universidade Federal do Pará (UFPA) -
Medicina
Santarém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/5178104747261764>

Marcus Matheus Lobato de Oliveira

Universidade do Estado do Pará (UEPA) -
Campus XII – Medicina - Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde
Santarém - Pará
<http://orcid.org/0000-0002-7249-8181>

João Vitor Ferreira Walfredo

Universidade do Estado do Pará (UEPA) -
Campus XII – Medicina - Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde
Santarém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/0703736350008235>

Layze Carvalho Borges

Universidade do Estado do Pará (UEPA) -
Campus XII – Medicina - Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde
Santarém - Pará
<http://lattes.cnpq.br/1342526449624886>

Juliana Ferreira da Silva

Universidade do Estado do Pará (UEPA) -
Campus XII – Medicina - Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/5293919220166201>

Ana Caroline de Macedo Pinto

Universidade do Estado do Pará (UEPA) -
Campus XII – Medicina - Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/0851169995633559>

Susan Karolayne Silva Pimentel

Universidade do Estado do Pará (UEPA) -
Campus XII – Medicina - Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde
Santarém – Pará
<http://lattes.cnpq.br/0144727287532934>

RESUMO: Acidentes domésticos estão entre os principais responsáveis pelos elevados índice de atendimentos, internações e morbimortalidade em todo o mundo, e são os maiores responsáveis pelos altos índices de mortalidade infantil segundo o Ministério da Saúde (2012). Em Santarém-PA, a situação foi percebida quando se observou um número de atendimentos acima do normal. Em razão disso, foi escolhido pesquisar o perfil epidemiológico de crianças vítimas de acidentes na Unidade de Pronto Atendimento 24H no município de Santarém no período de janeiro a março de 2016. A pesquisa foi de caráter quantitativo, descritivo e retrospectivo. As informações foram obtidas a partir do banco de dados da UPA 24H. Foram analisadas fichas de atendimentos de crianças de 0 aos 12 anos de idade vítimas de acidentes domésticos. De todas as vítimas da faixa etária referida foram encontradas 6.191 fichas, das quais cerca de 9% (n=584) se enquadravam em algum tipo de acidente doméstico. Do total, infantes do sexo masculino prevaleceu com 61% (n=356), em comparação ao sexo feminino com 39% (n=228) dos casos. A queda foi o acidente doméstico predominante, com 42,97% (n=251), seguida pelos cortes correspondendo a 20,89% (n=122), e corpo estranho com 13% (n=76). As crianças menores de 1 ano foram as menos atingidas com 3,76% (n=22), ao lado da mais atingida que foram as crianças de 1 ano com 15,48% (n=87). A classificação de risco de maior número foi a de cor amarela com 47,60% (n=278) da totalidade, a segunda mais frequente foi a verde com 45,71% (n=267). Depreende-se que a realidade do cenário de acidentes domésticos em crianças na UPA24H de Santarém, Pará, é semelhante à de outras instituições, mas destaca-se escassez de publicações em torno desse eixo, que se faz presente, mas pouco tratada como problema de saúde pública em geral.

PALAVRAS - CHAVE: perfil epidemiológico; acidente domésticos; criança;

ANALYSIS OF HOME ACCIDENTS IN CHILDREN IN A 24-HOUR EMERGENCY CARE UNIT IN THE INTERIOR OF THE AMAZON

ABSTRACT: Domestic accidents are among the main responsible for the high rate of care, hospitalizations and morbidity and mortality worldwide, and are the main responsible for the high rates of infant mortality according to the Ministry of Health (2012). In Santarém-PA, the situation was perceived when a number of above-normal visits were observed. As a result, it was chosen to research the epidemiological profile of children victims of accidents in the 24-Hour Emergency Unit in the municipality of Santarém from January to March 2016. The research was quantitative, descriptive and retrospective. The information was obtained from the UPA 24H database. Care records of children from 0 to 12 years of age who were victims of domestic accidents were analyzed. Of all the victims of the age group mentioned, 6,191 records were found, of which about 9% (n=584) were part of some type of domestic accident. Of the total, male infants prevailed with 61% (n=356), compared to females with 39% (n=228) of cases. The fall was the predominant domestic accident, with 42.97% (n=251), followed by

cuts corresponding to 20.89% (n = 122), and foreign body with 13% (n=76). Children under 1 year were the least affected with 3.76% (n=22), alongside the most affected children were 1 year old with 15.48% (n=87). The risk classification of the highest number was yellow with 47.60% (n=278) of the total, the second most frequent was green with 45.71% (n=267). It is concluded that the reality of the scenario of domestic accidents in children in the 24-Hour Emergency Unit in Santarém, Pará, is similar to that of other institutions, but there is a lack of publications around this axis, which is present, but little treated as a problem of public health in general.

KEYWORDS: health profile; accidents, home; child;

1 | INTRODUÇÃO

Os Acidentes domésticos ocupam uma das principais causas de atendimentos, internações e morbimortalidade em todo o mundo, e são os maiores responsáveis pelos altos índices de mortalidade infantil. (CORDERO ABAD et. al., 1989; SCHVARTSMAN, 1987; SANTOS, 1988; JONES, 1993). A crença de que é fundamental para o crescimento e aprendizado da criança as pequenas quedas, escoriações e lesões, não desperta na família o cuidado preventivo. A profilaxia geralmente é realmente tomada, depois de ocorridos que atingem diretamente o estado físico da criança, capaz de produzir um sentimento de perda na família (SOUZA et al, 2000).

Os acidentes domésticos tem ligação ao perfil socioeconômico da criança, bem como a sua idade, geralmente os maiores índices se encontram na fase de 0 a 5 anos de idade, onde a criança está numa fase de curiosidade aguçada, descobertas do mundo a sua volta e aprendizado. Deste modo, nesta fase se concentra os maiores ocorridos quanto a queimaduras, quedas, intoxicações exógenas e introdução de corpos estranhos (SOUZA, 1997).

Portanto, cabe à família os cuidados em garantir um ambiente saudável e seguro para o desenvolvimento dessas crianças. Não se esquecendo, pois, que os cuidados com a saúde visam estabelecer a harmonia do ser humano com seu micro e macro ambiente. Os fatores de risco podem comprometer o bom desenvolvimento da criança, que podem ocasionar os mais variados acidentes e, em alguns casos, originar lesões e sequelas irreversíveis (MARCONDES et. al., 1987; SOUZA, 1997).

Desse modo, objetiva-se traçar perfil epidemiológico dos acidentes domésticos em crianças de 0 a 12 anos de idade nos atendimentos nas urgências e emergências da Unidade de Pronto Atendimento 24H do município de Santarém de janeiro a março de 2016.

2 | MÉTODOS

A pesquisa foi feita no banco de dados da Unidade de Pronto Atendimento 24 H, sendo, portanto, quantitativo descrito, de delineamento transversal. Foi realizado coleta

de dados por meio de prontuários de pacientes vinculados à unidade com idade de 0 a 12 anos no período de janeiro a março de 2016 no município de Santarém, Pará. Adotou-se como critério de inclusão pacientes com a referida idade, atendidas na unidade, dentro espaço de tempo descrito acima, e foram excluídos aqueles que possuíam sintomatologia, diagnósticos ou quaisquer condições que proporcionariam um acidente doméstico, bem como pacientes inseridos na atenção básica, Pronto Socorro e Hospital Municipal ou privados no município.

Pesquisa apresenta como risco realizar subestimação ou superestimação da taxa de acidentes domésticos na faixa etária analisada. Para tanto, é preciso reconhecer que a taxa a ser obtida pode não corresponder à área do município em sua totalidade. Os dados foram processados por meio de recursos de estatística descritiva e quantificados a partir de frequência absoluta por uso do programa Excel (*Microsoft for Windows – 2010*).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Verifica-se que de um total de 6.191 fichas e prontuários avaliados de crianças do 0 aos 12 anos, os acidentes domésticos perfazem 584, o que corresponde à 9% do total de acordo com o gráfico 1. Filócomo (2002) encontrou resultados semelhantes em seu estudo, no qual 10% dos atendimentos foi motivado por acidentes domésticos em Pronto Socorro Infantil em São Paulo. Souza e Barroso, 1995, mostrou um cenário distinto, com 30,5% das crianças admitidas na unidade de internação pediátrica em um hospital público do Ceará haviam sido vítimas de acidentes domésticos.

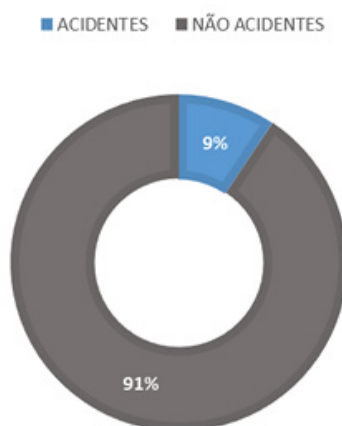


Gráfico 1 – Comparação entre o número de acidentes domésticos e não-domésticos atendidos na Unidade de Pronto Atendimento 24H (UPA) no município de Santarém no primeiro trimestre de 2016.

Fonte: Dados da pesquisa 2016

Apesar de o número de acidentes domésticos ser inferior em relação ao total, são causas de morbimortalidade que podem ser evitadas por projetos educativos, e que não necessariamente dependem de sazonalidade visto que ao longo dos meses a quantidade permanece constante, enquanto que as demais causas aumentaram ao longo dos meses como pode ser visto no gráfico 2.

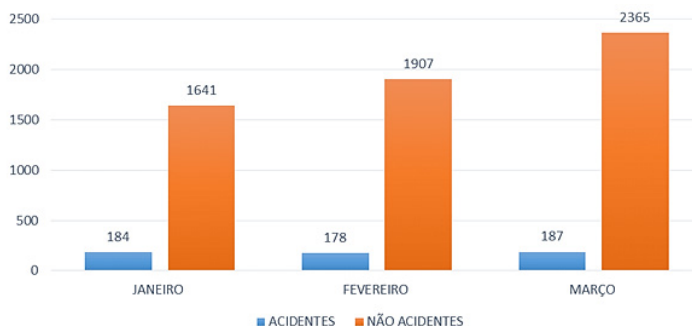


Gráfico 2- Número de acidentes domésticos e de casos que não são acidentes no primeiro trimestre de 2016.

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

O sexo masculino foram os mais acometidos por acidentes domésticos, 61% (n=356), em comparação com o sexo feminino 39% (n=228). São dados que confirmam outro estudo realizado no Hospital das Clínicas da Universidade de Campinas, no qual se viu prevalência de 62,1% de meninos (BARACAT et al, 2000). Uma possível justificativa reside na diferença de criação de meninas e meninos, sendo eles estimulados a brincadeiras agitadas tais como lutas, esportes, carros, culminando em maior vulnerabilidade a acidentes domésticos (MARINOVA, 2003).

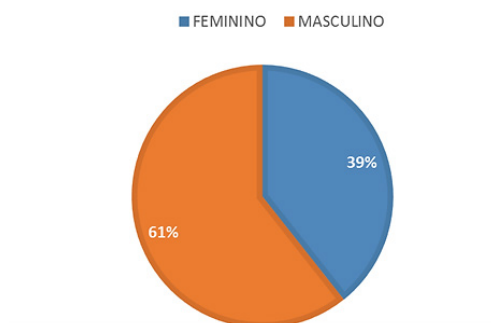


Gráfico 3- Distribuição das vítimas de acidentes domésticos de 0 aos 12 anos na Unidade de Pronto Atendimento (UPA) do município de Santarém nos três primeiros meses de 2016 segundo o sexo.

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

No presente estudo, a queda prevaleceu como o acidente majoritário, abrangendo 42,97% de todos os casos – tabela 1. Estudo semelhante realizado em um pronto socorro infantil demonstrou resultados semelhantes, com 46% atribuído a queda (FILÓCOMO et al, 2002). Outra pesquisa aplicada na cidade de Ribeirão Preto constatou que 47,92% eram vítimas de queda (DEL CIAMPO et al, 1997). Ademais, estudo conduzido em 2 postos de assistência básica da periferia da cidade de São Paulo verificou que quedas correspondeu a 54,1% da totalidade, porém, às custas de maior acometimento do sexo feminino, o que diverge dos resultados do presente estudo – tabela 1.

A importância da queda consiste em representar um importante causa de morbimortalidade. É possível observar por meio dos dados do DATASUS que 443 crianças e adolescentes de 0-19 anos morreram devido tal injúria, e uma possível explicação para expressivos índices se apoia no fato que a criança desenvolve gradativamente sua capacidade psicomotora, gerando curiosidades no processo de descobertas no mundo, alcançado mobílias domesticas propicias a deflagrar um acidente doméstico (BRASIL, 2002). As medidas simples como manter criança bem segura no colo do adulto, ter grades protetoras e observar adequação da altura da cama ou do berço, corrimão bilateral em escadas, piso antiderrapante, bem como observar bem os tipos de brinquedos usados pelos filhos são possíveis estratégias de prevenção contra quedas (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2003).

	Feminino		Masculino		TOTAL
	N	%	N	%	
Afogamento	2	66,67%	1	33,33%	3
Corpo estranho	34	44,74%	42	55,26%	76
Corte	32	26,23%	90	73,77%	122
Ingestão de substância tóxica	10	52,63%	9	47,37%	19
Mordida por animal	12	34,29%	23	65,71%	35
Perfuração	8	24,24%	25	75,76%	33
Queda	107	42,63%	144	57,37%	251
Queimadura	4	33,33%	8	66,67%	12
Trauma	19	57,58%	14	42,42%	33
TOTAL	228	-	356	-	584
IDADE	N		%		
<1 ANO	22		3,76%		
1 ANO	87		15,48%		
2 ANOS	70		12,46%		
3 ANOS	73		12,99%		
4 ANOS	47		8,36%		
5 ANOS	44		7,83%		
6 ANOS	36		6,41%		
7 ANOS	41		7,30%		
8 ANOS	41		7,30%		
9 ANOS	23		4,09%		
10 ANOS	41		7,30%		
11 ANOS	33		5,87%		
12 ANOS	26		4,63%		
TOTAL	584				100%

Tabela 1 - Tipo de acidentes domésticos na Unidade de Pronto Atendimento 24H (UPA) no município de Santarém segundo o sexo e o número de acidentes de acordo com a idade.

Fontes: Dados da pesquisa, 2016.

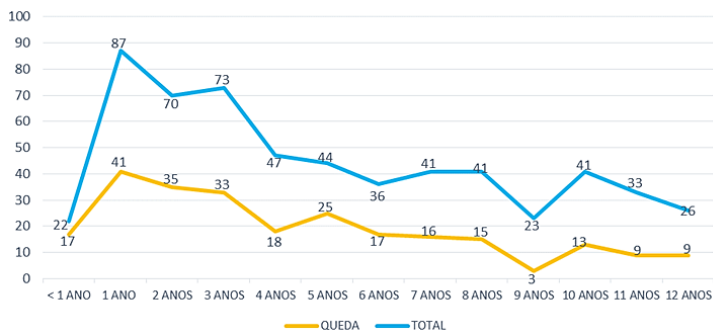


Gráfico 4 – Comparação entre o número de acidentes totais e os índices de queda registrados na Unidade de Pronto Atendimento 24H (UPA) no município de Santarém nos três primeiros meses de 2016.

Fonte: Dados da pesquisa, 2016

É possível identificar predominância dos acidentes domésticos em crianças de 1 ano de idade, com 15,48% (n=87) e a menor frequência ficou concentrado em menores de 1 ano, com 8 do sexo masculino, e 14 do feminino, resultando em 3,76% (n=22) da totalidade – gráfico 4. A baixa quantidade de casos nessa idade se deve a maior vigilância dos pais e familiares, a limitação a atividades de andar, correr, ou segurar objetos (UNGLERT et al, 1987). Contudo, é importante ressaltar que a falta de maturidade física e mental, a falta de experiência para evitar situações perigosas bem como tendência a imitar comportamentos de adultos, falta de noção corporal e de espaço e ausência de coordenação motora podem ser determinantes nos índices de vítimas de acidentes domésticos na faixa etária mais acometida (DEL CIAMPO et al, 1996; FONSECA et al, 2002; LARSSON et al, 1996).

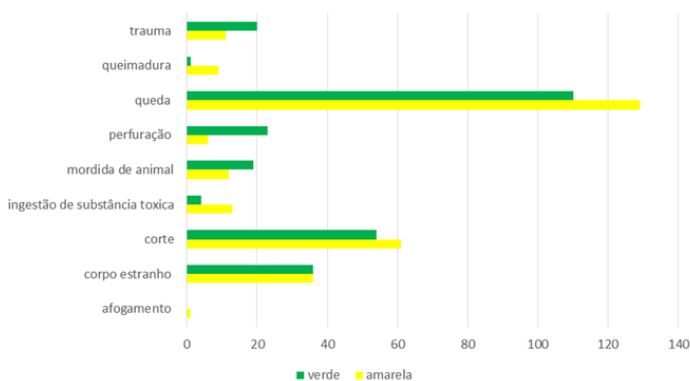


Gráfico 6 – Relação entre os tipos de acidentes domésticos e as classificações de risco amarela e verde nos meses de janeiro, fevereiro e março de 2016 na Unidade de Pronto Atendimento 24H (UPA) no município de Santarém.

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Afim de viabilizar o atendimento corretamente prioritário de acordo a gravidade dos seus usuários, o atendimento da Unidade de Pronto Atendimento é organizado pela classificação de risco pelo Sistema Manchester, em que ocorre sinalização por eixos, dividido em cores (vermelho e azul) e áreas (vermelha, amarela, verde e azul) que evidencia gravidade clínica e risco de vida (GRUPO BRASILEIRO DE CLASSIFICAÇÃO DE RISCO, 2017). Nesse sentido, a classificação mais recorrente foi a amarela com 47,6% (n=278), seguida pela classificação verde que correspondia a 45,72% (n=267), azul com 2,74% (n=16) e a vermelha com 1,54% (n=9). Nos estudos também foram encontradas dificuldade quanto a falta de informação acerca da classificação de risco, com 2,40% (n=14). Em relação às duas maiores classificações, amarela e verde, percebemos (Gráfico 6) que os acidentes domésticos como a queda, a queimadura, a ingestão de substância tóxica, afogamento e corte foram os que se apresentaram mais urgentes e receberam a classificação amarela

4 | CONCLUSÃO

Através da pesquisa realizada na Unidade de Pronto Atendimento 24H, com foco em crianças de 0 a 12 anos de idade acometidas por acidentes domésticos, verificou-se que das 6.141 fichas analisadas de crianças nessa faixa etária, 9% (n=584) do total foram vítimas de injúria acidental doméstica. A partir disso, consideramos relevante tal resultado visto que, ao longo da infância, a criança está suscetível a uma grande variedade de casos patológicos, e fazer a constatação disso nos permitiu afirmar que tal problemática merece ser tratada como um problema de saúde pública e merece atenção do ESFs e de vários segmentos da população, considerando a possibilidade de ser evitada mediante diálogos, orientações e informações.

Ademais, constatamos um índice significativamente constante de acidentes domésticos infantis ao longo dos três meses verificados. A análise do gênero mais acometido dentro da referida faixa etária indicou o sexo masculino como mais suscetível à maioria dos tipos de injúrias acidentes no ambiente domiciliar, e isso se traduz quando 61% (n=356) do total de crianças são meninos e o restante 39% (n=228) são meninas. Tal índice pode nortear orientações de atenção básica de saúde aos pais e responsáveis no intuito de contornar essa realidade.

Ao analisarmos a variável idade, percebemos um número significativamente reduzido de crianças menores de 1 ano, mas, de modo abrupto, o índice aumenta e atinge o seu ápice em crianças de 1 ano de idade com 15,48% e decresce continuamente. Enfatizamos a necessidade de se desenvolver pesquisas possuindo como tema a problemática abordada, pois, acidentes domésticos acontecem quase a todo momento e a todo lugar, podem causar morbimortalidades, porém, possuem ampla chance de serem evitados.

REFERÊNCIAS

- BARACAT, ECE; PARASCHIN K; NOGUEIRA, RJN; REIS, MC; FRAGA, AMA; SPEROTTO, G. **Acidentes com crianças e sua evolução na região de Campinas, SP.** J Pediatría 2000; 76: 368-74.
- CORDERO ABAD, A.M. et. al. **Accidentes mas frecuentes en el hogar: papel de la enfermera.** Rev. Cubana Enfermer, v. 5, n. 3, p. 203-216, septiembre-diciembre 1989.
- DEL CIAMPO, LA; RICCO, RG. **Acidentes na infância.** Rev Pediatría 1996; 18: 193- 7.
- DEL CIAMPO, LA; RICCO, RG; MUCCILLO, G. **Acidentes: sabemos preveni-los?** Pediatría 1997 julho/dez; 9(4): 263-6.
- FILÓCOMO FRF, HARADA MJCS, SILVA CV, PEDREIRA MLG. **Estudo dos acidentes na infância em um pronto socorro pediátrico.** Rev Latino-am Enfermagem 2002 janeiro-fevereiro; 10(1):41-7.
- FONSECA, SS; VICTORA, CG; HALPERN R; BARROS AJD; LIMA, RC; BARROS, FC et al. **Fatores de risco para injúrias acidentais em pré-escolares.** J Pediatría 2002; 78: 97-104.
- GRUPO BRASILEIRO DE CLASSIFICAÇÃO DE RISCO. **Boas Práticas de Utilização do Sistema Manchester de Classificação de Risco.** 2017. Disponível em: <https://drive.google.com/open?id=0B-LRMqsBZSVpM1Y2MENuRG1kcy1pRzJ2R3VmSGxVUGpZWElv>. <Acessado em 04 de setembro de 2020>
- JONES, N.E. Childhood residential injuries. **HCN Am J. Hatén Child Nurse**, v. 18, n. 3, p. 168-172, May-June 1993.
- LARSSON J, AURELIUS G. **Accidents in childhood: relation to psychosocial condition and mental development.** Acta Paediatrica 1996; 85: 285-91.
- MARINOVA, J. **Gender Stereotypes and the Socialization Process.** EGM/Men-Boys-GE/2003/EP.3. United Nations. Division for the Advancement of Women (DAW). October, 2003. Disponível em: <http://www.un.org/womenwatch/daw/egm/men-boys2003/EP3-Marinova.pdf>. Acessado em 29/09/2016
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). Mortalidade. Óbitos por residência por faixa etária determinada segundo Capítulo CID-10-Causas externas de morbidade e mortalidade-Brasil; 2002. [citado em 2009 Jul 07].Disponível em <http://w3.datasus.gov.br/datasus/index.php>.
- SANTOS, H.O. **Crianças acidentadas.** Campinas: Papirus, 1988
- SCHVARTSMAN, S. **Acidentes na infância.** São Paulo: ALMED, 1987.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Segurança da Criança e do Adolescente.** Belo Horizonte - MG, 2003.
- SOUZA, L.J.E.X.de; RODRIGUES, A.K.de C.; BARROSO, M.G.T. **A família vivenciando o acidente doméstico – relato de uma experiência.** Rev.latino-am.enfermagem, Ribeirão Preto, v. 8, n. 1, p. 83-89, janeiro 2000.

SOUZA, LJE; BARROSO, MGT. **A criança acidentada no lar X prevenção**. Anais do VIII Seminário Nacional de Pesquisa em Enfermagem, Ribeirão Preto, p. 97, 1995.

SOUZA, L. J. E. X. **Envenenar é mais perigoso: uma abordagem etnográfica**. Fortaleza. 1997. Dissertação (Mestrado) – Curso de Mestrado em Enfermagem. Universidade Federal do Ceará, 1997.

UNGLERT, C.V. de S. et al. **Características epidemiológicas dos acidentes na infância**. Rev. Saúde públ., S.Paulo, 21:234-45, 1987.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE ANTICOAGULANTE E ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES EXTRATOS DAS PLANTAS *CORDIA SALICIFOLIA* E *CHRYSOBALANUS ICACOL*

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 31/08/2020

Larissa Costa Oliveira

Universidade de Franca (UNIFRAN)

Franca, SP

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9802417358257865>

Ana Luísa Ferreira Giupponi

Universidade do Estado de Minas Gerais

(UEMG)

Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9438854692971573>

Pedro Pereira Orsalino

Universidade do Estado de Minas Gerais

(UEMG)

Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3676354524561409>

Beatriz da Silva Cunha

Universidade do Estado de Minas Gerais

(UEMG)

Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6184646572219322>

Caio Cesar da Silva Teixeira

Universidade do Estado de Minas Gerais

(UEMG)

Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2683058757792878>

Marco Túlio Menezes Carvalho

Universidade do Estado de Minas Gerais

(UEMG)

Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9236934545390097>

Mateus Goulart Alves

Universidade do Estado de Minas Gerais

(UEMG)

Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4215245520425461>

Marlon Vilela de Brito

Universidade do Estado de Minas Gerais

(UEMG)

Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1760304906917885>

Sérgio Ricardo Ambrósio

Universidade de Franca (UNIFRAN)

Franca, SP

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7942579499577578>

RESUMO: As plantas sendo cada vez mais utilizadas para fins medicinais devido suas diversas propriedades, portanto este trabalho visou avaliar a bioatividade anticoagulante e antimicrobiana dos extratos das plantas *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L. sobre cepas padrões de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*. Trata-se de uma pesquisa que verifica se os extratos brutos obtidos através dos solventes hexano, metanol e acetato de etila das plantas *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L. possuem algum potencial antimicrobiano através de testes por Concentração Inibitória Mínima (CIM) em cepas padrões de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* pelo método de difusão em disco, e uma possível atividade anticoagulante, avaliando tanto a via extrínseca – pelo teste de Tempo de Protrombina (TP), como a

via intrínseca – pelo teste de Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa). Os resultados antimicrobianos mostraram que em todas as concentrações dos extratos, em ambas as plantas, não houve o surgimento de halos inibitórios, apontando que os extratos não possuem nenhum efeito sobre as cepas testadas. Quanto aos testes de coagulação, os resultados de TP não se alteraram frente aos extratos hexânico de ambas as plantas, no entanto o extrato metanólico ampliou o tempo de coagulação de 3 a 4 vezes a mais que os valores de referência. No teste de TTPa, o extrato hexânico da planta *Chrysobalanus icaco* L. reduziu o tempo de coagulação em todas as concentrações testadas, apresentando um resultado satisfatório como possível pró coagulante. O presente trabalho demonstrou que as espécies vegetais pesquisadas apesar de não apresentarem potencial como agente antimicrobiano aos microrganismos testados, detêm respostas relevantes de ambas as plantas frente à coagulação, sendo de grande valia, uma vez que o presente estudo colaborou para amplificar os conhecimentos a respeito das atividades das plantas desse estudo.

PALAVRAS - CHAVE: Plantas medicinais. *Cordia salicifolia*. *Chrysobalanus icaco* L. Antimicrobiano. Anticoagulante

EVALUATION OF ANTICOAGULANT AND ANTIMICROBIAL BIOACTIVITY OF DIFFERENT PLANT EXTRACTS *CORDIA SALICIFOLIA* AND *CHRYSOBALANUS ICACO* L

ABSTRACT: The plants seeing increasingly used for medical purposes due to their various properties, so this work aimed to evaluate the anticoagulant and antimicrobial bioactivity of the plant extracts *Cordia salicifolia* and *Chrysobalanus icaco* L. on standard strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*. This is a research that checks whether the raw extracts obtained through the solvents hexane, methanol and ethyl acetate of the plants *Cordia salicifolia* and *Chrysobalanus icaco* L. has any antimicrobial potential through Minimum Inhibitory Concentration (MIC) testing in models of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* by the disk diffusion method, and an anticoagulant activity, evaluating either extrinsically - by the Prothrombin Time test (PT) or intrinsically - by the Thromboplastin time test Activated Partial (TTaP). The antimicrobial results show that all extracts concentrations, of both plants, did not show any inhibiting halos, pointing out that the extracts do not have any effect on the strains tested. As for coagulation tests, the PT results do not change in front of hexane extracts of both plants, however, the methanolic extract exploded coagulation time oh 3 to 4 times the reference values. At TTaP test, hexane extract from the *Chrysobalanus icaco* L. plant reduces clotting time in all samples tested, exhibiting a satisfactory result as a possible coagulant. Thus the present work demonstrated that the researched plant species, although not having potential as antimicrobial agent for the tested microorganisms, detects relevant responses for both plants when facing coagulation, being of great value, since this study helped to amplify knowledge regarding the plant activities of this study.

KEYWORDS: Medicinal plants. *Cordia salicifolia*. *Chrysobalanus icaco* L. Antimicrobial. Anticoagulant.

1 | INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais vem desde os tempos remotos, em que os humanos analisavam fenômenos da natureza buscando soluções que lhe aliviassem o sofrimento ou compreender uma determinada circunstância. Com o uso de plantas medicinais, perceberam que algumas delas tinham em suas essências, princípios ativos que ao serem utilizados combatiam doenças, revelando dessa forma seu poder curativo (MONTEIRO; BRANDELLI, 2017).

Recentemente, o interesse por plantas fitoterápicas para uso medicinal vem crescendo consideravelmente em todo o mundo, principalmente no Brasil, uma vez que há estudos experimentais que confirmam as suas propriedades terapêuticas relatadas (MONTEIRO; BRANDELLI, 2017).

Neste sentido, uma tendência multidisciplinar, envolvendo aspectos do conhecimento botânico, fitoquímico, farmacológico e toxicológico de preparações vegetais e seus principais constituintes químicos, tem sido considerada como uma necessidade para explorar de maneira eficiente o potencial farmacológico da rica flora existente em nosso país. Hoje em dia, os estudos com plantas medicinais no Brasil estão principalmente centrados nas Universidades (VEIGA JR; MELLO, 2008).

Uma das plantas de estudo neste artigo é a espécie *Cordia salicifolia*, considerada medicinal muito utilizada e popularmente conhecida pelos nomes de chá-de-bugre e porangaba, possui diversas finalidades, como auxiliar no controle da obesidade, diurese e diminuição dos níveis de colesterol total no organismo. Seu potencial antioxidante se dá a presença de alantoina em sua composição, produto final do metabolismo (ASSONUMA, 2009).

Além disso, foi observado que, através do extrato alcoólico parcialmente purificado da *Cordia salicifolia*, é possível ocasionar um efeito inibitório sobre o vírus herpes simplex tipo 1, por reduzir sua penetração no organismo (ALEXANDRE et al., 2018). Quanto ao fato do suposto emagrecimento, acontece devido a diminuição dos níveis de líquidos no organismo através da diurese que a planta estimula, ocasionando a perda de medidas, no entanto, não há estudos que comprovem a redução de gordura (FRYDMAN et al., 2008). Todavia pouco se sabe sobre os princípios ativos responsáveis pelos efeitos fitoterápicos dos extratos de *Cordia salicifolia* utilizado para o tratamento antimicrobiano e/ou coagulação (MORAIS, 2015; BADANAI, 2011).

Apesar de possuir indicação na medicina tradicional para o tratamento de diversas doenças, existem poucos estudos sobre a família *Chrysobalanaceae*, tanto fitoquímicos quanto farmacológicos, que podem expressar maior potencial terapêutico dessas espécies e substâncias químicas. E desta família foi escolhido a segunda planta para estudo, a espécie *Chrysobalanus icaco* L., também conhecido como abajeru, é utilizada pela medicina popular para o tratamento de leucorreia, sangramento e diarreia crônica, além de ser um

bom diurético, hipoglicêmico e antiangiogênico. No norte do Brasil, a sua raiz tem função no tratamento do diabetes (FEITOSA; XAVIER; RANDAU, 2012).

Essa planta, antigamente, era utilizada para tingir, endurecer e tornar as redes usadas para pesca mais duradouras e resistentes. Suas raízes, cascas e folhas tem características adstringentes e possuem utilidade para o tratamento de disenterias, catarro de bexiga, leucorreias e pedras nos rins. O fruto originado, que possui uma polpa branca e adocicada, é comestível, e até mesmo usado como doces e em conserva em feitas e mercados de alguns países. Seu óleo tinha a finalidade de emulsão antidiarreica e para unguentos. Pode ser utilizado como agente antitumoral, além grande aliando contra o combate ao diabetes mellitus. Além de, na América do Norte, ser usada como planta ornamental (SILVA; PEIXOTO, 2009).

No que diz respeito a coagulação sanguínea, as referências sobre a trombose estão presentes na literatura médica demonstrando a importância clínica do fenômeno tromboembólico que aumentou progressivamente podendo ocorrer em escala endêmica, demonstrando que a trombose é um problema grave em quase todos os campos da medicina (BUENO NETO et al., 2013).

As drogas inibidoras da coagulação utilizadas no momento para terapêutica das trombooses, apresentam uma série de desvantagens e, como já foi referido, nenhuma é suficientemente ativa e segura, sendo descrita a resistência a sua ação e alto risco hemorrágico (FRANCÊS et al., 2016).

Esses motivos têm levado a uma intensa pesquisa com a finalidade de conseguir antitrombóticos ideais, eficazes, sem risco hemorrágico, com poucos efeitos colaterais, de fácil administração (WEITZ; BATES, 2005), justificando as pesquisas por novas drogas e/ou compostos com potenciais terapêuticos.

Junto a isso, existe a susceptibilidade do homem em se infectar por bactérias, muita das vezes patogênicas. E quanto a isso, tem-se diversos antibióticos que atuam no combate a esses microrganismos, no entanto, devido ao uso destes sem prescrição médica, ocasionou a seleção natural e com ela o surgimento das bactérias super-resistentes, que por terem alta patogenicidade e toxicidade são mais relutantes ao uso dos antibióticos, não conseguindo exterminá-los. Portanto, torna-se interessante a busca por novas formas de combate as diversas bactérias. Além disso, seria atrativo encontrar em plantas fitoterápicas um novo meio de enfrentar esse mal que são as bactérias e as superbactérias (BARBOSA; SANTOS, 2018).

Tais fatores justificam a realização dessa pesquisa com o intuito avaliar a bioatividade anticoagulante e antimicrobiana dos extratos das plantas *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L. sobre cepas padrões de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*.

2 | METODOLOGIA

O estudo consistiu na obtenção dos extratos das plantas *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L através dos solventes hexano, metanol e acetato de etila. Esses solventes foram escolhidos por apresentarem solubilidades diferentes, sendo o hexano uma mistura de hidrocarbonetos saturados, não sendo solúvel em água, mas sim em solventes orgânicos (PORTANTIOLO, 2011), o metanol sendo miscível em água por apresentar pequenas moléculas como o grupo OH (grupo característico dos álcoois) que formam ligações de hidrogênio com a água (JOVELINO et al., 2015), e o acetato de etila imiscível em água e miscível com hidrocarbonetos, cetonas, álcoois, benzeno, clorofórmio e ésteres (QUIMESP, 2017).

A extração foi realizada com o apoio do coordenador do programam de pós-graduação em Ciências da Universidade de Franca (UNIFRAN) do estado de São Paulo e de seus alunos.

O método consistiu em realizar a pesagem do material vegetal, totalizando 300g de cada espécie e em seguida, feito a moagem e pesado novamente. A extração foi realizada a partir de 3 solventes diferentes (hexano, metanol e acetato de etila), em que as folhas já moídas foram submetidas a extração por exaustão (partição sólido/líquido) por 3 dias em temperatura ambiente. As soluções foram passadas em rotaevaporador para a máxima retirada do solvente e obtenção do extrato bruto final sem a presença de fibras vegetais.

Para a obtenção das diferentes concentrações dos extratos brutos a serem testados, foram realizadas diluições seriadas partindo de uma solução mãe (1/1 (2000µg/mL) contendo 2mg de cada extrato em estudo para 1 ml de seu respectivo solvente (hexano, metanol e acetato de etila); as próximas diluições apresentam 500 µL da solução anterior dispersas em 500 µL do solvente (1/2 (1000 µg/mL); 1/4 (500 µg/mL); 1/8 (250 µg/mL); 1/16 (125 µg/mL); 1/32 (62,5 µg/mL); 1/64 (31,2 µg/mL)).

O trabalho em questão envolvia a coleta venosa de voluntários para a realização dos ensaios de coagulação, portanto foi submetido à Plataforma Brasil para apreciação ética tendo o número de Certificado de Apresentação de Apreciação Ética como 14323219.2.0000.5525.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos das plantas *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L. obtidos por hexano, metanol e acetato de etila, os microrganismos utilizados foram cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 35218 e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 adquiridos por doação da Santa Casa de Misericórdia de Passos – MG. Os microrganismos foram repicados em ágar Müller – Hinton e incubados a 37°C por 24 horas antes do experimento.

Para o preparo do inóculo, as culturas de cada microrganismo foram transferidas para tubos de ensaio contendo 2 mL de salina estéril até obtenção de turbidez equivalente à metade da escala 1,0 de MacFarland.

A análise dos possíveis efeitos em ensaios microbianos “*in vitro*” foi feita através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) em cepas padrões de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* pelo método de difusão em disco.

Para o processo do antibiograma foi utilizado, como padrão, o manual da Laborclin (2011), que permite a detecção da sensibilidade das bactérias em relação aos antimicrobianos, também denominados como TSA (Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos). Os antibióticos escolhidos foram Vancomicina para a cepa de *Staphylococcus aureus*, Ampicilina para a cepa de *Escherichia coli* e Penicilina para a cepa de *Enterococcus faecalis*.

Quanto aos possíveis efeitos na coagulação “*in vitro*” foi realizado ensaios do Tempo de Protrombina – TP para avaliar a via extrínseca e do Tempo de Tromboplastina Parcial ativada – TTPa para avaliar a via intrínseca, utilizando plasmas sanguíneos humanos (“pool” de 15 doadores), os quais assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido – TCLE. Os plasmas passaram por testes de qualidade onde foram feitas análises de bioquímica buscando a garantia que esses doadores apresentavam valores dos testes de coagulação normais (os valores foram utilizados como grupo controle).

A comparação feita entre os diferentes grupos, nos modelos utilizados neste trabalho foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (eEPM.) e analisados estatisticamente por Análise de Variância (ANOVA). O índice de significância considerado foi determinado por Kruskal-Wallis e complementado pelos testes de comparações múltiplas de Dunn e Tukey, o índice fixado foi de (5%) $p < 0,05$.

3 | RESULTADOS

3.1 Obtenção dos extratos

Para a obtenção dos extratos a partir dos solventes hexano, metanol e acetato de etila, primeiramente foram feitas as pesagens de 300g das folhas secas das plantas *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L. utilizando uma balança analítica.

Após a pesagem, as folhas foram trituradas por moagem em aparelho MA680 Marconi e novamente pesadas, sendo da Porangaba (*Cordia salicifolia*), apresentando um peso final de 275g (91,6% de aproveitamento) e do Abajeru (*Chrysobalanus icaco* L.) o valor de 295g (98,3% de aproveitamento) (Tabela 1). Essa quantidade foi dividida igualmente entre três erlenmeyers, obtendo 91g da folha moída de Porangaba em cada frasco e 98g do Abajeru em cada frasco. Em cada um dos erlenmeyers foi adicionado 1 litro (L) de solvente (hexano, metanol e acetato de etila, respectivamente), totalizando seis extrações diferentes.

Plantas	Quantidade total de aproveitamento de folha moída (g)	Porcentagem total de folha moída (%)
Porangaba (<i>Cordia salicifolia</i>)	275	91,6
Abajeru (<i>Chrysobalanus icaco</i> L.)	295	98,3

Tabela 1 – Quantidade total de aproveitamento de folhas moídas, em gramas e porcentagem, das plantas Porangaba e Abajeru.

Fonte: Elaborada pelos autores, 2019.

Após a adição dos solventes, as folhas das plantas Porangaba e Abajeru foram submetidas a extração por exaustão (partição sólido/líquido) por três dias.

As soluções foram passadas em rotaevaporador e obtido o extrato bruto sem as fibras vegetais de ambas as plantas de estudo, as quantidades de cada um dos extratos das plantas, tanto em gramas quanto em porcentagem, estão descritas nas tabelas abaixo (Tabela 2 e Tabela 3).

Solventes	Quantidade de extrato obtido (g)	Porcentagem de extrato obtido (%)
Hexano	32,3809	35,58
Metanol	80,1555	88,08
Acetato de etila	29,9983	32,96

Tabela 2 – Quantidade obtida, em gramas e porcentagem, de cada um dos extratos com os respectivos solventes (hexano, metanol e acetato de etila) da planta Porangaba (*Cordia salicifolia*).

Fonte: Elaborada pelos autores, 2019.

Solventes	Quantidade de extrato obtido (g)	Porcentagem de extrato obtido (%)
Hexano	31,3337	31,97
Metanol	85,0448	86,78
Acetato de etila	32,5745	33,24

Tabela 3 - Quantidade obtida, em gramas e porcentagem, de cada um dos extratos com os respectivos solventes (hexano, metanol e acetato de etila) da planta Abajeru (*Chrysobalanus icaco* L.).

Fonte: Elaborada pelos autores, 2019.

3.2 Avaliação da atividade antimicrobiana

Para a avaliação da atividade antimicrobiana foi determinada a Concentração Inibitória Mínima através do uso de discos estéreis contendo diferentes concentrações de extratos a serem analisados e os resultados foram observados através da análise dos

halos de inibição. Segundo a Clinical and Laboratory Standards Institute (2011), quando determinada cepa tem a capacidade de ser tratada adequadamente com a dose do agente antimicrobiano recomendada para este tipo de infecção, a cepa é considerada sensível, em contrapartida, para uma cepa ser considerada resistente não há a presença de halos de inibição ocasionados pelas concentrações dos agentes antimicrobianos quando usados para fins terapêuticos habituais.

Os resultados obtidos das plantas *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L. analisados frente à cepa padrão de *Staphylococcus aureus* podem ser observados na Tabela 4 e Tabela 5 e através de representações do experimento realizado em meio Mueller Hinton. Se tratando de controle positivo (antibiótico Vancomicina) apresentou valores esperados de sensibilidade frente aos extratos com os solventes hexano, metanol e acetato de etila, com halos de 20 mm, 18 mm e 18 mm, respectivamente, para *Cordia Salicifolia* e halos de 18 mm, 20 mm e 18 mm, respectivamente, para *Chrysobalanus icaco* L. Ao falarmos de controle negativo, utilizando apenas os solventes hexano, metanol e acetato de etila, também apresentaram valores dentro do esperado por não ocasionar qualquer ação sobre a bactéria, ou seja, não houve crescimento de halos.

Quanto às sete diferentes concentrações dos três extratos, pode-se observar que ambos não apresentaram susceptibilidade diante a ação dos extratos da *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L., uma vez que não apresentaram halos de inibição, diâmetro de 0 mm.

Desta forma, afirma-se que a cepa de *Staphylococcus aureus* apresenta certa resistência aos extratos testados nas diferentes concentrações.

<i>Staphylococcus aureus</i> – Diâmetro dos halos			
Concentrações	Hexano	Metanol	Acetato
Vancomicina	20 mm	18 mm	18 mm
2000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
1000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
500 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
250 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
125 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
31,2 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
Controle	0 mm	0 mm	0 mm

Tabela 4 – Avaliação da concentração inibitória mínima dos extratos da *Cordia salicifolia* frente a *Staphylococcus aureus*.

*Valores de susceptibilidade e resistência à vancomicina Sensível – 17 a 21 mm; Resistente – menor ou igual a 17 mm

Fonte: Elaborado pelos autores, 2019.

<i>Staphylococcus aureus</i> – Diâmetro dos halos			
Concentrações	Hexano	Metanol	Acetato
Vancomicina	18 mm	20 mm	18 mm
2000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
1000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
500 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
250 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
125 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
31,2 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
Controle	0 mm	0 mm	0 mm

Tabela 5 – Avaliação da concentração inibitória mínima dos extratos da *Chrysobalanus icaco* L. frente a *Staphylococcus aureus*.

*Valores de susceptibilidade e resistência à vancomicina

Sensível – 17 a 21 mm; Resistente – menor ou igual a 17 mm

Fonte: Elaborado pelos autores, 2019.

A ação da bactéria *Escherichia coli* quando em relação as concentrações dos extratos podem ser interpretadas através da Tabela 6 e Tabela 7 e pelas representações do experimento realizado em meio Mueller Hinton. Ao falarmos de controle, tanto o controle positivo quanto o negativo se encontraram dentro do padrão esperado, em que a Ampicilina inibiu o crescimento da cepa apresentando halos de sensibilidade de 20 mm para *Cordia salicifolia*, 24 mm para *Chrysobalanus icaco* L e o controle negativo usando somente os solventes hexano, metanol e acetato de etila, não causaram ação qualquer sobre a bactéria.

Analizando as sete diferentes concentrações dos três extratos, observa-se que ambos não apresentaram susceptibilidade diante a ação dos extratos da *Cordia salicifolia* e da *Chrysobalanus icaco* L, uma vez que não mostraram halos de inibição, diâmetro de 0 mm.

Desta forma, pode-se confirmar que a cepa de *Escherichia coli* apresenta certa resistência quando testado os extratos nas diferentes concentrações.

<i>Escherichia coli</i> – Diâmetro dos halos			
Concentrações	Hexano	Metanol	Acetato
Ampicilina	20 mm	20 mm	20 mm
2000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
1000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
500 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
250 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
125 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
31,2 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm

Controle	0 mm	0 mm	0 mm
----------	------	------	------

Tabela 6 – Avaliação da concentração inibitória mínima dos extratos da *Cordia salicifolia* frente a *Escherichia coli*.

*Valores de susceptibilidade e resistência à ampicilina

Sensível – 17 a 21 mm; Resistente – menor ou igual a 17 mm

Fonte: Elaborado pelos autores, 2019.

<i>Escherichia coli</i> – Diâmetro dos halos			
Concentrações	Hexano	Metanol	Acetato
Ampicilina	24 mm	24 mm	24 mm
2000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
1000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
500 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
250 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
125 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
31,2 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
Controle	0 mm	0 mm	0 mm

Tabela 7 – Avaliação da concentração inibitória mínima dos extratos da *Chrysobalanus icaco* L frente a *Escherichia coli*.

*Valores de susceptibilidade e resistência à ampicilina

Sensível – 17 a 21 mm; Resistente – menor ou igual a 17 mm

Fonte: Elaborado pelos autores, 2019.

Por fim, os resultados interpretados frente à cepa padrão de *Enterococcus faecalis* podem ser vistos na Tabela 8 e Tabela 9 e através de representações do experimento realizado em meio Mueller Hinton. Analisando os controles positivo e negativo, observa-se que os valores estão dentro dos padrões esperados de sensibilidade frente aos extratos com os solventes hexano, metanol e acetato de etila, o antibiótico Penicilina apresentou halos de 16 mm, 22 mm e 20 mm, respectivamente, para *Cordia salicifolia* e halos de 22 mm, 19 mm e 16 mm, respectivamente, para *Chrysobalanus icaco* L. Já os controles negativos com os solventes não demonstraram ação qualquer sobre a bactéria, não havendo crescimento de halos.

Frente às sete diferentes concentrações dos três extratos, pode-se observar que ambos não apresentaram susceptibilidade quanto a ação dos extratos da *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L, uma vez que não apresentaram halos de inibição, diâmetro de 0 mm.

Portanto, afirma-se que a cepa de *Enterococcus faecalis* manifesta certa resistência aos extratos quando testados nas diferentes concentrações.

<i>Enterococcus faecalis</i> – Diâmetro dos halos			
Concentrações	Hexano	Metanol	Acetato
Penicilina	16 mm	22 mm	20 mm
2000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
1000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
500 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
250 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
125 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
31,2 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
Controle	0 mm	0 mm	0 mm

Tabela 8 – Avaliação da concentração inibitória mínima dos extratos da *Cordia salicifolia* frente a *Enterococcus faecalis*.

*Valores de susceptibilidade e resistência à penicilina

Sensível – 17 a 21 mm; Resistente – menor ou igual a 17 mm

Fonte: Elaborado pelos autores, 2019.

<i>Enterococcus faecalis</i> – Diâmetro dos halos			
Concentrações	Hexano	Metanol	Acetato
Penicilina	22 mm	19 mm	16 mm
2000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
1000 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
500 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
250 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
125 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
62,5 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
31,2 µg/mL	0 mm	0 mm	0 mm
Controle	0 mm	0 mm	0 mm

Tabela 9 – Avaliação da concentração inibitória mínima dos extratos da *Chrysobalanus icaco* L frente a *Enterococcus faecalis*.

*Valores de susceptibilidade e resistência à penicilina

Sensível – 17 a 21 mm; Resistente – menor ou igual a 17 mm

Fonte: Elaborado pelos autores, 2019.

3.3 Avaliação da atividade anticoagulante

Para a avaliação do efeito anticoagulante dos extratos de *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L. in vitro foram determinados o Tempo de Protrombina (TP) e o Tempo de Tromboplastina Parcial ativada (TTPa), utilizando um 'pool' de plasmas humanos obtidos de 15 doadores voluntários.

Os resultados obtidos mostraram que o TP do plasma humano não foi alterado de forma significativa pelo extrato hexânico de *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L. nas concentrações testadas, conforme observado na Figura 19. No entanto, o extrato metanólico demonstrou mudanças consideráveis quando comparados ao plasma controle, nas concentrações de 2000 μ g, 1000 μ g, 500 μ g, 250 μ g, 125 μ g, 62,5 μ g e 31,2 μ g, prolongando o tempo em 3 a 4 vezes, como expresso na Figura 20.

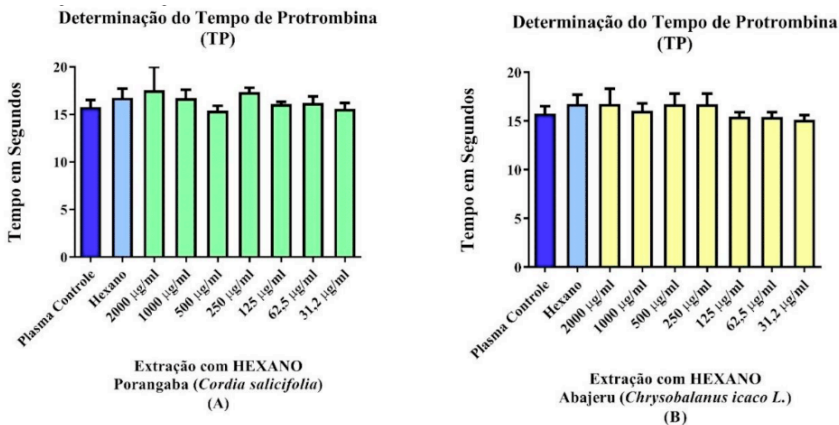


Figura 19 - Demonstram o efeito do extrato hexânico de *Cordia salicifolia* (A) e *Chrysobalanus icaco* L. (B) respectivamente sobre o TP no plasma humano. Valores de referência (TP): 11 a 15 segundos, segundo o kit comercial BioTécnica.

Fonte: Elaborados pelos autores, 2019.

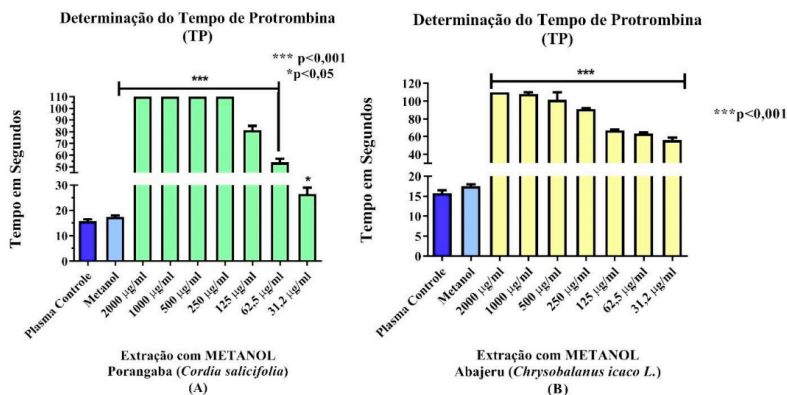


Figura 20 - Demonstram o efeito do extrato metanólico de *Cordia salicifolia* (A) e *Chrysobalanus icaco* L. (B) respectivamente sobre o TP no plasma humano. Valores de referência (TP): 11 a 15 segundos, segundo o kit comercial BioTécnica.

Fonte: Elaborados pelos autores, 2019.

Em relação ao TTPa, no extrato hexânico, o tempo de coagulação foi retardado pelas concentrações analisadas (explícito na figura 21), sendo observado que a planta *Chrysobalanus icaco* L. apresenta um resultado mais satisfatório como possível pró coagulante.

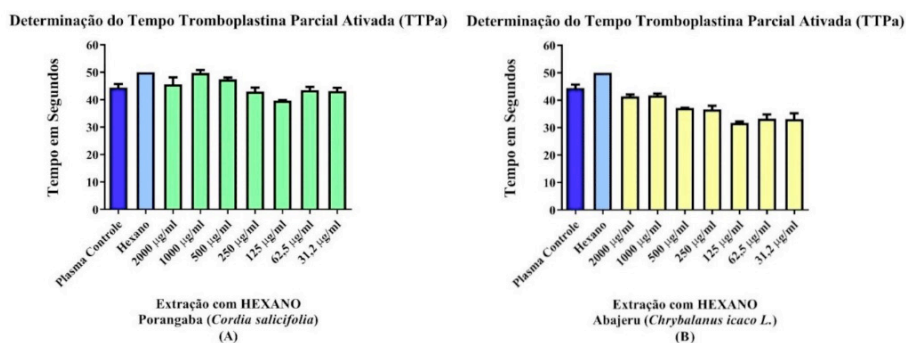


Figura 21 - Demonstram o efeito do extrato hexânico de *Cordia salicifolia* (A) e *Chrysobalanus icaco* L.(B) respectivamente sobre o TTPa no plasma humano. Valores de referência (TTPa): 26 a 38 segundos, segundo o kit comercial BioTécnica.

Fonte: Elaborados pelos autores, 2019.

Em relação aos extratos obtidos pelos solventes metanol e acetato de etila, os resultados, quando analisados em comparação aos controles negativos (os solventes), mostraram valores inconclusivos, uma vez que, tanto o controle, quanto as amostras,

apresentaram números superiores ao tempo limite pré-estabelecido. Para tanto, faz-se necessário a pesquisa de outras metodologias que possa nos fornecer resultados analisáveis.

4 | CONCLUSÃO

Com a realização deste trabalho foi possível observar que, apesar da literatura demonstrar vastas utilizações dos extratos com hexano, metanol e acetato de etila, as plantas *Cordia salicifolia* e *Chrysobalanus icaco* L. não obtiveram efeitos antimicrobianos frente as cepas testadas. Porém apresentaram respostas relevantes ao extrato de metanol de ambas as plantas, quando realizado o teste de protrombina, sendo capaz de influenciar algum fator da via extrínseca da coagulação. No entanto são necessárias investigações mais aprofundadas sobre o assunto e mesmo que os resultados não sejam positivos, são de grande valia, uma vez que o presente estudo colaborou para amplificar os conhecimentos a respeito das atividades do material vegetal em questão, sabendo que novas pesquisas envolvendo constituintes fitoquímicos de plantas devem ser exploradas e novas metodologias de extração criadas, pois a busca de anticoagulantes e antimicrobianos se tornam cada vez mais necessários.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRE, K. P.; YASUDA, F. S.; MARQUES, L. C.; GONÇALVES, C. P.; VEIGA, R. S.; OLIVEIRA, S. M. L.; MARCUCCI, M. C. Guaçatonga (*Casearia sylvestris* SW) e porangaba (*Cordia salicifolia* ou *Cordia ecalyculata* Vell / Boraginaceae) possuem ação no emagrecimento?. **Brasilian Journal of Natural Sciences**. ed. 1; v. 3, 2018. ISSN 2595-0584
- ASSONUMA, M. M. Determinação de alantoína e avaliação farmacológica de *Cordia ecalyculata* VELL. (Chá de bugre). **Universidade Estadual Paulista – UNESP**, Instituto de Química. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Química, Araraquara – São Paulo, 2009.
- BADANAI, J. M. Utilização de plantas medicinais, fitoterápicos e dos potenciais riscos de suas interações com medicamentos alopáticos, por idosos atendidos pela farmácia – escola – São Caetano do Sul. **Universidade Municipal de São Caetano do Sul - USCS**, São Caetano do Sul – SP, 2011.
- BARBOSA, A. C. L.; SANTOS, M. D. Fitoterápicos: a salvação para as superbactérias. **Centro Universitário Monte Serrat – UNIMONTE**, Santos – SP, 2018. Disponível em: <<https://universidadedocotidiano.catracalivre.com.br/o-que-aprendi/unimonte/fitoterapicos-salvacao-para-as-superbacterias/>>. Acesso em: 01 mar. 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução de Diretoria Colegiada no. 14 de 05 de abril de 2010, 2010.
- BUENO NETO, J.; WOLOSKE, M.; TOLEDO, O. M.; LEÃO, L. E. P. Trombose Venosa Profunda Aguda. **Departamento de Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP**, 2013.

FEITOSA, E. A.; XAVIER, H. S.; RANDAU, K. P. Chrysobalanaceae: traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Rev. bras. farmacogn.**, Curitiba, v. 22, n. 5, p. 1181-1186, 2012.

FRANCÊS, S. L.; ARTHUR, J. F.; LEE, H.; NESBITT, W. S.; ANDREWS, R. K.; GARDINER, E. E.; HAMILTON, J. R. Inhibition of protease-activated receptor 4 impairs platelet procoagulant activity during thrombus formation in human blood. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 14, 8 ed., 2016.

FRYDMAN, J. N. G.; ROCHA, V. C.; BENARROZ, M. O.; ROCHA, G. S.; PEREIRA, M. Assessment of Effects of a *Cordia salicifolia* Extract on the Radiolabeling of Blood Constituents and on the Morphology of Red Blood Cells. **Journal of Medicinal Food**. v. 11, p. 767-772, 2008.

JOVELINO, J. R.; MARQUES, F. A. R.; COSTA, T. M. M.; SILVA, R. S.; FRANÇA, K. B. Análise do processo de produção do metanol a partir da gaseificação da biomassa para aplicações industriais. I **Congresso Nacional de Engenharia de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis/III Workshop de Engenharia de Petróleo**. Universidade Federal de Campina Grande – Unidade Acadêmica de Engenharia Química, 2015.

LABORCLIN. Manual para antibiograma: Difusão em disco (Kirby & Bauer). **Antibiograma**. LaborClin Produtos para laboratórios Ltda, rev. 05, p. 3 – 4, 2011.

MATHERS, A. J.; PEIRANO, G.; PITOUT, J. D. *Escherichia coli* ST131: The Quintessential Example of na Internacional Multiresistant High-Risk Clone. **Advances in Applied Microbiology**, 2015, p. 109 – 154. DOI: 10.1016/bs.aambs.2014.03.002.

MEHRAJ, J.; WITTE, W.; AKMATOV, M. K.; LAYER, F.; WERNER, G.; KRAUSE, G. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Patterns in the Community. **How to Overcome the Antibiotic Crisis**, 2016, p. 55 – 87. DOI: 10.1007/82_2016_497.

MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. Farmacobotânica: aspectos teóricos e aplicação. **Plantas Medicinais: histórico e conceitos**. Artmed, Porto Alegre – RS, 1 ed., 2017.

MORAIS, E. F. Plantas Medicinais cultivadas em quintais: uma análise etnobotânica. Universidade Potiguar. **Revista Científica da Escola de Saúde**. Catussaba, ano 4, n. 3, p. 41-50, 2015.

PORTANTILLO, C. S. **Hexano. Ficha de informações de segurança de produto químico**. Quimidrol, rev. 03, código: FISPQ – 041, 2011.

QUIMESP. **Acetato de etila P.A. Ficha de informações de segurança de produtos químicos**. Quimesp Química, rev. 02, FISPQ, em conformidade com NBR 14725:2014, 2017.

SILVA, I. M.; PEIXOTO, A. L. O abajurú (*Chrysobalanus icaco* L. e *Eugenia rotundifolia* Casar) comercializado na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 19, n. 1b, p. 325-332, 2009.

VEIGA JUNIOR, V. F.; MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 18: 464-471, 2008.

WEITZ, J. I.; BATES, S. M. New anticoagulants. **Journal Thromb Haemost.** Aug, v.3, n. 8, p. 43-53, 2005.

CAPÍTULO 5

BIOATIVIDADE ANTICOAGULANTE E ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS VEGETAIS EXTRAÍDOS DA *COPAIFERA PAUPERA* E *COPAIFERA PUBIFLORA*

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 01/09/2020

Marco Túlio Menezes Carvalho

Universidade do Estado de Minas Gerais
(UEMG)
Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9236934545390097>

Anna Karolina Pereira de Souza

Universidade do Estado de Minas Gerais
(UEMG)
Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8825451684222351>

Daniela Gontijo Tsutake

Universidade do Estado de Minas Gerais
(UEMG)
Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1540922911369352>

Ana Luísa Ferreira Giupponi

Universidade do Estado de Minas Gerais
(UEMG)
Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9438854692971573>

Beatriz da Silva Cunha

Universidade do Estado de Minas Gerais
(UEMG)
Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6184646572219322>

Mateus Goulart Alves

Universidade do Estado de Minas Gerais
(UEMG)
Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4215245520425461>

Marlon Vilela de Brito

Universidade do Estado de Minas Gerais
(UEMG)
Passos, MG

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1760304906917885>

Sérgio Ricardo Ambrósio

Universidade de Franca (UNIFRAN)
Franca, SP

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7942579499577578>

RESUMO: Foi avaliada ação dos óleos de *Copaifera paupera* e *Copaifera pubiflora* frente à coagulação sanguínea e ação antimicrobiana frente a diferentes microrganismos padrões. As cepas usadas foram *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e a concentração inibitória *mínima* foi avaliada utilizando discos de papel embebidos nas diferentes concentrações de cada óleo. Para a coagulação foi utilizado um pool de plasma citratado e determinados os tempos de Protrombina (TP) e Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa) usando as mesmas concentrações dos óleos. Nos ensaios microbiológicos, ambos os óleos apresentaram inibição frente às bactérias, sendo os resultados mais significativos a *Copaifera paupera* sobre a *Escherichia coli* nas concentrações de 10 e 5 mg/mL, apresentando halos de inibição de 28 e 24 mm respectivamente, do óleo de *Copaifera pubiflora* frente a *Escherichia coli* em todas as concentrações, com halos variando entre 26 a 27 mm e frente a *Staphylococcus aureus* nas concentrações de 0,1, 1,0 e 2,5 mg/mL, com halos de 20, 19,5 e 19,5 mm respectivamente.

Copaifera paupera apresentou inibição frente a *Staphylococcus aureus*, porém menos significativos, onde as concentrações de 10, 5 e 2,5 mg/mL resultaram em valores menores que a referência, apresentando halos de 13,5, 11 e 9 mm respectivamente, e as concentrações de 1,0 e 0,1 mg/mL não apresentaram inibição. Na coagulação, verificou-se que a *Copaifera paupera* prolongou o TP em 2 vezes na concentração de 5 mg/mL e prolongou o TTPa em 2,8 vezes também na concentração de 5 mg/mL. O óleo de *Copaifera pubiflora* prolongou o TP em 2,13 e 1,91 vezes nas concentrações de 10 e 5 mg/mL, e o TTPa em 3 a 4 vezes nas concentrações de 10, 5, e 2,5 mg/mL. Com tudo conclui que ambos os óleos possuem ação antimicrobiana e anticoagulante e podem ser usados em futuros estudos.

PALAVRAS - CHAVE: *Copaifera pubiflora*. *Copaifera paupera*. Coagulação sanguínea. Atividade antimicrobiana. Extrato vegetal.

EVALUATION OF ANTICOAGULANT AND ANTIMICROBIAL BIOACTIVITY OF VEGETABLE OILS EXTRACTED FROM *COPAIFERA PAUPERA* AND *COPAIFERA PUBIFLORA*

ABSTRACT: The antimicrobial activity of *Copaifera paupera* and *Copaifera pubiflora* oils in strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was evaluated, as well as their anticoagulant activity in a citrated plasma pool. Strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were used and the Minimal Inhibitory Concentration was determined using paper discs embedded in different concentrations of oil. For the coagulation assays a citrated plasma pool was used and the Prothrombin (TP) and Activated Partial Thromboplastin (TTPa) times were determined using different concentrations of the oils. In the microbiological tests, both oils showed inhibition against the bacteria, with the most significant results being *Copaifera paupera* activity on *Escherichia coli* at concentrations of 10 and 5 mg/mL, with inhibition halos of 28 and 24 mm respectively, followed by *Copaifera pubiflora* against *Escherichia coli* at all concentrations, with halos ranging from 26 to 27 mm and against *Staphylococcus aureus* at concentrations of 0.1, 1.0 and 2.5 mg/mL, with halos of 20, 19.5 and 19.5 mm respectively. *Copaifera paupera* showed inhibition against *Staphylococcus aureus*, but the results were less significant, since the concentrations of 10, 5 and 2.5 mg/mL resulted in lower values than the reference, presenting halos of 13.5, 11 and 9 mm respectively, and concentrations of 1.0 and 0.1 mg/mL showed no inhibition. In the coagulation assays, *Copaifera paupera* was shown to prolong TP 2 fold at 5 mg/mL concentration and prolong TTPa by 2.8 fold at 5 mg/mL. *Copaifera pubiflora* prolonged TP 2.13 and 1.91 times at concentrations of 10 and 5 mg/mL, and TTPa 3 to 4 times at concentrations of 10, 5, and 2.5 mg/mL. It was observed that both oils have antimicrobial and anticoagulant activity and can be used in future studies.

KEYWORDS: *Copaifera pubiflora*. *Copaifera paupera*. Blood coagulation. Antimicrobial activity. Plant extract.

1 | INTRODUÇÃO

As plantas são reconhecidas como excelentes fontes de compostos que podem atuar em uma diversidade de reações biológicas, podendo contribuir em processos bioquímicos envolvidos na hemostasia. (BALUNAS, KINGHORN, 2005).

Plantas medicinais da região do Norte do Brasil são amplamente utilizadas na

medicina popular pelas comunidades. Todavia pouco se sabe sobre os princípios ativos responsáveis pelos efeitos fitoterápicos do óleo de Copaíba utilizadas para o tratamento da inflamação ou também na coagulação. (MACIEL et al., 2002)

Os mecanismos de equilíbrio funcional da hemostasia destinam-se a regular o fluxo sanguíneo, evitando a ativação excessiva da coagulação que pode levar a oclusão vascular e trombose, sendo as desordens vasculares, incluindo infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e tromboembolismo arterial e venoso, as principais causas de mortalidade em sociedades ocidentais. (ZAGO et al., 2005; ZEE et al., 2008)

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) é um microrganismo Gram positivo de grande importância clínica, responsável por diversos processos infecciosos, como sepse, endocardite, pneumonia, meningite e síndrome do choque tóxico. Esse microrganismo é altamente versátil, apresentando cepas resistentes à grande maioria das terapias disponíveis atualmente. (SANTOS et al. 2007).

Outro microrganismo de importância clínica é *Escherichia coli* (*E. coli*), bactéria Gram negativa responsável por surtos de diarreia, podendo evoluir para infecções do trato urinário, meningite, colite hemorrágica e síndrome hemolítica-urêmica. (MITTELSTAEDT, CARVALHO, 2006)

Até o momento, nenhum fármaco utilizado na terapia de prevenção de trombose arterial é suficientemente potente, seguro e ativo, apresentando limitações, que incluem: eficácia moderada, risco significativo de hemorragias, irritação gástrica, resistência ao fármaco ou a via de administração exclusivamente parenteral. Assim como há a necessidade da descoberta de novas terapias anticoagulantes, há a necessidade de novos agentes antimicrobianos, o que levou ao interesse em novas opções terapêuticas, principalmente de formas naturais, que são abundantes na região amazônica e centro-oeste. Estudos recentes indicam que essas espécies são fontes promissoras de compostos com diversas atividades biológicas, como antimicrobianos, antioxidantes, anticoagulantes, entre outros. (HAMILTON, 2009; BASILE et al., 1988)

Dentre todas as plantas medicinais comumente utilizadas pela população brasileira, destacam-se as árvores do gênero *Copaifera*, conhecidas popularmente como “copaíbas ou pau d’óleo” devido a presença do óleo vegetal em seu tronco. (MENDONÇA, ONOFRE; 2009)

Tais propriedades medicinais eram bastante difundidas entre os índios latino-americanos. Relatos históricos denotam que este bálsamo era extensivamente utilizado como cicatrizante de feridas e úlceras, bem como antitetânico, principalmente sobre o umbigo de crianças recém-nascidas. (BIAVATTI et al., 2006)

O projeto propõe avaliar a ação das oleorresinas vegetais extraído da *Copaifera paupera* e *Copaifera pubiflora* sobre a coagulação sanguínea e seu efeito como possíveis anticoagulantes, assim como seu efeito antimicrobiano sobre espécies de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Para os ensaios microbiológicos foram utilizados discos de papel estéril embebidos em diferentes concentrações das substâncias em estudo. As cepas foram semeadas em placas de ágar Müeller – Hinton, e os discos foram adicionados para a determinação da Concentração Inibitória Mínima.

Para os ensaios de coagulação, foram determinados os tempos de protrombina e tromboplastina parcial ativada utilizando os kits de TP e TTPa.

As medidas foram realizadas em duplicata e os resultados foram expressos pelo tempo obtido nos diferentes testes de plasmas. Os resultados foram expressos em segundos sendo o tempo máximo do ensaio 300 segundos.

2 | METODOLOGIA

Para o desenvolvimento da pesquisa, as oleorresinas de *Copaifera* cedidas pelo programa de pós-graduação em Ciências da Universidade de Franca - UNIFRAN do estado de São Paulo e do Grupo de Pesquisas em Produtos Naturais da UNIFRAN (GPNUF). Como a pesquisa envolve a coleta venosa de voluntários para a realização dos ensaios de coagulação, o trabalho foi submetido à Plataforma Brasil para apreciação ética.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana foram utilizados microrganismos o *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922.

Os microrganismos foram repicados em ágar Müeller - Hinton e incubados a 37°C por 24 horas antes do experimento. Para o preparo do inóculo, as culturas de cada microrganismo foram transferidas para tubos de ensaio contendo 2 mL de salina estéril até obtenção de turbidez equivalente à metade da escala 1,0 de MacFarland.

Para o processo do antibiograma foi utilizado, como padrão, o manual da Laborclin (2011), que permite a detecção da sensibilidade das bactérias em relação aos antimicrobianos, também denominados como TSA (Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos).

Os antibióticos escolhidos foram Vancomicina para a cepa de *S. aureus* e Ampicilina para a cepa de *E. coli*.

Com um *swab* estéril, o inóculo previamente preparado foi semeado em placas de Mueller-Hinton, e após a secagem, discos estéreis foram adicionados no meio semeado. Após a adição dos discos, foram pipetados 5 µL de cada uma das concentrações dos óleos e adicionados nos respectivos discos. Foi adicionado também um disco contendo o antibiótico controle. As placas foram então incubadas a 37°C durante 24 h.

Ao final desse procedimento, com uma régua, foi mensurado o diâmetro dos halos inibitórios de cada disco, comparando o valor encontrado com o padrão (tabela), e as bactérias foi classificada em sensível ou resistente a concentração testada.

Para os ensaios de coagulação TP e TTPa foram utilizados plasmas sanguíneos humanos (“pool” de 15 doadores). Os plasmas passaram por testes de qualidade onde foram feitas análises de bioquímica buscando a garantia que esses doadores apresentavam

valores dos testes de coagulação normais (os valores foram utilizados como grupo controle). Todos os ensaios foram realizados com diferentes concentrações dos óleos de copaíba para a determinação de curva dose resposta para verificar a melhor dose com possível efeito anticoagulante.

O pool para o ensaio de coagulação foi coletado por punção venosa com seringa contendo solução de citrato de sódio 3,8%. A coleta foi realizada, em seguida, o sangue foi centrifugado para a obtenção do plasma. O mesmo foi dividido em pequenas frações e estocado em freezer -80 °C para a posterior realização dos ensaios.

O tempo de protrombina (TP) foi determinado utilizando o kit TP BIOCLIN após adição de tromboplastina tecidual ao plasma pobre em plaquetas. Em um tubo aquecido a 37°C foram adicionados 50 µL de plasma e 50 µL da substância em estudo. Após a incubação a 37°C, durante 60 segundos, 100 µL de tromboplastina foram adicionados, acionando-se então o cronômetro. Os resultados foram expressos em segundos sendo o tempo máximo do ensaio 300 segundos.

A determinação do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) foi realizada utilizando o kit TTPa BIOCLIN.

Em um tubo aquecido a 37°C foram adicionados 50 µL de plasma, 50 µL de cefalina na presença de 50 µL das substâncias em estudo. Após a incubação a 37°C, durante 120 segundos, foram adicionados 50 µL de CaCl₂ (0,025 M), aquecido previamente a 37°C, sendo acionado simultaneamente o cronômetro.

Os resultados foram expressos pelo tempo obtido nos diferentes testes de plasmas em segundos sendo o tempo máximo do ensaio 300 segundos.

A comparação feita entre os diferentes grupos, nos modelos utilizados neste trabalho foram expressos como média ± erro padrão da média (eEPM.) e analisados estatisticamente por Análise de Variância (ANOVA). O índice de significância considerado foi determinado por Kruskal-Wallis e complementado pelos testes de comparações múltiplas de Dunn e Tukey, o índice fixado foi de (5%) $p < 0,05$.

3 | RESULTADOS

3.1 Atividade antimicrobiana

Para a avaliação da atividade antimicrobiana foi determinada a Concentração Inibitória Mínima através de discos estéreis impregnados com as diferentes concentrações do óleo. Os resultados são interpretados através da análise dos halos de inibição. Uma cepa é considerada sensível quando determinada cepa pode ser tratada adequadamente com a dose do agente antimicrobiano recomendada para este tipo de infecção, e é considerada resistente quando não há inibição da cepa pelas concentrações dos agentes antimicrobianos. (CLSI, 2011).

Os resultados obtidos pela ação da *Copaifera pubiflora* frente à cepa padrão de

Staphylococcus aureus podem ser observados na Tabela 1. Ao falarmos de controle, tanto o controle positivo quanto o negativo se encontraram dentro do padrão esperado, onde a Vancomicina inibiu o crescimento da cepa apresentando um halo de sensibilidade de 23 mm e o controle negativo com solução salina estéril (branco) não causou qualquer ação sobre a bactéria.

Foi possível observar que o *Staphylococcus aureus* apresentou susceptibilidade diante do óleo de *Copaifera pubiflora*, uma vez que apresentou halos de inibição entre 17 mm a 20 mm em diferentes concentrações testadas, indicando que a cepa é sensível ao óleo em estudo, porém não apresentou eficácia superior ao controle positivo testado.

<i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Copaifera pubiflora</i>	
Concentrações	Diâmetro dos halos
Vancomicina	23 mm
10 mg/mL	17 mm
5 mg/mL	16,5 mm
2,5 mg/mL	19,5 mm
1,0 mg/mL	19,5 mm
0,1 mg/mL	20 mm
Branco	0 mm

Tabela 1 - Avaliação da concentração inibitória mínima do óleo de *Copaifera pubiflora* frente a *Staphylococcus aureus*.

*Valores de susceptibilidade e resistência à vancomicina. Sensível – 17 a 21 mm; Resistente – menor ou igual a 17 mm.

Fonte: Elaborado pelos autores, 2018.

A ação da *Copaifera pubiflora* frente à cepa padrão de *Escherichia coli* podem ser observados na Tabela 2. O controle positivo com antibiótico Ampicilina se encontrou dentro do padrão esperado, onde ela inibiu o crescimento da cepa apresentando um halo de sensibilidade de 29 mm e o controle negativo com solução salina estéril (branco) não causou qualquer ação sobre a bactéria, validando assim nossos resultados.

<i>Escherichia coli</i> - <i>Copaifera pubiflora</i>	
Concentrações	Diâmetro dos halos
Ampicilina	29 mm
10 mg/mL	27 mm
5 mg/mL	27 mm
2,5 mg/mL	26 mm
1,0 mg/mL	26 mm
0,1 mg/mL	26 mm
Branco	00 mm

Tabela 2 - Avaliação da concentração inibitória mínima do óleo de *Copaifera pubiflora* frente a *Escherichia coli*.

*Valores de susceptibilidade e resistência à ampicilina. Sensível – 16 a 22 mm

Resistente – menor ou igual a 16 mm.

Fonte: Elaborado pelos autores, 2018.

A cepa de *Escherichia coli* também apresentou susceptibilidade a todas as concentrações do óleo de *Copaifera pubiflora*, destacando-se a menor concentração testada (0,1mg/mL) onde apresentou grande inibição com halo de 26 mm próximo a ação de nosso controle positivo com ampicilina.

Os ensaios com o óleo da *Copaifera paupera* apresentaram resultados diferentes dos apresentados com a *Copaifera pubiflora* e estão expostos na Tabela 3. Podemos concluir através de uma análise que a cepa padrão de *Staphylococcus aureus* se mostrou resistente à ação óleo de *C. paupera* e não apresentou uma inibição significativa quando comparada ao óleo de *C. pubiflora*, uma vez que todas as concentrações apresentaram halos de inibição menores que os valores do outro óleo, com destaque para as concentrações de 1,0 e 0,1 mg/mL que não apresentaram halos. Os controles positivos e negativos validaram os ensaios.

<i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Copaifera paupera</i>	
Concentrações	Diâmetro dos halos
Vancomicina	24,5 mm
10 mg/mL	13,5 mm
5 mg/mL	11 mm
2,5 mg/mL	9 mm
1,0 mg/mL	0 mm
0,1 mg/mL	0 mm
Branco	0 mm

Tabela 3 - Avaliação da concentração inibitória mínima do óleo de *Copaifera paupera* frente a *Staphylococcus aureus*.

*Valores de susceptibilidade e resistência à vancomina. Sensível – 17 a 21 mm

Resistente – menor ou igual a 16 mm.

Fonte: Elaborado pelos autores, 2018.

De acordo com a ANVISA (2016) a resistência das bactérias aos antimicrobianos consiste em um desafio para a saúde pública de todo o mundo, pois compromete a vida de toda uma população. Essa resistência permite ao microrganismo, se adaptar ou reduzir a eficácia desses fármacos tornando algumas cepas que anteriormente eram susceptíveis em altamente resistentes.

Níveis preocupantes de resistência já são detectados em algumas localizações, chegando ao ponto de algumas cepas do *S. aureus* não possuírem sensibilidade a nenhuma outra classe de antibióticos atualmente disponíveis (DURAN et al., 2012, WANG et al., 2013). Diante desse contexto, alternativas de tratamento estão sendo pesquisadas, como é o caso das espécies de *Copaifera*.

A ação da *Copaifera paupera* frente à cepa padrão de *Escherichia coli* podem ser observados na Tabela 4. O controle positivo com antibiótico Ampicilina se encontrou dentro do padrão esperado, onde ela inibiu o crescimento da cepa apresentando um halo de sensibilidade de 29 mm e o controle negativo com solução salina estéril (branco) não causou qualquer ação sobre a bactéria, validando assim nossos resultados.

A cepa de *E. coli*, somente a concentração de 0,1 mg/mL não apresentou valores dentro da comparação com o outro óleo e nessa tabela o resultado que merece destaque

fica com a concentração de 10 mg/mL sendo a mais significativa, uma vez que apresentou a mesma inibição que nosso controle positivo, a ampicilina.

<i>Escherichia coli</i> - <i>Copaifera paupera</i>	
Concentrações	Diâmetro dos halos
Ampicilina	29 mm
10 mg/mL	28 mm
5 mg/mL	24 mm
2,5 mg/mL	21 mm
1,0 mg/mL	16 mm
0,1 mg/mL	11,5 mm
Branco	0 mm

Tabela 4 - Avaliação da concentração inibitória mínima do óleo de *Copaifera paupera* frente a *Escherichia coli*.

*Valores de susceptibilidade e resistência à ampicilina. Sensível – 16 a 22 mm
Resistente – menor ou igual a 16 mm.

Fonte: Elaborado pelos autores, 2018.

Algumas cepas patogênicas de *Escherichia coli*, foram capazes de desenvolver mecanismos de resistência às classes de antibióticos habitualmente utilizados. Na década de 1980, constata-se expectativa do aumento da eficácia do tratamento contra *Escherichia coli*, em virtude da liberação no mercado de medicamentos como as fluoroquinolonas e cefalosporinas, contudo, a bactéria conseguiu desenvolver mecanismos de resistência contra estes fármacos devido à produção de β -lactamases. Há evidências que indicam que este fato associa-se à propagação mundial, desde 2008, de um clone específico de *Escherichia coli* denominado ST131 (NICOLAS-CHANOINE; BERTRAND; MADEC, 2014; JOHNSON et al, 2010), ressaltando-se a importância de novas pesquisas visando a análise do potencial de diferentes extratos como antibacterianos.

Alguns resultados encontrados na literatura serviram como discussão como por exemplo, os resultados encontrados por Santos et. al (2008), que avaliou a atividade antimicrobiana dos óleos de *Copaifera martii*, *Copaifera officinalis* e *Copaifera reticulata*

frente a diferentes espécies de bactérias, entre elas, cepas selvagens de *Staphylococcus aureus*, MRSA, e *Escherichia coli*, mostraram que os óleos possuíam atividade contra as cepas Gram positivas testadas, com concentração inibitória mínima variando entre 62,5 a 125 µg/mL, ao passo que foram inativos contra espécies Gram negativas. Dentre os óleos testados pelo autor, o óleo de *C. martii* produziu efeitos mais significativos.

Já os resultados obtidos por Mendonça e Onofre (2009), que estudaram a atividade antimicrobiana do óleo de *Copaifera multijuga* Hayne contra *E. coli*, *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, mostraram que todas as cepas foram sensíveis à óleo-resina, com concentração inibitória mínima de 1,56, 3,12, e 12,5% respectivamente.

3.2 Atividade anticoagulante

Para avaliação do efeito anticoagulante dos óleos de *Copaifera pubiflora* e *Copaifera paupera* *in vitro* foram determinados o tempo de protrombina (TP) e o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), utilizando um ‘pool’ obtido de plasma humano de 15 doadores voluntários.

Os resultados obtidos mostraram que o TP do plasma humano foi alterado significativamente pelo óleo da *Copaifera pubiflora* nas concentrações de 10 mg/mL e 5 mg/mL, prolongando o tempo em 2,13 e 1,91 vezes, respectivamente. No entanto, as concentrações de 2,5; 1,0 e 0,5 mg/mL não alteraram o TP de forma significativa.

Em relação ao TTPa, o tempo foi prolongado em 3 a 4 vezes pelas concentrações 10; 5 e 2,5 mg/mL sendo estas as mais significativas.

Os resultados de TP e TTPa estão expressos na Figura 1 A e B, respectivamente.

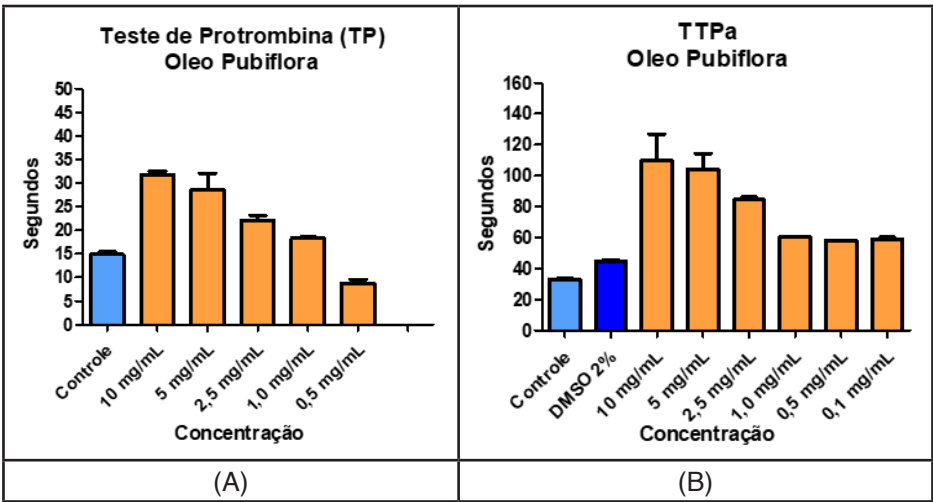


Figura 1 - A e B Demonstram o efeito do óleo de *Copaifera pubiflora* sobre o TP e TTPa no plasma humano, onde *p<0,05 e *p<0,001 respectivamente. Valores de referência: TP 11 a 16 segundos e TTPa 25 a 36 segundos. Segundo o kit comercial Bioclin.

Fonte: Autores (2018)

Quanto ao óleo de *Copaifera paupera*, os resultados obtidos mostraram que o TP do plasma humano foi alterado somente pela amostra com concentração de 5 mg/mL, prolongando o tempo em 2 vezes, sendo que as outras concentrações não alteraram o TP de forma significativa.

Um resultado semelhante foi observado no TTPa do plasma humano, onde o óleo prolongou o tempo em 2,8 vezes, somente na concentração de 5 mg/mL, sendo que as outras concentrações também não apresentaram alterações significantes.

Os resultados de TP e TTPa estão expressos na Figura 2 A e B, respectivamente.

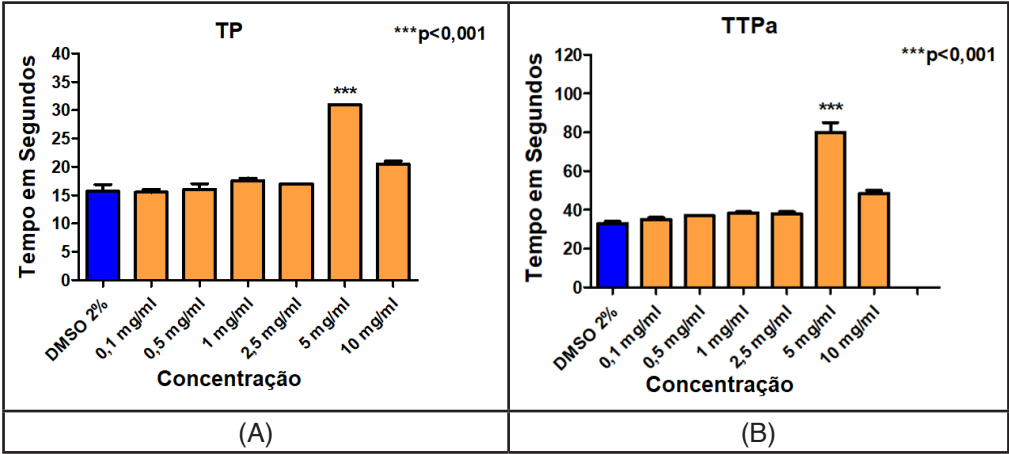


Figura 2 - A e B Demonstram o efeito do óleo de *Copaifera paupera* sobre o TP e TTPa no plasma humano, onde * $p<0,05$ e *** $p<0,001$ respectivamente. Valores de referência: TP 11 a 16 segundos e TTPa 25 a 36 segundos. Segundo o kit comercial Bioclin.

Fonte: Autores (2018)

Devida a restrita especificidade das enzimas da coagulação é fácil entender por que poucos inibidores isolados de plantas são capazes de bloquear suas atividades (OLIVA E SAMPAIO, 2009; BRITO et al., 2016). Como a tripsina e a quimotripsina, as enzimas da coagulação do sangue são serinopeptidases, porém, ao contrário da tripsina, as peptidases da cascata da coagulação, durante o curso da evolução, adquiriram um alto grau de especificidade e clivam apenas um número limitado de ligações peptídicas envolvendo resíduos de aminoácidos básicos.

O efeito do óleo resina prolongando o tempo de tromboplastina parcialmente ativada *in vitro*, indica ser a fase de contato inibida na presença da substância, que afeta as enzimas da via intrínseca da coagulação como a caliceína plasmática humana ou enzimas da via comum.

O TP é utilizado para detectar deficiências dos fatores pertencentes ao sistema extrínseco bem como e subsequente a via comum, permitindo revelar deficiências dos fatores que tomam parte neste sistema. Reflete alterações em três dos fatores dependentes da vitamina K (fator II, VII e X), do fibrinogênio e do fator V (RAVEL, 1997). A elevação no TP nos experimentos realizados é um possível indicativo da ação do óleo sobre a via extrínseca da coagulação. O prolongamento dos tempos de TP e TTPa pelas substâncias em estudo demonstram que o óleo possui um forte indício para ser utilizado como anticoagulante, porém estudos mais detalhados da substância devem ser realizados para a caracterização da molécula ativa.

4 | CONCLUSÃO

Com a realização deste trabalho foi possível observar que, condizente com a medicina popular, os óleos vegetais extraídos de *Copaifera paupera* e *Copaifera pubiflora* possuem efeito antimicrobiano e anticoagulante, como mostram os gráficos apresentados, sendo capazes de inibir o crescimento das espécies estudadas e prolongar o tempo de protrombina, assim como o tempo de tromboplastina parcial ativada, podendo ser útil para estudos futuros em modelos de antimicrobianos, coagulação e trombose, uma vez que sua ação é descrita no presente estudo. Tais resultados são de grande valia, uma vez que não só comprovam as crenças mantidas pela medicina popular, mas também são fundamentais para o início de novas pesquisas envolvendo a busca de anticoagulantes e antimicrobianos, que se tornam cada vez mais necessários.

REFERÊNCIAS

BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A.D. **Drug discovery from medicinal plants**. Life Sciences, suppl 78, v. 5, p. 431-441, 2005.

BASILE, A. C. et al. **Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *copaifera***. Journal of Ethnopharmacology, v. 22, p. 101-109, 1988.

BIAVATTI, M. W. et al. **Análise de óleos resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade**. Ver. Brás. Farmacogn. João Pessoa, v. 16, n.2, p. 230-235, jun. 2006.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**; Twenty-First Informational Supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.

DURAN N, O.B., DURAN GG, ONLEN Y, DEMIR C. **Antibiotic resistance genes & susceptibility patterns in *staphylococci***. Indian J Med Res. 135:389-96, 2012.

HAMILTON, J. R. **Protease-activated receptors as targets for antiplatelet therapy**. Blood reviews, v. 23, p. 61-65, 2009.

JOHNSON, J. R.; BRIAN, J.; CONNIE, C.; KUSKOWSKI, M. A.; MARIANA, C. ***Escherichia coli* sequence type ST131 as the major cause of serious multidrug-resistant E. coli infections in the United States**. Clinical Infectious Diseases, v. 51, p. 286–294, 2010.

LABORCLIN, **Manual para Antibiógrama**: difusão em disco (Kirby e Bauer), Rev. 05, 2011.

MACIEL, M. A. M et al. **Plantas medicinais**: A necessidade de estudos multidisciplinares. Química Nova, v. 3, p. 429-438, 2002.

MENDONÇA, D. E.; ONOFRE, S.B. **Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba–*Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae)**. Rev. bras. farmacogn., João Pessoa , v. 19, n. 2b, p. 577-581, Junho 2009.

MENDONÇA, D. E.; ONOFRE, S.B. **Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba–*Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae)**. Rev. bras. farmacogn., João Pessoa , v. 19, n. 2b, p. 577-581, Junho 2009.

MITTELSTAEDT, S.; CARVALHO, V.M. ***Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) 0157:H7** – revisão. Ver InstCiênc Saúde, v. 24, n. 3, p. 175-82, jul-set 2006.

NICOLAS-CHANOINE, M. H.; BERTRAND, X.; MADEC, J, Y. ***Escherichia coli* ST131, an Intriguing Clonal Group**. Clinical Microbiology Reviews, v. 27, n. 3, p. 543–574, 2014.

OLIVA, M. L. V.; SAMPAIO, M. U. **Action of plant proteinase inhibitors on enzymes of physiopathological importance**. An. Acad. Bras. Ciênc. 81(3):615-621, 2009.

RAVEL, R. **Aplicações clínicas dos dados laboratoriais**. In: Laboratório clínico. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1997.

SANTOS, A. L. et al. ***Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar**. J. Bras. Patol. Med. Lab., Rio de Janeiro, v. 43, n. 6, p. 413-423, dez. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442007000600005&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 22 set. 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442007000600005>.

WANG, W. et al. **Genetic characterization and antimicrobial susceptibility analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from ready-to-eat food and pig-related sources in China**. Wei Sheng Yan Jiu. 42(6):925-31, 2013.

ZAGO, M. A. et al. **Hematologia**: Fundamentos e prática. Ed. Rev. Atual. São Paulo: Atheneu, 2005.

ZEE, R.Y.et al. **Purinergic receptor P2Y₂, G-protein coupled, 12 gene variants and risk of incident ischemic stroke, myocardial infarction, and venous thromboembolism**. Atherosclerosis, p. 694-699, 2008.

CAPÍTULO 6

CONTROLE BIOLÓGICO, *IN VITRO*, DE FITOPATÓGENOS DE ESPÉCIES FLORESTAIS

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 16/10/2020

Bruno Rodrigo de Jesus dos Santos

Universidade Federal do Oeste do Pará
(Ufopa). Santarém-PA.
<http://lattes.cnpq.br/6083515189564076>

Jéssica Carine do Nascimento de Matos

Universidade Federal do Oeste do Pará
(Ufopa).
Santarém-PA.
<http://lattes.cnpq.br/5554867217742762>

Rayssa Xavier Rebelo

Universidade Federal do Oeste do Pará
(Ufopa). Santarém-PA.
<http://lattes.cnpq.br/8700097758400717>

Katiane Araújo Lourido

Universidade Federal do Oeste do Pará
(Ufopa).
Santarém-PA.
<http://orcid.org/0000-0002-3923-1899>

Geomarcos da Silva Paulino

(PPGSND/Ufopa). Bolsista do CNPq.
Santarém-PA
<https://orcid.org/0000-0001-8255-0134>

Bruna Cristine Martins de Sousa

Universidade Federal do Oeste do Pará
(Ufopa), Instituto de Biodiversidade e Florestas
(IBEF).
Santarém-PA.
<http://orcid.org/0000-0002-9891-3689>

Thiago Almeida Vieira

Universidade Federal do Oeste do Pará
(Ufopa), Instituto de Biodiversidade e Florestas
(Ibef).
Santarém-PA.
<http://orcid.org/0000-0001-9926-2606>

Denise Castro Lustosa

Universidade Federal do Oeste do Pará
(Ufopa), Instituto de Biodiversidade e Florestas
(Ibef).
Santarém-PA.
<http://orcid.org/0000-0001-7448-9564>

RESUMO: O uso de fungos do gênero *Trichoderma* é uma alternativa viável para o controle de doenças tanto em espécies agrícolas quanto florestais. Nesse sentido, o trabalho objetivou avaliar diferentes isolados de *Trichoderma* no controle biológico, *in vitro*, de fitopatógenos associados a espécies florestais. Foram avaliados sete isolados de *Trichoderma* sobre oito fitopatógenos, por meio dos seguintes testes: taxa de crescimento em cultivo individual, confrontação direta, produção de compostos tóxicos e produção de compostos voláteis. Em todos os ensaios, os fungos foram incubados a 25°C, sob fotoperíodo 12h e o tratamento controle consistiu do cultivo dos fitopatógenos na ausência dos agentes de biocontrole. Os isolados de *Trichoderma*, com exceção do Ta, apresentaram maiores taxas de crescimento que os fitopatógenos. No teste de confrontação direta, todos os fitopatógenos do gênero *Pestalotiopsis* tiveram seu crescimento reduzido pelos isolados de *Trichoderma*. A maioria dos

agentes de biocontrole utilizados produziu algum composto tóxico e/ou volátil responsável pela redução nas colônias dos fungos. Os isolados de *Trichoderma* avaliados apresentam potencial como agentes de biocontrole, *in vitro*, dos fitopatógenos confrontados, utilizando diferentes mecanismos de ação.

PALAVRAS-CHAVE: agentes de biocontrole, controle alternativo, espécies arbóreas, fungos.

BIOLOGICAL CONTROL, *IN VITRO*, OF FOREST SPECIES PHYTOPATHOGENS OF FOREST SPECIES

ABSTRACT: The use of fungi of the genus *Trichoderma* is a viable alternative for the control of diseases in both agricultural and forest species. In this sense, the work aimed to evaluate different isolates of *Trichoderma* in biological control, *in vitro*, of phytopathogens associated with forest species. Seven isolates of *Trichoderma* were evaluated on eight phytopathogens, using the following tests: growth rate in individual cultivation, direct confrontation, production of toxic compounds and production of volatile compounds. In all tests, the fungi were incubated at 25°C, under a 12h photoperiod, the control treatment consisted of the cultivation of phytopathogens in the absence of biocontrol agents. *Trichoderma* isolates, with the exception of Ta, showed higher growth rates than phytopathogens. In the direct confrontation test, all phytopathogens of the genus *Pestalotiopsis* had their growth reduced by the isolates of *Trichoderma*. Most of the biocontrol agents used produced some toxic and/or volatile compound responsible for the reduction in fungal colonies. The evaluated *Trichoderma* isolates have potential as biocontrol agents, *in vitro*, of confronted phytopathogens, using different mechanisms of action.

KEYWORDS: biocontrol agents, alternative control, tree species, fungi.

1 | INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado de produtos químicos para manejo de doenças de plantas se revelam insustentáveis e perigoso para o meio ambiente, trazendo consigo desequilíbrio biológico de diversos ecossistemas como a contaminação de solos, da água, intoxicação do homem e animais e até mesmo a indução da resistência de fitopatógenos à determinados princípios ativos a estes produtos (MYERS et al., 2016).

Assim, visando minimizar os efeitos negativos do uso abusivo dessas substâncias e, propiciar o desenvolvimento de uma produção sustentável de melhor qualidade, têm-se buscado novas medidas de proteção contra patógenos de plantas (BETTIOL, 2009). Nos últimos anos, o controle biológico de doenças, especialmente, os que apresentam efeito letárgico de microrganismos patógenos de plantas, tem sido considerada uma alternativa ambientalmente promissora se comparado aos métodos de controle químico ainda amplamente praticados na atualidade (RAO et al., 2016).

Dentre os organismos mais utilizados no controle biológico de doenças em plantas, destaca-se *Trichoderma*. Os antagonistas pertencentes a esse gênero estão entre os fungos do solo mais comumente isolados, devido à sua capacidade de proteção biológica às plantas e contenção de populações de microrganismos patogênicos, sob diferentes condições de

estresse ambiental, sendo fungos amplamente estudados e, atualmente comercializados como biopesticidas do solo por serem excelentes competidores de substrato e produzirem numerosos compostos biologicamente ativos contra uma diversidade de patógenos de plantas (LÓPEZ-BUCIO et al., 2015).

Apesar da inestimável contribuição de espécies de *Trichoderma* em culturas agrícolas, poucos trabalhos têm sido realizados envolvendo esses fungos antagonistas em espécies florestais (DONOSO et al., 2008). O estudo da interação entre o *Trichoderma* e as espécies florestais, poderá não somente otimizar a produção de mudas para as mais diversas finalidades, gerando benefícios para os produtores em viveiros, como também, contribuir para a melhoria do processo de produção e comercialização de inúmeras espécies de grande interesse econômico e ecológico (MACHADO et al., 2015).

No entanto, para confirmar se determinado microrganismo tem ação antagônica sobre outros, são indispensáveis a realização de testes *in vitro* e *in vivo*, sendo que, os ensaios *in vitro* possuem as vantagens de possibilitar a análise de um grande número de potenciais antagonistas, permitir o estudo do mecanismo de ação utilizado e facilitar a observação das interações entre o agente antagonista e o patógeno em um curto prazo de tempo, ocupando uma área relativamente pequena (GRIGOLETTI JÚNIOR et al., 2000). Nesse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar sete isolados de *Trichoderma* no controle, *in vitro*, de oito fitopatógenos associados a espécies florestais.

2 | METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia do Instituto de Biodiversidade e Florestas - Ibef, Campus Tapajós, da Universidade Federal do Oeste do Pará - Ufopa, em Santarém, Pará, Brasil.

2.1 Obtenção dos Agentes de Biocontrole e Fitopatógenos

Foram utilizados sete isolados de *Trichoderma*, sendo estes: quatro isolados de *Trichoderma asperellum* (Tam01, Tam02 e Tam03 e Ta) e três isolados identificados em nível de gênero (Tb, Tc e Tce), todos provenientes de solos da região Amazônica.

Os oito fitopatógenos confrontados com os agentes de biocontrole foram obtidos de folhas de diferentes espécies florestais, sendo estes: *Alternaria* sp. (*Eucalyptus* sp.), *Cylindrocladium* sp. (*Eucalyptus* sp.) e *Pestalotiopsis* spp. (*Bertholletia excelsa*, *Dipteryx odorata*, *Eucalyptus* sp., *Handroanthus* sp., *Hevea brasiliensis* e *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*). Para realização dos ensaios, os isolados fúngicos (agentes de biocontrole e fitopatógenos) foram previamente crescidos em meio de cultura de batata-dextrose-água (BDA).

2.2 Ensaios *In Vitro*

O potencial dos isolados de *Trichoderma* como agentes de biocontrole foi avaliado por meio de quatro ensaios: taxa de crescimento em cultivo individual, confrontação direta, análise de compostos tóxicos e análise de compostos voláteis.

2.2.1 Crescimento micelial e taxa de crescimento dos agentes de biocontrole e dos fitopatógenos em cultivo individual

Foi retirado um disco de meio (5mm), das bordas das colônias, com sete dias de cultivo, de cada um dos isolados fúngicos, e transferidos para o centro das placas de Petri (8,5cm) contendo meio BDA (BONFIM et al., 2010) e mantidas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, sendo uma placa por repetição.

A avaliação consistiu da medição diária do diâmetro médio das colônias fúngicas, com auxílio de régua milimétrica, nos intervalos de tempo de 24 e 48 horas. A taxa de crescimento de cada isolado foi determinada aplicando-se fórmula de Lilly e Barnett (1951): $T_{xc} = C_2 - C_1 / T_2 - T_1$. Onde: T_{xc} = Taxa de crescimento (mm.h^{-1}); C_1 = Crescimento após 24h de incubação; C_2 = Crescimento após 48h de incubação; T_1 = 24h e, T_2 = 48h.

2.2.2 Teste de confrontação direta

Discos de meio (5mm) contendo as estruturas dos agentes de biocontrole e dos fitopatógenos foram retirados das margens das colônias e depositados, diametralmente opostos uns dos outros, em placas com BDA, na combinação agente de biocontrole – fitopatógeno, segundo adaptação de Błaszczyk et al. (2017). O tratamento controle consistiu da deposição apenas do disco do fitopatógeno em um dos lados da placa. Os fungos foram incubados a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo 12h. O delineamento experimental foi em DIC, em esquema fatorial, com quatro repetições, sendo uma placa por repetição. Avaliou-se o crescimento radial dos fitopatógenos, medindo-se, diariamente, o diâmetro médio das colônias, com auxílio de régua milimétrica, durante sete dias.

2.2.3 Análise de compostos tóxicos

Os sete isolados de *Trichoderma* foram previamente cultivados em meio BDA e, após quatro dias foram retirados três discos (5mm) da margem das colônias fúngicas e transferidos para frascos de Erlenmeyer, com capacidade para 125 mL, contendo 65 mL de meio batata-dextrose (BS). Os frascos contendo os fungos foram mantidos sob agitação a 120rpm, durante 15 dias, segundo método adaptado de Amin et al. (2010). Após esse período, realizou-se a pré-filtragem do caldo da cultura em três camadas de gaze estéril para remoção de qualquer estrutura dos agentes de biocontrole, seguida da filtragem em membrana de Millipore® (0,45 μm).

Foram retirados 50 mL do líquido metabólico, sendo misturados com 50 mL de meio BDA fundente, realizada a homogeneização, obtendo-se a concentração final de 50% (v/v) e, vertidos em placas de Petri. Após solidificação do meio, um disco micelial (5mm) de cada fitopatógeno foi colocado no centro das placas contendo o filtrado com cada um dos agentes de biocontrole. O tratamento controle consistiu da deposição dos fitopatógenos em placas contendo apenas meio BSA. Todos os fungos foram mantidos a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ sob fotoperíodo de 12 horas. Avaliou-se, diariamente, o diâmetro médio das colônias, com régua milimétrica, durante sete dias.

2.2.4 Análise de compostos voláteis

A inibição do crescimento dos fitopatógenos por meio de compostos voláteis produzidos pelos isolados de *Trichoderma* foi avaliado pelo método de placas sobrepostas (MACIEL et al., 2012). Em tampas de placas de Petri contendo BDA foi depositado, centralmente, em uma delas, um disco de meio contendo estruturas do fitopatógeno e, na outra, um disco do agente de biocontrole. As tampas foram sobrepostas, mantendo-se o agente de biocontrole na parte inferior e o fitopatógeno na parte superior, sendo vedadas lateralmente, com membrana plástica e, os fungos incubados a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas. O controle consistiu da presença apenas dos fitopatógenos em ambas as tampas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com quatro repetições, sendo uma placa por repetição. A avaliação foi realizada diariamente, medindo-se o diâmetro médio das colônias com auxílio de régua milimétrica, durante sete dias.

2.3 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), pelo software estatístico Assistat® 7.7 Beta (SILVA, 2016).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Crescimento Micelial e Taxa de Crescimento dos Agentes de Biocontrole e dos Fitopatógenos em Cultivo Individual

Todos os isolados de *Trichoderma* avaliados, com exceção de *T. asperellum* - Ta apresentaram maiores taxas de crescimento que os fitopatógenos. A menor taxa de crescimento foi observada para o fitopatógeno *Cylindrocladium* sp. (Figura 1). A velocidade de crescimento do isolado de *Trichoderma* sp. - Tc variou de 1,6 a 9,0 vezes maior que a dos fitopatógenos avaliados. Espécies do gênero *Trichoderma* apresentam colônias de rápido crescimento que chegam a atingir de dois a nove centímetros de diâmetro após poucos dias de cultivo em meio de cultura (MOREIRA, 2014). Os agentes de biocontrole

são considerados competidores agressivos. Tal característica permite rápida colonização e alta competitividade, excluindo muitos patógenos (SILVA et al., 2007).

Resultados semelhantes ao encontrado para o crescimento de *Trichoderma* e *Cylindrocladium* também foram relatados por Fortes et al. (2007) ao avaliarem isolados de fungos antagonistas na promoção do enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. Os autores observaram colonização completa do meio batata-dextrose-água (BDA) pelos 13 isolados de *Trichoderma* spp. utilizados, em até 96 horas nas condições estabelecidas no ensaio, enquanto que, os isolados de *Cylindrocladium* spp. se desenvolveram mais lentamente, colonizando completamente o meio em 12 dias.

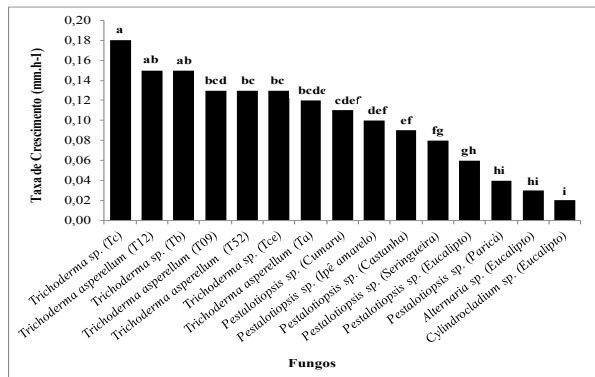


Figura 1. Taxa de crescimento, em cultivo individual, dos agentes de biocontrole e fitopatógenos. Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.2 Confrontação Direta

Houve diferença significativa tanto para os fatores isoladamente (*Trichoderma* e fitopatógenos), como para a interação entre eles ($p \leq 0,05$). Os isolados de *Trichoderma* avaliados reduziram o diâmetro médio das colônias dos seis isolados de *Pestalotiopsis*, em relação ao controle. O fungo fitopatogênico *Alternaria* sp. apresentou redução no crescimento quando confrontado com Tam01, Tam02, Ta e Tc, enquanto que, para *Cylindrocladium* sp., apenas o agente de biocontrole Tb reduziu o diâmetro médio da sua colônia (Tabela 1). A redução do crescimento de um fitopatógeno quando confrontado com um agente antagonista, como *Trichoderma*, pode ser atribuída à competição por espaço e nutrientes presentes no meio de cultura e/ou ao hiperparasitismo (VINALE et al., 2008).

Hadizadeh et al. (2009) e Baka (2010), ao avaliarem, *in vitro*, os agentes biocontrole *Trichoderma reesi* e *Trichoderma viride* sobre *Pestalotiopsis theae* também observaram redução no crescimento do fitopatógeno. Barman et al. (2015) avaliando os antagonistas *Trichoderma* spp., *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp. no controle de *P. theae*, destacaram que, *T. viride* ocasionou o maior efeito fungistáticos, com cerca de 74,3% inibição. Kumhar et al.

(2016) testando vários isolados de *Trichoderma* spp. contra o *P. theae*, observaram que *T. asperellum* e *T. viride* ocasionaram 62,5% e 61,5% de inibição micelial, respectivamente.

Tratamentos	Diâmetro Médio das Colônias (cm)							
	Fitopatógenos							
	A(e)	C(e)	P(e)	P(ca)	P(c)	P(i)	P(p)	P(s)
Controle	3,1 aD	2,0 aE	5,4 aC	6,5 aB	5,4 aC	7,9 aA	5,7 aC	5,6 aC
Tam01	2,4 bD	1,6 abE	3,2 bC	4,8 bA	4,0 bcB	5,2 cA	3,6 bBC	3,7 cBC
Tam02	2,4 bD	1,4 abE	3,5 bC	4,7 bB	4,1 bcC	5,9 bA	3,8 bC	3,5 cC
Tam03	2,6 abC	1,5 abD	3,6 bB	4,0 cB	4,1 bcB	5,2 cA	3,9 bB	4,0 bcB
Ta	2,3 bD	1,5 abE	3,8 bBC	4,4 bcB	3,7 bcC	5,9 bA	3,5 bC	4,4 bB
Tb	2,5 abE	1,4 bF	3,5 bD	4,5 bcB	4,3 bBC	5,4 bcA	3,8 bCD	4,2 bcBCD
Tc	2,1 bD	1,6 abD	3,4 bC	4,2 bcB	3,7 bcBC	5,3 bcA	3,6 bC	3,8 bcBC
Tce	2,5 abD	1,7 abE	3,6 bC	4,5 bcB	3,5 cC	5,3 bcA	3,5 bC	3,7 cC
CV(%)	7,9							

Tabela 1. Diâmetro médio das colônias dos fitopatógenos submetidos aos diferentes isolados de *Trichoderma* pelo teste de confrontação direta.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A (e): *Alternaria* sp. (eucalipto). C (e): *Cylindrocladium* sp. (eucalipto). P (e): *Pestalotiopsis* sp. (eucalipto). P (ca): *Pestalotiopsis* sp. (castanha do Brasil). P (c): *Pestalotiopsis* sp. (cumarú). P (i): *Pestalotiopsis* sp. (ipê amarelo). P (p): *Pestalotiopsis* sp. (paricá). P (s): *Pestalotiopsis* sp. (seringueira).

Redução no crescimento de *Cylindrocladium* quando confrontado com *Trichoderma* já foi relatada por diversos autores (FORTES et al., 2007; SANTOS et al., 2007 e MACIEL et al., 2012).

Com relação ao crescimento de *Alternaria* sp. as inibições máximas foram ocasionadas por *Trichoderma* Tc (32,3%) e por *Trichoderma* Ta (25,8%). Sarfraz et al. (2018) verificaram, após 192 horas, inibição no crescimento de *Alternaria solani* de 45% proporcionada por *Trichoderma hamatum*, acompanhado por *T. harzianum* (43%) e *T. viride* (37,3%).

Na literatura existem muitos trabalhos sobre a eficiência do *Trichoderma* no biocontrole de diferentes fungos fitopatogênicos (LOUZADA et al., 2009; BOMFIM et al., 2010; MACIEL et al., 2014; SILVA et al., 2017) e, os resultados desses estudos também demonstram o potencial de espécies de *Trichoderma* como agentes de biocontrole e, que o teste de cultura pareada é um dos primeiros ensaios realizados quando se faz uma seleção de isolados desse gênero para futuro uso no controle de doenças em plantas. Além disso, o crescimento rápido é uma característica desejável para um agente de biocontrole.

3.3 Produção de Compostos Tóxicos

Observou-se diferença significativa para os fatores isoladamente, bem como para a interação entre eles (isolados de *Trichoderma* x fitopatógenos). Analisando a interação entre os fatores, verificou-se que, todos os isolados de *Trichoderma* reduziram o diâmetro médio das colônias dos fitopatógenos, em relação ao controle, com exceção de *Trichoderma* Tam03 quando confrontado com *Alternaria* sp. e de *Trichoderma* Tc com *Cylindrocladium* sp. (Tabela 2).

Os agentes de biocontrole Tc e Tce proporcionaram reduções de 4,2cm no crescimento micelial de *Pestalotiopsis* sp. (seringueira) e, o isolado de *Trichoderma* Tce reduziu em 4,1cm o crescimento de *Pestalotiopsis* sp. proveniente de folhas de castanha do Brasil, em relação ao controle, correspondendo a 49,4% e 48,2 % de reduções no diâmetro médio das colônias desses fitopatógenos, respectivamente. As reduções observadas no diâmetro médio das colônias variaram de 0,2 cm a 1,7 cm para *Alternaria* sp. e de 0,4 cm a 1,0 cm para *Cylindrocladium* sp. A ação antagônica do *Trichoderma* pode estar associada à sua capacidade de produzir metabólitos voláteis e tóxicos que, dependendo do estímulo, será a resposta do metabolismo que levará a produção de compostos difusos que atuam interrompendo o crescimento micelial de fungos patogênicos (BONFIM et al., 2010; ISAIAS et al., 2014).

Tratamentos	Diâmetro Médio das Colônias (cm)							
		C(e)	P(e)	P(ca)	P(c)	P(i)	P(p)	P(s)
Controle		3,6 aD	7,9 aB	8,5 aA		7,5 Ab	8,5 aA	8,5 aA
Tam01		3,0 bcD	5,5 dA	5,0 bcB		5,4 deAB	4,9 cdB	5,1 bcAB
Tam02		3,1 bcC	6,1 cA	4,9 bcdB		5,7 cdA	4,9 cdB	5,0 bcB
Tam03		3,1 bcD	6,8 bA	4,8 cdB		6,8 bA	4,7 dB	5,0 cB
Ta		2,6 cC	5,6 cdAB	5,3 bcB		5,9 cA	5,9 bA	5,5 bB
Tb		3,0 bcC	5,2 dA	5,0 bcAB		5,1 eAB	4,8 cdAB	4,8 cdB
Tc		3,2 abE	7,1 bA	5,4 bB		6,8 bA	5,0 cdBC	4,7 cCD
Tce		2,8 bcF	5,4 dAB	4,4 dD		5,7 cdA	5,2 cBC	4,8 cCD
CV(%)		4,3						

Tabela 2. Diâmetro médio das colônias dos fitopatógenos submetidos aos diferentes isolados de *Trichoderma* pelo teste de produção de compostos tóxicos.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A (e): *Alternaria* sp. (eucalipto). C (e): *Cylindrocladium* sp. (eucalipto). P (e): *Pestalotiopsis* sp. (eucalipto). P (ca): *Pestalotiopsis* sp. (castanha do Brasil). P (c): *Pestalotiopsis* sp. (cumaru). P (i): *Pestalotiopsis* sp. (ipê amarelo). P (p): *Pestalotiopsis* sp. (paricá). P (s): *Pestalotiopsis* sp. (seringueira).

A produção de metabolitos tóxicos está como os mais importantes, dentre os mecanismos de antibiose, realizados por *Trichoderma*, mostrando excelente potencial antagonista contra uma ampla gama de fungos fitopatogênicos em seus estudos *in vitro* (KASHYAP et al. (2017).

3.4 Produção de Compostos Voláteis

Todos os isolados de *Trichoderma* avaliados produziram algum composto volátil que ocasionou redução no diâmetro médio das colônias de *Alternaria* sp. (Tabela 3). A diminuição no crescimento desse fitopatógeno variou de 1,4 cm a 2,5 cm, correspondendo a 23,3% e 41,7% de redução, respectivamente.

Diferente do observado para *Pestalotiopsis* spp. nos testes de cultura pareada e compostos tóxicos, nem todos os isolados de *Trichoderma* testados reduziram o crescimento micelial dos isolados desse gênero fúngico, em relação ao controle. *Pestalotiopsis* sp. obtidos de ipê amarelo e paricá apresentaram sensibilidade aos compostos voláteis produzidos apenas por Tam02 e Tc, com as maiores reduções no diâmetro médio das colônias de 1,4 cm e 1,2 cm, para *Pestalotiopsis* sp. do ipê amarelo e paricá, respectivamente.

Amin et al. (2010) relatam que, muitos estudos demonstram o efeito da volatilidade de compostos fungistáticos, produzidos pelo metabolismo secundário de *Trichoderma* spp., afetam o crescimento de vários fitopatogênicos; no entanto, essa característica é dependente das condições de crescimento e do estágio de desenvolvimento dos indivíduos desafiados, além disso cada fitopatógeno pode responder de forma diferente a esses compostos voláteis. De acordo com Anees et al. (2010), esse resultado está ligado a uma linha funcional caracterizada pelo modo de ação do *Trichoderma* presente em um meio, definida pela diversidade da interação inter e intraespecífica do antagonista e o patógeno desafiado.

Tratamentos	Diâmetro Médio das Colônias (cm)							
	Fitopatógenos							
	A (e)	C (e)	P (e)	P (ca)	P (c)	P (i)	P (p)	P(s)
Controle	6,0 aD	3,4 aE	7,3 aBC	8,3 aAB	6,8 aCD	8,5 aA	6,7 aCD	8,5 aA
Tam01	4,6 bC	2,4 abD	5,5 bcdBC	7,1 abcA	5,9 abB	7,6 abA	5,8 abBC	7,8 abA
Tam02	3,8 bC	2,6 abD	6,3 abAB	7,4 abA	5,7 abB	7,2 bA	5,5 bB	7,2 bcA
Tam03	4,1 bE	3,0 abF	5,8 bcCD	7,1 bcB	5,4 bD	8,5 aA	5,6 abD	6,9 bcBC
Ta	3,5 bC	2,0 bD	5,8 bcB	6,5 bcdB	5,5 bB	7,7 abA	5,7 abB	7,8 abA
Tb	4,6 bD	2,8 abE	6,1 bcBC	7,2 abcA	5,3 bCD	7,7 abA	5,7 abCD	7,0 bcAB

Tc	3,8 bC	2,5 abD	5,1 cdB	5,8 dB	4,8 bBC	7,1 bA	5,5 bB	7,4 abCA
Tce	4,2 bC	2,1 bD	4,5 dC	6,2 cdB	5,3 bBC	8,5 aA	6,0 abB	6,3 cB
CV(%)	9,4							

Tabela 3. Diâmetro médio das colônias dos fitopatógenos submetidos aos diferentes isolados de *Trichoderma* pelo teste de produção de compostos voláteis.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A (e): *Alternaria* sp. (eucalipto). C (e): *Cylindrocladium* sp. (eucalipto). P (e): *Pestalotiopsis* sp. (eucalipto). P (ca): *Pestalotiopsis* sp. (castanha do Brasil). P (c): *Pestalotiopsis* sp. (cumaru). P (i): *Pestalotiopsis* sp. (ipê amarelo). P (p): *Pestalotiopsis* sp. (paricá). P (s): *Pestalotiopsis* sp. (seringueira).

Meena et al. (2017) observaram que, os compostos voláteis produzidos por *T. harzianum* e *T. viride*, ocasionaram inibição no crescimento micelial de *A. alternata* em cerca de 62,5% e 60%, respectivamente. Gomes et al. (2001) também relataram a sensibilidade de *C. spathulatum* por metabólitos voláteis produzidos por *Trichoderma* spp. - T12 e *Trichoderma* spp. - TSS9, reduzindo em média 5,5 cm e 5,9 cm o seu crescimento, em relação ao controle, correspondendo a 76,8% e 81,5% de reduções no diâmetro das colônias deste fitopatógeno, respectivamente.

Carvalho Filho (2008) estudando o potencial de 12 isolados de *Trichoderma* spp. no controle da mancha foliar de *Eucalyptus* sp., causada por *Cylindrocladium scoparium* em teste de exposição do fitopatógeno a possíveis metabólitos tóxicos e voláteis, constatou pouca atividade de inibição no crescimento da colônia fúngica desse fungo, em relação aos resultados obtidos no teste de confrontação direta.

Estudos realizados por Al-Ameen et al. (2017) com *Pestalotiopsis disseminata* isolado de *Musa sapientum* L., demonstraram que, *T. viride* ocasionou maior inibição no crescimento radial do fitopatógeno quando foi avaliado pelo teste de produção de metabólitos tóxicos, ocasionando 77,4% de inibição, seguido das avaliações pelos testes de produção de metabólitos voláteis, com efeito inibitório de 75,6%, e confrontação direta (51,5% de inibição).

Outros trabalhos já foram realizados demonstrando a ação dos diferentes mecanismos de ação produzidos por espécies de *Trichoderma* para o controle de diferentes fitopatógenos (REDDY et al., 2014; JOHN et al., 2015; SILVA et al., 2017). No entanto, os diferentes resultados relatados nos testes *in vitro* devem ao fato que, apesar do antagonismo ser uma propriedade singular do gênero *Trichoderma*, sua capacidade para produzir metabólitos secundários, com efeito fungistático, pode variar entre isolados da mesma espécie, uma vez que cada uma podem exibir distintos potenciais de biocontrole em função dos compostos antifúngicos secretados e da capacidade de resistência do fitopatógeno desafiado (ANEES et al., 2010; LORITO et al., 2010).

Em relação aos diferentes mecanismos de ação utilizados pelos isolados de *Trichoderma* avaliados no trabalho para o controle, *in vitro*, dos fitopatógenos, observou-se que, a eficiência de cada mecanismo foi variável em relação aos fungos fitopatogênicos. No entanto, alguns isolados do agente de biocontrole ocasionaram efeito inibitório sobre o crescimento dos fitopatógenos, independente do mecanismo por ele utilizado (Tabela 4).

Estudos mostram que a associação de antibióticos a outros mecanismos, como por exemplo, a competição, tornam-se mais eficiente do que se apresentarem apenas um único mecanismo de defesa (BETTIOL e GHINI, 1995; HOWELL, 2003); uma vez que a ação conjunta desses fatores proporcionam um nível de antagonismo mais expressivo devido a produção de enzimas e metabolitos secundários, voláteis e não voláteis, aliados ao rápido padrão de crescimento atuarem sinergicamente em um complexo sistema biológico, envolvendo a colonização do substrato e competição por seus nutrientes; além da detecção, parasitismo e degradação da parede de fitopatógenos alvos durante o processo antibiose conferindo, desta forma, vantagens na seleção do *Trichoderma* como agentes de biocontrole (ÁVILA et al., 2005; QUALHATO et al., 2013; RAO et al., 2016).

		Mecanismos de Ação de <i>Trichoderma</i>																																			
		Fitopatógenos																																			
Tratamentos		Taxa de Crescimento								Confrontação Direta								Compostos Tóxicos								Compostos Voláteis											
Isolados de <i>Trichoderma</i>		A	C	P	P	P	P	P		A	C	P	P	P	P	P		A	C	P	P	P	P	P		A	C	P	P	P	P	P					
	<i>Trichoderma</i>	e	e	ca	c	i	p	s		e	e	ca	c	i	p	s		e	e	ca	c	i	p	s		e	e	ca	c	i	p	s					
T09		+	+	+	+	+	+	+	+	+	=	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	=	+	=	=	=	=	=				
T12		+	+	+	+	+	+	+	+	+	=	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	=	+	=	=	=	=	=				
T52		+	+	+	+	=	+	+	+	+	=	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	=	+	+	+	+	+	+				
Ta		+	+	+	=	+	+	+	+	+	=	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
Tb		+	+	+	+	=	+	+	+	+	=	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
Tc		+	+	+	+	+	+	+	+	+	=	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
Tee		+	+	+	+	=	+	+	+	+	=	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				

Tabela 4. Efeito dos mecanismos de ação dos isolados de *Trichoderma* spp. sobre os diferentes fitopatógenos confrontados.

(+) resultado superior ao do fitopatógeno controle. (=) resultado semelhante ao do fitopatógeno controle. Ae: *Alternaria* sp. (eucalipto). Ce: *Cylindrocladium* sp. (eucalipto). Pe: *Pestalotiopsis* sp. (eucalipto). Pca: *Pestalotiopsis* sp. (castanha do Brasil). Pc: *Pestalotiopsis* sp. (cumarú). Pi: *Pestalotiopsis* sp. (ipê amarelo). Pp: *Pestalotiopsis* sp. (paricá). Ps: *Pestalotiopsis* sp. (seringueira).

Análises qualitativas quanto quantitativas dos metabólitos secundários produzidos por diferentes isolados do gênero *Trichoderma* são extremamente importantes para seleção de agentes biologicamente ativos no controle de fitopatógenos, uma vez que os mecanismos empregados por esse antagonista são muito complexos e sua atuação varia conforme a interação do agente de biocontrole, do patógeno e da planta hospedeira (EL-HASSAN et al., 2009)

O estudo dos metabólitos secundários de *Trichoderma* pode viabilizar a aquisição de novos fertilizantes e pesticidas baseado em compostos bioativos, podendo apresentar um impacto significativo sobre o manejo de doenças em plantas (VINALE et al., 2009).

4 | CONCLUSÃO

Os isolados de *Trichoderma* avaliados são potenciais agentes de biocontrole, *in vitro*, dos fitopatógenos confrontados, utilizando diferentes mecanismos de ação. A produção de compostos tóxicos foi o mecanismo de ação que reduziu o crescimento micelial da maioria dos fungos fitopatogênicos utilizados no trabalho. O efeito promissor encontrado para os isolados de *Trichoderma* utilizados nos testes *in vitro* precisa ser avaliado em condições *in vivo* para referendar o potencial como agentes de biocontrole desses fungos fitopatogênicos.

REFERÊNCIAS

- AL-AMEEN, M. D.; SHAMSI, S.; HOSEN, S.; BASHAR, M. A. Antagonistic potential of soil fungi against post-harvest pathogenic fungi of *Musa sapientum* L. **Bangladesh Journal of Botany**, 46, 733-738, 2017.
- AMIN, F.; RAZDAN, V. K.; MOHIDDIN, F. A.; BHAT, K. A.; SHEIKH, P. A. J. "Effect of volatile metabolites of *Trichoderma* species against seven fungal plant pathogen in vitro". **Journal Phytochemistry**, 2(10), 34-37, 2010.
- ANEES, M.; TRONSMO, A.; EDEL-HERMANN, V.; HJELJORD, C.; HÉ-RAUD, C.; STEINBERG, C. Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. **Fungal Biology**, 114(9), 691–701, 2010.
- ÁVILA, Z. R.; CARVALHO, S. S.; BRAÚNA, L. M.; GOMES, D. M. P. A.; SILVA, M. C. F.; MELLO, S. C. M. M. **Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonísticos a *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum***, 2005.
- BAKA, Z. A. M. Antifungal activity of six Saudi medicinal plant extracts against five phytopathogenic fungi. *Archives Phytopathol.* **Plant Protect**, 43(8), 736-743, 2010.
- BARMAN, H.; ROY, A.; DAS, S. K. Evaluation of plant products and antagonistic microbes against grey blight (*Pestalotiopsis theae*), a devastating pathogen of tea. **African Journal of Microbiology Research**, 9(18), 1263-1267, 2015.
- BETTIOL, W. **Controle Biológico de Doenças de Plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p.388.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle Biológico. In: Bergamin, A. F.; Kimati, H.; Amorin, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995. p.717-728.
- BIAN, R.; CHENG, K.; ZHENG, J.; LIU, X.; LIU, Y. Does metal pollution matter with C retention by rice soil? **Scientific Reports**, 5 (13233), 1-7, 2015.
- BŁASZCZYK, L.; BASIŃSKA-BARCZAK, A.; ĆWIEK-KUPCZYŃSKA, H.; GROMADZKA, K.; POPIEL, D.; STĘPIEŃ, Ł. Suppressive Effect of *Trichoderma* spp. on toxigenic *Fusarium* species. **Polish Journal of Microbiology**, 66(1), 85–100, 2017.

BOMFIM, M. P.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; ALMEIDA, S. S.; SOUZA, I. V. B.; DIAS, N. O. Avaliação antagonista *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, 36(1), 61-67, 2010.

CARVALHO FILHO, M. R. *Trichoderma* spp. como agente de biocontrole de *Cylindrocladium scoparium* e como promotor de crescimento em mudas de eucalipto. Brasília, Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – UnB, 2008.

DONOSO, E. Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* em viveiro. **Bosque**, 29(1), 52-57, 2008.

EL-HASSAN, A.; WALKER, F.; SCHÖNE, J.; BUCHENAUER, H. Detection of viridifungin A and other antifungal metabolites excreted by *Trichoderma harzianum* active against different plant pathogens. **European Journal of Plant Pathology**, 124(3), 457–470, 2009.

FORTES, F. O.; SILVA, A. C. F.; ALMANÇA, M. A. K.; TEDESCO, S. B. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore**, 31(2), 221-228, 2007.

GOMES, N. S. B.; GRIGOLLET JUNIOR, A.; AUER, C. G. Seleção de antagonistas para controle de *Cylindrocladium spathulatum* em erva mate. **Boletim de Pesquisa Florestal**, 43(1), 123-128, 2001.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SANTOS, A. F.; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Revista Floresta**, 30(1), 155-165, 2000.

HADIZADEH, I.; PEIVASTEIGAN, B.; HAMZEHZARGHANI, H. Antifungal activity of essential oils from some medicinal plants of Iran against *Alternaria alternata*. **American Journal of Applied Sciences**, 6(5), 857-861, 2009.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The History and evolution of current concepts. **Plant Disease**, 87(1), 4-10, 2003.

ISAIAS, C. O.; MARTINS, I.; SILVA, J. B. T.; SILVA, J. P.; MELLO, S. C. M. Ação antagonista e de metabólitos bioativos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae*. **Summa Phytopathol**, 40(1), 34-41, 2014.

JOHN, N. S.; ANJANADEVI, I. P.; NATH, V. S.; SANKAR, S. A.; JEEVA, M. L.; JOHN, K. S.; MISRA, R. S. Characterization of *Trichoderma* isolates against *Sclerotium rolfsii*, the collar rot pathogen of *Amorphophallus* – A polyphasic approach. **Biological Control**, 90(1), 164–172, 2015.

KASHYAP, P. L.; RAI, P.; SRIVASTAVA, A. K.; KUMAR, S. *Trichoderma* for climate resilient agriculture. **World Journal Microbiol Biotechnol**, 33(8), 155, 2017.

KUMHAR, K. C.; BABU, A.; BORDOLOI, M.; BENARJEE, P.; RAJBONGSHI, H. Comparative Bioefficacy of Fungicides and *Trichoderma* spp. against *Pestalotiopsis theae*, Causing Grey Blight in Tea (*Camellia* sp.): An In Vitro Study. **International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology**, 3(4), 20-27, 2016.

LILLY, G. V.; BARNETT, H. L. **Physiology of the fungi**. New York: McGraw-Hill, 1951.

LÓPEZ-BUCIO, J.; PELAGIO-FLORES, R.; HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia Horticulturae**, 196(1), 109–123, 2015.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. **Annual Review Phytopathology**, 48(1), 395–417, 2010.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; MARTINS, I.; BRAUNA, L. M. Potencial antagonístico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota Neotropica**, 9(3), 145-149, 2009.

MACHADO, D. F. M.; TAVARES, A. P.; LOPES, S. J.; SILVA, A. C. F. *Trichoderma* spp. na emergência e crescimento de mudas de Cambará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, 39(1), 167-176, 2015.

MACIEL, C. G.; WALKER, C.; MUNIZ, M. F. B.; ARAÚJO, M. M. Antagonismo de *Trichoderma* spp. e *Bacillus subtilis* (UFV3918) a *Fusarium sambucinum* em *Pinus elliottii* Engelm. **Revista Árvore**, 38(3), 505-512, 2014.

MACIEL, C. G.; LAZAROTTO, M.; MEZZOMO, R.; POLETO, I.; MUNIZ, M. F. B.; LIPPERT, D. B. *Trichoderma* spp. no biocontrole de *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus saligna*. **Revista Árvore**, 36(5), 825-832, 2012.

MARTINEZ-MEDINA, A.; ALGUACIL, M. D. M.; PASCUAL, J. A.; VAN WEES, S. C. Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growthpromoting activity on melon plants. **Journal of Chemical Ecology**, 40(7), 804-815, 2014.

MEENA, M.; SWARNIL, P.; ZEHRA, A.; DUBEY, M. K.; UPADHYAY, R. S. Antagonistic assessment of *Trichoderma* spp. by producing volatile and non-volatile compounds against different fungal pathogens. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, 50(1), 629-648, 2017.

MOREIRA, S. S. **Aspectos do desenvolvimento em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculados com *Trichoderma* spp.** Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal) - UFG, 2014.

MYERS, J. P.; ANTONIOU, M. N.; BLUMBERG, B.; CARROLL, L.; COLBORN, T.; EVERETT, L. G.; HANSEN, M.; LANDRIGAN, P. J.; LANPHEAR, B. P.; MESNAGE, R.; VANDENBERG, L. N.; SAAL, F. S. V.; WELSHONS, W. V.; BENBROOK, C. M. Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement. **Environmental health: a global access science**, 15(19), 1-13, 2016.

QUALHATO, T. F.; LOPES, F. A. C.; STEINDORF, A. S.; BRANDÃO, R. S.; JESUINO, R. S.; ULHOA, C. J. Mycoparasitism studies of *Trichoderma* species against three phytopathogenic fungi: evaluation of antagonism and hydrolytic enzyme production. **Biotechnol Lett.** 35(9), 1461–1468, 2013.

RAO, K. L. N. M.; RAJU, K. S.; RAVISANKAR, H. Cultural conditions on the production of extracellular enzymes by *Trichoderma* isolates from tobacco rhizosphere. **Brazilian Journal of Microbiology**, 47(1), 25-32, 2016.

REDDY, B. N.; SARITHA, K. V.; HINDUMATHI, A. In vitro screening for antagonistic potential of seven species of *Trichoderma* againsts different plant pathogenic fungi. **Research Journal of Biology**, 2(1), 29–36, 2014.

SANTOS, R. P.; CARVALHO FILHO, M. R.; MACEDO, M. A.; MARQUES, G. A.; MARTINS, I.; MELLO, S. C. M. **Inibição do crescimento de *Cylindrocladium in vitro* por isolados de *Trichoderma***. 2007. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CENARGEN/29590/1/ct068.pdf>>. Acesso em: jun. 2018.

SARFRAZ, M.; KHAN, S. A.; MOOSA, A.; FARZAND, A.; ISHAQ, U.; NAEEM, I.; KHAN, W. A. Promising antifungal potential of selective botanical extracts, fungicides and *Trichoderma* isolates against *Alternaria solani*. **Cercetări Agronomice în Moldova**, 51(1), 65-74, 2018.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric. Res.**, 11(39), 3733-3740, 2016.

SILVA, J. A. T.; MEDEIROS, E. V.; SILVA, J. M.; TENÓRIO, D. A.; MOREIRA, K. A.; NASCIMENTO, T. C. E. S.; SOUZA-MOTTA, C. Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Scytalidium lignicola* CMM 1098 and antioxidant enzymatic activity in cassava. **Phytoparasitica**, 45(2), 219-225, 2017.

SILVA, J. B. T.; MELLO, S. C. M. **Utilização de *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos**. 2007. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CENARGEN/29733/1/doc241.pdf>>. Acesso em: nov. 2018.

VINALE, F.; GHISALBERTI, E. L.; SIVASITHAMPARAM, K.; MARRA, R.; RITIENI, A.; FERRACANE, R.; WOO, S.; LORITO, M. Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, 48(6), 705–711, 2009.

VISSER, A.; KROES, J.; VAN, V. M. T. H.; BLENKINSOP, S.; FOWLER, H. J.; BROERS, H. P. Climate change impacts on the leaching of a heavy metal contamination in a small lowland catchment. **Journal of Contaminant Hydrology**, 127(1), 47-64, 2012.

EFEITOS DA DERIVAÇÃO DUODENOJEJUNAL SOBRE A MORFOLOGIA DO DUODENO EM RATOS OBESOS COM DIETA DE CAFETERIA

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 06/11/2020

Lia Mara Teobaldo Tironi

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
UNIOESTE
Cascavel – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/9281043112325445>

Allan Cezar Faria Araujo

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
UNIOESTE
Cascavel – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2826042810886768>

Sandra Lucinei Balbo

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
UNIOESTE
Cascavel – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/9681926747750294>

Marcia Miranda Torrejais

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
UNIOESTE
Cascavel – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/6079757636423339>

Angelica Soares

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
UNIOESTE
Cascavel – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/1540117704079178>

RESUMO: A cirurgia bariátrica representa uma opção de tratamento para a obesidade severa e também um modelo para estudar os mecanismos envolvidos na melhora dos distúrbios relacionados à obesidade. As cirurgias induzem alterações anatômicas no trato gastrointestinal, mas os efeitos não são adequadamente compreendidos. O objetivo deste estudo foi investigar os aspectos morfológicos da parede intestinal em ratos obesos por dieta de cafeteria submetidos à derivação duodenojejunal (DDJ). Ratos Wistar machos receberam dieta padrão para roedores (grupo CON) ou dieta de cafeteria *ad libitum* por 38 semanas. Após 32 semanas de dieta, o grupo dieta de cafeteria foi dividido em dieta de cafeteria controle (grupo CAF), dieta de cafeteria submetido à pseudocirurgia (grupo PC) e dieta de cafeteria submetido à DDJ (grupo DDJ). O peso corporal e gorduras viscerais foram avaliados. Segmentos do duodeno foram submetidos a processamento histológico e coloração com hematoxilina-eosina. Após 38 semanas de tratamento, a dieta de cafeteria causou aumento significativo no peso corporal e gordura visceral em comparação aos ratos alimentados com dieta padrão. A pseudocirurgia e a DDJ não alteraram esses parâmetros. A organização da parede intestinal não se alterou, independentemente do grupo. Os grupos CAF, PC e DDJ exibiram aumento na altura dos vilos em comparação com o grupo CON. O grupo DDJ também apresentou espaços aumentados entre os vilos adjacentes em comparação com os demais grupos. Concluiu-se que a dieta de cafeteria promoveu obesidade nos roedores, que não foi atenuada pela cirurgia. Aspectos

morfológicos da mucosa duodenal sugerem ajustes que podem resultar em aumento da capacidade digestiva e absorptiva nos ratos obesos, e a cirurgia de DDJ pode ter influenciado esses parâmetros. Os dados fornecem base para novos estudos para esclarecer a influência do DDJ na capacidade de absorção e na barreira intestinal.

PALAVRAS-CHAVE: mucosa intestinal; parede intestinal; cirurgia bariátrica.

EFFECTS OF DUODENAL-JEJUNAL BYPASS ON THE MORPHOLOGY OF THE DUODENUM IN WESTERN DIET OBESE RATS

ABSTRACT: Bariatric surgery represents a treatment option for severe obesity and is also a model to study the mechanisms involved in obesity-related disorders improvement. Surgeries induces anatomical changes in the gastrointestinal tract, but the effects are not adequately understood. The aim of this study was to investigate the morphological aspects of the intestinal wall in western diet obese rats submitted to duodenal-jejunal bypass (DJB). Male Wistar rats received a standard rodent chow diet (CON group) or western diet *ad libitum* for 38 weeks. After 32 weeks of diet, the western diet group was divided in western diet control (WD group), western diet submitted to sham operation (SHAM group), and western diet subjected to DJB (DJB group). Body weight and visceral fat were evaluated. Segments of the duodenum were subjected to histological processing and hematoxylin-eosin staining. After 38 weeks of treatment, the western diet caused a significant increase in body weight and visceral fat compared with the rats fed a standard diet. Sham and DJB surgeries did not alter these parameters. The organization of the intestinal wall was unchanged regardless of the group. WD, SHAM and DJB groups exhibited increased villus height compared with the CON group. DJB group also presented enlarged spaces between the adjacent villi compared with the other groups. It was concluded that the cafeteria diet promoted obesity in rodents, which was not attenuated by surgery. Morphological aspects of the duodenal mucosa suggest adjustments that may result in an increase in digestive and absorptive capacity in obese rats, and DJB surgery may have influenced these parameters. The data provide a basis for further studies to clarify the influence of DJB in the absorptive capacity and intestinal barrier.

KEYWORDS: intestinal mucosa; intestinal wall; bariatric surgery.

1 | INTRODUÇÃO

A obesidade é considerada um dos maiores desafios à saúde pública deste século, particularmente devido à prevalência crescente e associação com comorbidades, como diabetes, doenças cardiovasculares, câncer (WHO, 2020) e disfunções gastrintestinais (XING; CHEN, 2004). Estima-se que em 2016, 39% da população adulta mundial apresentava excesso de peso e 13% era obesa, e em 2019, mais de 38 milhões de crianças com menos de cinco anos apresentava sobrepeso ou obesidade (WHO, 2020).

Embora várias teorias tentam explicar a pandemia atual da obesidade, a doença geralmente resulta da interação genética com fatores ambientais (ROTH et al., 2004). Dentre os fatores ambientais, destacam-se mudanças nos padrões comportamentais, incluindo estilo de vida sedentário (GONZÁLEZ-MUNIESA et al., 2017; WHO, 2020) e

consumo de dieta refinada, rica em calorias e gordura (BRAY, 2011; WHO, 2020).

No tratamento da obesidade, várias abordagens são utilizadas, porém, muitos pacientes não respondem a manobras terapêuticas, e a cirurgia bariátrica tem se mostrado de grande auxílio na condução clínica de alguns casos, podendo atenuar certas comorbidades associadas (FANDIÑO et al., 2004), incluindo o diabetes tipo 2 (RUBINO, 2006). Com índices de realização crescentes em todo o mundo, as cirurgias são indicadas quando o índice de massa corporal (IMC) é superior a 40 Kg/m², ou entre 35 Kg/m² e 40 Kg/m² com comorbidades associadas (GONZÁLEZ-MUNIESA et al., 2017).

Dos diferentes procedimentos cirúrgicos atualmente bem estabelecidos, os mais frequentes são a derivação gástrica em Y de Roux e a gastrectomia vertical (WELBOURN et al., 2019). Procedimentos de derivação intestinal são considerados mais efetivos que os restritivos no controle do diabetes (RUBINO, 2006), e a técnica de derivação duodenojejunal (DDJ) foi desenvolvida para investigar os mecanismos responsáveis pelos benefícios metabólicos da derivação gástrica em Y de Roux (BREEN et al., 2012) focando somente nos mecanismos da derivação intestinal, excluindo os efeitos restritivos (ISE et al., 2019).

Na DDJ, há exclusão do intestino proximal com preservação do estômago. O alimento passa a ser conduzido do estômago ao intestino delgado distal (alça alimentar), o intestino delgado proximal (alça biliopancreática) é excluído do trânsito alimentar (RUBINO et al., 2006), recebendo apenas secreções digestivas como a bile e o suco pancreático, e uma terceira parte, a alça comum, recebe tanto o alimento quanto as secreções digestivas (ISE et al., 2019). Este procedimento possibilitaria o tratamento do diabetes tanto em pacientes obesos como em indivíduos não obesos (RUBINO, 2006; DIXON et al., 2012).

Os efeitos na melhora do diabetes parecem mediados por uma mudança no padrão de secreção de hormônios gastrointestinais, onde a exclusão do intestino proximal evitaria a superprodução de um fator que causaria esta patologia, ou devido a apresentação precoce de alimentos não digeridos ou incompletamente digeridos ao íleo, que anteciparia a produção de hormônios como o peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) (ZHANG et al., 2014). Os níveis deste hormônio são aumentados em humanos e animais submetidos aos procedimentos cirúrgicos (SANTORO, 2005; LE ROUX et al., 2006; SPECK et al., 2011; IMOTO et al., 2014; ZHANG et al., 2014).

Outros hormônios também têm seus níveis aumentados, incluindo GLP-2, que apresenta ações no crescimento da mucosa intestinal (BURRIN et al., 2003; SANTORO, 2005). Assim, poderia desempenhar um papel central na resposta morfológica adaptativa do intestino nas ressecções ou transposições intestinais, particularmente em segmentos funcionantes que apresentam hipertrofia da parede (LJUNGSMANN et al., 2001) e da mucosa intestinal (WESER et al., 1977; OLUBUYIDE et al., 1984; SASAKI et al., 1987; ALBERT et al., 1990; LJUNGSMANN et al., 2001; SUKHOTNIK et al., 2004). Em relação aos segmentos desviados do trânsito alimentar, há uma variação nos resultados, com relatos tanto de atrofia (ALBERT et al., 1990; KOVALENKO; BASSON, 2012) como também de

manutenção da atividade de renovação celular (WILLIAMSON et al., 1978; ALBERT et al., 1990). Os efeitos tróficos parecem depender da extensão da derivação intestinal (ALBERT et al., 1990),

Compreender os tipos e mecanismos de adaptação do intestino é de grande relevância para reduzir possíveis implicações da perda de tecido funcional. Considerando que a resposta adaptativa intestinal após a cirurgia da DDJ não está bem estabelecida, este trabalho teve como objetivo avaliar os possíveis efeitos da derivação duodenojejunal sobre a morfologia do duodeno de ratos com obesidade induzida por dieta de cafeteria.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e Aulas Práticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (CEEAP/UNIOESTE; protocolo nº 44/09).

Ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), foram mantidos sob condições de luminosidade (ciclo claro/escuro 12h) e temperatura ($22\pm1^{\circ}\text{C}$) controladas. Com 12 semanas de idade, os animais foram distribuídos em dois grupos: controle (grupo CON; n=5), que recebeu dieta padrão para roedores (Nuvital®, Colombo, PR, Brasil) e água *ad libitum*; e cafeteria (n=15), que recebeu dieta de cafeteria e refrigerante *ad libitum* durante todo o período experimental de 38 semanas. Após 32 semanas de tratamento, o grupo cafeteria foi subdividido aleatoriamente em três grupos: cafeteria controle (grupo CAF; n=5); pseudocirúrgico (grupo PC; n=5), que foi submetido à pseudocirurgia de derivação duodenojejunal (DDJ); e cirúrgico (grupo DDJ; n=5), que foi submetido à cirurgia de DDJ.

A dieta de cafeteria consistiu em refrigerante de guaraná desgaseificado e um pellet feito com 37,5% de ração padrão, 25% de amendoim torrado, 25% de chocolate em barra e 12,5% de bolacha de amido de milho, triturados com água e secos em estufa. Foram também oferecidos alimentos adicionais, como salgadinhos, bolacha waffer de chocolate e bolo pronto. A dieta de cafeteria totalizou 4,47 kcal/g (43,1% de carboidrato, 12,1% de proteína e 46,9% de gordura), em oposição aos 2,63 kcal/g da dieta padrão (VANZELA et al., 2010).

As cirurgias foram realizadas após 32 semanas de alimentação com a dieta de cafeteria. Procedimentos pré-operatórios foram realizados como descrito por Meguid et al. (2004). Os animais foram privados de alimentação por 16–18 horas e anestesiados com isoflurano (Isoforine®, Cristália, SP, Brasil). O duodeno foi separado do estômago e a continuidade do intestino foi interrompida a 10 cm do ligamento de Treitz. O segmento distal foi conectado ao estômago (anastomose gastrojejunal), e o segmento proximal contendo os sucos biliopancreáticos foi reconectado ao tubo alimentar a uma distância de 15 cm da anastomose gastrojejunal (reconstrução em Y de Roux). Para a pseudocirurgia, as

transecções e reanastomoses do trato gastrointestinal foram realizadas nos mesmos locais das enterotomias feitas para o DDJ, mantendo-se o circuito fisiológico alimentar através do intestino (RUBINO et al., 2006).

Seis semanas após as cirurgias, os animais de todos os grupos foram deixados em jejum de 12 horas, tiveram o peso corporal e o comprimento naso-anal avaliados, e foram eutanasiados por decaptação, após insensibilização em câmara de CO₂. Realizou-se a laparotomia, com a coleta e pesagem das gorduras retroperitoneal e periepídidimal e coleta do duodeno.

Amostras do duodeno foram abertas na região mesentérica, lavadas com solução salina, fixadas em solução de formaldeído (10%), desidratadas em concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Cortes semi-seriados longitudinais com 7 µm de espessura foram obtidos em um micrótomo (Olympus CUT 4055, America Inc.) e corados com Hematoxilina-Eosina (H.E.).

Os dados dos parâmetros corporais foram analisados pelo teste Anova - “Newman-Keuls Multiple Comparison”, com nível de significância de 5%.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final de 38 semanas, os animais dos grupos CAF, PC e DDJ, alimentados com dieta de cafeteria, apresentaram aumento significativo no peso corporal (26,5%, 19,8% e 23,2%, respectivamente) e nas gorduras viscerais retroperitoneal (308,3%, 325% e 350%, respectivamente) e periepídidimal (107,7%, 107,7% e 115,4%, respectivamente) em relação aos animais controles (Tabela 1). Estes resultados comprovam a instalação da obesidade e corroboram estudos prévios (SCOARIS et al., 2010; SAMPEY et al., 2011; ZINÖCKER; LINDSETH, 2018; LEIGH et al., 2019; LEWIS et al., 2019).

	CON	CAF	PC	DDJ
PC (g)	484 ± 9,1a	612,4 ± 42,3b	580 ± 12,4b	596,4 ± 52,7b
CNA (cm)	26,3 ± 0,6a	25,7 ± 1,1a	26 ± 0,5a	26,3 ± 0,6 a
GR [% PC (g)]	1,2 ± 0,2a	4,9 ± 1,1b	5,1 ± 0,6b	5,4 ± 1,4b
GP [% PC (g)]	1,3 ± 0,2a	2,7 ± 0,4b	2,7 ± 0,3b	2,8 ± 0,5b

Tabela 1. Peso corporal (PC), comprimento naso-anal (CNA), gordura retroperitoneal (GR) e gordura periepídidimal (GP) nos grupos controle (CON), cafeteria controle (CAF), pseudocirúrgico (PC) e cirúrgico (DDJ).

Média ± erro padrão (n = 5). Diferentes letras indicam diferença significativa (p < 0,05).

A avaliação do peso e da gordura visceral nos animais alimentados com dieta de cafeteria e submetidos a DDJ (grupo DDJ) mostrou valores similares aos animais cafeteria

controle (grupo CAF) e cafeteria pseudocirúrgico (grupo PC), indicando que a cirurgia não alterou significativamente estes parâmetros (Tabela 1). Vários estudos têm relatado que a DDJ melhora o metabolismo da glicose independentemente de perda de peso (SPECK et al., 2011; ARAUJO et al., 2012; BREEN et al., 2012; HU et al., 2013; IMOTO et al., 2014) ou da adiposidade (SPECK et al., 2011; ARAUJO et al., 2012). Considerando que a DDJ não influencia a ingestão alimentar (RUBINO; MARESCAUX, 2004; IMOTO et al., 2014; ZHANG et al., 2014), possivelmente porque não altera o volume gástrico, a manutenção dos parâmetros corporais no grupo DDJ em relação aos outros grupos alimentados com a mesma dieta é justificada.

A análise morfológica do duodeno revelou que em todos os grupos a integridade da parede intestinal foi preservada, organizada nas túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa (Figura 1). A túnica mucosa apresentou vilos intestinais altos, estreitos e projetados em direção ao lúmen. Quando comparados ao grupo controle (CON), os grupos CAF, PC e DDJ exibiram um aumento na altura dos vilos (Figura 1). Os vilos são projeções da membrana mucosa que aumentam consideravelmente a área de superfície e, correspondentemente, a área de absorção de nutrientes (MOTTA; FUJITA, 1988). Assim, aumento nas dimensões dos vilos poderia representar maior capacidade absorptiva, possivelmente contribuindo com a instalação da obesidade. Em concordância, aumento nos vilos e na atividade de enzimas intestinais são observados no jejuno de ratos alimentados com dieta de cafeteria (SCOARIS et al., 2010).

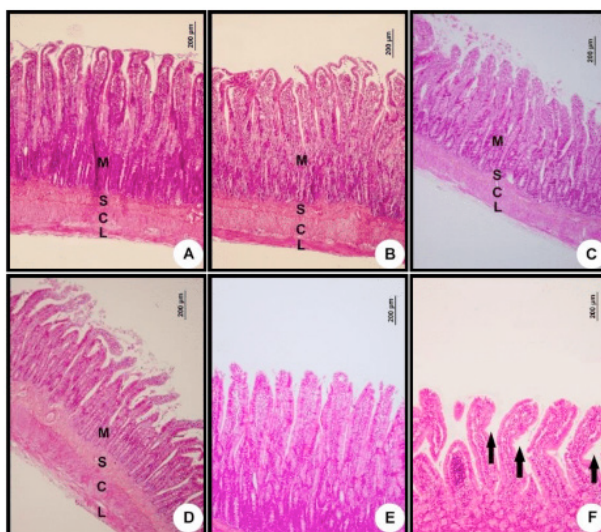


Figura 1. Fotomicrografias de secções longitudinais do duodeno de ratos. A, B, C e D: Grupos CON, CAF, PC e DDJ, respectivamente. E e F: Grupos PC e DDJ, respectivamente. Túnicas mucosa (M), submucosa (S) e muscular, com feixes de fibras circulares (C) e longitudinais (L). Setas indicam espaços aumentados entre os vilos. H.E.

A dieta de cafeteria em nosso estudo simulou a dieta ocidental moderna, com alimentos ultraprocessados (ZINÖCKER; LINDSETH, 2018), de fácil absorção, pobres em fibras e ricos em calorias (SANTORO et al., 2003) e gordura saturada (BRAY, 2011). Embora o excesso de gordura seja associado com aumento na proliferação celular da mucosa, esta relação é observada no segmento intestinal médio, enquanto o mesmo efeito é obtido no intestino proximal com carboidratos, refletindo os principais locais de absorção de cada nutriente (JENKINS; THOMPSON, 1992). Por outro lado, as demais características da dieta de cafeteria poderiam gerar uma carga maior de nutrientes disponíveis para absorção nas porções proximais do intestino (SANTORO et al., 2003), podendo induzir hiperplasia na região exposta (BRISTOL; WILLIAMSON, 1988).

Quando comparados os grupos CAF, PC e DDJ, a altura dos vilos foi semelhante nestes grupos (Figura 1). Resultados similares são descritos em alguns estudos com animais submetidos a DDJ (SPECK et al., 2011) e humanos com derivação jejunoileal (SOLHAUG, 1976; TOMPKINS et al., 1977; FRIEDMAN et al., 1981). Um achado interessante é que no grupo DDJ os espaços entre os vilos adjacentes se mostraram aumentados em relação aos outros grupos (Figura 1D, F). Isto poderia decorrer de uma possível redução na largura dos vilos, e consequentemente, na área da mucosa.

A estimulação por nutrientes enterais parece necessária para manter a estrutura da mucosa intestinal, e atrofia tem sido descrita quando há privação do fluxo de nutrientes, como por exemplo, após jejum (SHIN et al., 2005), na nutrição parenteral total (BUCHMAN et al., 1995) e no intestino desfuncionalizado após cirurgia de derivação gástrica em Y de Roux (KOVALENKO; BASSON, 2012; KOVALENKO et al., 2012) e derivação jejunoileal (ALBERT et al., 1990), sustentando nossas observações.

Esta resposta poderia estar relacionada com a ausência de deformação dos enterócitos pela passagem do conteúdo luminal e contratilidade peristáltica intermitente (KOVALENKO et al., 2012). O conteúdo luminal também influencia a secreção de hormônios intestinais, que podem inibir a proliferação celular da mucosa (BRISTOL; WILLIAMSON, 1985), causar perturbação no processo de maturação e envelhecimento das células absorptivas (STENLING; HELANDER, 1983) ou aumentar a apoptose, como observado em modelos atrofícos (ALPERS, 2002). Além disso, mudanças na microbiota ao longo do trato gastrointestinal e supercrescimento bacteriano no segmento desviado (ARON-WISNEWSKY et al., 2012) também devem ser considerados.

Processos atrofícos podem alterar a integridade da mucosa, aumentando a permeabilidade do epitélio intestinal (ALPERS, 2002; YANG et al., 2003; KOVALENKO; BASSON, 2012). Com isso, ocorre translocação de bactérias do lúmen para os linfonodos mesentéricos (ALPERS, 2002), levando a uma resposta inflamatória sistêmica (ARANOW; FINK, 1996). Esta condição, no entanto, ainda precisa ser investigada.

Com relação à túnica submucosa (Figura 1), a presença de glândulas duodenais (de Brünner) foi evidente em todos os grupos, porém, pareceram estar presentes em

maior número no grupo CON. A secreção das glândulas duodenais tem pouca capacidade digestiva, mas auxilia na neutralização da pepsina ácida do estômago (MOTTA; FUJITA, 1988). Redução na densidade destas glândulas poderia resultar de uma menor demanda na secreção, ocasionada pelas características da dieta de cafeteria, com possíveis implicações na função protetora da mucosa duodenal proximal.

A túnica muscular apresentou organização similar nos quatro grupos, constituída por um estrato interno com feixes de fibras musculares orientados com maior eixo em sentido circular, e um estrato externo com orientação longitudinal. A espessura não apresentou variação significativa em função da dieta ou da DDJ, mas foi aparentemente menor no grupo PC (Figura 1). Corroborando nossos dados, manutenção na espessura da túnica muscular é descrita no modelo de obesidade induzida por dieta de cafeteria (SCOARIS et al., 2010). Porém, relata-se diminuição na espessura da camada fibromuscular do jejuno desfuncionalizado dias após cirurgia em Y de Roux (KOVALENKO; BASSON, 2012).

Em geral, a manutenção da morfologia das túnicas duodenais após a exclusão deste segmento na cirurgia de DDJ é justificada pela hipótese de que a capacidade adaptativa difere ao longo do intestino delgado. Estudos com diabetes experimental e cirurgias de ressecção intestinal descrevem, respectivamente, que o duodeno tem uma resposta menos pronunciada em relação ao jejuno (STENLING et al., 1984), e a adaptação do jejuno, por sua vez, é menor do que a do íleo (BRISTOL; WILLIAMSON, 1985; ALBERT et al., 1990). Além disso, apesar da ausência da passagem do conteúdo alimentar, a presença de secreções digestivas, como a bile e o suco pancreático, desempenharia um papel na manutenção da estrutura intestinal (BRISTOL; WILLIAMSON, 1985).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O consumo de dieta de cafeteria forneceu um modelo eficaz na indução de obesidade, e a cirurgia de derivação duodenojejunal (DDJ) não alterou esta condição. Possível influência da dieta na morfologia dos vilos intestinais duodenais sugere adaptações que aumentaram a capacidade de digestão e absorção, contribuindo com o ganho de peso e adiposidade. O desvio deste segmento do trânsito alimentar após a DDJ sugere atrofia da mucosa, o que poderia alterar a permeabilidade intestinal, enquanto a morfologia das outras túnicas foi preservada. Mais estudos são necessários para determinar se os parâmetros morfométricos e a proliferação celular da mucosa foram ou não alterados, e a relação com a barreira intestinal e a sua significância clínica após a cirurgia de DDJ.

REFERÊNCIAS

ALBERT, V.; YOUNG, G. P.; MORTON, C. L.; ROBINSON, P.; BHATHAL, P. S. **Systemic factors are trophic in bypassed rat small intestine in the absence of luminal contents.** Gut, v. 31, n. 3, p. 311-316, 1990.

ALPERS, D. H. **Enteral feeding and gut atrophy**. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, v. 5, n. 6, p. 679-683, 2002.

ARANOW, J. S.; FINK, M. P. **Determinants of intestinal barrier failure in critical illness**. British Journal of Anaesthesia, v. 77, n. 1, p. 71-81, 1996.

ARAUJO, A. C. F.; BONFLEUR, M. L.; BALBO, S.L.; RIBEIRO, R.A.; FREITAS, A.C.T. **Duodenal-jejunal bypass surgery enhances glucose tolerance and beta-cell function in western diet obese rats**. Obesity Surgery, v. 22, n. 5, p. 819-826, 2012.

ARON-WISNEWSKY, J.; DORÉ, J.; CLEMENT, K. **The importance of the gut microbiota after bariatric surgery**. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, v. 9, n. 10, p. 590-598, 2012.

BRAY, G. A. **Is dietary fat important?** The American Journal of Clinical Nutrition, v. 93, n. 3, p. 481-482, 2011.

BREEN, D. M.; RASMUSSEN, B. A.; KOKOROVIC, A.; WANG, R.; CHEUNG, G. W. C; LAM, T. K T. **Jejunal nutrient sensing is required for duodenal-jejunal bypass surgery to rapidly lower glucose concentrations in uncontrolled diabetes**. Nature Medicine, v. 18, n. 6, p. 950-955, 2012.

BRISTOL, J. B.; WILLIAMSON, R. C. N. **Postoperative adaptation of the small intestine**. World Journal of Surgery, v. 9, n. 6, p. 825-832, 1985.

BRISTOL, J. B.; WILLIAMSON, R. C. N. **Mechanisms of intestinal adaptation**. Pediatric Surgery International, v. 3, p. 233-241, 1988.

BUCHMAN, A. L.; MOUKARZEL, A. A.; BHUTA, S.; BELLE, M.; AMENT, M. E.; ECKHERT, C. D.; HOLLANDER, D.; GORNBEIN, J.; KOPPLE, J. D.; VIJAYAROGHAVAN, S. R. **Parenteral nutrition is associated with intestinal morphologic and functional changes in humans**. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, v. 19, n. 6, p. 453-60, 1995.

BURRIN, D.G.; STOLL, B.; GUAN, X. **Glucagon-like peptide 2 function in domestic animals**. Domestic Animal Endocrinology, v. 24, n. 2, p. 103-122, 2003.

DIXON, J. B.; LE ROUX, C. W.; RUBINO, F.; ZIMMET, P. **Bariatric surgery for type 2 diabetes**. Lancet, v. 379, n. 9833, p. 2300-2311, 2012.

FANDIÑO, J; BENCHIMOL, A. K.; COUTINHO, W. F.; APPOLINÁRIO, J. C. **Cirurgia bariátrica: aspectos clínico-cirúrgicos e psiquiátricos**. Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul, v. 26, n. 1, p. 47-51, 2004.

FRIEDMAN, H. I.; VILLAR, H. V.; NEMETH, T. J. **The mucosal response in the excluded limb after jejunoileal bypass for morbid obesity**. Surgery, Gynecology & Obstetrics, v. 153, n. 3, p. 346-350, 1981.

GONZÁLEZ-MUNIESA, P.; MÁRTINEZ-GONZÁLEZ, M. A.; HU, F. B.; DESPRÉS, J. P.; MATSUZAWA, Y.; LOOS, R. J. F.; MORENO, L. A.; BRAY, G. A.; MARTINEZ, J. A. **Obesity**. Nature Reviews Disease Primers, v. 3, n. 17034, p. 17034, 2017.

HU, C.; ZHANG, G.; SUN, D.; HAN, H.; HU, S. **Duodenal-jejunal bypass improves glucose metabolism and adipokine expression independently of weight loss in a diabetic rat model.** Obesity Surgery, v. 23, n. 9, p. 1436-1444, 2013.

IMOTO, H.; SHIBATA, C.; IKEAWA, F.; KIKUCHI, D.; SOMEYA, S.; MIURA, K.; NAITOH, T.; UNNO, M. **Effects of duodeno-jejunal bypass on glucose metabolism in obese rats with type 2 diabetes.** Surgery Today, v. 44, n. 2, p. 340-348, 2014.

ISE, I.; TANAKA, N.; IMOTO, H.; MAEKAWA, M.; KOHYAMA, A.; WATANABE, K.; MOTOI, F.; UNNO, M.; NAITOH, T. **Changes in enterohepatic circulation after duodenal-jejunal bypass and reabsorption of bile acids in the bilio-pancreatic limb.** Obesity Surgery, v. 29, p. 1901-1910, 2019.

JENKINS, A. P.; THOMPSON, R. P. H. **Effect of dietary fat on the distribution of mucosal mass and cell proliferation along the small intestine.** Gut, v. 33, n. 2, p. 224-229, 1992.

KOVALENKO, P. L.; BASSON, M. **Changes in morphology and function in the mucosa of the small intestine after Roux-en-Y surgery in a rat model.** Journal of Surgery, v. 177, n. 1, p. 63-69, 2012.

KOVALENKO, P. L.; FLANIGAN, T. L.; CHATURVEDI, L.; BASSON, M. D. **Influence of defunctionalization and mechanical forces on intestinal epithelial wound healing.** American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology, v. 303, n.10, p. G1134-G1143, 2012.

LE ROUX, C. W.; AYLWIN, S. J. B.; BATTERHAM, R. L.; BORG, C. M.; COYLE, F.; PRASAD, V.; SHUREY, S.; GHATEI, M. A.; PATEL, A. G.; BLOOM, S. G. **Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters.** American Surgical Association, v. 243, n. 1, p. 108-114, 2006.

LEIGH, S.J.; KENDIG, M.D.; MORRIS, M.J. **Palatable western-style cafeteria diet as a reliable method for modeling diet-induced obesity in rodents.** Journal of Visualized Experiments, v. 153, p. e60262, 2019.

LEWIS, A.R.; SINGH, S.; YOUSSEF, F.F. **Cafeteria-diet induced obesity results in impaired cognitive functioning in a rodent model.** Heliyon, v. 5, n. 3, p. e01412, 2019.

LJUNGSMANN, K.; HARTMANN, B.; KISSMEYER-NIELSEN, P.; FLYYBJERG, A.; HOLST, J. J.; LAUBERG, S. **Time-dependent intestinal adaptation and GLP-2 alterations after small bowel resection in rats.** American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology, v. 281, n. 3, p. G779-G785, 2001.

MEGUID, M. M.; RAMOS, E. J.; SUZUKI, S.; XU, Y.; GEORGE, Z. M.; DAS, U. N.; HUGHES, K.; QUINN, R.; CHEN, C.; MARX, W.; CUNNINGHAM, P. R. **A surgical rat model of human Roux-en-Y gastric bypass.** Journal of Gastrointestinal Surgery, v. 8, n. 5, p. 621-630, 2004.

MOTTA, P.; FUJITA, H. **Ultrastructure of the Digestive Tract.** Boston, MA: Martinus Nijhoff Publishing, 262 p., 1988.

OLUBUYIDE, I. O.; WILLIAMSON, R. C. N.; BRISTOL, J. B.; READ, A. E. **Goblet cell hyperplasia is a feature of the adaptive response to jejunoileal bypass in rats.** Gut, v. 25, n. 1, p. 62-68, 1984.

ROTH, J.; QIANG, X.; MARBÁN, S. L.; REDELT, H.; LOWELL, B. C. **The obesity pandemic: where have we been and where are we going?** Obesity Research, v. 12, p. 88S-101S, 2004.

RUBINO, F. **Bariatric surgery: effects on glucose homeostasis.** Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, v. 9, n. 4, p. 497-507, 2006.

RUBINO, F.; FORGIONE, A.; CUMMINGS, D. E.; VIX, M.; GNULI, D.; MINGRONE, G.; CASTAGNETO, G.; MARESCAUX, J. **The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes.** Annals of Surgery, v. 244, n. 5, p. 741-749, 2006.

RUBINO, F.; MARESCAUX, J. **Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes.** Annals of Surgery, v. 239, n. 1, p. 1-11, 2004.

SAMPEY, B. P.; VANHOOSE, A. M.; WINFIELD, H. M.; FREEMERMAN, A. J.; MUEHLBAUER, M. J.; FUEGER, P. T.; NEWGARD, C. B.; MAKOWSKI, L. **Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet.** Obesity, v. 19, n. 6, p. 1109-1117, 2011.

SANTORO, S. **Hipertrofia intestinal induzida por alimento e obesidade.** Einstein, v. 3, n. 4, p. 310-312, 2005.

SANTORO, S.; VELHOTE, M. C. P.; MALZONI, C. E.; MECHENAS, A. S. G.; STRASSMANN, V.; SCHEINBERG, M. **Digestive adaptation: a new surgical proposal to treat obesity based on physiology and evolution.** Einstein, v. 1, p. 99-104, 2003.

SASAKI, I.; TUCHIYA, T.; NAITO, H.; FUNAYAMA, Y.; TODA, M.; SUZUKI, Y.; SATO, T.; OHNEDA, A. **Effect of ileo-jejunal transposition on intestinal adaptation after total colectomy in dogs.** The Tohoku Journal of Experimental Medicine, v. 151, n. 4, p. 419-428, 1987.

SCOARIS, C. R.; RIZO, G. V.; ROLDI, L. P.; MORAES, S. M. F.; PROENÇA, A. R. G.; PERALTA, R. M.; NATALI, M. R. M. **Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats.** Nutrition, v. 26, n. 3, p. 312-320, 2010.

SHIN, E. D.; ESTALL, J. L.; IZZO, A.; DRUCKER, D. J.; BRUBAKER, P. L. **Mucosal adaptation to enteral nutrients is dependent on the physiologic actions of glucagon-like peptide-2 in mice.** Gastroenterology, v. 128, n. 5, p. 1340-1353, 2005.

SOLHAUG, J. H. **Morphometric studies of the small intestine following jejuno-ileal shunt operation.** Scandinavian Journal of Gastroenterology, v. 11, n. 2, p. 155-160, 1976.

SPECK, M.; CHO, Y. M.; ASADI, A.; RUBINO, F.; KIEFFER, T. J. **Duodenal-jejunal bypass protects GK rats from β -cell loss and aggravation of hyperglycemia and increases enteroendocrine cells coexpressing GIP and GLP-1.** American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism, v. 300, n. 5, p. 923-932, 2011.

STENLING, R.; HÄGG, E.; FALKMER, S. **Stereological studies on the rat small intestinal epithelium. III. Effects of short-term alloxan diabetes.** Virchows Archiv. B, Cell Pathology, v. 47, p. 263-270, 1984.

STENLING, R.; HELANDER, H. F. **Stereological studies on the rat small intestinal epithelium. II. Effects of antrectomy and antral exclusion.**

Cell & Tissue Research, v. 228, p. 563-571, 1983.

SUKHOTNIK, I.; MOR-VAKNIN, N.; DRONGOWSKI, R. A.; MISELEVICH, I.; CORAN, A. G.; HARMON, C. M. **Effect of dietary fat on early morphological intestinal adaptation in a rat with short bowel syndrome.** Pediatric Surgery International, v. 20, n. 6, p. 419-424, 2004.

TOMPKINS, R. K.; WAISMAN, J.; WATT, C. M-H.; CORLIN, R.; KEITH, R. **Absence of mucosal atrophy in human small intestine after prolonged isolation.** Gastroenterology, v. 73, n. 6, p. 1406-1409, 1977.

VANZELA, E.C.; RIBEIRO, R.A.; OLIVEIRA, C.A.M.; RODRIGUES, F.B.; BONFLEUR, M.L.; CARNEIRO, E.M.; SOUZA, K.L.A.; BOSCHERO, A.C. **Pregnancy restores insulin secretion from pancreatic islets in cafeteria diet-induced obese rats.** American Journal of Physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology, v. 298, n. 2, p. R320-R328, 2010.

WELBOURN, R.; HOLLYMAN, M.; KINSMAN, R.; DIXON, J.; LIEM, R.; OTTOSSON, J.; RAMOS, A.; VÂGE, V.; AL-SABAH, S.; BROWN, W.; COHEN, R.; WALTON, P.; HIMPENS, J. **Bariatric surgery worldwide: baseline demographic description and one-year outcomes from the Fourth IFSO Global Registry Report 2018.** Obesity Surgery, v. 29, n. 3, p. 782-795, 2019.

WESER, E.; HELLER, R.; TAWIL, T. **Stimulation of mucosal growth in the rat ileum by bile and pancreatic secretions after jejunal resection.** Gastroenterology, v. 73, n. 3, p. 524-529, 1977.

WHO. World Health Organization. **Obesity.** Disponível em: <https://www.who.int/topics/obesity>. Acesso em: 14 out. 2020.

WILLIAMSON, R. C.; BAUER, F. L.; ROSS, J. S.; MALT, R. A. **Proximal enterectomy stimulates distal hyperplasia more than bypass or pancreaticobiliary diversion.** Gastroenterology, v. 74, n. 1, p. 16-23, 1978.

XING, J.; CHEN, J. D. Z. **Alterations of gastrointestinal motility in obesity.** Obesity Research, v. 12, n. 11, p. 1723-1732, 2004.

YANG, H.; FINALY, R.; TEITELBAUM, D. H. **Alteration in epithelial permeability and ion transport in a mouse model of total parenteral nutrition.** Critical Care Medicine, v. 31, n. 4, p. 1118-1125, 2003.

ZHANG, S. Y.; SUN, X. J.; ZHENG, J. B.; WANG, W.; LIU, D.; CHEN, N. Z.; HE, S.; HUO, X. W.; SMITH, W. **Preserve common limb in duodenal-jejunal bypass surgery benefits rats with type 2-like diabetes.** Obesity Surgery, v. 24, n. 3, p. 405-411, 2014.

ZINÖCKER, M. K.; LINDSETH, I. A. **The western diet-microbiome-host interaction and its role in metabolic disease.** Nutrients, v. 10, n. 3, p. 365, 2018.

EFEITOS DO EFLUENTE CONTAMINADO COM COMPOSTOS NITROAROMÁTICOS NA INDUÇÃO DE ESTRESSE OXIDATIVO EM *AZOLLA SP*

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 03/09/2020

Bruna Durat Coelho

Universidade Estadual do Centro-Oeste
(Unicentro)
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/3313678795404475>

Patrícia Carla Giloni-Lima

Universidade Estadual do Centro-Oeste
(Unicentro), Departamento de Ciências
Biológicas (DEBIO)
Guarapuava – PR
<http://lattes.cnpq.br/6684589993372601>

Vanderlei Aparecido de Lima

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
Departamento de Química (DAQUI)
Pato Branco – PR
<http://lattes.cnpq.br/9090461949264421>

RESUMO: Os efluentes contaminados por compostos nitroaromáticos correspondem a uma preocupante forma de contaminação ambiental, devido a utilização em grande escala e por apresentar potencial efeito tóxico e mutagênicos aos sistemas biológicos. Uma possível alternativa para o seu tratamento corresponde a remediação realizada por plantas aquáticas. Dentre estas, a macrófita aquática *Azolla sp.*, considerada representante vegetal apropriado para atividades de fitorremediação, devido sua tolerância à poluição e elevada produção de biomassa. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi

analisar a capacidade biorremediadora de *Azolla sp.*, em sistemas contaminados com compostos nitroaromáticos, por meio da indução da atividade antioxidante das enzimas catalase (CAT) e peroxidases totais (POX), investigadas por ensaios ecotoxicológicos agudo e crônico. Os resultados obtidos revelaram elevação significativas das enzimas antioxidantes e sugerem que a condição de estresse foi marcada no ensaio agudo pela atividade enzimática da CAT, o que indicou que as condições de exposição aos compostos da classe dos nitroaromáticos foram danosos à macrófita. No ensaio crônico, os dados demonstraram elevada atividade enzimática da POX, fato que sinaliza o emprego de mecanismos para diminuir os estresses prejudiciais causados pelo efluente rico em compostos nitroaromáticos.

PALAVRAS - CHAVE: antioxidante, ecotoxicologia, fitoproteção, TNT.

EFFECTS OF EFFLUENT CONTAMINATED WITH NITROAROMATIC COMPOUNDS ON THE INDUCTION OF OXIDATIVE STRESS IN *AZOLLA SP*

ABSTRACT: The effluents contaminated by nitroaromatic compounds correspond to a worrying form of environmental contamination, due to their use on a large scale and because they have a potentially toxic and mutagenic effect on biological systems. A possible alternative for its treatment is the remediation performed by aquatic plants. Among these, the aquatic macrophyte *Azolla sp.*, is considered an appropriate plant representative for phytoremediation activities, due to its tolerance to pollution and high biomass production. In this context, the objective of this

work was to analyze the bioremediation capacity of *Azolla* sp., in systems contaminated with nitroaromatic compounds, by inducing the antioxidant activity of catalase (CAT) and total peroxidases (POX) enzymes, investigated by acute ecotoxicological tests and chronic. The results obtained revealed significant elevation of the antioxidant enzymes. This suggests that the stress condition was marked in the acute assay by the enzymatic activity of CAT, which indicated that the conditions of exposure to compounds of the class of nitroaromatics were harmful to the macrophyte. In the chronic test, the results showed high POX enzymatic activity, a fact that signals the use of mechanisms to reduce the harmful stresses caused by the effluent rich in nitroaromatic compounds.

KEYWORDS: Antioxidant, ecotoxicology, phytoprotection, TNT.

1 | INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da sociedade depende do uso da água, recurso natural que frequentemente é degradado pelo descarte inadequado de efluentes advindos da produção industrial (MCGRATH et al., 2001; LONE, 2008; NANDAN et al., 2013); que por consequência, prejudicam tanto o ambiente aquático, quanto a saúde humana (LONE, 2008).

O composto nitroaromático 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), originado pela manufatura de explosivos, corresponde a um poluente de destaque devido à sua liberação em grande escala (NANDAN et al., 2013) e sua tendência a permanecer no ambiente, não sendo degradados biologicamente, embora possa ser transformado em outros produtos (LONE, 2008).

Uma possível medida para o tratamento deste efluente corresponde à fitorremediação (NANDAN et al., 2013), uma tecnologia verde que reabilita áreas contaminadas a partir da remoção, contenção ou redução das concentrações de contaminantes por meio de atividade de plantas aquáticas (CONAMA, 2009; NANDAN et al., 2013). Dentre essas, a macrófita aquática flutuante *Azolla* sp. apresenta potencial biorremediador (CARRAPIÇO, 2001; NANDAN et al., 2013) por ser considerada tolerante à poluição, cosmopolita e que apresenta crescimento rápido com elevada produção de sua biomassa (SANTOS, 2013).

Durante a fitorremediação, as plantas transformam compostos tóxicos em subprodutos (LONE et al., 2008), produzindo em decorrência disto, espécies reativas de oxigênio (EROs) ao longo do processo, os quais geram uma condição de estresse para as plantas, afetando seu crescimento e produtividade (HOSSAIN et al., 2015). As plantas, por sua vez, desenvolveram mecanismos contra esta citotoxicidade, como o metabolismo antioxidante, que é capaz de neutralizar os danos causados pelas EROs (BARBOSA et al., 2014), como, por exemplo, a capacidade de refrear a espécie reativa peróxido de hidrogênio (H_2O_2), através da ação das enzimas antioxidantes (FERREIRA, 2007) catalase (CAT) e peroxidases totais (POX). Essas enzimas desempenham um papel fundamental na inibição do dano celular causado por corpos de água contaminados com espécies químicas tóxicas (FATIMA; AHMAD, 2005; ABRAHAM, 2010).

Nesse contexto, este estudo visou investigar pela indução do sistema de defesa antioxidante, o potencial biorremediador de *Azolla* sp. exposta ao efluente contaminado com compostos nitroaromáticos.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Cultivo de *Azolla* sp. e montagem dos ensaios

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Unicentro. Os indivíduos da macrófita *Azolla* sp., provenientes do laboratório, foram aclimatados por 24 horas em solução nutritiva de Clark (1975)¹.

Os testes ecotoxicológicos foram estabelecidos por meio de duas abordagens: o ensaio agudo, realizado durante 7 dias; e o ensaio crônico mantido por 28 dias. Ambos bioensaios consistiram em 30 unidades experimentais, onde cada unidade experimental continha um volume de 35 mL de solução nutritiva de Clark (1975) em pH 5,5. Nessas unidades, foram selecionados 0,5 g de indivíduos de *Azolla* sp., procedentes da etapa anterior da aclimação. Em cada ensaio foi adicionado 0,00(controle); 0,013; 0,026; 0,050; 0,070 e 0,10% da concentração do efluente e água destilada, este último foi adicionado para que em todas as unidades experimentais, os volumes finais fossem equivalentes. As faixas de concentração do efluente contendo compostos nitroaromáticos foram estipuladas a partir de ensaios-teste. Nos ensaios sempre utilizou-se cinco repetições durante a realização dos experimentos.

Deste modo, o delineamento experimental foi constituído por 60 unidades experimentais, onde exemplares de *Azolla* sp. foram submetidas ao efluente contaminado com compostos nitroaromáticos. Os bioensaios foram mantidos em fotoperíodo de 12 horas de luminosidade artificial provenientes de lâmpada fluorescente e 12 horas de ausência de luminosidade artificial, sob temperatura ambiente.

2.2 Atividade das enzimas antioxidantes

A atividade enzimática foi determinada a partir da extração, quantificação das proteínas, e ensaio das atividades das enzimas antioxidantes Catalase (CAT) e Peroxidasas Totais (POX) em extratos das unidades experimentais, contendo *Azolla* sp. exposta ao estressor.

2.2.1 Extração das enzimas

Realizada segundo a metodologia proposta por Azevedo et al. (1998), consistiu na pesagem do material vegetal para determinação do volume de tampão fosfato, como exemplificado na Equação 1.

1 Composição da solução: NaH₂PO₄.H₂O 1 mL L⁻¹, K₂SO₄ 1 mL/L, CaCl₂.H₂O 1 mL/L, MgSO₄.7H₂O 1 mL/L, Fe-SO₄.7H₂O + EDTA 1 mL/L, MnCl₂.4H₂O 1 mL/L, Na₂MoO₄.2H₂O 1 mL/L, H₃BO₃ 1 mL/L, ZnSO₄.7H₂O 1 mL/L, CuSO₄ 5H₂O 1 mL/L, CoCl₂.6H₂O.

$$V(\text{ml}) = 4\text{ml} \times \text{massa (g) de } Azzola \text{ sp. de cada tratamento} \quad (1)$$

A pesagem se fez necessária para se determinar o meio de extração utilizado, o tampão fosfato (7,265g de K_2HPO_4 , 1,13g de KH_2PO_4 , 0,186g de EDTA; 500mL, pH 7,5) e Polivinilpolipirrolidone (PVPP), cuja proporção é apresentada na equação 2.

O valor estipulado (V) de tampão fosfato necessário é determinado por:

$$V = \frac{\text{Massa de PVPP (mg)} \times 100 \text{ mL}}{3 \text{ mg} \times \text{volume da solução tampão (mL)}} \quad (2)$$

A partir deste cálculo, as plantas de *Azolla* sp. em cada tratamento, juntamente com o seu volume de tampão e PVPP correspondente, passaram a ser maceradas com uso de graal e pistilo até a obtenção de um extrato líquido de enzimas. Esse último foi transferido para dois *eppendorfs* de 2,0 mL, posteriormente centrifugado a 4°C, 10.000 rpm a 30 minutos em centrífuga refrigerada (Eppendorf, 5804R). Esse extrato foi denominado de extrato enzimático e foi utilizado nas etapas posteriores dos experimentos.

2.2.2 Determinação do Teor de Proteínas

O método de Bradford (1976) foi utilizado para a determinação do teor de proteínas, e se baseia na análise da ligação do azul brilhante da Coomassie, do extrato proteico em comparação a um extrato padrão. Desta maneira, para cada tratamento e suas respectivas concentrações, se adicionou em um tubo de ensaio o volume 1.500 μL do reagente de Bradford, 1.450 μL de água destilada, e 50 μL do extrato enzimático centrifugado. O meio reacional com a amostra foi mantido em repouso por 5 minutos a temperatura ambiente e posteriormente foi lido por espectrofotometria na absorvância de 595 nm, em espectrofotômetro GEHAKA (modelo UV/Visível - UV 340G). Os resultados foram expressos em mg/mL, que serviram para a construção da curva de calibração. O branco, consistiu na adição de 1.500 μL azul brilhante da Coomassie e 1.500 μL de água destilada.

2.2.3 Atividade enzimática da Catalase- CAT (EC 1.11.1.6)

A análise da CAT foi baseada na metodologia descrita por Kraus et al. (1995) com modificações propostas por Azevedo et al. (1998). O meio reacional consistiu-se de tampão fosfato de potássio pH 7,5 e peróxido de hidrogênio 25%. A atividade enzimática foi determinada a partir do consumo do substrato, peróxido de hidrogênio, pelo método cinético com leituras a cada segundo na absorvância de 240 nm, sendo promovido a leitura de 1 em 1 segundo por 61 segundos em espectrofotômetro. O branco consistiu de 1000 μL da solução tampão fosfato de potássio e peróxido de hidrogênio 25% e 25 μL de água destilada.

2.2.4 Atividade enzimática das Peroxidases Totais-POX (EC 1.11.1.7)

A análise da POX foi baseada na metodologia proposta por Peixoto et al. (1999),

delineado pelo meio reacional constituído por tampão fosfato de potássio (7,265g de K_2HPO_4 , 1,13g de KH_2PO_4 , 0,186g de EDTA; 500mL, pH 6,8), 1,2611g de ácido pirogálico e 680 μ L de H_2O_2 50%. A reação foi paralisada por uma solução de ácido sulfúrico a 5%. O branco consistiu de 4,9 mL do meio reacional, constituído por 100 μ L de tampão fosfato de potássio pH 6,8 e 0,5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4). O meio reativo do ensaio foi constituído de 4,9 mL do meio de reação e 100 μ L do extrato vegetal, agitados em vórtex e após 1 minuto a reação foi paralisada com 0,5 mL seguido de agitação em vórtex. A leitura foi realizada em espectrofotômetro GEHAKA (modelo UV/Visível - UV 340G) no comprimento de onda de 420 nm.

2.3 Análises Estatísticas

Os dados foram analisados pelos Modelos Lineares Generalizados (MLG) com distribuição normal gama e função de ligação Identidade (PAULA, 2010). O teste de contraste de média foi realizado por Bonferroni ao nível de 5% de significância no software SPSS.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade da catalase nos bioensaios e em seus diferentes tratamentos contendo o efluente contaminado com compostos nitroaromáticos, é apresentado na Figura 1.

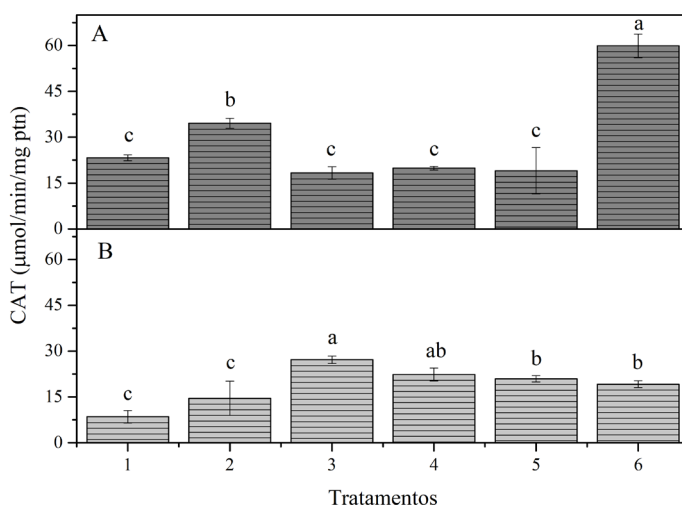


Figura 1. Variação da Catalase (CAT) nos bioensaios com *Azolla* sp. submetidas às concentrações 0,00% (1); 0,013% (2); 0,026% (3); 0,050% (4); 0,070% (5) e 0,10% (6) de efluente contaminado com compostos nitroaromáticos. A) Ensaio agudo. B) Ensaio crônico. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância.

No ensaio agudo houve aumento significativo na atividade da catalase, em sua maior concentração do efluente, 0,10%. O teor de CAT nesse tratamento foi diferente dos demais e estatisticamente significativo ($p < 0,05$). Porém, os valores de CAT para as concentrações 0,026, 0,050 e 0,070% foram similares ao valor observado no controle, não apresentando diferença estatística significativa entre si ($p > 0,05$). No ensaio crônico, o maior valor para atividade da enzima catalase ocorreu na concentração 0,026%, sendo que desta, apenas o tratamento 4 (0,050%) não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$) ao nível de 95% de probabilidade.

Dados similares à atividade enzimática da CAT encontradas nos valores mais altos de concentração de toxicantes foram observados na pesquisa realizada por Vafaei e colaboradores (2012), onde a espécie de *Azolla filiculoides* foi submetida à diversas concentrações que variaram de 10 a 20 mg L⁻¹ de efluente contaminado pelo corante BR46. Nessa pesquisa foi observado que o aumento da atividade de CAT em comparação ao controle não foi significativo no tratamento com 10 mg de L⁻¹, e significativo na maior concentração, 20 mg L⁻¹.

Na Figura 2 apresenta-se as atividades das peroxidases totais (POX) em bioensaios contendo *Azolla* sp. submetidas às concentrações do efluente contaminado com compostos nitroaromáticos.

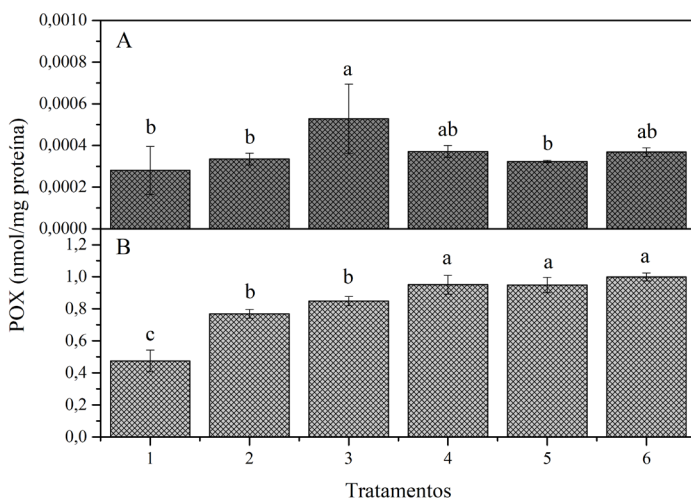


Figura 2. Variação de Peroxidases Totais (POX) de *Azolla* sp. submetidas às concentrações de efluente contaminado com compostos nitroaromáticos. A) Ensaio agudo. B) Ensaio crônico. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância. Tratamento 0,00% (1); 0,013% (2); 0,026% (3); 0,050% (4); 0,070% (5) e 0,10% (6).

Houve aumento significativo na atividade enzimática de POX na concentração do efluente, 0,026%, no ensaio agudo. Os valores das concentrações 0,013; 0,050; 0,070 e 0,10% para este mesmo ensaio foram similares aos valores observados no controle, sendo quase não detectada a atividade da POX neste ensaio realizado durante os sete dias de exposição ao efluente contaminado com compostos nitroaromáticos. Para o teste crônico, aumento significativo foi observado na maior concentração do contaminante, 0,10%, sendo que para as concentrações 0,050 e 0,070% foram estatisticamente iguais. As concentrações mais baixas do ensaio crônico (0,013 e 0,026%) para a POX não diferiram entre si, mas foram significativamente diferentes do controle e das concentrações mais elevadas do efluente contaminado ($p < 0,05$).

Avaliações da atividade enzimática da POX também foram descritas no trabalho de Vafaei et al. (2012), onde foi observado em ambas as concentrações (10 e 20 mg L⁻¹) do efluente contaminado por C.I. Basic Red 46 (BR46) a ocorrência de aumento significativo da atividade da peroxidase em comparação ao controle ($p < 0,001$).

Observa-se ainda, que no ensaio crônico, a maior atividade enzimática da CAT ocorreu no tratamento 3, Figura 1B. Já no ensaio agudo da POX, também foi observado os maiores valores da enzima antioxidante no tratamento, quando a concentração do efluente foi de 0,026%; Figura 2A.

Para Carias et al. (2008), o aumento de atividade enzimática pode ser observado em concentrações intermediárias do contaminante, em comparação aos valores mais elevados, provavelmente devido ao estresse causado pelo excesso de H₂O₂ e derivados formados por este.

Esse decréscimo de interferência do toxicante frente às altas concentrações é denominado de hormesis ou resposta hormética a dose, e corresponde a uma estratégia de combate aos danos de um contaminante sobre o organismo, podendo caracterizar uma quebra de tendência de efeito da espécie reativa ou da atividade enzimática (CALABRESE; BLAIN, 2009). Como citado anteriormente, no processo de hormesis, as baixas doses dos compostos tóxicos podem induzir uma série de respostas estimulatórias sobre o organismo, e acabam promovendo uma ruptura temporal na sua homeostase, a qual, baseada neste processo, é seguida de uma resposta compensatória (CALABRESE, 1999). Para Calabrese (2015), a detecção dessa resposta característica da hormese, depende das concentrações da dose, como também da própria resposta do organismo.

A interação entre as espécies reativas e enzimas antioxidantes almejam a manutenção de certo controle frente a esta condição de estresse. Desta forma, o aumento nos teores enzimáticos expressam a respostas do organismo-teste à presença das EROs, atuando como potencial ferramenta no biomonitoramento ambiental (ABRAHAM, 2010; SANTOS, 2013). No presente estudo, pode-se observar que a partir da exposição inicial, apresentada no teste agudo, a enzima que apresentou mais atividade foi a catalase.

É notório que dentre as enzimas que atuam sobre o peróxido de hidrogênio, a CAT

é a mais eficiente por não necessitar de equivalentes redutores da célula para ser ativada (GADJEV; STONE; GECHEV; 2008; BETTINI et al., 2014). Entretanto, hipóteses indicam também, que essa enzima é susceptível a degradação após ser inativada por exposição luminosa, o que a torna dependente de novas sínteses (BETTINI et al., 2014), fato que poderia explicar os seus menores teores no ensaio crônico.

Na exposição prolongada observada a partir do ensaio crônico, foi observado maiores teores da enzima POX, sendo então mais atuante do que no ensaio de 7 dias. Dados na literatura sugerem que a peroxidase é uma classe de enzima que além de catalizar a oxidação do H_2O_2 , participa de uma ampla variedade de processos fisiológicos em plantas (NASCIMENTO; BARRIGOSI, 2014). Peroxidasas são expressas em todos os compartimentos celulares, até mesmo na parede celular, devido a geração das EROs em várias regiões nas células, atuantes nos cloroplastos, mitocôndrias, cadeias de transporte de elétrons da membrana peroxissomal, junto a xantina oxidase da matriz do peroxissomo, NADPH oxidases da membrana plasmática, etc. (DEMIDCHIK, 2015). Sua importância faz com que esta enzima seja utilizada como um modelo em estudos de defesa de plantas em respostas a estresses (NASCIMENTO; BARRIGOSI, 2014) o que pode justificar os maiores teores desta enzima no ensaio de 28 dias.

Tendo como base os resultados apresentados neste trabalho, é possível avaliar os dois tipos de bioensaios, agudo e crônico realizados com a espécie *Azolla* sp. submetida ao estresse pela presença de compostos nitroaromáticos. A condição de estresse é marcada no ensaio agudo pela presença da atividade enzimática da catalase.

No ensaio crônico por outro lado, os resultados indicaram a adoção de medidas fisiológicas para a manutenção das funções vegetais a partir da elevada atividade da POX. Denota-se com isto, que o efluente contaminado com compostos nitroaromáticos foi para a macrófita *Azolla* sp., um agente estressante que demandou a necessidade de ativação destas medidas protetivas. Essas medidas, não foram totalmente eficientes para caracterizar a espécie *Azolla* sp., como potencialmente biorremediadora.

4 | CONCLUSÕES

A partir do ensaio ecotoxicológico, a toxicidade de efluente de indústria de explosivos foi analisado frente a pteridófito *Azolla* sp. a partir dos resultados obtidos nos dois bioensaios realizados, foi observado que este contaminante afetou o desenvolvimento dessa macrófita.

No ensaio agudo, por meio da gradativa elevação do teor de enzimas antioxidantes concomitantemente com o aumento das concentrações do estressante nos tratamentos, em especial a Catalase na faixa de 0,10% e o ensaio crônico da POX, expressaram que o estresse produzido pelo composto foi expressivamente danoso à macrófita nas condições dos ensaios.

Esses fatos permitem expressar a baixa tolerância da *Azolla* sp. frente ao composto, que apesar da presença de meios de resposta a condição de estresse, ao mesmo passo demonstram que estas foram insuficientes para evitar os danos produzidos pelos compostos derivados de TNT.

As explicações fornecidas a partir destes ensaios proporcionam novos conhecimentos sobre os possíveis impactos de compostos nitroaromáticos descartados em sistemas aquáticos. Ainda não existem limites restritivos para o lançamento desses compostos nos corpos hídricos. Desta forma, pesquisas desta natureza são importantes na prospecção de organismos biorremediadores.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, G. Antioxidant enzyme status in *Azolla microphylla* in relation to salinity and possibilities of environmental monitoring. **Thin Solid Films**, v. 519, p. 1240–1243, 2010.
- AZEVEDO, R. A.; et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280-292, 1998.
- BARBOSA, M. R.; et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, mar, 2014.
- BETTINI, M. O.; et al. **Métodos de Trabalho em Bioquímica Vegetal e Tecnologia de Enzimas**, Cap. 05, Editora UNESP Cultura Acadêmica, p.23-28. 2014.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.** v. 72, p. 248-254, 1976.
- CALABRESE, E. J. Evidence That Hormesis Represents an “Overcompensation” Response to a Disruption in Homeostasis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.42, p. 135-137, 1999.
- CALABRESE, E. J. Hormesis: principles and applications. **Homeopathy**, v. 104, p. 69- 82, 2015.
- CALABRESE, E. J.; BLAIN, R. B. Hormesis and plant biology. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 42-48, 2009.
- CARIAS, C.C.; NOVAIS, J. M.; MARTINS-DIAS, S. Are *Phragmites australis* enzymes involved in the degradation of the textile azo dye acid orange 7? **Bioresource Technology**, v. 99, p. 243–251, 2008.
- CARRAPIÇO, F. J. N. **Azolla em Portugal**. Instituto da Água. Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território. Centro de Biologia. Ambiental. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. 2001.
- CLARK, R. B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 23, p.458–460, 1975.

CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). 2009. **RESOLUÇÃO 420**. Ministério do meio ambiente.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212–228, 2015.

FATIMA, R. A.; AHMAD, M. Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 346, p. 256-273, 2005.

FERREIRA, I. C. F. R.; ABREU, R. M. V. Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. **Bioanálise**, Ano IV, Nº 2, 2007.

GADJEV, I.; STONE, J. M.; GECHEV, T. S.; programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v. 270, p. 1937-6448, 2008.

HOSSAIN, M. A.; et al. Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, artigo 420, 2015.

KRAUS, T. E.; MCKERSIE, B. D.; FLETCHER, R. A. Paclobutrazol-induced tolerance of wheat leaves to paraquat may involve increased antioxidant enzyme activity. **Journal Plant Physiology**, v. 145, p. 570-576, 1995.

LONE, M. Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives, **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 9, n. 3, p. 210-220, 2008.

MCGRATH, S. P.; ZHAO, F. J.; LOMBI, E. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. **Plant and Soil**, v. 232, p. 207–214, 2001.

NANDAN, S.; et al. Phytoremediation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) using selected macrophyte, *Azolla microphylla*. **International Journal of Applied Engineering Research**, v. 8, n. 9, p. 39- 44, 2013.

NASCIMENTO, J. B.; BARRIGOSI, J. A. F. O papel das enzimas antioxidantes na defesa das plantas contra insetos herbívoros e fitopatógenos. **Agrarian Academy**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 1, n. 01; p. 234-250, 2014.

PAULA, G. A. **Modelos de regressão com apoio computacional**. São Paulo: IME/USP. 2010.

PEIXOTO, P. H. P.; et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p.137-143, 1999.

SANTOS, R. L. **Avaliação do estresse causado pelo herbicida 2,4d na pteridófito aquática *Azolla* sp. sob diferentes fotoperíodos**. 2013. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.

VAFAEI, F.; et al. Bioremoval of an azo dye by *Azolla filiculoides*: Study of growth, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes status. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 75, p. 194-200, 2012.

CAPÍTULO 9

HERBÁRIOS COMO ESPAÇOS NÃO FORMAIS DE EDUCAÇÃO: A EXPERIÊNCIA DO SAMES NO NORTE DO ESPÍRITO SANTO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 06/10/2020

Kamila Jesus de Souza

Centro Universitário Norte do Espírito Santo -
Ceunes/UFES,
São Mateus – Espírito Santo
<http://lattes.cnpq.br/5065203500935250>

Elisa Mitsuko Aoyama

Centro Universitário Norte do Espírito Santo -
Ceunes/UFES,
São Mateus – Espírito Santo
<http://lattes.cnpq.br/0299586072690797>

Luis Fernando Tavares de Menezes

Centro Universitário Norte do Espírito Santo -
Ceunes/UFES,
São Mateus – Espírito Santo
<http://lattes.cnpq.br/4502113593775550>

RESUMO: Os espaços não formais de educação possuem perfil multidisciplinar de ensino que podem auxiliar nos vários aspectos da formação cidadã. Uns dos espaços não formais são os herbários, que são considerados como importante ferramenta para a obtenção de conhecimento e documentação da flora, além de ser instrumento eficaz de ensino, onde teoria e a prática se complementam. Esse trabalho teve como objetivo analisar as potencialidades do Herbário SAMES como recurso didático para o Ensino Básico, no norte do Espírito Santo. Para isso, foi aplicado um questionário semiestruturado para 22 professores do ensino básico, com o

intuito de expor as percepções dos mesmos sobre as potencialidades de um herbário como espaço não formal de Educação. Foi verificado entre os herbários brasileiros, ligados a Rede Brasileira de Herbários, informações sobre a existência de projetos políticos pedagógicos e atividades voltadas para a educação básica, desenvolvidos pelos mesmos. Como resultado, os professores do ensino básico mencionaram o interesse na utilização do Herbário SAMES como espaço não formal de ensino, apresentaram pontos positivos, negativos, além de sugestões e fatores que facilitariam ou dificultariam o uso do herbário e a contribuição do mesmo na formação e prática docente. Acerca da análise do questionário aplicado aos curadores, um total de 45 herbários contribuíram com respostas. Dentre essas respostas, observamos que quatro herbários possuem Projeto Político Pedagógico, porém não realizam atividades voltadas para o ensino básico. O trabalho mostrou a importância do Herbário SAMES como espaço não formal de ensino para educação, atuando como suporte para o ensino formal na construção do processo de ensino-aprendizagem.

PALAVRAS - CHAVE: Ensino-aprendizagem. Ensino de Biologia. Ensino de Botânica.

HERBARIES AS NON-FORMAL SPACES OF EDUCATION: THE SAMES EXPERIENCE IN THE NORTH OF HOLY SPIRIT

ABSTRACT: Non-formal education spaces have a multidisciplinary teaching profile that can assist in the various aspects of citizen education. Some of the non-formal spaces are herbariums, which

are considered an important tool for obtaining knowledge and documentation of flora, in addition to being an effective teaching tool, where theory and practice complement each other. This work aimed to analyze the potential of Herbário SAMES as a didactic resource for Basic Education, in the north of Holy Spirit. For this, a semi-structured questionnaire was applied to 22 teachers of basic education, in order to expose their perceptions about the potential of a herbarium as a non-formal space of Education. It was verified among the Brazilian herbariums, linked to the Brazilian Herbarium Network, information about the existence of political pedagogical projects and activities aimed at basic education, developed by them. As a result, teachers of basic education mentioned the interest in using the SAMES Herbarium as a non-formal teaching space, presented positive and negative points, in addition to suggestions and factors that would facilitate or hinder the use of the herbarium and its contribution in training and teaching practice. Regarding the analysis of the questionnaire applied to the curators, a total of 45 herbalists contributed responses. Among these responses, we observed that four herbariums have a Pedagogical Political Project, but do not carry out activities aimed at basic education. The work showed the importance of Herbário SAMES as a non-formal teaching space for education, acting as a support for formal teaching in the construction of the teaching-learning process.

KEYWORDS: Teaching-learning. Biology teaching. Botany teaching.

INTRODUÇÃO

O Ensino Básico, considerado como educação formal, é caracterizado pela estruturação do seu sistema e a presença de regras pré-estabelecidas de conduzir o processo de ensino-aprendizagem. Porém deve-se lembrar que a educação formal não é a única modalidade, mas sim uma das formas existentes para o auxílio no processo educacional. Na educação formal, entre outros objetivos, destacam-se os relativos ao ensino e aprendizagem de conteúdos historicamente sistematizados, normatizados por leis, dentre os quais destacam-se o de formar o indivíduo como um cidadão ativo, desenvolver habilidades e competências variada, desenvolver a criatividade, percepção, motricidade etc. Segundo Gohn (2006, p. 3)

Na educação não-formal, os espaços educativos localizam-se em territórios que acompanham as trajetórias de vida dos grupos e indivíduos, fora das escolas, em locais informais, locais onde há processos interativos intencionais (a questão da intencionalidade é um elemento importante de diferenciação).

A botânica é caracterizada como uma disciplina muito teórica e desestimulantes para os alunos (KINOSHITA *et al.*, 2006). Alguns autores apontam as seguintes causas prováveis para esses desestímulos: (i) falta de domínio por parte dos professores sobre o conteúdo, dificultando ainda mais o ensino (SANTOS & CECCANTINI, 2004; SILVA, 2008); (ii) ausência de aulas práticas e de recursos didáticos destinados a auxiliar no ensino-aprendizado (MELO *et al.*, 2012).

Os problemas referentes aos conteúdos que estão voltados para o ensino da

botânica, estão diretamente ligados a ausência da relação homem x planta, visto que muitos discentes de Ciências Biológicas consideram os conteúdos dessa área de difícil entendimento, devido aos termos nomenclaturais e memorísticos (AMADEU & MACIEL, 2014). Com isto, esses discentes saem da graduação com dificuldades de trabalhar com temas relacionados à botânica, repassando, assim, tais dificuldades para seus alunos em sala de aula, criando um efeito em cascata (SOUZA & KINDEL, 2014).

Os espaços não formais possuem perfil multidisciplinar de ensino, podendo auxiliar nos vários aspectos da formação cidadã, estimulando a educação sobre os direitos individuais, governamentais, culturais e coletivos, com atuação na liberdade, igualdade e democracia (BRASIL, 2003). A educação não-formal é categorizada em duas classificações: (i) espaços não-formais institucionalizados, que são locais regulamentados e com equipe técnica responsável para atividades educacionais (museus, planetários, parques zoobotânicos, instituto de pesquisas, aquários, zoológicos e jardins botânicos); (ii) espaços não-formais não-institucionalizados, com espaços naturais ou urbanos que não possuem estrutura institucional como: teatro, praças, rua, praia, lagoa, entre outros (JACOBUECCI, 2008).

Queiroz (2011) destaca os diversos espaços considerados como não formais para desenvolvimento de atividades de educação, tais como praças públicas, áreas verdes no entorno da escola e lagoas. Alguns autores defendem os espaços não formais de ensino destacando sempre sua para a educação em ciências, colaborando assim com a escola e diretamente com a educação formal e a divulgação científica (MARANDINO, 2000, 2001; GRUZMAN & SIQUEIRA, 2007; WOLINSKI *et al.*, 2009).

O herbário é uma coleção constituída por um conjunto de plantas desidratadas (secas) ou até mesmo parte delas, que são guardadas em armários apropriados e classificadas de acordo com a taxonomia ou ordem alfabética de famílias botânicas (FONSECA & VIEIRA, 2015). Por ser um local onde a teoria e a prática se mesclam, é possível obter informações sobre a diversidade vegetal de uma determinada área, promovendo o conhecimento da conservação da biodiversidade vegetal e as diferentes formas e funções dos tipos vegetais. Além de auxiliar no processo de ensino-aprendizagem dos alunos, proporcionando maior conhecimento para os mesmos e contribuindo para o entendimento do conteúdo teórico da Botânica vistos em sala de aula. O herbário é considerado um espaço não formal e uma ferramenta poderosa para a obtenção de conhecimento e documentação da flora, além de um instrumento eficaz de ensino onde teoria e a prática se complementam. Fagundes e Gonzalez (2006, p. 3) afirmam que:

As coleções de herbário constituem uma poderosa ferramenta para o conhecimento sistemático e o entendimento das relações evolutivas e fitogeográficas da flora de uma determinada área, região ou continente. Permitem a documentação permanente da composição florística de áreas que se modificam ao longo do tempo, seja pela ação antrópica ou por efeito de

eventos e perturbações naturais que alteram irremediavelmente a cobertura vegetal.

É necessário que os professores aproximam o conteúdo com a realidade dos alunos, desenvolvendo atividades que os incentivem, tendo em vista a aprendizagem em sala de aula, como algo que vai requerer atividades práticas bem elaboradas e que desafiarão as concepções prévias do aluno, incentivando-os, a elaborar suas teorias pessoais (DRIVER *et al.*, 1999). Tais atividades podem ser desenvolvidas nos herbários, que são espaços não formais poucos utilizados pelos professores. Esse pouco uso possivelmente se deve ao fato de os professores não saberem da existência de um herbário na sua região, ou até mesmo pela falta de habilidade na elaboração de atividades que poderão ser trabalhadas nesses espaços. Além disso, a maioria das escolas não dão suporte para o desenvolvimento desse tipo de atividade fora do ambiente escolar. De acordo com Menezes *et al.*, (2017 p.161):

A presença de um herbário em um campus da UFES no interior do Espírito Santo, tem possibilitado, não só o conhecimento da flora de áreas pouco coletadas e com poucos registros em grandes coleções, mas contribuído na formação de estudantes de graduação e de Pós-Graduação em Ciências Biológicas e Agronomia e na formação de cidadãos mais comprometidos com as responsabilidades ambientais.

Diante disso, desenvolvemos o presente trabalho, com o objetivo de aproximar o Herbário SAMES ao Ensino Básico como recurso didático, visando identificar as percepções dos professores a respeito das potencialidades e utilidades de um Herbário como espaço não formal de ensino, proporcionando aos professores e alunos um recurso de ensino-aprendizagem dinâmico, mesclando teoria e prática, onde o aluno é capaz de relacionar os conhecimentos científicos com fatos do seu cotidiano.

O presente trabalho teve como objetivo analisar as potencialidades do Herbário SAMES como recurso didático para o Ensino Básico, a partir das percepções de docentes e de informações dos herbários brasileiros ligados à Rede Brasileira de Herbários.

METODOLOGIA

Para a execução deste trabalho foi elaborado dois questionários. No primeiro momento, aplicou-se um questionário semiestruturado para 22 professores do Ensino Básico público, os quais participaram de um curso de Educação Ambiental realizado no Herbário SAMES. Desses professores, 12 eram mestrandos do Programa de Mestrado Profissional em Ensino de Biologia (PROFBIO), da Universidade Federal do Espírito Santo CEUNES/UFES, enquanto os dez restantes eram professores do Ensino Básico do município de Conceição da Barra, no Espírito Santo.

O intuito do questionário foi analisar as percepções dos professores do Ensino Básico diante do potencial do Herbário SAMES, como espaço não formal de Educação.

O questionário continha 15 questões, sendo que quatro destas questões eram acerca da caracterização profissional dos professores, e quatro sobre os espaços não formais de ensino e sete sobre o SAMES.

No segundo momento foi enviado um questionário fechado, via correio eletrônico, para 222 curadores de Herbários, vinculados à Rede Brasileira de Herbários (RBH), da Sociedade Botânica do Brasil, com as seguintes perguntas: 1- O herbário sob sua curadoria possui Projeto Político Pedagógico? 2- Se sim, o Projeto Político Pedagógico é um documento que consta no regime interno do Herbário ou é um documento a parte? 3- O herbário sob sua curadoria executa ações para o Ensino Básico (Ensino fundamental e Médio)? 4- Após a coleta de dados foi realizada uma análise qualitativa, segundo o método de categorização de BARDIN (2010), sendo a pesquisa configurada como mista (qualitativa e quantitativa).

RESULTADOS

Caracterização dos professores participantes

A priori foram analisadas as quatro questões acerca da caracterização dos professores participantes. Para a análise da pergunta sobre a área de formação dos mesmos, observamos que 50% dos professores eram formados em Ciências Biológicas; 20% eram formados em outras áreas, 18% não especificaram a sua área de formação e 12% não responderam essa questão (tabela 1).

1. Professores formados em Ciências/Biologia (50%) "Ciências" "Ciências/biologia" "Biologia"	2. Professores formados em outra área (20%) "Pedagogia" "História" "Geografia"	3. Não especificaram sua área de formação (18%) "Professora" "Pós-graduação" "Especialista"	4. Resposta em branco (12%)
---	---	--	-----------------------------

Tabela 1: Caracterização do participante: Área de formação

No que diz respeito às disciplinas ministradas pelos professores, percebemos que 50% dos professores ministravam as disciplinas de Ciências ou Biologia; 32% ministravam de três ou mais disciplinas do Ensino Básico; 4% ministram de uma a duas disciplinas; 5% não especificaram a disciplina ministrada e 9% correspondente a um professor que não respondeu à questão (tabela 2).

1. Ministraram Ciências e/ou Biologia (50 %) "Biologia" "Ciências" "Ciências/Biologia"	2. Ministraram três ou mais disciplinas do Ensino Básico (32 %) "Biologia, Ciências, Química" "Português, Matemática, Ciências, História e Geografia" "Ciências, Biologia, Artes, Química e Física."	3. Ministraram de uma a duas disciplinas do Ensino Básico (4 %) "História/Geografia" "Geografia"	4. Não especificaram (5 %) "Ensino Fundamental" 5. Respostas em branco (9%) "1 Professor"
---	---	--	--

Tabela 2: Caracterização do participante: Disciplinas ministradas

A quantidade de tempo como docente, variou entre 2 a 30 anos de trabalho. Um total de 59% dos professores atuava entre 2 a 11 anos como docente; 36% atuava de 12 a 25 anos e 5% de 30 anos ou mais (tabela 3).

1. De 2 a 11 anos de profissão (52%) "2 anos" "9 anos" "11 anos"	2. De 12 a 25 anos de profissão (36%) "12 anos" "19 anos" "25 anos"	3. Mais de 30 anos de profissão (5%) "30 anos"
---	--	---

Tabelas 3: Caracterização do participante: Tempo de docência

A última questão da caracterização do participante foi sobre a zona onde os mesmos trabalham (Urbana ou Rural/campo). Desses professores, um total de 23% trabalham na região rural/campo; 68% na zona urbana, 4% nas duas zonas (rural e urbana) e 1 participante (5%) não estava atuando como professor no momento da aplicação do questionário (tabela 4).

1. Escolas zona Rural/Campo (23%) "Campo" "Zona Rural"	2. Escolas Zona Urbana (68%) "Zona urbana" "Urbana"	3. Escolas Zona Urbana e Campo (4%) "Urbana e semi campo"	4. No momento não está atuando (5%) Sem atuação no momento
---	--	--	---

Tabela 4: Caracterização do participante: Zona de trabalho dos participantes

Espaços Não Formal de Ensino

A segunda sequência de perguntas foi a respeito dos espaços não formais de ensino, onde os professores puderam opinar sobre a definição e a importância dos espaços não formais de educação presentes em sua região e se utilizam esses espaços para práticas com seus alunos. Sobre as definições de espaços não formais de Ensino, um total de 45% dos professores responderam que são espaços localizados fora da sala de aula/escola; 18% definiram como espaços para aquisição de conhecimento e aprendizagem; 9%

como espaços que podem ser institucionalizados ou não. Outra definição relatada pelos professores 9% é que esses espaços não formais são importantes para práticas e atividades pedagógicas com os alunos; sendo que 14% dos professores disseram que esses espaços não são usados com os alunos, e 5% informaram que são espaços localizados na região/comunidade (tabela 5).

1. Espaços fora da sala de aula (45%) "Todo ambiente fora da sala de aula na qual possa ser desenvolvida uma atividade de ensino aprendizagem" "Qualquer local que não seja a sala de aula tradicional" "Espaços não formais são aqueles fora do ambiente da sala de aula"	2. Espaços para aquisição de conhecimento (9%) "Muito importante para agregação de conhecimento e aprender de forma prática e dinâmica e diferenciada" "Define como um espaço de conhecimento, porque acredito que nos espaços não formais de ensino também podemos ter conhecimento"	3. Espaços que podem ser institucionalizados ou não (9%) "São espaços institucionalizados ou não, onde ocorre a prática educativa" "Espaços não institucionalizados"	4. Excelentes meios para aprendizagem (9%) "Como excelentes meios para aprendizagem" "Que é um lugar de muito aprendizado a cada momento"
5. Importantes para práticas/atividades pedagógicas (9%) "Muito importante para práticas pedagógicas diferenciadas" "As atividades pedagógicas realizadas de acordo com os saberes da comunidade tradicional"	6. Espaços não usado com alunos, mais que pode ser utilizado para aulas (9%) "Um local onde podemos utilizar para aula" "E o local onde não é trabalhado com o aluno"	7. Espaços para complementação da sala de aula (5%) "Locais em que o ensino é repassado de forma alternativa e complementar à sala de aula"	8. Espaços na região /comunidade (5%) "Região, comunidade".

Tabela 5. Definição de espaços não formais de ensino

Sobre os espaços não formais de ensino na região, considerados importantes de acordo com cada professor, observamos que 32% consideram em suas respostas Unidades de Conservação e locais públicos; 9% deram exemplos apenas de Unidades de Conservação como espaço não formal importante na sua região.

Dos 27% dos professores responderam que Biomas, Ecossistemas, Unidades de Conservação e locais públicos são os espaços não formais existentes na sua região; 4% citaram apenas locais públicos como espaço não formal; 9% explanaram o pátio e entorno da escola como exemplos de espaço não formal de ensino; 14% acham a própria comunidade/região importante como espaço não formal e 5% não especificou o espaço não formal que consideram importante na região (tabela 6).

1. Unidades de conservação e espaços públicos/privados em geral (32%) "Parque municipal, Reserva Biológicas Duas Bocas". "Reserva Biológica Córrego grande, Praça matriz (Pedro Canário), e Reserva Vale". "Museu de Biologia Melo Leitão, Reservas Ecológicas, Fábricas de alimentos e Horto Municipal".	2. Unidade de conservação (9 %) " Reserva Biológica Córrego do Veado" "Reserva da Vale e Projeto Tamar"	3. Biomas/Ecossistemas, Unidades de conservação e locais público (27%) "Rios, Lagoas, Matas, Jardins, Indústrias e Sítios agrícolas" "Praça, Lagoa, Praia, Unidade de Conservação, Museu, Quadra da escola e Pátio". "Litoral com faixa de restinga, Manguezais, Foz do Rio Cricaré".
4. Locais públicos (4 %) "Ginásio de esportes, Biblioteca municipal, Casa de cultural e CRAS"	5. Pátio e entorno da escola (9%) "O pátio da escola é um deles, pois ali os alunos tem um espaço maior e um contato com a natureza" "O entorno da escola, a lagoa em frente à escola, a estação Veracel, as praias de porto seguro, e a reserva".	6. Comunidade/Região (14%) "Região e comunidades" "Nas comunidades" "Minha comunidade"

Tabela 6. Espaços não formais considerados importantes

De acordo com as opiniões dos 22 professores a respeito da importância que os espaços não formais de educação têm para o processo de aprendizagem, 27% dos professores frisaram que esses espaços são importantes pelo fato de complementar a educação formal (teoria com a prática). De acordo com 46% dos professores, os espaços não formais são importantes pois neles há aquisição de conhecimento/aprendizagem; 9% explicaram que esses espaços contribuem para o ensino e ajudam os professores a melhorar a forma de lecionar; 18% abordaram que nestes ambientes os alunos aprendem com a vivência de forma lúdica e com a prática (tabela 7).

1. Complementar a educação formal (teoria e prática) (27%) "Os espaços não formais permitem complementar, na prática, os aspectos teóricos visto em sala de aula" "Locais que o ensino é repassado de forma alternativa e complementa a sala de aula" "Eles permitem uma vivência do aluno com aquilo que é teorizado em sala de aula"	2. Espaços para aquisição de conhecimento/Aprendizagem (46%) "Amplifica e facilita a aprendizagem e promove interação entre os estudantes e entre os estudantes e professores" "O contato com os espaços não formais proporciona ao aluno uma visão mais coerente com a realidade e estabelece um conhecimento mais extenso" "Atua de maneira integradora ao processo de ensino e aprendizagem, viabilizando maiores oportunidades"	3. Contribui para o processo de ensino melhorando a forma de lecionar (9%) "Contribui para o processo de ensino, diante da pluralidade cultural" "São muito importantes para melhorar a forma de ensino, ajudando compreender melhor o conteúdo trabalhado"	4. Aprendizagem de forma prática/lúdica e com vivência (18%) "Na minha opinião acredito que existe espaços que não institucional que grande importância que nós educadores podemos aprender muito e ensinar bastante através da vivência" "De valor imensurável, inclusive devem fazer parte do calendário escolar. Forma de aprender com a prática é super importante e atrativa" "Faz com que o aluno vivencie os conteúdos ministrados na sala de aula"
---	--	---	---

Tabela 7. Importância dos espaços não formais de ensino para o processo de

Dos professores que levam seus alunos para práticas educativas fora do ambiente escolar. Dos 22 professores; 77% disseram levar seus alunos para práticas fora do ambiente escolar; 18% não costumam fazer esse tipo de aula e 5% não responderam essa questão. Dos 17 professores que levam seus alunos para práticas fora da sala de aula, 14% utilizam Unidades de Conservação e locais públicos como espaços não formais; 18% além das Unidades de Conservação, usam biomas/ecossistemas; 9% levam seus alunos apenas a locais públicos; 13% responderam que trabalha na própria comunidade/região; 9% trabalham somente em Unidades de Conservação; 14% trabalham dentro da própria escola ou no entorno da mesma e em locais públicos. Já os professores que não têm o costume de levar seus alunos para práticas educativas em ambientes fora da sala de aula correspondem a 18% e apenas 5% não respondeu essa questão.

Os conteúdos mais trabalhados pelos professores em ambientes fora da sala de aula foram: Educação Ambiental 9%; apenas com conteúdo de Ciências e Biologia 4%; Ecologia e Educação Ambiental 18%; Botânica, Zoologia e Ecologia 9%; Biodiversidade 5%; História e Geografia 5%; apenas com Ecologia 5% e 45% dos participantes não responderam essa questão.

Sobre o Herbário SAMES/Ceunes/UFES

A pergunta inicial feita para os participantes sobre o Herbário SAMES foi: “Você já conhecia o Herbário SAMES, localizado no CEUNES/UFES? A maioria dos professores

86% responderam que já conheciam o Herbário SAMES; 9% não conheciam e 5% marcaram as duas opções (outro). Dos 86% dos professores que responderam que já conheciam o Herbário SAMES, 9% destes, conheceram devido ao contato prévio que já mantinha com a UFES, pois eram estudantes desta universidade; 32% conheceram através do cursos de curta duração oferecido pela UFES; 36% conheceram porque participaram de aulas que foram ministradas no herbário; 4% porque visitaram essa universidade; 5% não especificaram; 14% não responderam essa questão. Com relação a pergunta “Você já havia visitado um herbário antes”? 27% dos professores responderam que já havia visitado um herbário antes. Metade desses professores responderam que nunca tinham visitado um herbário e 23% não responderam essa questão.

De acordo com os aspectos positivos, negativos e as sugestões dos professores para a melhoria do atendimento no Herbário SAMES, a respeito dos aspectos positivos verificamos que 14% dos professores disseram que o Herbário SAMES possibilita a execução de aula/atividade prática; 9% responderam que pode ser utilizado como espaço de aprendizagem; 32% avaliaram como ponto positivo a estruturação e organização da coleção, além da boa recepção e fácil localização; 27% disseram que pela coleção ter muitos exemplares de plantas isso se torna um ponto positivo para o herbário; 4% responderam que o aspecto positivo a respeito do Herbário SAMES foi a aquisição de experiência; 14% não responderam a questão.

Os aspectos negativos mais levantados pelos professores foram: 23% disseram que o espaço físico do herbário é muito pequeno; 4% disseram que o herbário não é atrativo visualmente; 14% frisaram que o Herbário SAMES é pouco divulgado; 5% alegaram que o acesso ao herbário é inadequado; 9% citaram como aspecto negativo do herbário a pouca visitação; 5% horário inadequado; 36% não responderam essa questão e 4% disseram que o herbário não possui aspectos negativos. As sugestões dos professores a respeito do atendimento do Herbário SAMES foram variadas: 27% dos professores sugeriram que o Herbário SAMES fosse mais divulgado, principalmente para visitação da comunidade e escolas; 9% sugeriram que o herbário ampliasse as atividades na Educação Básica; 5% sugeriram melhorar o atendimento e o aspecto visual do herbário e 59% não responderam essa questão. A respeito do interesse dos professores em utilizar o Herbário SAMES no processo de ensino-aprendizagem de seus alunos, observamos que mais da metade dos professores (91%) mostraram interesse em usar o espaço para práticas educativas com seus alunos e 9% não demonstraram interesse.

Acerca da contribuição do Herbário SAMES para formação e prática docente 27% dos professores responderam que o herbário pode contribuir para o conhecimento e aprendizagem sobre flora regional; 4% disseram que o mesmo contribui para a interação dos alunos no processo de aprendizagem; 14% para complementar a prática com a teoria na área da botânica; (4%) o herbário poderá contribuir como um espaço não formal de ensino; 14% relataram que o herbário contribuirá no desenvolvimento de atividade relacionadas

a Educação Ambiental (meio ambiente, diversidade e identificação de plantas); 27% mencionaram que o herbário contribui para práticas de ensino e aulas de Ciências/Biologia; 5% não especificaram a contribuição e 5% não responderam essa questão (tabela 8).

1. Conhecimento/Aprendizagem da flora regional (27%) "Conhecimento das plantas, preservação, cuidados, manejo de como deve ser utilizada" "Permite conservação para melhor entendimento da diversidade vegetal" "O ensino de Botânica é desafiado. Um ambiente como este proporciona um aprendizado por meio de pesquisas e observações acerca do assunto"	2. Interação dos alunos (4%) "Despertar o interesse investigativo dos alunos"	3. Complementação da prática com teoria na área da Botânica (14%) "Contribui aliando a teoria com a prática melhorando assim a aprendizagem" "Através dele podemos apresentar na prática o que ensinamos em sala" "Oferecendo a interação do teórico com a prática escolar em Botânica"	4. Utilização de espaços não formais de Ensino (4%) "Utilizando como espaço não formal"
5. Desenvolvimento de atividades na Educação ambiental (meio ambiente/diversidade e identificação de plantas) (14%) "Desenvolvendo atividades sobre o meio ambiente" "Contato com a diversidade de plantas da nossa região" "Na identificação de plantas recolhidas pelos alunos"	6. Contribuição para aulas de Ciências/Biologia e para prática de ensino (27%) "Melhorar mais minha prática de Ensino" "Atualização e desenvolvimento de práticas de Ensino" "Nas aulas de Ciências em um contexto geral"	7. Não responderam as questões (5%) 1 Professor.	8. Outros (5%) "Moro longe do CEUNES, em outro estado".

Tabela 8. Contribuição do Herbário SAMES para formação e prática docente

As opiniões dos 22 professores, a respeito dos fatores que facilitam ou dificultam a utilização do Herbário SAMES como espaço não formal, um total de 23% citaram o fácil agendamento de visita, disponibilidade de comunicação e de horários; 18% disseram que os materiais são de fácil entendimento para os alunos visualizarem, ajuda no conhecimento da ampla diversidade vegetal da região; 9% responderam que a abertura do herbário para o uso da comunidade é suma importância; 4% abordou que a fácil localização do herbário facilita seu uso; 14% dos professores frisaram que as parcerias com os órgãos públicos como secretaria de Meio Ambiente e de Educação nas datas comemorativas realizando atividades sobre meio ambiente e oferecendo cursos facilitaria bastante o uso do herbário e 32% não responderam essa questão.

As dificuldades encontradas pelos professores para utilização do Herbário SAMES foram: (i) 23% a locomoção, dificuldade em conseguir transporte para trazer os alunos; (ii) 41% a distância/localização do herbário até a cidade ou da escola; (iii) 4% a burocracia existente para autorização para saída dos alunos da escola; (iv) 9% a questão do espaço físico do herbário (muito pequeno), dificultaria a visita de grupos maiores; (v) 4% trabalhar com turmas de alunos de 1º ano pois isso dificultaria a ida ao herbário pelo fato dos mesmos serem pequenos demais; (vi) 5% não especificaram; (vii) 14% não responderam essa questão.

Levantamento da Rede Brasileira de Herbários

A análise do questionário enviado aos 222 curadores de herbários, de acordo com a primeira questão apresentada, obtivemos quatro respostas indicando que possuíam um Projeto Político Pedagógico (PPP) e 41 curadores responderam que não possuíam o PPP. Quanto à nossa indagação se o PPP será um documento que constava no regime interno do herbário ou era um documento a parte, ou seja, um documento separado do regime interno, obtivemos três respostas (7%), indicando que o documento constava no regime interno do herbário sobre a sua curadoria. Dois curadores relataram que era um documento à parte (4%), separado do regime interno do herbário e 40 não responderam essa questão (89%) (figura 1).

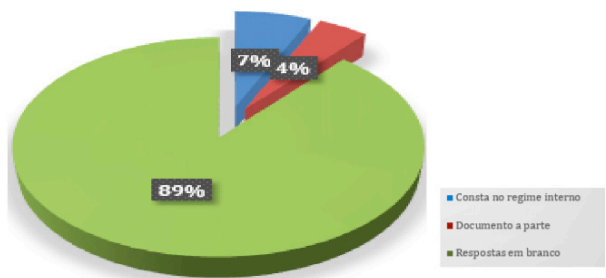


Figura 1: O PPP é um documento a parte ou consta no regime interno dos herbários

A última questão destacava os herbários que realizam ações educativas voltada para o Ensino Básico. Dos 45 herbários, 36 realizam atividades voltadas para a Educação Básica e nove não realizam atividades desse tipo. Dos herbários que executam essas atividades, quatro deles realizam somente quando solicitada pelas instituições de ensino (escolas); cinco possuem projetos de extensão em seus herbários, e realizam essas ações através desses projetos; um em mostra de profissões e um quando há datas comemorativas na cidade; 25 responderam que realizam essas atividades, porém não especificaram o momento (tabela 9).

1. Sim (82%) Não (18%) "Apenas quando solicitado visitas técnicas das escolas ao acervo" "Quando solicitado visita das escolas, exposições"	2. Através de projetos de extensão (11%) "Através de projeto de extensão que tem como título: Programa de visitas monitoradas as coleções biológicas" "Projeto de extensão "Coleção didática do canto das flores" "Tenho um programa de extensão chamado "A Botânica valorização"	3. Em mostra de profissões (2%) "Anualmente a UFMG realiza a mostra de profissões e o herbário BHCB Geralmente participa permitindo a visitação do seu acervo pelos alunos do ensino médio"	4. Somente em datas comemorativas (2%) "Recebemos alunos da rede estadual e municipal em datas especiais das cidades de Corumbá e Ladário"	5. Responderam sim, porém não especificaram em qual momento (67%) "30 curadores"
--	--	--	---	---

Tabela 9: Herbários que executam ações para o Ensino Básico (Fundamental e Médio)

DISCUSSÃO

O espaço formal está relacionado a um modelo de Educação tradicional, na qual o professor é visto como dono do saber e responsável pelo Ensino (KRASILCHIK 2004). Para Gohn (2006) e Jacobucci (2008) o espaço formal é o espaço escolar, que está relacionado às Instituições Escolares da Educação Básica e do Ensino Superior, definidas na Lei 9394/96 de Diretrizes e Bases da Educação Nacional. Sabemos que o espaço formal não é um único ambiente para auxílio no processo educacional, e sim um dos diversos lugares. Atualmente no cenário de Educação no Brasil são encontrados professores que ministram disciplinas que não são da sua área de formação, devido a carência de profissionais para atuarem em determinadas disciplinas (MELLO, 2000), além das políticas públicas, onde a falta de concurso impossibilita o ingresso de novos profissionais capacitados para atuação nessas vagas.

Pelo fato da maior parte dos professores participantes da pesquisa estarem inseridos no Programa de Pós-graduação Profissional em Biologia (PROFBIO), justifica-se o resultado que aponta esse grande índice de professores atuantes na área de Ciências Biológicas. Os espaços não formais de ensino vem ocupando grandes espaços na educação, porém sua definição varia entre autores. Os professores conceituam espaço não formal como um ambiente fora da sala de aula. Jacobucci (2008, p. 55) sustenta essa afirmativa dos professores, definindo espaço não formal como:

O termo “espaço não-formal” tem sido utilizado atualmente por pesquisadores em Educação, professores de diversas áreas do conhecimento e profissionais que trabalham com divulgação científica para descrever lugares, diferentes da escola, onde é possível desenvolver atividades educativas.

Os professores utilizam como espaço não formal as Unidades de Conservação e os espaços públicos. No caso da pesquisa, acredita-se que o fato de os professores terem citado as Unidades de Conservação, foi devido aos 10 dos participantes morarem na cidade de Conceição da Barra, mesma cidade de localização do Parque Estadual de Itaúnas, e o mesmo é aberto para visitação e foi muito citado. Queiroz (2011) exemplifica outros locais que podem ser utilizados com espaço não formal de ensino, tais como praças públicas, área no entorno da escola e na comunidade em geral. Ainda, os professores relataram que esses espaços auxiliam os alunos na aquisição de conhecimento e aprendizagem. Simson (2001) relata que os espaços não formais possibilitam aos alunos um melhor aprendizado com a prática.

Nesses espaços não formais de educação, os professores costumam trabalhar conteúdos voltados à ecologia e educação Ambiental, pois desperta interesse por parte do educando. A temática educação ambiental, por ser um tema transversal, pode ser abordada por várias disciplinas em diferentes espaços.

O herbário SAMES é bem conhecido pelos professores participantes, pois o mesmo

é utilizado para aulas de graduação, pós-graduação e cursos de aperfeiçoamento, e muitos desses participantes já fizeram aulas nesse ambiente. A abertura do Herbário SAMES para comunidade externa, possibilita que aulas e cursos sejam ministrados dentro desse espaço, tornando-o um local alternativo para auxiliar no processo educacional.

A utilização do herbário SAMES é visto pelos professores e pela sociedade acadêmica do Ceunes como espaço não formal para educação. De acordo com a opinião dos professores participantes, um fator que dificultaria uma visita ao Herbário SAMES seria visita de grupos maiores devido a sua estrutura (pequeno), apesar de possuir uma coleção botânica bem estruturada. Foi elaborada uma dinâmica de visita para suporte de grupos maiores, onde as atividades são divididas por etapas para que todos possam ter o acesso às informações de uma maneira compreensível e dinâmica.

Recomenda-se a divulgação do SAMES para as comunidades e escolas da região, pois muitas pessoas ainda não sabem da existência de um herbário na região. O herbário possui divulgação em rede sociais, porém é necessário a implantação de um projeto que envolva o herbário com as escolas e a comunidade.

É importante facilitar a visita ao Herbário SAMES, e um dos meios que podem ser utilizados, é a disponibilidade de horários, devido a flexibilidade para agendamento, porém a distância até o herbário pode dificultar bastante as visitas, pois sua localização fica um pouco distante do centro urbano. O Herbário SAMES é de grande utilidade para conhecimento e aprendizado a respeito da flora regional, contribuindo para formação e prática docente. Existem professores que não possuem afinidade com conteúdo relacionado com a botânica ou não veem tal conteúdo como importante, fazendo com que esses conteúdos não sejam repassados de maneira completa para seus alunos.

Segundo Silva *et al.*, (2006), essa problemática relacionada a afinidade do professor com o conteúdo de botânica é decorrente da sua formação inicial de muitos desses professores, pois, os mesmos não a receberam de forma crítica e contextualizada, dificultando assim, o ensino de seus alunos. Visitas a espaços não formais de educação, faz com que essa problemática ligada ao ensino da botânica minimize. Nesses espaços não formais, inclusive os herbários, professores podem elaborar suas atividades com mais didática, contribuindo para que seus alunos tenham uma aprendizagem mais dinâmica. Menezes *et al.*, (2017) salientaram a importância de um herbário no interior do Espírito Santo, pois possibilitaria o conhecimento da flora e de lugares poucos estudados, além de auxiliar na formação cidadã.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos voltados com plantas que fazem parte do cotidiano dos alunos, faz com que os mesmos aprendam na prática o processo de ensino aprendizagem já iniciado em sala de aula. Mesmo com todo potencial educativo existente para utilização do Herbário SAMES,

algumas impossibilidades foram relatadas pelos professores

(Logística e o espaço físico pequeno), que inviabilizaria no deslocamento dos alunos e na visita de grupos maiores ao herbário. Por fim, é sabido as dificuldades que os professores têm em deslocar os alunos da escola, não somente por conta das normas da mesma, mas devido os responsáveis pelos alunos que pensam que somente a escola (espaço formal) é o único lugar propício para o ensino de seus filhos.

Neste contexto, percebe-se que existe uma grande necessidade para divulgação do Herbário SAMES, tanto para comunidade quanto para as escolas da região, pois muitos desconhecem a existência do Herbário no município. Os dados dessa pesquisa sustentam a ideia de que o Herbário SAMES, mesmo sendo um espaço não formal, poderia atuar nos eixos de pesquisa, ensino e extensão, aproximando assim a comunidade não acadêmica (rede de ensino público) da universidade.

REFERÊNCIAS

AMADEU, S. O.; MACIEL, M. L. **A dificuldade dos professores de educação básica em implantar o ensino prático de botânica.** Revista de Produção Discente em Educação Matemática, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 225-235, 2014.

BARDIN, L. **Análise de conteúdo.** 4. ed. Lisboa: Edições 70, 2010.

BRASIL. Comitê Nacional de Educação em Direitos Humanos. **Plano Nacional de Educação em Direitos Humanos.** Brasília: Secretaria Especial dos Direitos Humanos, Ministério da Educação, 2003.

DRIVER, R. et al. **Construindo conhecimento científico na sala de aula.** Química Nova na Escola, São Paulo, v. 9, n.4, p. 31-40, maio, 1999.

FAGUNDES, J.A; GONZALEZ, C.E.F. **Herbário escolar: suas contribuições ao estudo da Botânica no Ensino Médio.** 2009. Dissertação de Mestrado em Tecnologia - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2006.

FONSECA, R.S.; VIEIRA, M.F. **Coleções botânicas com enfoque em Herbário.** Viçosa: Ed. UFV; p 33-34. 2015.

GOHN, M.G. **Educação não-formal, participação da sociedade civil e estruturas colegiadas nas escolas.** Ensaio: aval. pol. públ. Educ., Rio de Janeiro, v.14, n.50, p. 27-38, jan./mar. 2006.

GRUZMAN, C.; SIQUEIRA, V. H. F. **O papel educacional do Museu de Ciências: desafios e transformações conceituais.** Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias, Rio de Janeiro, v. 6, n. 2, p. 402-423. 2007.

JACOBUCCI, D.F.C. **Contribuições dos espaços não formais de educação para a formação da cultura científica.** Em extensão, Uberlândia, v.7, n. 1, p. 55, 2008.

KRASILCHIK, M.; MARANDINO, M. **Ensino de ciências e cidadania.** São Paulo: 1.ed. Moderna, 2004.

MARANDINO, M. **Interfaces na Contextualização Museu-Escola**. Caderno Brasileiro de Ensino de Física, Santa Catarina, v. 18, n. 1, p 1-16, 2001.

MARANDINO, M. **Museu e escola: parceiros na educação científica do cidadão**. In: *Reinventar a escola*. [S.l.: s.n.], 2005.

MENEZES, L.F.T.; AOYAMA, E.M.; TEIXEIRA, M. C.; DUARTE-SILVA; PEREIRA, O. J. **Herbário SAMES: Conectando pessoas a Biodiversidade**. UNISANTA BIOSCIENCE, v. 6, p. 156-161, 2017.

SILVA, L. M.; CAVALLET, V. J.; ALQUINI, Y. **O professor, o aluno e o conteúdo no ensino de botânica Educação**. Educação Santa Maria, Rio Grande do Sul, v 31, n.1, p 67-79, 2006.

SIMSON, O. R. M. V. et al. **Educação não-formal: cenários da criação**. Campinas, SP: Editora da UNICAMP/Centro de Memória, 2001.

SOUZA, C. L. P.; KINDEL, E. A. I. **Compartilhando ações e práticas significativas para o ensino de Botânica na educação básica**. Experiências em Ensino de Ciências, Rio Grande do Sul, v.9, n. 3, p. 44-58. 2014.

WOLINSKI, A. E.; et al. **Oooô, “psora”! Por que foi mesmo que a gente foi lá: Uma investigação sobre os objetivos dos professores ao visitar o Parque da Ciência Newton Freire Maia**. VII Encontro Nacional de Pesquisa de Pesquisa em Educação em Ciências. Florianópolis, 2009.

QUEIROZ, R. M. et al. **A caracterização dos espaços não formais de educação científica para o ensino de ciências**. Revista Amazônica de Ensino de Ciências, Amazônia, v.4, n.7, p. 12-23. 2011.

MELLO, G. N. **Formação inicial de professores para a educação básica**. Revista São Paulo em Perspectiva, São Paulo, v.14, n.1, p. 1-13. 2000.

CAPÍTULO 10

MAPEAMENTO DOS PONTOS DE DESCARTE INADEQUADO DE RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS NO BAIRRO CENTRO, BRAGANÇA/PA

Data de aceite: 01/12/2020

Izabelle Victória Silva Lopes

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Pará/Campus Bragança
Bragança – Pará
Link para o Lattes

Tiago Cristiano Santos de Oliveira

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Pará/Campus Bragança
Bragança – Pará
Link para o Lattes

Luiz Antonio Soares Cardoso

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Pará/Campus Bragança
Bragança – Pará
<http://lattes.cnpq.br/8241805048570055>

RESUMO: Muitos debates são criados em decorrência da problemática do aumento descontrolado de resíduos sólidos descartados inadequadamente nos centros urbanos. O conhecimento das diversas formas de descartes inadequados de resíduos sólidos em áreas urbanas, é de fundamental importância para qualquer que seja a tomada de decisão, no sentido de atenuar a problemática. Contudo, esse tipo de identificação, mesmo se tratando de um mesmo município, pode apresentar diferenças pontuais de acordo com as peculiaridades inerentes às diversas características de localização e formação dos seus bairros. Partindo desta lógica, o trabalho em questão teve como objetivo realizar

a identificação dos focos de descarte inadequado de resíduos sólidos urbanos no bairro do Centro, localizado na cidade de Bragança, estado do Pará, com auxílio de ferramentas de geotecnologias. A pesquisa foi desenvolvida através das seguintes etapas: revisão bibliográfica, pesquisa de campo, com aplicação de questionário estruturado aos moradores, registros fotográficos, utilização do aplicativo *GPS Status* para coleta das coordenadas UTM, tratamento dos dados em planilha eletrônica no *Microsoft Excel* e confecção dos mapas no *Software QGis*. Ao final das etapas citadas, se tornou possível a apresentação dos resultados em mapas e gráficos e, a partir de então, a realização de proposições de medidas mitigadoras aos impactos identificados. Através da pesquisa em campo, foi possível observar que de fato há coleta de lixo no bairro, porém existem poucos pontos para o despejo adequado do mesmo, o que acaba levando alguns moradores a despejarem seus resíduos sólidos na frente de suas casas ou nas ruas. Outro fator importante identificado, foi a ineficiência da participação do poder público em relação à políticas de sensibilização da população, por meio de atividades de educação ambiental. Em contrapartida, alagamentos e doenças causadas, potencialmente, pela problemática, não são tão comuns no bairro pesquisado.

PALAVRAS - CHAVE: coleta de resíduos sólidos, gestão pública, Sistemas de Informação Geográfica.

MAPPING OF IMPROPER DISPOSAL POINTS OF URBAN SOLID WASTE IN BAIRRO CENTRO, BRAGANÇA/PA

ABSTRACT: Many debates are created due to the problem of the uncontrolled increase in solid waste disposed of inappropriately in urban centers. Knowledge of the various forms of inadequate disposal of solid waste in urban areas is of fundamental importance for any decision-making, in order to mitigate the problem. However, this type of identification, even if it is from the same municipality, may present specific differences according to the peculiarities inherent to the different characteristics of the location and formation of its neighborhoods. Based on this logic, the work in question aimed to identify the sources of inadequate disposal of solid urban waste in the neighborhood of Centro, located in the city of Bragança, state of Pará, with the help of geotechnology tools. The research was developed through the following steps: bibliographic review, field research, with the application of a structured questionnaire to residents, photographic records, use of the GPS Status application to collect UTM coordinates, data processing in an electronic spreadsheet in Microsoft Excel and preparation of the data. maps in the QGis Software. At the end of the aforementioned steps, it became possible to present the results on maps and graphs and, from then on, to make proposals for mitigating measures to the identified impacts. Through field research, it was possible to observe that there is in fact garbage collection in the neighborhood, but there are few points for proper disposal, which ends up leading some residents to dump their solid waste in front of their houses or on the streets. Another important factor identified was the inefficiency of the participation of the government in relation to policies to raise public awareness, through environmental education activities. On the other hand, floods and diseases caused, potentially, by the problem, are not so common in the studied neighborhood.

KEYWORDS: solid waste collection, public management, Geographic Information Systems.

1 | INTRODUÇÃO

Muitos debates são criados em decorrência da problemática do aumento desc (ontrolado de resíduos sólidos descartados inadequadamente nos centros urbanos, o excesso de lixo gerado nas cidades é a principal causa desses debates. A população muitas das vezes não tem a dimensão dos impactos gerados pela má destinação de resíduos ao meio ambiente, que ao longo do tempo está sendo cada vez mais impactado com a contaminação de rios e lagos e com o assoreamento e alagamentos.

A população mundial está estimada em cerca de 7 bilhões de habitantes estando concentrado em sua maior parte nas áreas das grandes cidades. Esse contingente populacional resulta em uma ampliação da utilização dos serviços públicos, comerciais e ecossistêmicos, fazendo com que haja um maior consumo, acarretando, consequentemente, no aumento da produção de resíduos sólidos, que em sua maioria, são descartados na natureza de forma inapropriada (GODECKE *et. al.*, 2012).

Segundo Costa (2014), o ser humano é o principal administrador do meio ambiente, devendo ser o ponto que deve ligar os pilares dentro da sustentabilidade. Esse assunto tem gerado muitas discussões na atualidade, todo esse debate engloba possíveis formas de

tentar encontrar ou minimizar os problemas socioambientais no mundo. Dentre as temáticas discutidas estão os resíduos sólidos urbanos, que se destaca por estar diretamente ligado as ações antrópicas e serem prejudiciais a todos.

Em busca de encontrar medidas mais eficazes acerca dos resíduos sólidos no Brasil, foi criada em 2010 a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), criada com o objetivo de organizar a forma como os resíduos sólidos são tratados, com a finalidade de incentivar na criação de planos voltados para o gerenciamento e ação na geração desses resíduos. Além disso a PNRS auxilia na criação de associação de catadores de material reciclável, cooperativas e ajuda grupos que muitas vezes são marginalizados a conseguirem emprego e renda para suas famílias (CEZAR *et. al.*, 2015).

Em relação ao contexto da cidade de Bragança-PA, segundo o Plano Ambiental do Município (2013), elaborado pela Secretaria Municipal de Meio Ambiente, são produzidas cerca de 588 toneladas de resíduos por mês, dos quais 266 toneladas ocorrem na área urbana. Esses resíduos são despejados a céu aberto no lixão, pois apesar de existir associações de catadores de resíduos o mesmo não atende a todos os bairros e sem nenhum incentivo da prefeitura.

Diante do exposto, a presente pesquisa se torna de grande relevância para a sociedade como um todo, pois retratará com maior detalhamento as disposições dos resíduos sólidos na área urbana em questão, além de ilustrar os impactos gerados ao meio ambiente.

Desta forma, surge o seguinte questionamento: as ferramentas de geotecnologias podem de fato auxiliar na identificação dos focos de descarte inadequado de resíduos sólidos urbanos no bairro do Centro, na cidade de Bragança-PA?

Para mitigar este problema, o trabalho em questão teve como escopo a realização de diagnóstico dos principais pontos de descarte inadequado de lixo urbano no bairro do Centro, município de Bragança-PA. A pesquisa de campo foi realizada através da coleta de dados, por meio de entrevistas “*in loco*” com os moradores da localidade e representantes do poder público municipal. Posteriormente, as informações coletadas, foram tratadas por meio de *softwares* de geotecnologia que serviram de ferramenta para demonstração dos pontos de maior e menor incidência da problemática.

2 | DESENVOLVIMENTO

2.1 Área de estudo

A pesquisa foi realizada na cidade de Bragança, localizada na região norte do estado do Pará, à margem esquerda do rio Caeté. Bragança possui uma população estimada de 120.124 mil habitantes, segundo o IBGE (2014), ocupando uma área de cerca de 23.337 km², onde apenas 16,1 km² são áreas urbanizadas, fazendo de Bragança uma das maiores

cidades da região (COSTA 2014).

Dentre os bairros da cidade, o escolhido para a pesquisa, foi o bairro do Centro (figura 1).

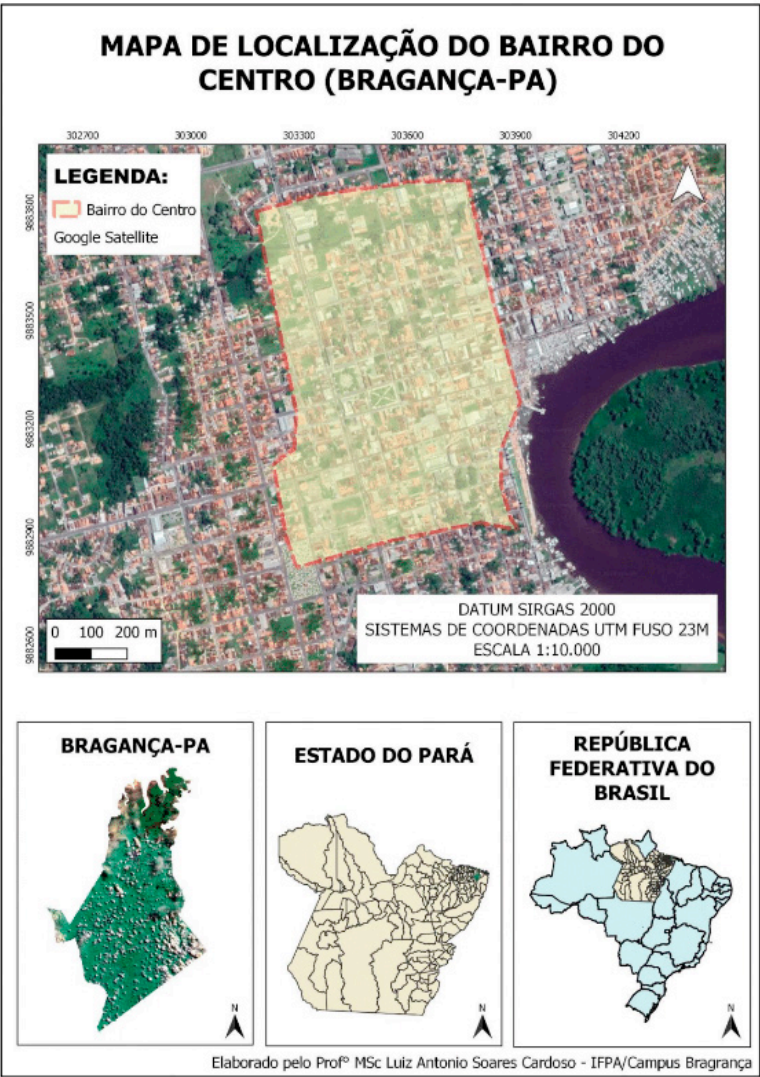


Figura 1 - Mapa de localização do bairro do Centro, cidade de Bragança-PA.

Fonte: Autor.

2.2 Pesquisa de campo

Foram aplicados 50 (cinquenta) questionários estruturados aos moradores do bairro, buscando-se coletar informações básicas quanto a forma de descarte do resíduos sólidos doméstico, sobre a regularidade das coletas realizadas pelo poder público e as suas percepções sobre os problemas socioambientais que os descartes desordenados acarretam.

Como resultado da aplicação do questionário, se teve um melhor entendimento das causas da problemática e a sua contextualização no território em que se localiza o bairro em questão.

Cabe ressaltar ainda, que foi realizada uma breve visita à Secretaria Municipal de Infraestrutura do município de Bragança-PA, com intuito de se obter mais informações sobre a atual política do município em relação ao gerenciamento dos resíduos sólidos produzidos na cidade.

No momento da visita ao bairro, foram feitos registros fotográficos e coletados, por meio do aplicativo *GPS Status*, desenvolvido para aparelhos celulares que dispõem do sistema operacional *Android*, as coordenadas UTM (*Universal Transversa de Mercator*) dos pontos de foco de descarte inadequado de resíduos urbano.

Posteriormente, esses dados foram analisados e contribuíram para a confecção dos mapas temáticos do bairro, com intuito de demonstrar a gravidade ou não da problemática.

2.3 Tratamento dos dados

Nessa fase foi realizado o tratamento de todos os dados coletados em campo. As informações provenientes das repostas dos moradores ao questionário estruturado, foram analisadas estatisticamente no *software* de planilha eletrônica *Microsoft Excel*, possibilitando a visualização dos dados em gráficos circulares ou de setores.

Quanto aos dados oriundos dos receptores GPS, estes foram tratados no *software* QGis, *software* este de GIS (*Geographic Information System*), com auxílio de imagens orbitais do *Google Earth*.

Após análise e tratamento de todos os dados expostos acima, foram apresentadas sugestões de medidas a serem tomadas como forma de mitigar a problemática.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

O bairro do Centro tem como ponto central o par de coordenadas, 303551 Leste e 9883052 Norte, localizado no fuso UTM 23M.

No mapa abaixo é possível identificar a localização do bairro, assim como os locais onde foram realizadas as entrevistas (figura 2).

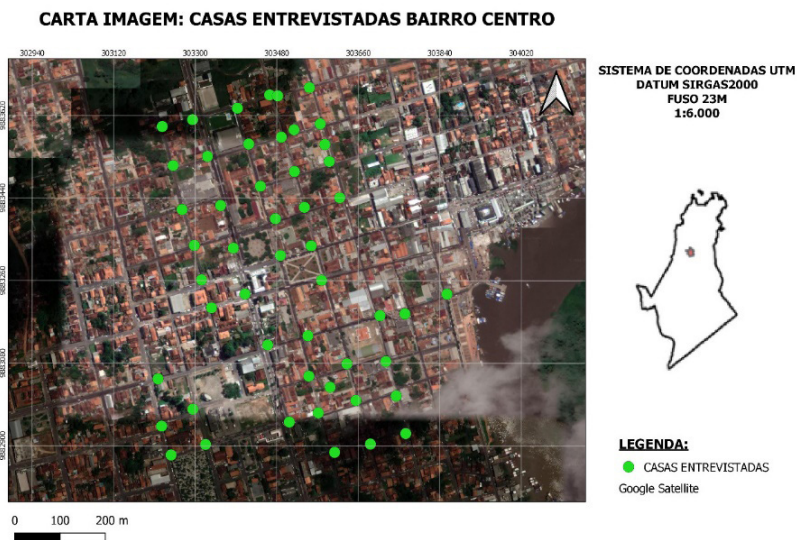


Figura 2 - Mapa de localização do bairro do Centro, cidade de Bragança-PA.

Fonte: Autor.

A partir das respostas dos questionários, foi possível a confecção de gráficos circulares no *software Microsoft Excel*, como resultado do tratamento de todas as informações coletadas.

Na figura 3, relacionada a primeira pergunta do questionário, vemos que 100% dos moradores relataram que é feita a coleta de resíduos sólidos no bairro pelos coletores de lixo da prefeitura. Mostrando que o serviço de coleta de lixo está presente no bairro.

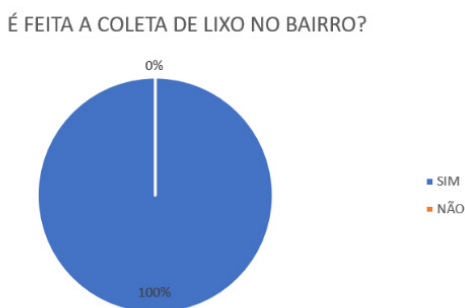


Figura 3 - Gráfico relacionado a questão: É feita a coleta de lixo no bairro?.

Fonte: autor

Na figura 4, correspondente a segunda pergunta do questionário, a pesquisa mostrou que 84% dos moradores disseram que a coleta é feita três vezes por semana, 12% relataram que apenas duas vezes e 4% não souberam ao certo dizer quantos dias da semana são realizadas a coleta.



Figura 4 - Gráfico relacionado a questão: Quantas vezes essa coleta é feita por semana?.

Fonte: autor.

Logo em seguida, na figura 5, foi tratada a questão dos dias da semana nos quais foi feita a coleta do lixo. Os dados demonstraram que 42% dos entrevistados afirmam que o caminhão de lixo passa todos os dias. Nos foi informado ainda, que essas coletas sempre ocorrem no horário da noite, pois, por estar no centro, onde se localizam vários pontos comerciais, os despejos dos rejeitos desses estabelecimentos são sempre feitos no final de expediente entre as 18 horas e 19 horas. O restante dos entrevistados, representando 58%, não evidenciaram uma tendência no dia da coleta.

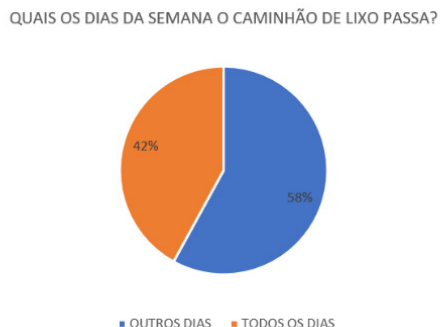


Figura 5 - Gráfico relacionado a questão: Quais os dias da semana o caminhão do lixo passa?.

Fonte: autor.

Na sexta figura, é ilustrado o percentual de pessoas infectadas por doenças provocadas pelo descarte de lixo no bairro. Apenas 2% citaram que já tiveram doenças advindas do lixo descartado no bairro, como a *Giardíase*, causada por um protozoário e que pode ser adquirida através da ingestão de água contaminada. Contudo, 96% dos moradores disseram que não tiveram nenhum tipo de doença advinda do lixo e nem sequer conhecem pessoas que contraíram alguma doença, indicando que a baixa incidência de doenças ocorre porque a coleta dos resíduos sólidos é realizada constantemente. Apenas 2% não souberam responder ou desconheciam tal ocorrido.

PESSOAS JÁ TIVERAM ALGUM TIPO DE DOENÇAS PROVOCADAS PELO LIXO?

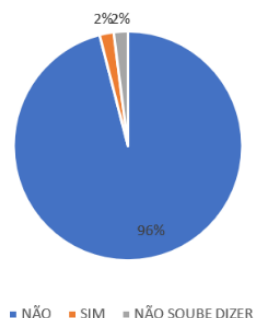


Figura 6 - Gráfico relacionado a questão: Pessoas já tiveram algum tipo de doenças provocadas pelo lixo?.

Fonte: autor.

A figura 7 ilustra os alagamentos em decorrência do lixo. No total, 84% dos entrevistados afirmaram que a ocorrência de alagamentos é frequente, principalmente no período de inverno, pois além do acúmulo de resíduos em áreas inadequadas, as pessoas tem o mau hábito de despejar seu lixo produzido mesmo após a passagem do caminhão de lixo. Outro fator relatado, que contribui para os alagamentos, é a questão da declividade do bairro, pois já que está em área próxima ao rio Caeté, portanto na estação das a drenagem pluvial carrega os resíduos para o corpo hídrico.

HOUVERAM ALAGAMENTOS EM DECORRÊNCIA DO LIXO?

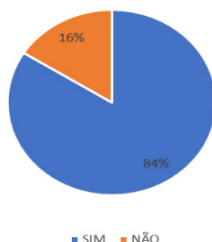


Figura 7 - Gráfico relacionado a questão: Houveram alagamentos em decorrência do lixo?.

Fonte: autor.

A figura número 8 expõe a presença ou não de lixeiras e/ou contêineres públicos no bairro. Dos moradores entrevistados, 74% frisaram que no bairro não há contêineres e/ou lixeiras para descarte dos resíduos gerados, havendo relatos de que a Prefeitura Municipal iniciou a implantação dos mesmos, porém, devido a marginalização e vandalismo presentes no bairro, ocorreram vários furtos e nenhuma medida foi tomada. Já os 26% restantes, relataram que há lixeiras no bairro, no entanto, vale ressaltar, que as lixeiras existentes são instaladas pelos próprios moradores, ou seja, são lixeiras domiciliares, que apesar de privativas, acabam sendo compartilhadas com aqueles moradores que não dispõem do aparato.

EXISTEM LIXEIRAS OU CONTÊINERES NO BAIRRO?

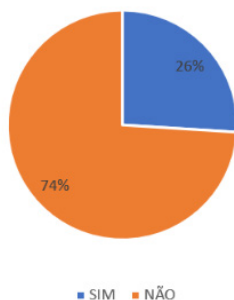


Figura 8 - Gráfico relacionado a questão: Existem lixeiras ou contêineres no bairro?.

Fonte: autor.

A forma como é despejado o lixo das casas é ilustrado na figura 9, mostra que 48% das pessoas despejam o seu lixo doméstico na via pública, geralmente próximo às

calçadas ou pontos feitos pelos próprios moradores e 30% despejam o seu lixo em lixeira domiciliar no momento em que o caminhão de lixo passa no bairro. Já os 22% restantes, informaram que os colocam em outros locais, como pendurados nas grades das janelas ou portas, assim como na frente de suas residências no momento da coleta.

ONDE É DESPEJADO O LIXO DA SUA CASA?

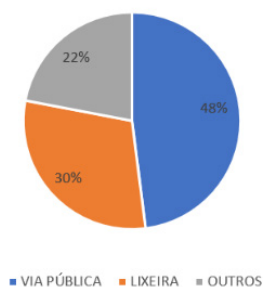


Figura 9 - Gráfico relacionado a questão: Onde é despejado o lixo da sua casa?.

Fonte: autor.

A figura 10 consiste na quantidade de pontos existentes para o descarte dos resíduos no bairro. No total, 70% dos entrevistados disseram que não existe ponto de descarte de lixo no bairro e, por isso, colocavam seu lixo somente na hora que o carro do lixo passava. Contudo, 28% relataram que existia apenas um ponto de descarte de lixo no bairro e, apenas 2%, disseram que havia dois pontos de descarte de lixo na localidade.

QUANTOS PONTOS EXISTEM PARA O DESCARTE DO LIXO?

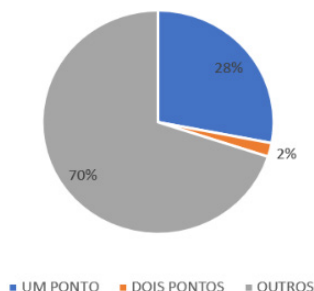


Figura 10 - Gráfico relacionado a questão: Quantos pontos existem para o descarte do lixo?.

Fonte: autor.

No último gráfico (figura 11), verifica-se a presença de práticas de educação ambiental no bairro desenvolvido pelo poder público. A pesquisa nos mostra que 84% da população relata a ausência de práticas de educação ambiental no bairro, sendo que para 10%, nunca houve nenhuma ação com esse enfoque no bairro. Apenas 4% disseram que já houve práticas nesse sentido no bairro e 2% não souberam responder.

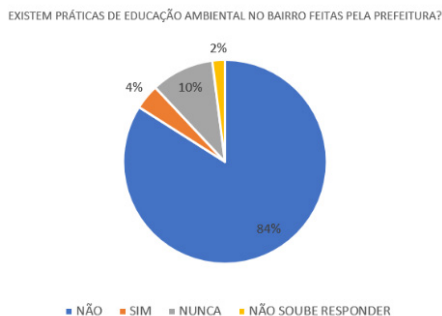


Figura 11 - Gráfico relacionado a questão: Existem práticas de educação ambiental no bairro feitas pela prefeitura?.

Fonte: autor.

Através da visita *in loco*, foram identificados e georreferenciados os pontos de despejo de lixo inadequado no bairro, com o auxílio do aplicativo *GPS Status*. Foram possíveis também registrar, por meio de fotografias, todos os pontos visualizados, associando-os às suas respectivas posições espaciais por meio da coleta das coordenadas UTM. Cabe ressaltar, que em sua maioria, os pontos encontrados são improvisados pelos próprios moradores, como mostra a figura 12.

4 I PROPOSIÇÃO DE MEDIDAS PARA MINIMIZAR A PROBLEMÁTICA

Como forma de minimizar a problemática relacionada aos pontos inadequados de descarte de resíduos sólidos no bairro pesquisado, tem-se como sugestão a disponibilização, por parte do poder público, de um maior número de pontos para o correto descarte destes materiais, como contêineres e lixeiras distribuídos em alguns pontos do bairro, com o intuito de que os moradores tenham opções para o descarte do lixo produzido em locais adequados, melhorando e colaborando com o meio ambiente e mantendo o bairro mais limpo e agradável.

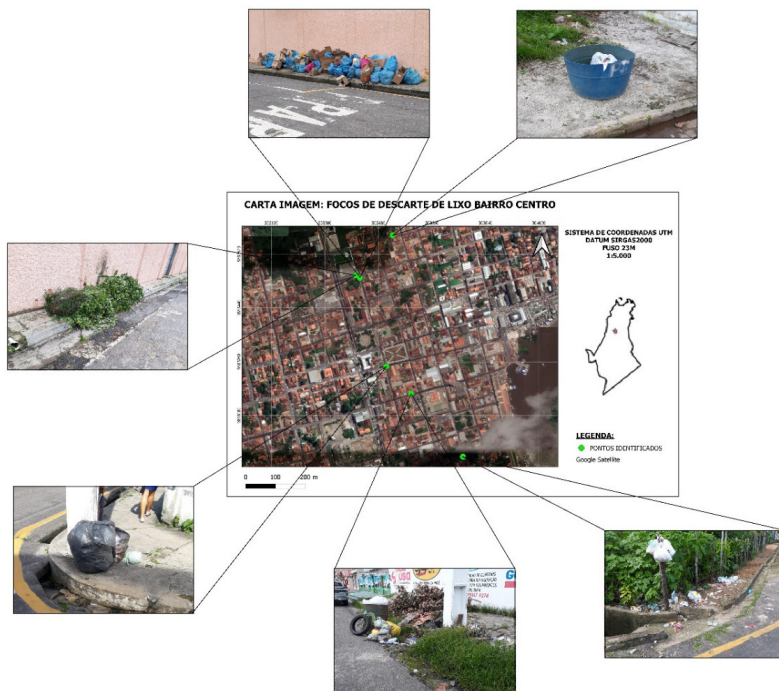


Figura 12 – Pontos de despejo de lixo no bairro do Centro, cidade de Bragança-PA.

Fonte: autor.

Outro ponto que pode ser desenvolvido, são as campanhas de conscientização de educação ambiental que devem ser constantes no bairro, para que os moradores criem o hábito de descartar corretamente os seus resíduos e aprendam a melhorar a coleta seletiva que já é feita porém não atende de forma satisfatória.

Em decorrência dos alagamentos que costumam acontecer no bairro em períodos chuvosos, por conta da aglomeração dos resíduos, o poder público poderia investir mais no saneamento básico, com a criação de mais galerias pluviais e pontos de desaceleração das enxurradas, investir na drenagem urbana para a não obstrução dos bueiros, fazendo com que ocorra um melhor escoamento da água na cidade.

Outro fator a ser somado a essa temática de resíduos sólidos, é a criação de associações de coleta seletiva para a cidade, com iniciativa da própria população, tendo como objetivo a reciclagem dos materiais, o que permitiria uma possível geração de renda para a população em prol da melhoria da qualidade ambiental. Dentre outras alternativas, podemos citar ainda a construção de um aterro sanitário na cidade, pois se terá um melhor controle da quantidade e tipo de resíduo, sistema de proteção ao meio ambiente e monitoramento ambiental.

5 | CONCLUSÕES

Abaixo foram enumeradas as principais conclusões pertinentes ao objetivo do trabalho em questão:

- 1) A coleta de resíduos sólidos ocorre regularmente no bairro pesquisado.
- 2) O quantitativo de pessoas que relataram algum tipo de doença provocada pelo lixo urbano não possui grande representatividade no bairro.
- 3) Foram relatados alguns focos pontuais de alagamentos no bairro em questão.
- 4) Há lixeiras e contêineres no bairro, porém em quantidade insuficiente para suas demandas.
- 5) Não existem pontos suficientes para o adequado descarte dos resíduos produzidos.
- 6) O bairro do Centro granjeia atenção por parte do poder público, devido sua localização privilegiada e aos serviços que oferece à toda população da cidade.
- 7) Foi relatado pouca participação do poder público em relação a sensibilização por meio de atividades de educação ambiental no bairro.

Por fim, diante do exposto, o presente trabalho representa uma pequena contribuição no que tange ao conhecimento das diferentes formas de descarte de resíduos sólidos presentes no município de Bragança-PA, visando acrescentar, no que diz respeito ao estudo da temática em questão.

Entretanto, os estudos estão longe de terem sido esgotados. Como complemento ao trabalho realizado, sugere-se continuidade da pesquisa nos demais bairros da cidade, para que ao final se tenha o real panorama da problemática em todo o município, auxiliando possivelmente nas tomadas de decisões do poder público local.

REFERÊNCIAS

ABRELPE. **Panorama dos Resíduos Sólidos Urbanos no Brasil**. 15 edição, 2017.

BRASIL. **Lei 12.305 de agosto de 2010**. Presidência da República. Casa Civil. Brasília, 2010. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm>. Acesso em: 13/12/2017.

BRASIL. **A Lei N 11.445, De Saneamento Básico**. Presidência da República. Casa Civil. Brasília 2010 Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato20072010/2007/lei/l11445.htm>. Acesso em: 13/12/2017.

CEZAR, L. C.; BARBOSA, T. R. C. G.; REIS, M. C. T.; JÚNIOR, F. F. **Panorama acadêmico sobre resíduos sólidos: Análise da produção científica a partir do marco legal do setor**. Revista Metropolitana de Sustentabilidade, vol. 5, n° 2, p. 14-33, São Paulo-SP, 2015.

COSTA, T. O. **Eventos de precipitação extrema associados às inundações na área urbana de Bragança/PA**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2014.

FITZ, P. R. **Cartografia básica**. Editora Oficina de Textos, São Paulo-SP, 2008a.

FITZ, P. R. **Geoprocessamento sem complicação**. Editora Oficina de Textos, São Paulo-SP, 2008b.

IBGE. **Censo demográfico 2014**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pa/braganca/panorama>> Acesso: 15/12/2017.

GODECKE, M. V.; NAIME, R. H.; FIGUEIREDO, J. A. S. **O consumismo e a geração de resíduos sólidos urbanos no Brasil**. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, vol. 8, nº 8, p. 1700-1712, 2012.

PLANO AMBIENTAL MUNICIPAL DE BRAGANÇA/PA - Secretaria Municipal de Meio Ambiental de Bragança, 2013.

CAPÍTULO 11

OCORRÊNCIA DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS (MNT) EM PRIMATAS NÃO HUMANOS EM SANTARÉM-PARÁ

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 04/09/2020

Adjanny Estela Santos de Souza

Universidade do Estado do Pará (UEPA)
Santarém-Pará
<http://lattes.cnpq.br/7607645331067412>

Renata Estela Souza Viana

Universidade Federal Rural da Amazônia
(UFRA)
Belém-Pará
<http://lattes.cnpq.br/0514877810949847>

Wellington Conceição da Silva

Universidade Federal Rural da Amazônia
(UFRA)
Belém-Pará
<http://lattes.cnpq.br/0227261030426290>

Eveleise Samira Martins Canto

Universidade Federal do Oeste do Pará
(UFOPA)
Santarém-Pará
<http://lattes.cnpq.br/2851250330249260>

Maurício Morishi Ogusku

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
(INPA)
Manaus-Amazonas
<http://lattes.cnpq.br/5288905856205986>

RESUMO: O gênero *Mycobacterium* é responsável por diversas doenças que podem ser identificadas em humanos. Preocupados com a saúde dos animais e dos humanos que tem

contato com os mesmos, o presente trabalho objetivou verificar a ocorrência de bactérias do gênero *Mycobacterium* na microbiota dos primatas não humanos presentes no zoológico de Santarém. Trata-se de um estudo descritivo quantitativo. Foram utilizados 25 símios, sendo 12 da espécie *Cebus apella* (macaco prego); 2 *Cebus kaapori* (caiarara); 8 *Ateles marginatus* (macaco aranha de testa branca); 3 *Ateles paniscus* (macaco aranha de cara vermelha). Foi realizada contenção física seguida de contenção farmacológica, posteriormente foram realizadas coletas de secreção nasal e orofaríngea com swab estéril. O material biológico foi semeado em meio Ogawa-kudoh incubado por até 8 semanas/37°C para o isolamento. Após o isolamento foram realizados esfregaços para coloração pelo método de Ziehl-Neelsen, em seguida as amostras que confirmaram a presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) foram encaminhadas para o Laboratório de Micobacteriologia do INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) para identificação da espécie pelos métodos de PRA hsp65 (PCR) e confirmadas por sequenciamento parcial do gene hsp65. Foram coletadas um total de 50 amostras, sendo 25 de secreção nasal e 25 orofaríngea. Em 20% (5) das amostras oriundas da orofaringe foram isolados *Mycobacterium*, sendo 1 (4%) *M. brumae*, 3 (12%) *M. peregrinum* e 1 (4%) *M. porcinum*. Em 24% das amostras de secreção nasal foram isolados *Mycobacterium*, sendo 1 (4%) *M. fortuitum* e 5 (20%) *M. peregrinum*. As espécies isoladas estão associadas a doenças humanas de natureza oportunista.

PALAVRAS - CHAVE: Símios; *Mycobacterium*;

OCCURRENCE OF NON-TUBERCULUS MYCOBACTERIA (NTM) IN NON-HUMAN PRIMATES IN SANTARÉM-PARÁ

ABSTRACT: The genus *Mycobacterium* is responsible for a number of diseases that are identified in humans. Concerned with the health of both animals and humans that have any contact with the first mentioned, this paper aimed to verify the occurrence of genus *mycobacterium* bacteria on the non-human primates microbiota of the Santarém Zoo animals. This is a quantitative description. There were used 25 apes, 12 *Cebus apella*; two *Cebus kaapori*; eight *Ateles marginatus*; and three *Ateles paniscus*. Using physical restraint followed by pharmacological, the collections were performed from nasal and oropharyngeal secretion with sterile swabs. The material was inoculated on Ogawa-Kudoh medium, incubated until eight weeks/37°C for isolation. Then smears were performed and submitted to Ziehl-Neelsen coloring method, and the ones positive for alcohol-acid resistant bacilli sent to Inpa Mycobacteriology Laboratory to perform the species identification through PRA hsp65 (PCR) and confirmed by partial sequencing of hsp65 gene. There were 50 samples, 25 from nasal and 25 from oropharyngeal secretions. *Mycobacterium* genus bacteria were identified in 20% of the samples from the oropharynx, and 24% of the ones from nasal samples. The isolated species are associated to opportunist human diseases.

KEYWORDS: Apes; *Mycobacterium*; Wild animals

1 | INTRODUÇÃO

O avanço da agricultura e da pecuária próximo às áreas naturais proporcionou um contato entre as populações humanas e de seus animais domésticos com as populações de animais silvestres nos seus habitats, o que facilitou a disseminação de agentes infecciosos e parasitários para novos hospedeiros e ambientes, estabelecendo assim novas relações entre hospedeiros e parasitas, e novos nichos ecológicos na cadeia de transmissão das doenças (CORRÊA & PASSOS, 2001; KOTAIT et al., 2007; BARBOSA et al., 2011). Assim, o convívio humano com animais sobretudo silvestres representa risco à saúde, uma vez que os primatas não humanos são transmissores em potencial de diversas doenças por possuírem em sua microbiota uma grande variedade de vírus, fungos e bactérias que podem causar no homem infecções (dermatológicas, respiratórias e sistêmicas).

As zoonoses (doenças ou infecções transmitidas naturalmente entre os animais vertebrados e o homem, ou vice-versa) denota uma importante participação dos animais silvestres na manutenção destas doenças na natureza. Além disso, enfermidades que não eram conhecidas ou que já não possuíam importância epidemiológica, apareceram em surtos ou epidemias em populações ou regiões, vindo a ser denominadas como “emergentes” (SILVA, 2005; ZANELLA, 2016). Apesar dos esforços dos profissionais na manutenção de um rigoroso manejo sanitário, o ambiente de zoológico continua sendo propício à disseminação de uma gama de doenças, muitas delas zoonóticas (SEDGWICK

et al., 1975; MONTALI & MIGAKI, 1980; SIEMERING, 1986; FOWLER, 1993; SILVA et al. 2001). Isto também pode ser aplicado aos outros estabelecimentos que possuem animais silvestres. Vale a pena salientar que estes animais, em quase totalidade não apresentam sinais clínicos, mesmo estando infectados com agentes etiológicos, constituindo importantes fontes de contaminação e infecção para os animais domésticos e ao homem ou vice-versa (ACHA & SZYFRES, 1986; FOWLER, 1986; CUBAS, 1996).

As micobactérias têm importância única na medicina de animais silvestres sendo responsáveis pela maior causa de mortalidade em zoológicos no século passado (FOWLER, 2003). O estudo das populações de primatas não-humanos tem contribuído para informações sobre doenças infecciosas emergentes, pois como membros de habitats biologicamente diversos eles atuam como sentinelas para investigação de patógenos, servindo de modelos para a pesquisa básica sobre a dinâmica de transmissão natural (WOLFE et al., 2000).

O gênero *Mycobacterium* é constituído por espécies do complexo *M. tuberculosis*, *M. leprae* e outras denominadas de micobactérias não tuberculosas (MNT) (CVE 2016 A). As espécies do complexo *M. tuberculosis* causam a tuberculose no homem e/ou animais e é composto pelas espécies *M. tuberculosis*, principal agente da tuberculose humana, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* e *M. pinnipedii*. As MNT compreendem mais de 140 espécies identificadas até o momento e podem ser identificadas com base em testes fenotípicos (tempo de crescimento, produção ou não de pigmentos, provas bioquímicas, crescimento ou não na presença de inibidores químicos e testes moleculares (PRA, PCR Restriction Analysis e sondas genéticas “in house” ou comerciais) (TORTOLI, 2003; COELHO, 2017)

As micobactérias não tuberculosas (MNT) encontram-se dispersas na natureza incluindo a água natural e potável e, ao contrário das espécies do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB), apresentam patogenicidade variável. A capacidade das MNT em produzir doença está claramente documentada na literatura e sua incidência vem aumentando progressivamente, não só pelo fato do ser humano estar compartilhando o mesmo habitat, mas também pela melhora nos métodos de diagnóstico e identificação destes microrganismos (FALKINHAM, 2009).

As micobactérias de crescimento rápido *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium chelonae* e *Mycobacterium abscessus* são microrganismos oportunistas, normalmente encontrados no solo, na poeira e em encanamentos para água. Difícilmente causam doenças em seres humanos, a menos que sejam inoculadas diretamente no organismo por feridas traumáticas ou por materiais cirúrgicos contaminados (WAJNBERG et al., 2011). O grupo de maior importância clínica das micobactérias atípicas, na classificação de Runyon, é o grupo das bactérias de crescimento rápido ou grupo 4. Frequentemente envolvidas em infecções de pele e tecidos moles, já foram responsabilizadas por infecções em cateteres intravenosos e peritoneais, abscessos após injeções, infecções em sítio cirúrgico,

mastoplastias e cirurgias oftálmicas (MACEDO & HENRIQUES, 2009). A infecção causada por micobactérias pode se assemelhar à causada por germes comumente encontrados nas infecções de implantes, embora na maioria das vezes se inicie em período mais tardio, em cerca de 4 a 6 semanas. O quadro clínico se apresenta com drenagem de secreção frequentemente inodora e incolor na ferida cirúrgica, podendo ser acompanhada por sinais sistêmicos, como febre e astenia (WAJNBERG et al., 2011).

O gênero *Mycobacterium* é responsável por diversas doenças que podem ser identificadas em humanos. Preocupados com a saúde dos animais e dos humanos que tem contato com os mesmos, o presente trabalho objetivou verificar a ocorrência de bactérias do gênero *Mycobacterium* na microbiota dos primatas não humanos pertencentes ao plantel do Zoológico de Santarém-Pará.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo quantitativo, realizado com animais oriundos do zoológico de Santarém. O Zoológico de Santarém (ZOO UNAMA) mantido pela Faculdade UNAMA e Mineração Rio do Norte é um instrumento fundamental para educação ambiental e preservação de animais silvestres, principalmente os que estão ameaçados de extinção e tem como objetivo tratar, manter e reabilitar para estarem aptos a retornar aos seus ambientes naturais. Neste estudo foram utilizados 25 símios, sendo 12 da espécie *Cebus apella* (macaco prego); 2 *Cebus kaapori* (caiarara); 8 *Ateles marginatus* (macaco aranha de testa branca); 3 *Ateles paniscus* (macaco aranha de cara vermelha).

Foi realizada contenção física seguida de contenção farmacológica com diazepam 1mg/kg e ketamina 10mg/Kg. Em seguida foram realizadas coletas de secreção nasal e orofaríngea com swab estéril. O material biológico foi semeado em meio Ogawa-kudoh incubado por até 8 semanas/37°C para o isolamento. Após o isolamento foram realizados esfregaços para coloração pelo método de Ziehl-Neelsen, em seguida as amostras que confirmaram a presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) foram encaminhadas para o Laboratório de Micobacteriologia do INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) para identificação da espécie pelos métodos de PRA hsp65 (PCR) e confirmadas por sequenciamento parcial do gene hsp65.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas um total de 50 amostras, sendo 25 secreção nasal e 25 orofaríngea. Em 20% (5) das amostras oriundas da orofaringe foram isolados *Mycobacterium*, sendo 1 (4%) *M. brumae*, 3 (12%) *M. peregrinum* e 1 (4%) *M. porcinum*. Em 24% (6) das amostras de secreção nasal foram isolados *Mycobacterium*, sendo 1 (4%) *M. fortuitum* e 5 (20%) *M. peregrinum* (Tabela 01). Embora as espécies isoladas não sejam do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) estão associadas a doenças humanas de natureza

oportunista.

ESPÉCIES ISOLADAS	SECREÇÃO OROFARÍNGEA (n=25)	SECREÇÃO NASAL (n=25)
M. brumae	01 (04%)	-----
M. peregrinum	03 (12%)	05 (20%)
M. porcinum	01 (04%)	-----
M. fortuitum	-----	01 (04%)
Total	05 (20%)	06 (24%)

Tabela: Espécies de *Mycobacterium* isoladas de primatas não humanos no Zoológico de Santarém-Pará

O *Mycobacterium brumae* foi isolado de uma amostra (04%) de secreção orofaríngea, é uma espécie micobacteriana ambiental de crescimento rápido identificada em 1993. Lee e cols (2004), relatam uma infecção da corrente sanguínea causada por *M. brumae* relacionada ao cateter em uma mulher de 54 anos com câncer de mama. A paciente apresentava febre alta (39,7°C) e > 1.000 colônias de *M. brumae* cresceram a partir de uma cultura quantitativa de sangue extraído de cateter. Uma cultura de sangue periférico pareado foi negativa, no entanto, sugerindo controle circulatório da infecção. A paciente foi tratada empiricamente com meropenem e vancomicina, e a febre foi resolvida em 24 h. O cateter foi removido uma semana mais tarde, e da ponta *M. brumae* foi isolado uma segunda vez, sugerindo colonização cateter. O organismo foi identificado pela morfologia colonial, análise de sequência do gene 16S rRNA e testes bioquímicos. (LEE et al., 2004; COELHO, 2016)

Mycobacterium peregrinum foi a espécie isolada com maior frequência nas amostras: 12% na secreção orofaríngea e 20% na secreção nasal. Esta espécie pertence ao complexo *Mycobacterium fortuitum*, correspondendo a uma micobactéria não tuberculosa de crescimento rápido. Esta espécie tem sido isolada esporadicamente de pacientes com imunossupressão, submetidos a cirurgias variadas, incluindo casos de doenças de pele e doenças dos tecidos moles, peritonite, infecções de sítio cirúrgico, bacteremia primária, pneumonia (NAGAO et al., 2008).

Mycobacterium porcinum foi isolado de uma amostra (04%) de secreção orofaríngea, e tem sido isolado de pacientes com infecções clínicas incluindo, infecções de feridas (62%), infecções de cateteres centrais e/ou bacteremia (16%), e possível pneumonia (18%), (WALLACE et al., 2004).

O *Mycobacterium fortuitum* foi isolado de uma amostra (04%) de secreção nasal e corresponde a uma micobactéria atípica de crescimento rápido comumente encontrada no meio ambiente em solo e fontes de água; também pode ser isolada em saliva de seres

humanos e eventualmente em pele. As micobactérias podem ser agentes de infecções de feridas cirúrgicas inclusive em cirurgias plásticas, porém com uma frequência pequena e usualmente em casos de surto (CVE, 2016b).

De acordo com Fritz (2015), o *M. fortuitum* pode causar várias síndromes clínicas, como doença pulmonar, doença cutânea local, osteomielite, infecções articulares, doença ocular pós trauma (queratite, úlceras da córnea), também é uma causa rara de linfadenite isolada. Doença disseminada, geralmente com lesões disseminadas da pele e lesões de tecidos moles, e ocorre quase exclusivamente em situações de imunossupressão grave, especialmente AIDS. As infecções devidas à infecção por *M. fortuitum* são bem documentadas, especialmente em associação com a cirurgia cardiotorácica. A fonte é frequentemente contaminação de ferida, direta ou indiretamente, com água da torneira colonizada. Outras infecções nosocomiais com este organismo incluem infecções de dispositivos implantados (por exemplo, cateteres) e injeções. Têm sido associadas a Endoscópios contaminados. Surto recentes também foram descritos em hospedeiros imunocompetentes após o uso de banhos de hidromassagem.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em 20% (5) das amostras oriundas da orofaringe foram isolados *Mycobacterium*, sendo 1 (4%) *M. brumae*, 3 (12%) *M. peregrinum* e 1 (4%) *M. porcinum*. Em 24% das amostras de secreção nasal foram isolados *Mycobacterium*, sendo 1 (4%) *M. fortuitum* e 5 (20%) *M. peregrinum*. As espécies isoladas estão associadas a doenças humanas de natureza oportunista.

O isolamento de micobactérias não tuberculosas (MNT) em animais silvestres em cativeiro alerta para a importância destes como fonte de infecção para seres humanos, como tratadores, visitantes, biólogos e veterinários.

Assim, apesar de à primeira vista, não apresentar significado clínico para os animais, este achado deve servir como alerta para o emprego de estratégias de manejo sanitário que ofereçam melhores condições de higiene e saúde para estes animais. Ademais, o trabalho indica a necessidade da pesquisa de micobactérias em outras fontes no zoológico, como a água tratada servida aos animais, por exemplo.

Espécies de MNT vem sendo descritas como causadoras de sérias infecções em pacientes imunossuprimidos, mas também há relatos de infecção pulmonar crônica em paciente humano imunocompetente, o que os caracteriza como patógenos emergentes. Assim, a presença de MNT potencialmente patogênicas em amostras de animais silvestres de cativeiro, pode implicar em problemas sanitários para estes animais, e também para aos seres humanos que por ventura venham a entrar em contato com eles.

REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y animales.2.ed. Washington: Organization Panamericana de la Salud, 1986

BARBOSA, A. D., MARTINS, N. R. S., MAGALHÃES, D.F. Zoonoses e saúde pública: riscos da proximidade humana com a fauna silvestre. **ciênc. vet. tróp.**, recife-pe, v. 14, no 1/2/3, p. 1 - 9 - janeiro/dezembro, 2011.

COELHO, L. G. A. Ocorrência de micobactérias não causadoras de tuberculose no Brasil. **Instituto Adolfo Lutz**. Campinas, SP. 2016

CORRÊA, S.H.R.; PASSOS, E.C. Wild animals and public health. *In*: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. Biology, medicine, and surgery of South American wild animals. Ames: Iowa University Press, p.493-499, 2001.

CUBAS, Z.S. Special challenges of maintaining wild animals in captivity in South America. Office International des Epizooties Scientific and Technical Review, v. 15, n. 1, p. 267-287, 1996.

CVE 2016A. Centro de vigilância epidemiológica “prof. Alexandre Vranjac”. Recomendações para o diagnóstico e tratamento das micobacterioses não tuberculosas no estado de São Paulo disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/cve_tb.html. Acesso em: 25 jan. 2016

CVE 2016B. Centro de vigilância epidemiológica “prof. Alexandre Vranjac”. Orientações para investigação clínica e tratamento de infecções em ferida cirúrgica de mamoplastia por *Mycobacterium fortuitum* disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/cve_tb.html. Acesso em: 25 jan. 2016

FALKINHAM JO. Surrounded by mycobacteria: nontuberculous mycobacteria in the human environment. **J Appl Microbiol** 2009;107:356-367.

FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo & wild animal medicine**. 3 ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 617p, 1993

FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo & wild animal medicine**. 5 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 782p, 2003.

FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo and wild animal medicine**. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986.

FRITZ, J. M. *Mycobacterium fortuitum* 2015 Disponível em: <http://emedicine.medscape.com/article/222918overview#showall>. Acesso em 03 set. 2020.

KOTAIT, I., CARRIERI, M. L., JÚNIOR, P. C., CASTILHO, J. G., OLIVEIRA, R. N., MACEDO, C. I., FERREIRA, K. C. S., ACHKAR, S. M. Reservatórios silvestres do vírus da raiva: um desafio para a saúde pública. Coordenadoria De Controle de Doenças. **Boletim Epidemiológico Paulista**. n 40. v 4. ISSN 1806-4272. p.7. 2007.

MACEDO JLS, HENRIQUES CMP. Infecções pós-operatórias por micobactérias de crescimento rápido no Brasil. **Rev Bras Cir Plást**. 2009;24(4):544-51.

NAGAO, M. A. et al. Surgical site infection due to *Mycobacterium peregrinum*: a case report and literature review. **International Journal of Infectious Diseases** (2009) 13, 209-211

MONTALI, R. J.; MIGAKI, G. The comparative pathology of zoo animals. Washington: **Smithsonian Institution**, 1980. 684 p.

SEDGWICK, C. J.; ROBINSON, P. T.; LOCHNER, F. K. Zoonoses: a zoo's concern. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 167, n. 9, p. 828-829, 1975.

SIEMERING, H. Zoonosis. In: FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo & wild animal medicine**. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. p. 63-8.

SILVA, J.C.R et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 217-224, 2001.

SILVA, J.C.R. Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens/ABRAVAS. 2005. Zoonoses e doenças emergentes transmitidas por animais silvestres. Disponível em: www.abravas.org.br

LEE, S. A. et al. Catheter-Related Bloodstream Infection Caused by *Mycobacterium brumae*
DOI: 10.1128/JCM.42.11.5429-5431.2004J. **Clin. Microbiol.** November 2004 vol. 42 no. 11 5429-5431

TORTOLI E. Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990s. **Clin Microbiol Rev** 2003;16(2):19-54.

ZANELLA, J. R. C. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.51, n.5, p.510-519, maio 2016

WALLACE, R.J. et al. Clinical and laboratory features of *Mycobacterium porcinum*. **J Clin Microbiol.** 2004 Dec;42(12):5689-97.

WAJNBERG, G. B. et al. Micobacteriose em implantes mamários: revisão da casuística do Instituto Ivo Pitanguy. **Rev. Bras. Cir. Plást.** 2011; 26(3): 482-7

WOLFE, N. D. et al. Wild primate population in emerging infectious disease research: the missing link? Ahead wildlife project, Atlanta, 11 march 2000. Disponível em: <http://www.fas.org/ahead/wildlife.html>. Acesso em: 23 jan. 2007.

CAPÍTULO 12

PARASITOFAUNA DO TRATO INTESTINAL DO ACARI-BODÓ (*LIPOSARCUS PARDALIS*, CASTELNAU 1855) COMERCIALIZADO NAS FEIRAS DE MANAUS

Data de aceite: 01/12/2020

Suzana da Silva de Oliveira Martins

Universidade do Estado do Amazonas
Manaus/Amazonas

Escola Superior de Ciências da Saúde - ESA
<http://lattes.cnpq.br/8483413799152587>
<https://orcid.org/0000-0001-7041-328X>

Denise Corrêa Benzaquem

Universidade do Estado do Amazonas
Manaus/Amazonas

Escola Superior de Ciências da Saúde - ESA
<http://lattes.cnpq.br/9528510380898905>
<https://orcid.org/0000-0002-5394-7455>

RESUMO: As pesquisas referentes aos estudos dos parasitas de populações naturais de peixes, têm por finalidade ampliar o conhecimento sobre a relação parasita-hospedeiro-ambiente, bem como as distintas estratégias usadas pelos parasitas e seus aspectos ecológicos. Diante desse fato, o presente estudo teve como objetivo realizar o levantamento da parasitofauna do trato intestinal do (*Liposarcus pardalis*, Castelnau 1855), popularmente denominado acari-bodó, cascudos ou bodós, comercializados nas feiras de Manaus. *Liposarcus pardalis* é um peixe detritívoro, que se alimenta de matéria orgânica particulada e microrganismos associados, como protozoários, fungos e bactérias, representante da família Loricariidae e ordem Siluriformes. É endêmico à bacia Amazônica ocorrendo ao longo do rio Amazonas. Durante o estudo, um

total de 20 espécimes de *L. pardalis*, foram adquiridos em cinco feiras da cidade de Manaus. Foram realizadas as medidas biométricas, descrição dos principais aspectos anatômicos e histológicos do trato intestinal, por meio de técnicas de microscopia ótica e em seguida a necropsia. Os tratos intestinais foram retirados e armazenados em frascos etiquetados com as respectivas localidades das coletas. A espécie de parasita encontrada foi fixada e conservada, segundo a metodologia e a identificação para seu filo. O resultado identificou uma única espécie de *Acanthocephala* *Gorytocephalus elongorchis*, encontrado parasitando o intestino do peixe examinado, assim como uma grande quantidade de algas, pequenos insetos e corpos estranhos. Análises quantitativas dos índices parasitológicos do acari-bodó, mostraram um valor muito baixo, considerando o número de peixes analisados e parasitado. Com a prevalência de 40%. Sugerindo que a estrutura morfológica da espécie, uma vez que esta apresenta uma armadura externa em forma de couraça, o protege contra a ação de agentes patogênicos do seu habitat.

PALAVRAS - CHAVE: *Liposarcus pardalis*, *Acanthocephala*, parasita, trato intestinal, Amazônia.

PARASITOFAUNA OF THE INTESTINAL TRACT OF ACARI-BODÓ (*LIPOSARCUS PARDALIS*, CASTELNAU 1855) COMMERCIALIZED AT THE FAIRS OF MANAUS

ABSTRACT: The researches related to the studies of parasites of natural fish populations aim to expand knowledge about the parasite-host-

environment relationship, as well as the different strategies used by the parasites and their ecological aspects. Given this fact, the present study aimed to survey the parasitofauna of the intestinal tract of (*Liposarcus pardalis*, Castelnau 1855), popularly called acari-bodó, cascudos or bodós, marketed at the fairs in Manaus. *Liposarcus pardalis* is a detritivorous fish, which feeds on particulate organic matter and associated microorganisms, such as protozoa, fungi and bacteria, representative of the Loricariidae family and order Siluriformes. It is endemic to the Amazon basin occurring along the Amazon River. During the study, 20 specimens of *L. pardalis* were purchased at five fairs in the city of Manaus. Biometric measurements were performed, description of the main anatomical and histological aspects of the intestinal tract, using optical microscopy techniques and then necropsy. The intestinal tracts were removed, and stored in bottles labeled with the respective locations of the collections. The parasite species found was fixed and conserved, according to the methodology and identification for its phylum. The result identified a single species of Acanthocephala *Gorytocephalus elongorchis*, found parasitizing the intestine of the examined fish, as well as a large amount of algae, small insects and foreign bodies. Quantitative analyzes of the acari-bodó parasitological indexes showed a very low value, considering the number of fish analyzed and parasitized. With a prevalence of 40%. Suggesting that the morphological structure of the species, once it has an external armor in the form of armor, protects it against the action of pathogens in its habitat.

KEYWORDS: *Liposarcus pardalis*, Acanthocephala, parasite, intestinal tract, Amazon.

1 | INTRODUÇÃO

A região Amazônica possui a maior bacia hidrográfica do mundo, sendo esta formada pelo rio Amazonas e um incontável número de outros rios e pequenos igarapés. Os rios amazônicos são diferentes não apenas na morfologia de seus cursos e origens, mas também nas propriedades físicas e químicas de suas águas (SIOLI, 1967).

Considerando que a bacia amazônica apresenta a mais diversificada ictiofauna de água doce do mundo, sendo que as estimativas variam entre 2500 e 5000 espécies (ROBERTS, 1972; BÖHLKE et al., 1978; GERY, 1984; GOULDING, 1989; KULLANDER; NIJSSEN, 1989; LOWE-McCONNELL, 1999) de um modo geral o ambiente aquático amazônico fornece uma ampla variedade de itens alimentares para os peixes, e estes exploram todas as fontes disponíveis, desde os invertebrados inferiores, peixes de pequeno porte e frutos.

Os peixes são os vertebrados mais antigos e numerosos, sendo a principal fonte de proteína na alimentação das populações amazônicas. Do ponto de vista econômico e social, a atividade pesqueira contribui significativamente para a oferta de empregos e alimentação (GOMES, 2019).

Por outro lado, o aumento da população urbana na Amazônia tem ocasionado uma procura cada vez maior, em função do preço médio do pescado ser mais baixo que o de outras fontes de proteína animal, como o gado e o frango (SMITH, 1979; LIMA, 2019).

Perante a importância que o peixe representa para a região, a ocorrência de um alto índice parasitológico nessa fonte de proteína poderá acarretar, uma queda na demanda da

pesca (THATCHER et al., 1991, LEMOS, 2020).

Na natureza, os peixes doentes ou debilitados não conseguem sobreviverem por muito tempo porque são rapidamente eliminados por predadores (peixes, répteis, aves e mamíferos aquáticos) o que representa um controle efetivo e natural de focos de infecção (THATCHER et al., 1981).

Por outro lado, o estudo da relação parasita-hospedeiro-ambiente, vêm sendo renovado nas últimas décadas, devido às implicações econômicas que têm, sobretudo no caso das pisciculturas intensivas (MORAES, 2019).

Assim a parasitologia em peixes de qualquer região deve começar com um levantamento dos parasitas e outros agentes de doenças e continuar com observações sobre os efeitos que possam ocorrer nas mais variadas espécies (OLIVEIRA et al., 2018).

Por esta razão, torna-se importante a pesquisa referente aos parasitas presentes nas espécies, uma vez que são poucas as informações em torno desta questão. Este estudo teve como objetivo realizar o levantamento da parasitofauna do trato intestinal do acari-bodó (*Liposarcus pardalis*, Castelnau 1855), comercializados nas feiras de Manaus.

2 | ACARI-BODÓ

Liposarcus pardalis (Castelnau, 1855) é um peixe de água doce da Ordem Siluriformes (bagres), família Loricariidae (BONAPARTE, 1831), que agrupa os acaris e cascudos. Essa família representa o clado mais diversos e especializado da superfamília Loricarioidea ou subordem Loricarioidei, incluindo mais de 600 espécies agrupadas em 70 gêneros e 6 subfamílias (ISBRÜCKER, 1980). A monofilia dessa subordem está bem definida com a presença de uma bexiga natatória encapsulada e odontodes nas nadadeiras, ou dispersos sobre a superfície corporal (RAPPPY-DANIEL, 1997; RIBEIRO; PAVANELLI, 2001). Apesar da aparência pré-histórica desse animal, ele é bastante derivado, comparado aos outros grupos de teleósteos neotropicais que habitam os corpos de água doce (SCHAEFER; MONTOYA-BURGOS et al., 1997, FERREIRA, 2009).

Possui a boca localizada na região ventral, semelhante a ventosas, rodeada por lábios expandidos, que apresentam um par de barbilhões rictais nas comissuras. Possuir dentes filiformes associados com grande variedade de movimentos na mandíbula pré-maxilar, através de novas inserções musculares e conexões biomecânicas entre a barra hiodea e a mandíbula, conferiu à boca desse animal capacidade elevada para consumir detritos, ingerindo o material orgânico no fundo dos lagos ou na vegetação submersa. A dieta é constituída principalmente de materiais mortos (lignina e celulose) e uma pequena parte de materiais vivos (algas, bactérias, fungos e micro-invertebrados) (YOSSA; ARAÚJO-LIMA, 1998), sendo esses últimos a fonte de energia e proteína para o crescimento da espécie (ARAÚJO-LIMA et al., 1986).

Adicionalmente o acari-bodó possui a conformação corporal hidrodinâmica, com

ventre achatado e o dorso arredondado, que possibilita ficar imóvel nas correntezas, economizando energia na exploração do fundo dos rios (SOUZA, 2015; PORTO, 2017).

O corpo é revestido de placas dérmicas com dentes tegumentários (odontodes) e espinhos desenvolvidos nas nadadeiras peitorais (1 espinho e 6 raios bifurcados), pélvicas (1 espinho e 5 raios bifurcados), dorsal (1 espinho e 13 raios bifurcados) e na caudal (bilobada com 2 espinhos e 14 raios bifurcados). Formam uma armadura áspera, adornada por finas formações vermiculares sobre o crânio formando desenhos geométricos radiais.

Sendo um peixe de larga aceitação no mercado, o bodó possui uma grande importância econômica, no que se diz respeito as adaptações evolutivas dessa espécie (LOURENCO, 2011; MORAES, 2019).

Por ser encontrado em ambientes tropicais, onde a temperatura é sempre elevada e a decomposição da matéria orgânica nos lagos e rios são bastante acentuada, provocando ambientes de baixo teor de O₂, desenvolveu-se um sistema respiratório acessório, ou seja, tendo condições de utilizar dois tipos de respiração: uma aquática, normal, através das brânquias e uma respiração aérea, acessória, através do estômago, que se adaptou a essa função levando a crer que perdeu a função digestiva, permitindo serem geralmente capturados e trazidos vivos para os mercados e feiras de Manaus (LOWE-McCONNELL, 1999; ZUANON, 2002). Figura 1.



Figura 1. A espécie *Liposarcus pardalis*, chegando a alcançar cerca de 50 cm de comprimento. Caracterizado pelo corpo recoberto de placas ósseas (armaduras) que formam uma couraça protetora. Fonte: Martins, S.S.O. (2017).

3 | MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área de coleta

Durante quatro meses, um total de 20 peixes da espécie *Liposarcus pardalis* (acari-bodó), foram adquiridos nas feiras do Município de Manaus, sendo transportados vivos em sacos de plásticos para o Laboratório de Zoologia do Centro Universitário Nilton

Lins. Os locais das coletas foram escolhidos por serem utilizados frequentemente pelos pescadores da comunidade e pela acessibilidade ao local. Para maiores informações das coletas obteve-se os nomes dos locais e datas, e em seguida passada para as fichas de identificação (morfológica). Feira da Panair (07), Feira do Zumbi (03), Feira da Cachoeirinha (02), Feira da Manaus-Moderna (01) e Feira da Coroado (07).

3.2 Coleta e fixação das espécies parasitas

Os peixes foram eviscerados através de uma incisão longitudinal sobre a linha mediano-ventral das nadadeiras peitorais até o ânus, examinando-se a seguir a cavidade abdominal. Em seguida foram retirados os tratos intestinais que foram fixados em formol a 10%.

Os órgãos coletados (trato intestinal) foram examinados para verificação dos parasitas. O intestino de cada peixe foi examinado em uma placa de Petri contendo solução fisiológica e aberto com uma tesoura de ponta fina, sendo este dividido em três partes (terço anterior, médio e posterior) e atentando para não cortar os parasitas presentes na luz. Teve-se cuidado para não danificar o escoléx do acari-bodó, pois suas características são importantes na identificação. Quanto ao Acanthocephala, tomou-se cuidado ao retirá-lo do hospedeiro, uma vez que sua probóscide poderia ficar presa na mucosa intestinal dificultando a identificação. Para os exemplares dos parasitas supostamente encontrados, foram feitas lâminas permanentes segundo o método de Thatcher (1991) denominado **HYP** (Hundred Year Permanence).

A espécie de parasita encontrada foi fixada e conservada, segundo a metodologia específica para o filo, proposta por Amato et al. (1991). Para identificação da espécie foram utilizados os trabalhos de Kritsky (1995), Travassos (1969), Thatcher (1979, 1993, 2006) e Thatcher; Varella (1981). Os índices parasitários de prevalência, intensidade média e abundância média foram determinados segundo, Bush et al., 1997.

4 | RESULTADOS

O comprimento total dos peixes analisados variou de 27,0 a 33,0 cm e o peso de 243,4 a 311,0 g.

Após as análises dos tratos intestinais dos acari-bodós, foi encontrado somente um único adulto da espécie Acanthocephala *Gorytocephalus elongorchis* (THATCHER, 1981), com comprimento de 14,3 mm; largura 1,0; largura da crista 0,02; comprimento do lemnisco maior 2,5; lemnisco menor 1,0 de largura; testículo anterior 1,2 x 0,1 e posterior 1,0 x 0,5 que estava parasitando o trato intestinal, no entanto, não estava fixado na parede do intestino (Tabela 2).

Número de exemplares	Comprimento total (cm) ¹	Peso (g) ²	parasitas e ou corpos estranhos ³
01	29,0	243,4	algas e folhas
02	30,0	270,8	lodo, pedaços de madeira e insetos
03	29,0	247,1	restos de formigas, pedras e algas
04	32,0	270,9	-
05	31,0	291,0	lodo, pedaços de madeira e algas
06	30,0	291,0	-
07	31,0	251,2	-
08	30,0	250,0	algas
09	32,0	300,0	Inseto do gênero Tysonoptera
10	33,0	310,0	gorytocephalus elongorchis e algas
11	29,0	270,0	-
12	27,0	263,0	lodo e algas
13	30,0	290,0	areia e insetos
14	29,0	250,0	-
15	30,0	276,0	folhas e gotas de gorduras
16	31,5	281,0	-
17	31,0	270,0	-
18	29,0	289,0	-
19	33,0	311,0	algas e folhas
20	31,2	290,0	algas gotas de gordura

Tabela 2. Número de exemplares da espécie (*Liposarcus pardalis*), com as medidas de comprimento, peso, parasita e corpos estranhos encontrados no trato intestinal. ¹Medidas do comprimento total da espécie; ²Peso real, utilizado balança analítica e ³Corpos estranhos, caracteriza a presença ou ausência de parasitas e a presença de outros materiais orgânicos.

O parasita estava solto no conteúdo intestinal do acari-bodó examinados e não apresentava lesão na mucosa, ocasionada pela fixação deste parasita. Apresentava o corpo com uma tonalidade esverdeada em função do material orgânico presente no micro habitat e levemente contraído, medindo 2,0 milímetros de comprimento. Quanto as análises quantitativas, os índices parasitários mostraram um valor intermediário, considerando o número de peixes analisados e parasitados. *Prevalência* 40%, ou seja, número de peixes parasitados por uma determinada espécie de parasita; *Intensidade* 0-1 com a variação do número de parasita da espécie peixe examinado na amostra; *Intensidade Média* 1,0 - número total de parasita da espécie pelo número total de peixes parasitados na amostra;

Abundancia 0,05 número total de parasita na amostra, pelo número total de peixes.

5 | DISCUSSÃO

Os parasitas de peixe constituem excelente modelo para estudos sobre ecologia de comunidades. A facilidade de obter numerosas réplicas e de quantificar a totalidade dos parasitos que estão distribuídos em diversos habitats (locais de infecção) facilitam a detecção de padrões de dinâmica populacional e de relacionamentos interespecíficos (RHODE, 1991).

Portanto, conhecimentos sobre a fauna de parasitas de peixes podem produzir informações a respeito de vários aspectos da biologia do hospedeiro, como o hábito alimentar e movimentos migratórios (MARGOLIS, 1965; CARDOSO, 2016).

A estrutura de comunidades em associações hospedeiro-parasita-ambiente é determinada por uma variedade de fatores tais como idade e estrutura genética da população de hospedeiros, hábitos de alimentação e habitat utilizado pelo hospedeiro, bem como por interações entre as espécies parasitas (SKORPING, 1981; CIMERMAN, 1999).

Os hábitos alimentares dos peixes podem revelar grande potencialidade para que estes participem como hospedeiros intermediários ou definitivos em sistemas parasitários transmitidos troficamente (TAKEMOTO et al., 1996).

Para se estudar a fauna de parasitas os órgãos e tecidos do peixe podem ser vistos como partes de um ambiente podendo ser colonizados e modificados por vários patógenos em consequência de complicadas interações. Essas interações podem variar em função da natureza do substrato (ROBERTS, 1978).

Muitos estudos na literatura em parasitologia têm sido realizado utilizando trato intestinal como sítio de localização em diferentes hospedeiros, em ambientes de água doce (THATCHER; BOEGER, 1983; VARELLA, 1992; VARELLA; MALTA, 1995; FRANCO, 2009; PORTO, 2012 e 2017; VINHOTE-SILVA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2018; SOUZA et al., 2019; MORAES, 2019). Os estudos relatam registros de espécies dos mais diferentes filos (*Fungi*, *Protozoa*, *Platyhelminthes* (*Monogeneoidea*, *Trematoda*, *Cestoda*), *Acanthocephala*, *Nematoda* e *Arthropoda* (*Crustacea*)).

Malta, (1981) trabalhando com as cinco principais ordens de peixes (Siluriformes, Cypriniformes, Perciformes, Osteoglossiformes e Clupeiformes) coletados no Lago Janauacá, destacou que a ordem que apresentou os maiores índices parasitológicos foi a dos Siluriformes. No entanto, dos quatro exemplares do *Liposarcus pardalis* examinados no estudo, nenhum parasita foi encontrado. Reforçando assim os resultados encontrados neste estudo, onde o índice parasitológico da espécie estudada foi muito baixa, na qual apenas 01 exemplar num total de 20, apresentou o trato intestinal parasitado.

Segundo Malta, (1992) as espécies de peixes que formam a maior biomassa da Bacia Amazônica são as detritívoras, mas em seus estudos, este grupo foi o que apresentou

os menores índices de infestação.

O fato do acari-bodó viver em ambiente poluído, com pouca oxigenação e possuir hábito detritívoro, alimentando-se de algas, lodo entre outros elementos que estejam presente no fundo dos rios e lagos (EIRAS, 1994), além de ter apresentado valores parasitários muito baixos, levam a crer que apesar do alto nível de poluição característico do seu ambiente, um dos principais fatores que podem estar atuando nos baixos índices parasitológicos sejam quanto a estrutura morfológica da espécie, uma vez que esta apresenta uma armadura externa em forma de couraça que o protege contra a ação de agentes patogênicos.

6 | CONCLUSÃO

De acordo com os resultados desta pesquisa, podemos concluir que foi encontrado uma única espécie de parasita representante do Filo Acanthocephala, do gênero *Gorytocephalus*, da espécie *elongorchis*, no trato intestinal do bodó. Confirmando que a espécie *Gorytocephalus elongorchis*, hoje é conhecida para o *Liposarcus pardalis*, e que as análises quantitativas dos baixos índices parasitológicos, indica que a sua estrutura morfológica o protege contra a ação de agentes patogênicos.

No entanto, são necessários mais estudos, para uma melhor compreensão de como as espécies de parasitas de peixes, da região Amazônica, podem ser ferramentas para monitorar os ecossistemas aquáticos amazônicos.

REFERÊNCIAS

AMATO, J.F.R.; BOEGER, W.A.; AMATO, S. B. **Protocolos para laboratório-coleta e processamento de parasitas do pescado**. Imprensa Universitária, Universidade Federal do Rio de Janeiro Rio de Janeiro, Brasil. 1991. 81 p.

ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; FORSBERG, B.R.; VICTORIA, R.; MARTINELLI, L. 1986. Energy source for detritivorous fishes in the Amazon. **Sicence**, 234: 1256-1258 p. 1996.

BÖHLKE, J. E.; WEITZMAN, S. H.; MENEZES, N. A. Estudo atual da sistemática dos peixes de água doce da América do Sul. Manaus: **Acta Amazonica**, 8(4):657-677 p.1978.

BUSH, A. O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M. SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms. In: Margolis *et al.*, Revisited. American Society of Parasitologists. **Journal of Parasitology**, 83(4): 575-583 p. 1997.

CARDOSO, A.C.F. **Ecologia parasitária de peixes Loricariidae e Callichthyidae (Siluriformes) da Bacia Igarapé Fortaleza, Estado do Amapá, norte do Brasil**. Universidade Federal do Amapá- Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical. Dissertação de Mestrado/Janeiro. UNIFAP/ EMBRAPA-AP/IEPA/CI-Brasil. 74 f. 2016.

CIMERMAN, B. C.; CIMERMAN, S. **Parasitologia Humana e seus fundamentos gerais**. São Paulo: Atheneu. 1999. 375 p.

EIRAS, J. C. **Elementos de Ictioparasitologia**. Fundação Engenho Antônio de Almeida. 1994. 339 p.

FERREIRA, M. G. A. B. **Caracterização microbiológica, físico-química e sensorial de hidrolisado biológico em peixes da Amazônia (*Potamorhina latior* e *Liposarcus pardalis*)**. Tese de Doutorado/Agosto. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. Programa de Pós-graduação em Biologia de água doce e pesca do Interior – BADPI. 129 f. 2009.

FRANCO, A. M. R. **Biodiversidade dos metazoários parasitas de *Pterygoplichthys pardalis* (Castelnau, 1855) dos lagos de várzea do rio Solimões entre Manaus e Coari, Amazonas**. Dissertação de Mestrado/Agosto. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. Programa de Pós-graduação em Biologia de água doce e pesca do Interior – BADPI. 89 f. 2009.

GERY, J. The fishes of Amazonia. In: The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin. Dordrecht: **Sioli**, 353-370 p. 1984.

GOMES, N.; GUERREIRO, F. D. S.; AZEVEDO, K.O. **Processamento de marinado a partir do filé do acari-bodó (*Liposarcus pardalis*): diversificando a forma de beneficiamento e consumo desse pescado no Município de Parintins-Am**. Atena Editora/Recurso Eletrônico – Qualidade do Produto de Alimento Animal. 2019. 197 p.

GOULDING, M. **Amazon: The flooded forest**. London: **BBC**. Books. 1989. 208 p.

ISBRÜCKER, I.J.H. 1980. Classification and catalogue of the mailed Locariidae (Pisces Siluriformes). **Verslagen en technische Gegevens**, 22:1-181 p. 1980.

LIMA, E. M. M.; SANTOS, P. R. B.; BRAGA, T. M. P.; MCGRATH, D. G. A pesca de acari-bodó (*Pterygoplichthys pardalis*) na várzea do baixo Amazonas, Pará, Brasil: Aspectos estruturais e socioeconômicos. **Gaia Scientia**, v. 13(4): 70-85 p. 2019.

LEMONS, N. C. S.; FERNANDES, G. S. T.; SANTOS, P. R. B.; BRAGA, T. M. P. Interferência do tempo de estocagem sob o gelo na composição centesimal, características físicas e sensoriais do acari-bodó (*Pterygoplichthys pardalis*). **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v. 6, n. 5, 186-189 p. 2020.

LOURENÇO, L. F.H.; SANTOS, D. C.; RIBEIRO, S.C.A.; ALMEIDA, H. E.; ARAUJO, A.F. Study of adsorption isotherm and microbiological quality of fishmeal type “piracuí” of acari-bodo (*Liposarcus pardalis*, Castelnau, 1855). **Procedia Food Science** (1), 455 – 462 p. 2011.

LOWE-McCONNELL, R. H. **Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**. 3ª ed. São Paulo: *Coleção Base*. 1999. 535 p.

KRITSKY, D. C.; BOEGER, W.A.; POPAOGLO, F. Neotropical Monogenoidea. 22. Variation in *Scleroductus* species (Gyrodactylidae, Gyrodactylidae) from Siluriformes fishes of southeastern Brazil. **Journal of Helminthology of Washington**, 62: 53-56 p. 1995.

KULLANDER, S.O.; NIJSSEN, H. The cichlids of Surinam. Leiden: **Journal Brill**, 256 p. 1989.

MALTA, J. C. O. **Os crustáceos branquiúrios e suas interrelações com os peixes da Lago Janauacá, Am – Brasil (Crustacea, Argulidae)**. Books Manaus, 1981. 88 p.

MALTA, J. C. O. **Copépodos (Crustacea: Ergasilidae) das brânquias de peixes do sudeste da Amazônia Brasileira (Rondônia)**. Rio Claro, São Paulo. 1992. 171 p

MARGOLIS, L. Parasites as an auxiliary source of information about the biology of Pacific Salmons (Genus *Oncorhynchus*). Canadá: **Journal Fish. Res. Br.** 22(6): 1387-1395. 1965.

MONTOYA-BURGOS, J.; MULLER, S.; WEBER, C. Phylogenetic relationship between Hypostominae and Ancistrinae (Siluroidei: Loricariidae): first results from mitochondrial 12S and 16S rRNA gene sequences. **Revue Suisse de Zoologie**, 104(1): 185-198. 1997.

MORAES, C.M. **O etnoconhecimento sobre a pesca e a biologia do acaribodó (*Liposarcus pardalis*) no Município de Parintins-Am**. Monografia/Junho. Universidade do Estado do Amazonas - Centro de Estudos Superiores de Parintins-Licenciatura em Ciências Biológicas. 44 f. 2019.

OLIVEIRA, E. M. S. **Avaliação de metais (Al, As, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Sb, Sc, Se, Sn, Sr, V, Zn) em *Liposarcus pardalis* (acaribodó) e *Prochilodus cearenses* (curimatã)**. Monografia/Setembro. Universidade Federal do Ceará/Fortaleza. Centro de Ciências do Departamento de Analítica e Físico-Química. 50 f. 2018.

PORTO, D. B.; FRANCALINO, J. V.; DOS SANTOS, A. K. S.; APRÍGIO M. M.; VARELLA, A. M. B.; MALTA, J. C. O. Metazoários parasitos de *Pterygoplichthys pardalis* (Castelnau, 1855) (Siluriformes: Loricariidae) da Amazônia central, Brasil. **Revista Brasileira de Zoociências** 14 (1, 2, 3): 35-40 p. 2012.

PORTO, D. B. **Metazoários parasitos de um peixe detritívoro de lagos de várzea do rio Solimões, *Pterygoplichthys pardalis* (Castelnau, 1855) (Siluriformes: Loricariidae) e uma avaliação de seu uso como espécies bioindicadoras de efeito em mudanças ambientais na Amazônia**. Tese de Doutorado/Novembro. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. Programa de Pós-graduação em Biologia de água doce e pesca do Interior – BADPI. 97 f. 2017.

RAPP PY-DANIEL, L. **Phylogeny of the neotropical armored catfishes of the subfamily Loricariinae (Siluriformes: Loricariidae)**. Tese (PhD) – University of Arizona, 279 p. 1997

RIBEIRO, C.H.; PAVANELLI, S.C. Neoplecostomus (Teleostei: Loricariidae) da bacia do alto Rio Paraná, Brasil, com descrição de três novas espécies. **ZOOTAXA**, 1757:31–48 p. 2001.

ROBERTS, T. R. **Ecology of fishes in the Amazon and Congo basin**. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*. Harvard: Boston. 1972. 147-177 p

ROBERTS, R. J. **Fish Pathology**. 2a edition. Balliere: Tindal Philadelphia, USA. 1978. 318 p.

RHODE, K. **Ecology of marine parasites**. 2ª ed. USA: International Bristol, CAB, 1993. 292 p.

SIOLI, H. **Studies in Amazonian Water**. In: Atlas do Simpósio sobre a Biota Amazônica, 3:9-50, 1967.

SMITH, N. J. H. **A pesca no rio Amazonas**. Manaus: Falangola, 1979.154 p.

SKHORPING, A. Seasonal dynamics in abundance, development and pattern of infection of Bunodera luciopercae (Muller) in perch, *Perca fluviatilis* L. from an oligotrophic lake in Norway. **Journal Fish Biology**, 18: 401-410 p. 1981.

SCHAEFER, S.A. *Nannoptoma*, a new genus of loricariid catfishes (Siluriformes: Loricariidae) from the Amazon anode Orinoco river basins. **Copeia**, v.1.254 p. 1996.

SOUZA, E.V.; NASCIMENTO, N. M.; GOMES, F.P.; PEREIRA, F.I. Elaboração e caracterização físico-química de empanado tipo nugget a base de peixe da Amazônia acari-bodó (*Liposarcus pardalis*, Castelnau 1855). 2015. **Anais do Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos**. vol. 2, 2015.

SOUSA, R.G.C.; OLIVEIRA, C.M.; SANT'ANNA, I.R.A.; MARSHALL, B.G.; FREITAS, C.E.C. Growth parameters and yield per recruit analysis for the armoured catfish (*Pterygoplichthys pardalis*) sampled in the Low Reach of the Amazonas River. **Boletim do Instituto de Pesca**, 45 (2):1–8 p. 2019.

TAKEMOTO, R. M.; AMATO, J. F. R.; LUQUE, J. L. Comparative analysis of the metazoan parasites communities of *Leatherjackets*, *Oligoplites palometa*, *O. saurus* and *O. saliens* (Osteichthyes: Pimelodidae), from Sepetiba bay, Rio de Janeiro. Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, 56(4):639-650 p. 1996.

THATCHER, V. E. Uma nova espécie de *Gorytocephalus* Nikol & Thatcher, 1971 (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) do acari-bodó (Pisces: Loricariidae) da Amazônia, Brasil. **Acta Amazonica**, 9(1): 199-2002 p. 1979.

THATCHER, V. E. **Trematódeos Neotropicais**. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA. Manaus, Amazonas. 553 p. 1993.

THATCHER, V.E. **Amazon fish parasites**. 2a Ed., Editora Aquatic Biodiversity in Latin America, Sofia, Moscow. 508 p. 2006.

THATCHER, V. E.; BRITES-NETO, J. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais. In: VAL, A. L.; FIGLILOLO, R.; FELDBERG, E. Bases científicas para estratégias de prevenção e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas. Manaus-Am, **Acta Amazonica**, 11(11):339-371 p. 1991.

THATCHER, V. E.; BOEGER, W. A. Patologia de peixes da Amazônia brasileira. Alterações histológicas em brânquias provocadas por *Ergasilus*, *Brasergasilus* e *Acusicola* (Crustacea: Cyclopoidae, Ergasilidae). **Acta Amazonica**, 13(2):441-451 p. 1981.

THATCHER, V.E.; VARELLA, A.B. Duas novas espécies de *Megacoeilium* Szidat, 1954 (Trematoda: Heploporidae), parasitas estomacais de peixes da Amazônia Brasileira, com uma redefinição do gênero. **Acta Amazonica**, 11: 285-289 p. 1981.

TRAVASSOS, L.; FREITAS, J.F.; KOHN, A. 1969. **Trematódeos do Brasil**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 67:1-886. 1969.

VARELLA, A. M. B. **Copépodos (Crustacea) parasitas das fossas nasais de peixes, coletados na região de Rondônia, Brasil**. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Rio Claro, São Paulo. 105 p. 1992.

VARELLA, A. M. B.; MALTA, J. C. O. *Gamidactylus hoplii* sp. n. (Copépoda, Poecilostomatoida, Vaigamidae) das fossas nasais de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Characiformes, Erythrinidae) da Amazônia brasileira. **Acta Amazonica**, 25(3/4): 281-285 p. 1995.

VINHOTE-SILVA, A.C.; REIS, S. R.; FIGUEIRA, L.P.; MUNDURUKU, C. L.C; VELOSO, F.S.; FRANCO, A.M.R. **Determinação da taxa de infecção de trypanosoma sp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) em acari-bodó (*Pterygoplichthys pardalis*) capturados durante o período da seca e da cheia.** XX Jornada de Iniciação Científica PIBIC-INPA-CNPq/FAPEAM. 2011.

YOSSA, M.I.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M. Detritivory in two Amazonian fish species. **Journal of Fish Biology**, 52: 1141-1153 p.1998.

ZUANON, J.A.S. **Fatores ambientais associados à localização das tocas de bodós *Liposarcus pardalis* (Loricariidae) em igarapés do Município de Manaus.** Fundação Vitória Régia, Manaus-Amazonas/Curso de Ecologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). 2002. 79 p.

CAPÍTULO 13

PDDE ESCOLAS SUSTENTÁVEIS COMO INSTRUMENTO DE FINANCIAMENTO PARA A EDUCAÇÃO AMBIENTAL

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 28/08/2020

José Flávio Rodrigues Siqueira

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Campo Grande – Mato Grosso do Sul

Link Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7968205214958350>

Link Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-8309-7578>

Angela Maria Zanon

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Campo Grande – Mato Grosso do Sul

Link Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7968205214958350>

Link Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3346-0604>

Texto com publicação parcial nos Anais do IV Encontro Regional de Ensino de Biologia – Erebio Regional 1 – 12 a 14 de novembro de 2019 – Universidade Federal da Grande Dourados – Dourados/MS.

RESUMO: Este texto tem como finalidade apresentar o Programa Nacional Escolas Sustentáveis, por meio de uma de suas ações estruturantes – o PDDE Escolas Sustentáveis – e retratar o alcance desta ação nas escolas públicas de Mato Grosso do Sul. O referido Programa propõe ações de apoio às escolas e instituições de ensino superior para a implementação da sustentabilidade socioambiental, considerando que isso ocorra via três dimensões, a saber:

currículo, gestão e espaço físico. Utilizou-se da metodologia qualitativa, mediante revisão de literatura e análise documental. Os resultados revelaram que em Mato Grosso do Sul foram contempladas 160 escolas públicas, distribuídas em 58 municípios, com o PDDE Escolas Sustentáveis, perfazendo o total bruto de R\$ 1.808.000,00 para as ações de Educação Ambiental.

PALAVRAS - CHAVE: Meio Ambiente; Políticas Públicas; Financiamento

PDDE SUSTAINABLE SCHOOLS AS A FINANCING INSTRUMENT FOR ENVIRONMENTAL EDUCATION

ABSTRACT: This text aims to present the National Sustainable Schools Program, through one of its structuring actions - the PDDE Sustainable Schools - and portray the scope of this action in public schools in Mato Grosso do Sul. The referred Program proposes actions to support schools and higher education institutions for the implementation of socio-environmental sustainability, considering that this occurs via three dimensions, namely: curriculum, management and physical space. Qualitative methodology was used, through literature review and document analysis. The results revealed that 160 public schools in Mato Grosso do Sul were included, distributed in 58 municipalities, with the PDDE Sustainable Schools, totaling a gross total of R \$ 1,808,000.00 for Environmental Education actions.

KEYWORDS: Environment; Public policy; Financing

INTRODUÇÃO

O presente artigo abordará as ações financiadas pelo Programa Nacional Escolas Sustentáveis. Por entender que o referido Programa é um instrumento de materialização de uma política pública em Educação Ambiental toma-se como objeto de estudo, o Programa Dinheiro Direto na Escola/PDDE Escolas Sustentáveis, para verificação do trabalho didático em Mato Grosso do Sul. Deste modo, tem-se como objetivo apresentar o Programa Nacional Escolas Sustentáveis, especificamente o PDDE Escolas Sustentáveis, bem como retratar o alcance dessa ação nas escolas públicas de Mato Grosso do Sul.

Justifica-se a relevância da temática ao compreender que as questões de Meio Ambiente são historicamente marcadas por conflitos ideológicos, políticos e econômicos. Porém, estão bem marcados nos aparatos legais brasileiros, exemplo disso é o Capítulo VI, traduzido no artigo 225, da Constituição Federal de 1988.

O Programa Nacional Escolas Sustentáveis trouxe discussões acerca das terminologias de “escolas sustentáveis” ou “espaços educadores sustentáveis” que se tornaram evidentes nas redes de ensino públicas a partir da promulgação das Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação/DCNEA (2012). De acordo com o artigo 21 das DCNEA:

Os sistemas de ensino devem promover as condições para que as instituições educacionais constituam-se em espaços educadores sustentáveis, com a intencionalidade de educar para a sustentabilidade socioambiental de suas comunidades, integrando currículos, gestão e edificações em relação equilibrada com o meio ambiente, tornando-se referência para seu território (BRASIL, 2012a, p.07).

E ainda, no artigo 14, observa que as instituições de ensino devem ser estimuladas a se constituírem em “espaços educadores sustentáveis, integrando proposta curricular, gestão democrática, edificações, tornando-as referências de sustentabilidade socioambiental” (BRASIL, 2012a, p.05).

Define-se escola sustentável como os “os múltiplos espaços locais e institucionalizados, onde os professores e toda a comunidade escolar levem aos alunos à construção de conhecimentos, valores, atitudes e ações para com o outro e com o meio” (UNIFESP, 2015, p.21). Enquanto espaço educador sustentável “depende de sua capacidade de se constituir em um local de educação de crianças, jovens e adultos voltado para a sustentabilidade” (BORGES, 2011, p.12). Esta autora, ainda diferencia a escola do espaço educador, segundo ela:

[...] o fato de a escola ter sido criada para educar não garante que logre fazê-lo de forma automática ou inercial, nem que seja o único caminho para tal. Para que se torne um espaço efetivamente educador a escola deve ser a referência viva dos valores e saberes que se propõe a trabalhar e, assim, criar condições para que a relação ensino-aprendizagem de fato aconteça (BORGES, 2011, p.13-14).

Ao materializar esta ação, via Programa Dinheiro Direto na Escola, o Manual Escolas Sustentáveis que acompanha a Resolução CD/FNDE n. 18, de 21 de maio de 2013, modifica o conceito de escola sustentável apresentado anteriormente neste texto e o alia ao conceito de espaço educador sustentável. Leia-se:

Escolas sustentáveis são definidas como aquelas que mantêm relação equilibrada com o meio ambiente e compensam seus impactos com o desenvolvimento de tecnologias apropriadas, de modo a garantir qualidade de vida às presentes e futuras gerações. Esses espaços têm a intencionalidade de educar pelo exemplo e irradiar sua influência para as comunidades nas quais se situam (BRASIL, 2013, p.02).

O manual ainda afirma que “a transição para a sustentabilidade nas escolas é promovida a partir de três dimensões inter-relacionadas: espaço físico, gestão e currículo” (BRASIL, 2013, p.02). Estas três dimensões trazidas são justificadas a partir da expressão de que “educar é cuidado; cuidar é educar” (BRASIL, 2010, p.18). E são explicadas no caderno do processo formativo “Escolas Sustentáveis e COM-VIDA”:

Na escola sustentável, o espaço físico cuida e educa, pois incorpora tecnologias e materiais mais adaptados às características ambientais e sociais de cada região. [...] Na escola sustentável, a gestão cuida e educa, pois encoraja relações de respeito à diversidade, mais democráticas e participativas. [...] Na escola sustentável, o currículo cuida e educa, pois é iluminado por um Projeto Político-Pedagógico que estimula a visão complexa da educação integral e sustentável. (BRASIL, 2010, p.11).

Diante disso, as escolas participantes do PDDE Escolas Sustentáveis planejaram ações e recursos para estas três dimensões, o que, pressupõe transformação nas formas histórias de *organização do trabalho didático*.

O Programa Nacional Escolas Sustentáveis/PNES, pautado no Inciso 6º do Artigo 2º do Plano Nacional de Educação (2011-2020), organiza-se em 4 (quatro) componentes, a saber: 1) currículo na escola sustentável; 2) Gestão democrática para a sustentabilidade; 3) Espaço escolar e sustentabilidade; e 4) Relações escola-comunidade.

Apesar de o Programa ter sido composto por 7 (sete) ações, este texto focará na ação de número 5, ou seja, relativa ao financiamento das ações escolas para cumprimento do Programa para responder a questão-base: Quanto e onde estão o recurso financeiro do PDDE Escolas Sustentáveis no estado de Mato Grosso do Sul?

METODOLOGIA

Para o cumprimento do objetivo e a resolução da questão-base faz-se necessária o emprego metodologia qualitativa. Para tanto, foi realizada a revisão de literatura a respeito do Programa Nacional Escolas Sustentáveis e de maneira síncrona, a análise documental foi adotada, pois todos os planos de ação validados pelo Ministério de Educação para a

execução do PDDE Escolas Sustentáveis (edição 2014) e disponíveis no PDDE Interativo serviram de documento para reconhecimento da distribuição do recurso financeiro em Mato Grosso do Sul.

Esclarece-se que o PDDE Interativo é uma ferramenta online de apoio à gestão em que as Secretarias de Educação e as escolas realizam adesão aos programas educacionais do Governo Federal. Nela, também são realizados os planos de ação, ou seja, as atividades e os itens financiáveis para determinado recurso financeiro.

A análise está alicerçada no método Ciência da História apresentado por Marx e Engels (2007) na obra “A ideologia Alemã”.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O PDDE Escolas Sustentáveis foi uma ação, dentre as diversas atividades do Programa Nacional Escolas Sustentáveis (PNES). Este, de acordo com Bastos (2016) foi um Programa inspirado em uma proposta inglesa e elaborado coletivamente sob a coordenação do Ministério da Educação e das Universidades Federais de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e de Ouro Preto.

O PDDE Escolas Sustentáveis, em 2014, foi regulamentado pela Resolução/CD/FNDE/MEC n. 18, de 03 de setembro de 2014, que dispõe sobre a destinação de recursos financeiros, nos moldes operacionais e regulamentares do PDDE, para escolas públicas da educação básica a fim de favorecer a melhoria da qualidade de ensino e a promoção da sustentabilidade socioambiental.

O repasse do recurso financeiro, no ano de 2014, foi condicionado à realização da IV Conferência Infantojuvenil pelo Meio Ambiente, cuja temática foi “Vamos Cuidar do Brasil com Escolas Sustentáveis”.

O plano de ação, instrumento de planejamento realizado pela comunidade escolar, e submetido ao PDDE Interativo para validação do Ministério da Educação, pode ser organizado em três eixos: 1) apoio a criação e ao fortalecimento da Comissão de Meio Ambiente e Qualidade de Vida na Escola (Com-Vida); 2) adequação do espaço físico visando à destinação apropriada de resíduos da escola, eficiência energética, uso racional da água, conforto térmico e acústico, mobilidade sustentável e estruturação de áreas verdes; e 3) promoção da inclusão da temática socioambiental no Projeto Político-Pedagógico (PPP) da escola (BRASIL, 2013).

Os eixos do PDDE Escolas Sustentáveis são articulados às três dimensões do PNES, a saber: a) currículo: a inclusão de conhecimentos, saberes e práticas sustentáveis no PPP, considerando as conexões entre o contexto local e a sociedade global; b) gestão: o planejamento compartilhado, com inclusão da Com-Vida nos processos de criação e tomada de decisões; a inclusão e/ou ampliação das relações entre escola, universidade e comunidade; bem como o respeito aos direitos humanos e à diversidade, incluindo saúde

ambiental, alimentação e consumo sustentável; e 3) espaço físico: utilização de materiais e a produção da arquitetura escolar adaptados às condições locais, de modo a favorecerem conforto térmico e acústico, acessibilidade, eficiência de água e energia e saneamento e destinação de resíduos; e a inclusão de áreas verdes e mobilidade sustentável, respeitando sempre o patrimônio cultural e os ecossistemas locais (BRASIL, 2012b).

Especificamente, em Mato Grosso do Sul, a pesquisa documental revelou que dos 79 municípios deste estado, 58 foram contemplados com o PDDE Escolas Sustentáveis.

Delimitou-se, na análise dos documentos àquelas escolas consideradas no PDDE Interativo como “escolas pagas”, ou seja, que receberam o recurso financeiro por intermédio do Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação/FNDE. Esclarece-se que nesta situação, em Mato Grosso do Sul, estão 160 escolas públicas, sendo 100 da rede estadual de ensino e 60 das redes municipais de ensino. Em tempo, diz-se que o recorte temporal da pesquisa compreendeu de 2014-2018, pois neste período foram desenvolvidas as atividades do PDDE Escolas Sustentáveis, a saber: adesão ao Programa; elaboração do plano de ação; validação do plano de ação; recebimento do recurso financeiro; execução do recurso financeiro.

Esclarecemos que de acordo com o Manual e o Guia de Orientações do PDDE Escolas Sustentáveis a destinação do recurso financeiro teve como base o número de estudantes matriculados na educação básica e declarados no Censo Escolar do ano de 2013. A partir disso, as escolas foram agrupadas em 4 categorias: 1) até 199 estudantes – R\$ 8.000,00; 2) 200 a 499 estudantes – R\$ 10.000,00; 3) 500 a 999 estudantes – R\$ 12.000,00; e 4) acima de 999 estudantes – R\$ 14.000,00.

Baseados nessa informação, trazemos, a partir da tabela abaixo, a distribuição financeira em escolas públicas de Mato Grosso do Sul.

Recurso financeiro	Quantidade de escolas		
	Rede Municipal	Rede Estadual	Total
R\$ 8.000,00	13	06	19
R\$ 10.000,00	17	29	46
R\$ 12.000,00	19	48	67
R\$ 14.000,00	11	17	28
Total	60	100	160

Tabela 1 – Distribuição de escolas públicas de Mato Grosso do Sul por Atividade financiada

Fonte: autores.

Pode-se relacionar o alto índice de municípios contemplados ao costumeiro discurso da necessidade da Educação Ambiental no âmbito formal devido à crise ecológica ou

desastres ambientais globais que estão noticiados nas mídias deste século. No entanto, o que não está claro, para a maioria da população brasileira, é que a manutenção dos recursos naturais está intimamente associada ao desenvolvimento da vida na Terra.

Recorre-se aos escritos de Marx, ainda no século XIX, para exemplificar o quão o desenvolvimento dos seres neste planeta associa-se à conservação e à preservação dos recursos do ambiente.

Feuerbach nunca fala do mundo dos homens e se refugia na natureza exterior, na natureza que o homem ainda não controlou. Mas cada invenção nova, cada progresso da indústria faz tombar um pouco esta argumentação e o campo onde nascem os exemplos que permitem verificar as afirmações daquele gênero, diminui cada vez mais. A «essência» do peixe, para retomar um dos exemplos de Feuerbach, corresponde exatamente ao seu «ser», à água, e a «essência» do peixe de rio será a água desse rio. Mas essa água deixa de ser a sua «essência» e transforma-se num meio de existência que não lhe convém, a partir do momento em que passa a ser utilizada pela indústria e fica poluída por corantes e outros desperdícios, a partir do momento em que o rio é percorrido por barcos a vapor ou em que o seu curso é desviado para canais onde é possível privar o peixe do seu meio de existência pelo simples ato de cortar a água (MARX e ENGELS, 2007, p.28-29).

O exemplo de Marx, no texto “A Ideologia Alemã”, é tão simples e didático que nos causa estranheza. Como a educação ainda não compreendeu a transversalidade da Educação Ambiental e o potencial transformador de indivíduos, quando em *abordagem crítica*. Talvez a resposta esteja nas manobras engendradas pelo capital para a sua manutenção, como dito por Mészáros (2011):

O fato de que o capitalismo lida dessa forma – ou seja, a seu modo – cm a ecologia não deveria provocar a mínima surpresa: seria quase um milagre isso não ocorrer. No entanto, a manipulação desta questão em benefício do “moderno Estado industrial” – [...] não significa que possamos ignorá-la. O problema é suficientemente concreto, independentemente do uso que dele se faça nos dias atuais (MÉSZÁROS, 2011, p.988).

É nesse cenário social que os conceitos de “escola sustentável” e “espaços educadores sustentáveis” são inseridos nas escolas públicas brasileiras. Quer dizer, a partir de documentos indutores de novas práticas ambientais que focam na sustentabilidade socioambiental. Citam-se alguns destes documentos, tais como: Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação Ambiental; Programa Nacional Escolas Sustentáveis; Documentos Orientadores para a Conferência Infantojuvenil pelo Meio Ambiente; Documento Orientativo do Programa Mais Educação; entre outros.

A partir do exposto e da análise dos planos de ação pagos quantificou-se que as escolas públicas de Mato Grosso do Sul receberam, via PDDE Escolas Sustentáveis, o montante de R\$ 1.808.000,00.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nota-se pelo número de escolas públicas contempladas em Mato Grosso do Sul com o PDDE Escolas Sustentáveis e a abrangência regional dos municípios que há uma preocupação para com as ações de Educação Ambiental. Além disso, a possibilidade de financiamento destas ações pode ter favorecido a adesão ao Programa Nacional Escolas Sustentáveis.

Porém, ressalta-se que ações de Educação Ambiental devem ser permanentes, reflexivas e críticas, o que por consequência, incide em uma proposta de educação emancipatória que só se consolida por meio de Políticas Públicas permanentes.

Em outras palavras, informa-se que o Programa Nacional Escolas Sustentáveis deve ser considerado como um Programa de Governo e não de Estado, já que teve suas ações foram destituídas ao longo do tempo. Além disso, a análise documental exigiu a continuidade da pesquisa que acarretará em outros artigos que apresentem contextos e ações do Programa nas escolas públicas de Mato Grosso do Sul.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC – Brasil.

REFERÊNCIAS

BASTOS, Daniela Botti Dias. **Reflexões sobre o Programa Nacional Escolas Sustentáveis**. Orientador: Célia Regina Russo. 2016. 79 f. Dissertação (Mestrado em Sustentabilidade na Gestão Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade na Gestão Ambiental, Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2016.

BRASIL, Ministério da Educação. **Programa Nacional Escolas Sustentáveis**. Versão Preliminar 2014. Disponível em < <https://drive.google.com/file/d/0B0W7JKEkeDaSYzFHS3JNZzhFZEU/edit> > Acessado em 29 mai 2020.

_____, Ministério da Educação. **Manual Escolas Sustentáveis**: Resolução CD/FNDE n. 18, de 21 de maio de 2013. Disponível em Acessado em 29 mai 2020.

_____, Ministério da Educação. **Resolução n. 2, de 15 de junho de 2012**, que estabelece as Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação Ambiental. 2012a. Disponível em < http://portal.mec.gov.br/index.php?option=com_docman&view=download&alias=10988-rcp002-12-pdf&category_slug=maio-2012-pdf&Itemid=30192 > Acessado em 30 mai 2020.

_____, Ministério da Educação. **Vamos Cuidar do Brasil com Escolas Sustentáveis**: educando-nos para pensar e agir em tempos de mudanças socioambientais globais. MOREIRA, Tereza (elaboradora) Brasília: MEC/SECADI, MMA, 2012.

_____, Ministério da Educação. **Caderno Processo Formativo Escolas Sustentáveis e COM-VIDA**. Brasília: MEC, SECADI, 2010.

BORGES, Carla. **O que são espaços educadores sustentáveis**. In: BRASIL. Espaços Educadores Sustentáveis. Ano XXI. Boletim 07. Salto para o Futuro: TV Escola. Brasília, 2011.

MARX, Karl; ENGELS, Friedrich. **A ideologia alemã**: crítica da mais recente filosofia alemã em seus representantes Feuerbach, B. Bauer e Stirner, e do socialismo alemão em seus diferentes profetas (1845-1846). Tradução de Rubens Enderle, Nélcio Schneider e Luciano Cavini Martorano. São Paulo: Boitempo, 2007.

MÉSZÁROS, István. **Para além do capital**: rumo a uma teoria da transição. Tradução Paulo Cezar Castanheira e Sérgio Lessa. São Paulo: Boitempo, 2011.

UNIFESP. Módulo 6 – **Comunidades e Escolas Sustentáveis**. Diadema: UNIFESP, 2015. Disponível em < <http://repositorio.unifesp.br/handle/11600/39174>> Acesso em 02 mai 2020.

PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROBIANA UTILIZANDO O VINHOTO COMO SUBSTRATO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 08/11/2020

Amanda Ribeiro Veloso

Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
-Universidade Federal da Grande Dourados
Dourados - MS
<http://lattes.cnpq.br/0624028025776308>

Danielle Marques Vilela

Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
-Universidade Federal da Grande Dourados
Dourados - MS
<http://lattes.cnpq.br/7752004271710878>

Vitória Caroline Gonçalves Miraglia

Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
-Universidade Federal da Grande Dourados
Dourados - MS
<http://lattes.cnpq.br/3021087731119120>

Maricy Raquel Lindenbah Bonfá

Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
-Universidade Federal da Grande Dourados
Dourados - MS
<http://lattes.cnpq.br/5670504878145026>

RESUMO: O vinhoto ou vinhaça é um resíduo agroindustrial de alto valor nutricional, podendo ser utilizado como meio de cultivo para a geração de biomassa microbiana, com diferentes aplicações, sendo uma delas o enriquecimento do valor protéico de rações animais. O objetivo deste trabalho foi quantificar a biomassa microbiana formada, tendo como substrato principal o vinhoto. Foram previamente selecionados dois isolados de leveduras (*Lodderomyces elongisporus* e

Rhodotorula mucilaginosa), anteriormente caracterizados como secretores de celulases, pectinases e amilases extracelulares. O desenho experimental foi baseado no modelo proposto por Plackett e Burman. As variáveis testadas foram concentração no meio de extrato de levedura, glicose, peptona e fosfato de potássio, quantidade de vinhoto adicionado, pH do meio e temperatura de incubação. A contagem populacional (UFC. mL⁻¹) nos cultivos foi determinada a cada 24 h pelo método de espalhamento em superfície em meio YPD, sendo as placas incubadas a 30° C, por 48 h. A biomassa produzida após 168 h foi mensurada pelo método de secagem em estufa a 105 °C até peso constante. Para a levedura *R. mucilaginosa* a maior quantidade de biomassa produzida foi para o tratamento 3 (1,002 g.L⁻¹) , neste tratamento foram testadas as maiores concentrações de extrato de levedura e peptona, a menor concentração de vinhoto (10 % v.v-1), pH 5 e temperatura de incubação de 28 °C. A levedura *L. elongisporus* expressou resultados estatisticamente significativos, sendo o tratamento 8 (51,416 g.L⁻¹ de biomassa) o mais promissor, por apresentar em sua composição a maior quantidade de vinhoto (50 % v.v-1) e não ser estatisticamente diferente do tratamento 10 (10 % v.v-1 de vinhoto), segundo melhor tratamento, e com rendimento de apenas 22,32 % inferior que o melhor tratamento. As variáveis vinhoto, glicose e pH apresentaram efeitos significativos para a produção de biomassa com a levedura *L. elongisporus*.

PALAVRAS - CHAVE: etanol, biotecnologia, resíduo.

VINASSE AS A SUBSTRATE FOR MICROBIAL BIOMASS GENERATION

ABSTRACT: The vinasse is an agro-industrial residue of high nutritional value, which can be used as a culture medium for the generation of microbial biomass, with different applications, one of which is the enrichment of the protein value of animal feed. The objective of this work was to quantify the microbial biomass formed, having the vinasse as the main substrate. Two yeast isolates (*Lodderomyces elongisporus* and *Rhodotorula mucilaginosa*) were previously selected, previously characterized as secretors of cellulases, pectinases and extracellular amylases. The experimental design was based on the model proposed by Plackett and Burman. The tested variables were concentration in the medium of yeast extract, glucose, peptone and potassium phosphate, amount of vinasse added, pH of the medium and incubation temperature. The population count (UFC.mL⁻¹) in the cultures was determined every 24 h by the method of surface spreading in YPD medium, with the plates incubated at 30 ° C for 48 h. The biomass produced after 168 h was measured using the drying method in an oven at 105 ° C until constant weight. For *R. mucilaginosa* yeast the largest amount of biomass produced was for treatment 3 (1,002 g.L⁻¹), in this treatment the highest concentrations of yeast extract and peptone, the lowest concentration of vinasse (10% v.v-1) were tested pH 5 and incubation temperature of 28 ° C. The yeast *L. elongisporus* expressed statistically significant results, with treatment 8 (51.416 g.L⁻¹ of biomass) being the most promising, as it contains the largest amount of vinasse (50% v.v-1) and is not statistically different from the treatment. 10 (10% vv-1 of vinasse), second best treatment, and yielding only 22.32% lower than the best treatment. The variables vinasse, glucose and pH showed significant effects for the production of biomass with the yeast *L. elongisporus*.

KEYWORDS: ethanol, biotechnology, residue.

INTRODUÇÃO

Na produção de etanol, o Brasil é o segundo maior produtor do mundo, sendo o primeiro na produção de etanol a partir da cana-de-açúcar. A safra de 2019/20 gerou 34 bilhões de litros de etanol produzidos a partir da cana-de-açúcar, sendo 10,12 bilhões corresponderam ao etanol anidro e 23,89 bilhões de litros de etanol hidratado. No Mato Grosso do Sul, cerca de 88% da produção de cana-de-açúcar de 2019/20 foi direcionada para a síntese de etanol, produzindo 3,3 bilhões de litros do biocombustível. No entanto, dependendo da metodologia, a cada 1 litro de álcool produzido, na etapa de destilação são gerados aproximadamente 12 litros de resíduos conhecido como vinhoto, vinhaça ou restilo (Conab, 2020).

O vinhoto é o resíduo pastoso e malcheiroso da destilação fracionada do caldo de cana fermentado para a obtenção do etanol, e, por sua abundância de matéria orgânica, alta corrosividade por possuir baixo pH (4,5-4,7) e elevada demanda bioquímica de oxigênio, torna-se altamente prejudicial tanto à fauna quanto à flora de águas doces e marinhas (TASSO et al, 2007).

Após a proibição do despejo do vinhoto nos fluxos aquáticos, foi possível observar uma grande procura por novas alternativas de como reutilizar esse resíduo. Assim,

a fertirrigação ganhou espaço, dado que exigia pouco investimento e possibilitava a eliminação de grandes quantidades do poluente (DE SOUZA; MESQUITA, 2015). Contudo, foi detectado uma elevação nos teores de ferro e cobre a 0,20-0,40 m de profundidade do solo, além de salinização de aquíferos subterrâneos (SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007).

O vinhoto possui em sua composição matéria orgânica, que é em sua maioria composta por citrato, oxalato, acetato, galactose, sacarose, glicose, frutose, ácido acético, ácido láctico e glicerol, além de nitrogênio ($1,2 \text{ kg/m}^3$), carbono ($21,7 \text{ kg/m}^3$), cobre ($3,9 \text{ mg.L}^{-1}$), zinco ($3,9 \text{ mg.L}^{-1}$), cálcio ($1,0 \text{ kg/m}^3$), magnésio ($1,1 \text{ kg/m}^3$) e sulfato ($6,4 \text{ kg/m}^3$) (VITTI, 2019) que o torna muito nutritivo para o cultivo de microrganismos como leveduras, com um baixo custo de produção e grande rendimento (SILVA et al, 2011).

O emprego de bactérias e leveduras para a reutilização desse resíduo tem sido eficaz e, cada vez mais aumenta o interesse do produtor em novos métodos. Os microrganismos utilizam o vinhoto como substrato para a formação de biomassa protéica e lipídica, que pode ser usado como suplemento alimentar e enriquecimento de ração animal (MARQUES; ZIN, 2016).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do vinhoto como substrato para a produção de biomassa microbiana. Para isso foram testados diferentes formulações contendo concentrações de 10 % e 50 % de vinhoto (v/v), acrescidos de outras fontes de nutrientes, através do delineamento experimental de Plackett-Burman (PLACKETT e BURMAN, 1946).

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na FCBA/UFGD, Mato Grosso do Sul (MS), Brasil.

Isolados

Foram previamente selecionados dois isolados de leveduras pertencentes à coleção de culturas iniciadoras do GEFER/FCBA/UFGD. Dentre eles, um isolado de *Lodderomyces elongisporus* e um isolado de *Rhodotorula mucilaginosa*.

Ambas foram isoladas de uma bebida tradicional indígena (chicha) da região de Dourados, MS (RESENDE et al, 2018) e foram caracterizadas pelo grupo de pesquisa como potenciais secretoras de amilases, pectinases e celulases extracelulares.

Vinhoto

O vinhoto utilizado foi gerado no Laboratório de Bioquímica da FCBA/UFGD, através da fermentação de caldo de cana-de-açúcar por *Saccharomyces cerevisiae* LNFA11® e destilada em alambique de cobre.

Inoculação

O pré-inóculo foi obtido a partir da escala padrão de MacFarland 0,5, que corresponde a aproximadamente 10^7 UFC.mL⁻¹, segundo Lelliott e Stead (1987).

O desenho experimental foi baseado no modelo proposto por Plackett e Burman (PLACKETT e BURMAN, 1946), gerando 12 tratamentos diferentes, no qual a quantidade de cada variável avaliada é definida entre o mínimo e máximo, como mostrado na tabela 1. As variáveis testadas foram concentração no meio de extrato de levedura, glicose, peptona e fosfato de potássio, quantidade de vinhoto adicionado, pH do meio e temperatura de incubação. A contagem populacional (UFC.mL⁻¹) nos cultivos foi determinado a cada 24 h pelo método de espalhamento em superfície em meio YPD (Yeast 1 %, Peptone 2 %, Dextrose 2 % e ágar 2 %), sendo as placas incubadas a 30°C, por 48 h. A biomassa produzida após 168 h foi mensurada após centrifugação a 1400 rpm durante 5 minutos e seco em estufa em estufa a 105 °C até peso constante.

Os dados foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA), análise de regressão e teste Tuckey a 95 % de confiança pelo software Minitab 19 ® .

Sigla	Variáveis	Nível mínimo (-)	Nível máximo (+)
YS	Extrato de levedura (%)	0,5	2,5
GL	Glicose (%)	1,0	3
PE	Peptona (%)	0,5	2,5
PP	Fosfato de potássio (%)	0,02	0,1
VI	Vinhoto (v/v)	10	50
pH	pH	3	5
TE	Temperatura (°C)	28	36

Tabela 1. Níveis mínimos e máximos das variáveis testadas para o delineamento experimental Plackett-Burman.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dois isolados de levedura (*L. elongisporus* e *R. mucilaginoso*) foram testados quanto à produção de biomassa em diferentes formulações de meio de cultivo, contendo vinhoto como principal fonte de carbono.

A quantidade de biomassa produzida variou de 0,033 g.L⁻¹ a 66,213 g.L⁻¹, dependendo do isolado, seguindo o delineamento experimental proposto conforme mostra os resultados da Tabela 2 e da Tabela 3;

Tratamento	Variáveis							Biomassa (B) Produtividade (P)		
	YS	GL	PE	PP	VI	pH	TE	<i>R. mucilaginosa</i> B (g.L ⁻¹)	P (g.h ⁻¹)	
1	+	+	-	+	+	-	+	0,302	1,8x10 ⁻⁰³	e
2	+	-	-	-	+	+	+	0,065	4x10 ⁻⁰⁴	g
3	+	-	+	+	-	+	-	1,002	6x10 ⁻⁰³	a
4	+	+	-	+	-	-	-	0,745	4,4x10 ⁻⁰³	b
5	-	-	-	+	+	+	-	0,533	3,2x10 ⁻⁰³	c
6	+	-	+	-	-	-	+	0,054	3x10 ⁻⁰⁴	g
7	-	-	-	-	-	-	-	0,383	2,3x10 ⁻⁰³	d
8	-	+	+	-	+	-	-	0,221	1,3x10 ⁻⁰³	f
9	+	+	+	-	+	+	-	0,332	2x10 ⁻⁰³	de
10	-	+	-	-	-	+	+	0,033	2x10 ⁻⁰⁴	g
11	-	-	+	+	+	-	+	0,041	2x10 ⁻⁰⁴	g
12	-	+	+	+	-	+	+	0,058	3x10 ⁻⁰⁴	g

Tabela 2. Produção de biomassa microbiana e produtividade após 168 h de incubação da levedura *R. mucilaginosa* em diferentes tratamentos, utilizando o delineamento experimental Plackett-Burman.

YS= Extrato de levedura (%); GL= Glicose (%); PE= Peptona (%); PP= Fosfato de potássio (%); VI=Vinhoto (v/v) pH= pH; TE= Temperatura (°C); Médias que não compartilham uma letra são estatisticamente diferentes

Na Tabela 2 foi avaliada a produção de biomassa microbiana por *R. mucilaginosa* nos diferentes tratamentos. A maior quantidade de biomassa produzida e a produtividade (6x10⁻⁰³ g.h⁻¹) foi para o tratamento 3, neste tratamento foram avaliados as maiores concentrações de extrato de levedura e peptona, a menor concentração de vinhoto (10 % v/v), pH 5 e temperatura de incubação de 28 °C. A levedura apresentou melhor desempenho nos tratamentos com menor temperatura de incubação (28 °C) já que nos tratamentos com a maior temperatura de incubação (36 °C) foram os que apresentaram resultados inferiores, sendo o menor deles o tratamento 10, com 0,033 g.L⁻¹ de biomassa produzida.

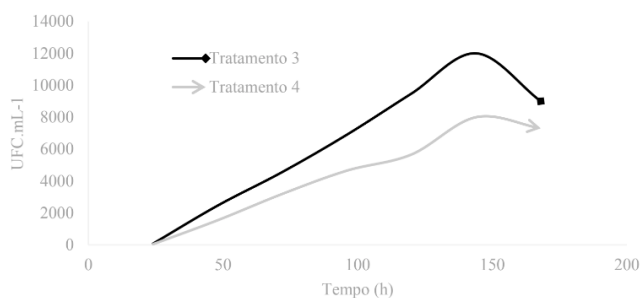


Figura 1. Contagem populacional (UFC.mL⁻¹) da levedura *R. mucilaginosa* nos tratamentos com melhores produtividades ao longo do cultivo.

Para a levedura *R. mucilaginosa*, de acordo com a Figura 1, as análises de contagem populacional mostram que o maior número de crescimento foi obtido após 144 h de incubação, sendo o tratamento 3 o de maior contagem (1,2x10⁴ UFC.mL⁻¹). O baixo crescimento populacional pode estar relacionado ao fato de que o tempo de duplicação da *R. mucilaginosa* é maior que o usual para leveduras mesmo em meios favoráveis, produzindo menor número de células e consequentemente apresentando uma menor produtividade de biomassa (DA SILVA et al, 2018).

Tratamento	Variáveis							Biomassa (B) Produtividade (P)		
	YS	GL	PE	PP	VI	pH	TE	B (g.L ⁻¹)	P (g.h ⁻¹)	
1	+	+	-	+	+	-	+	27,183	0,1618	e
2	+	-	-	-	+	+	+	26,95	0,1604	e
3	+	-	+	+	-	+	-	35,07	0,2088	d
4	+	+	-	+	-	-	-	66,213	0,3941	a
5	-	-	-	+	+	+	-	9,163	0,0545	g
6	+	-	+	-	-	-	+	34,073	0,2028	d
7	-	-	-	-	-	-	-	31,173	0,1856	de
8	-	+	+	-	+	-	-	51,416	0,3061	bc
9	+	+	+	-	+	+	-	15,183	0,0904	f
10	-	+	-	-	-	+	+	55,53	0,3305	b
11	-	-	+	+	+	-	+	50,033	0,2978	c
12	-	+	+	+	-	+	+	50,163	0,2986	c

Tabela 3. Produção de biomassa microbiana e produtividade após 168 h de incubação das leveduras *L. elongisporus* em diferentes tratamentos utilizando o delineamento experimental Plackett-Burman.

YS= Extrato de levedura (%); GL= Glicose (%); PE= Peptona (%); PP= Fosfato de potássio (%); VI=Vinhoto (v/v) pH= pH; TE= Temperatura (°C); Médias que não compartilham uma letra são estatisticamente diferentes.

A levedura *L. elongisporus* obteve resultados superiores com relação a *R. mucilaginosa* em todos os tratamentos, sendo a produtividade da *L. elongisporus* 98,5 % maior que o melhor resultado da *R. mucilaginosa*.

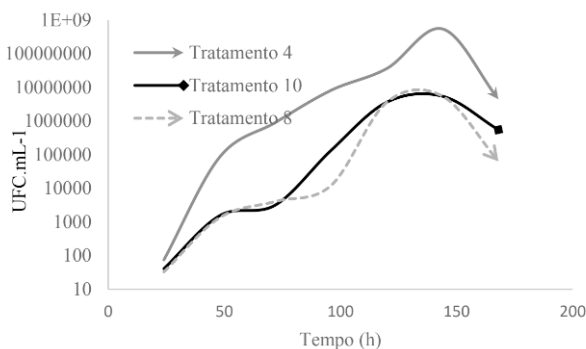


Figura 2. Contagem populacional (UFC.mL⁻¹) da levedura *L. elongisporus* nos tratamentos com maiores produtividades ao longo do cultivo.

Para o isolado *L. elongisporus*, (Tabela 3), a maior quantidade de biomassa microbiana foi obtida com o tratamento 4, tendo 0,39 g.h⁻¹ de produtividade, sendo ele estatisticamente superior aos demais tratamentos. Em seguida, o tratamento 10 apresentou a segunda maior produtividade (0,33 g.h⁻¹). Contudo, tanto o tratamento 10 quanto o tratamento 4 têm em sua composição a mínima concentração de vinhoto (10 % v/v). Quando analisamos o tratamento 8, que não se difere estatisticamente do tratamento 10, podemos observar uma alta produtividade de biomassa (0,306 g.h⁻¹) em um meio com a máxima concentração de vinhoto (50 % v/v).

Por essa razão o tratamento 8 se mostra o mais promissor, pois a levedura consegue crescer e produzir alta quantidade de biomassa no máximo de vinhoto avaliado. Além disso, demonstrou necessitar da mínima concentração de extrato de levedura, como fonte de nitrogênio, além de crescer em uma temperatura semelhante a ambiente (28° C) e o rendimento foi somente 22,32 % inferior ao tratamento 4.

A levedura *L. elongisporus* se mostrou de fácil adaptabilidade, mesmo em meios menos favoráveis, corroborando com os resultados de Rehman (2008), no qual foi avaliado a capacidade de crescimento da levedura em águas contaminadas por metais pesados, além do seu potencial em reduzir e tolerar íons (Cu²⁺, Zn²⁺, Hg²⁺, Ni²⁺, Cr⁶⁺, Pb²⁺ e Cd²⁺). Tendo um tempo de duplicação menor do que da *R. mucilaginosa* nos tratamentos testados e consequentemente obtendo resultados superiores.

Em um trabalho semelhante no qual se avaliou a produção de biomassa microbiana utilizando o vinhoto como substrato, dois isolados de *S. cerevisiae* (VR1 e PE2) se

destacaram como melhores resultados, apresentando produtividade de 0,1 g.L⁻¹ h⁻¹, nos tratamentos contendo 50 % v/v de vinhoto em sua formulação (SILVA et al, 2011). Em comparação com Silva et al (2011), a levedura *L. elongisporus* expressou resultados mais promissores com o tratamento 8, já que ele também possui em sua formulação 50 % v/v de vinhoto e apresentou 0,3061 g.h⁻¹ de produtividade. O uso dos isolados de *S. cerevisiae* (VR1 e PE2) para tratamento do vinhoto mostraram eficiência na redução de DBO (demanda bioquímica de oxigênio) em 51,56 %, DQO (demanda química de oxigênio) em 29,29 %, do nitrogênio em 66.70 %, além do nitrogênio amoniacal em 50 % (PIRES, 2016). Isso demonstra que a levedura *L. elongisporus* pode também apresentar essa mesma aplicação em estudos futuros.

Termo	Efeito	Coef	EP de Coef	Valor-T	Valor-P
Constante		5,965	0,224	26,64	0
Extrato de levedura (%)	-0,531	-0,265	0,224	-1,19	0,253
Glicose (%)	1,053	0,526	0,224	2,35	0,032*
Peptona (%)	0,396	0,198	0,224	0,88	0,39
Fosfato de potássio (%)	0,221	0,111	0,224	0,49	0,628
Vinhoto (v/v)	-1,406	-0,703	0,224	-3,14	0,006*
pH	-1,074	-0,537	0,224	-2,4	0,029*
Temperatura	0,686	0,343	0,224	1,53	0,145

Tabela 4. Efeitos dos fatores considerados no delineamento Plackett-Burman na produção de biomassa (g.L-1) pela levedura *L. elongisporus*.
significativo para p<0,05

Na Tabela 4 são apresentados os efeitos das variáveis na produção de biomassa. As variáveis vinhoto, glicose e pH possuem efeitos estatisticamente significativos (p <0,05) para a produção de biomassa. A variável vinhoto apresenta efeito negativo em relação a produção de biomassa, sendo que a cada 1 % (v/v) de vinhoto adicionado, a produção de biomassa diminuirá em 1,4 %. O mesmo ocorre com a variável pH, a cada 1 de pH elevado, a produção de biomassa diminuirá em 1,07 %. Já a variável glicose apresenta efeito positivo, toda vez que adicionado 1 % de glicose, a produção de biomassa aumentará em 1,05 %. Para a levedura *R. mucilaginosa* nenhuma variável apresentou efeito significativo para a produção de biomassa.

CONCLUSÃO

O planejamento experimental proposto por Plackett e Burman possibilitou a verificação dos efeitos das variáveis concentração no meio do extrato de levedura, glicose,

peptona e fosfato de potássio, quantidade de vinhoto adicionado, pH do meio e temperatura de incubação, e três se mostraram significativas. As variáveis vinhoto e pH apresentaram efeitos negativos e a variável glicose apresentou efeito positivo em relação a produção de biomassa pela levedura *L. elongisporus*. Nenhuma das variáveis avaliadas apresentaram efeitos significativos para a produção de biomassa para a levedura *R. mucilaginosa*.

A levedura *L. elongisporus* expressou resultados estatisticamente significativos, sendo o tratamento 8 o mais vantajoso, por apresentar em sua composição a maior quantidade de vinhoto (50 % v/v) e não ser estatisticamente diferente do tratamento 10 (10 % v/v de vinhoto), segundo melhor tratamento, e com rendimento de apenas 22,32 % inferior que o melhor tratamento. O tratamento que apresentou melhor resultado para a levedura *R. mucilaginosa* foi o 3, no geral a levedura apresentou difícil adaptação em todos os tratamentos.

Neste trabalho, a levedura *L. elongisporus* mostrou boa produtividade de biomassa em meio contendo vinhoto como principal fonte de carbono. Sua produção de biomassa foi considerável mesmo em alta concentração de vinhoto (50 % v/v), temperatura semelhante a ambiente (28 °C), requerimento de mínima concentração de nitrogênio e sem necessidade de agitação do meio de cultivo. Isso demonstra a viabilidade de uso desse isolado para produção de biomassa a partir de vinhoto em maiores escalas.

Para trabalhos futuros, seria interessante avaliar a capacidade de tratamento da *L. elongisporus* no vinhoto, e aumentar a escala, para verificar se o desempenho da levedura continua o mesmo.

REFERÊNCIAS

- Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. v. 6 - Safra 2019/20, n. 4 - Quarto levantamento, Brasília, p. 1-58 abril de 2019. Available from <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>> access on 01 jul. 2020.
- DA SILVA, J., DA SILVA, F. L. H., SANTOS, S. F. de M., et al. **Produção de biomassa e lipídios pela levedura *Rhodotorula mucilaginosa* utilizando a maniveira como substrato**. Brazilian Journal. Food Technology. Campinas, v. 21, e2017145, 2018. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198167232018000100461&lng=en&nrm=iso>. access on 02 Sept. 2019.
- DE SOUZA, J. K. C., MESQUITA, F. O., et al. **Fertirrigação com vinhaça na produção de cana-de-açúcar**. ACSA V. 11, n. 2, p. 7-12, abr - jun, 2015.
- LELLIOTT, R.A.; STEAD, D.E. **Methods for the diagnosis of bacterial plant disease**. Oxford: Blackwell, 1987. 216p.
- MARQUES, B. M., ZIN, G. B. **Desempenho ambiental de unidade industrial do setor sucroalcooleiro: Proposta de tratamento anaeróbio de digestão da vinhaça**. 2016. Trabalho de Formatura - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. 153p.

PIRES, J. F., FERREIRA, G., REIS, K. C., SCHWAN, R. F., SILVA, C. F. **Mixed yeasts inocula for simultaneous production of SCP and treatment of vinasse to reduce soil and fresh water pollution.** (2016). Journal of environmental management, 182, 455–463. Available from <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479716305436?via%3Dihub>> access on 10 jul. 2018.

PLACKETT, RL, BURMAN, JP, 1946. **The design of optimum multifactorial experiments.** Biometrika 33 (4), 305-325.

REHMAN, A., FAROOQ, H., HASNAIN, S. **Biosorption of copper by yeast, *Loddermyces elongisporus*, isolated from industrial effluents: Its potential use in wastewater treatment.** (2008) Journal of basic microbiology. 48. 195-201. 10.1002/jobm.200700324. Available from <https://www.researchgate.net/publication/5343847_Biosorption_of_copper_by_yeast_Loddermyces_elongisporus_isolated_from_industrial_effluents_Its_potential_use_in_wastewater_treatment> access on 10 aug. 2020.

RESENDE, L. V., PINHEIRO, L. K., MIGUEL, M. G., RAMOS, C. L., MARQUES, D. C. , SCHWAN, R. F. . **Microbial community and physicochemical dynamics during the production of “Chicha”, a traditional beverage of Indigenous people of Brazil.** WORLD JOURNAL OF MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY, v. 34, p. 46-55, 2018.

SILVA , F. C., ACURI L. S., CAMPOS, R. C, VILELA, M. D., et al. **Using the residue of spirit production and bio-ethanol for protein production by yeasts.** Lavras, v. 31, n. 1, p. 108-114, jan. 2011. Waste Management Available from <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956053X1000440X?via%3Dihub>> access on 10 jul. 2018.

SILVA, M. A. S. da; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C.. **Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático.** Rev. bras. eng. agríc. ambient., Campina Grande , v. 11, n. 1, p. 108-114, Feb. 2007 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141543662007000100014&lng=en&nrm=iso>. access on 31 Aug. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662007000100014>.

TASSO J. L. C., MARQUES, O. M., FRANCO, A. et al. **Produtividade e qualidade de cana-de-açúcar cultivada em solo tratado com lodo de esgoto, vinhaça e adubos minerais.** Eng. Agríc., Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 276-283, abr. 2007. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010069162007000100022&lng=en&nrm=iso>. access on 02 Sept. 2019.

VITTI, N. V. P. **Viabilização do uso da vinhaça concentrada com fertilizantes nitrogenados: aspectos agrônômicos e ambientais.** 2019. Tese (Doutorado em Química na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019. doi:10.11606/T.64.2020.tde-29012020-111418. access on 30, jul. 2019.

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DA *ACHYROCLINE SATUREIODES* (LAM.) DC. (MACELA)

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 27/09/2020

Ana Graziela Soares Rêgo Lobão

Unifacid Wyden – Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia e Atenção Básica em Saúde
Teresina-PI

<http://lattes.cnpq.br/3951581360468335>

RESUMO: As ferramentas de prospecção têm por objetivo identificar oportunidades ou ameaças futuras, antes de se iniciar um processo de desenvolvimento tecnológico. A *Achyrocline satureioides* é considerada uma planta medicinal e é uma droga vegetal oficial na Farmacopeia Brasileira. Na medicina popular é utilizada em infusões com ação ansiolítica, digestiva, carminativa, antiespasmódica, colagogo, eupéptica e emenagogo. É também utilizado na fabricação de cremes cosméticos por seu alto teor de flavonoides e antioxidantes. No entanto, seu principal uso comercial é como aromatizante na indústria de bebidas. Esse trabalho objetivou realizar um monitoramento tecnológico sobre a utilização da *A. satureioides* em tecnologias voltadas para serviços na área da saúde humana. Foram realizadas buscas de patentes depositadas nas bases EPO, INPI e LATIPAT, utilizando como palavras-chave o nome científico da espécie “*Achyrocline satureioides*” e o nome popular “macela”. Foi encontrado um total de 22 patentes, o banco de dados que apresentou o maior número de patentes foi o LATIPAT. Após

utilização dos critérios de inclusão e exclusão restaram um total de 8 patentes voltadas para a saúde humana. Existem poucas patentes depositadas envolvendo a *A. satureioides* em produtos voltados para saúde humana. Devido à espécie ser frequentemente encontrado na América do Sul, o Brasil é um dos países com grande facilidade de exploração do gênero, aumentando assim as possibilidades de produção científica e geração de novas patentes.

PALAVRAS - CHAVE: macela, fitoterapia, ervas, tecnologia.

TECHNOLOGICAL PROSPECTION OF *ACHYROCLINE SATUREIODES* (LAM.) DC. (MACELA)

ABSTRACT: The prospecting tools aim to identify future opportunities or threats, before starting a technological development process. *Achyrocline satureioides* is considered a medicinal plant and is an official vegetable drug in Brazilian Pharmacopoeia. In folk medicine it is used in infusions with anxiolytic, digestive, carminative, antispasmodic, collagogue, eupéptic and emenagogue actions. It is also used in the manufacture of cosmetic creams due to its high content of flavonoids and antioxidants. However, its main commercial use is as a flavoring in the beverage industry. This work aimed to carry out a technological monitoring on the use of *A. satureioides* in technologies aimed at services in the health area. Patent searches were carried out on the EPO, INPI and LATIPAT databases, using as keywords the scientific name of the species “*Achyrocline satureioides*” and the popular name “macela”. A total of 22 patents were found, the

database with the highest number of patents was LATIPAT. After using the inclusion and exclusion criteria, a total of 8 patents aimed at human health remained. There are few patents filed involving *A. satureioides* in products for human health. Because the species is frequently found in South America, Brazil is one of the countries with great ease of exploitation of the genus, thus increasing the possibilities for scientific production and the generation of new patents.

KEYWORDS: macela, herbal medicine, herbs, technology.

1 | INTRODUÇÃO

Estudos prospectivos vêm ganhando notoriedade no estímulo à organização de sistemas de inovação e, se bem administrado, é possível assegurar o entrelaçamento da ciência, com a tecnologia. As ferramentas de prospecção, entre as quais se destaca a utilização de informações tecnológicas contidas em bases de patentes, têm por objetivo identificar oportunidades ou ameaças futuras, antes de se iniciar um processo de desenvolvimento tecnológico (PATEL, 2018).

Atualmente as plantas medicinais representam 25% dos fármacos utilizados, o que se deve à imensa diversidade da flora mundial e à importantes propriedades terapêuticas já conhecidas e descritas pela literatura científica. Várias são as pesquisas realizadas que contribuem significativamente para o desenvolvimento e uso dessas espécies vegetais, comprovando efeitos terapêuticos e possibilitando a sua utilização para tratamento de patologias (KALLUF, 2008).

Achyrocline satureioides (Asteraceae), popularmente conhecida como “macela”, é uma das 25 *Achyrocline* spp. descritas em território brasileiro. *A. satureioides* é uma erva aromática de tamanho médio, comumente encontrado na América tropical e subtropical. No sul do Brasil, a erva medicinal *A. satureioides* é tradicionalmente coletada na madrugada da “sexta-feira santa”. Esse fato curioso se deve a uma crença popular, onde acredita-se que os teores de substâncias químicas da *A. satureioides* atingem níveis mais elevados nesse período. Essa coleta é realizada antes do nascer do sol e as flores naturalmente secas são utilizadas ao longo do ano para tratar diversos distúrbios gastrointestinais (GALVAN, 2018; SALGUEIRO, 2016).

A. satureioides é considerada uma planta medicinal e é uma droga vegetal oficial na Farmacopeia Brasileira. Na medicina popular é utilizada em infusões com ação ansiolítica, digestiva, carminativa, antiespasmódica, colagogo, eupéptica e emenagogo. Estudos anteriores in vivo e in vitro confirmaram o uso tradicional de *A. satureioides* como anti-inflamatório, hepatoprotetor, antioxidante, imunomodulador, antimicrobiano, antitumoral e fotoprotetor (GUARINIELLO, 2018; SALGUEIRO, 2016, BRASIL, 2019).

É também utilizada na fabricação de cremes cosméticos por seu alto teor de flavonoides e antioxidantes. Investigações sobre a sua composição química encontraram os flavonoides quercetina, 3-O-metilquercetina e luteolina como os principais compostos

em extratos de inflorescências de *A. satureioides*. No entanto, seu principal uso comercial é como aromatizante na indústria de bebidas; especialmente, como parte da composição de inúmeras bebidas à base de plantas, com ou sem álcool (GUARINIELLO, 2018; SALGUEIRO, 2016).

Esse trabalho objetivou realizar um monitoramento tecnológico sobre a utilização da *A. satureioides* em tecnologias voltadas para serviços na área da saúde humana.

2 | METODOLOGIA

Foi realizada uma busca de patentes depositadas nas bases de dados do Escritório Europeu de Patentes, EPO (ESPACENET); Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) (Brasil) e LATIPAT (América Latina e Espanha), utilizando como palavras-chave o nome científico da espécie “*Achyrocline satureioides*” e o nome popular “macela”, incluindo neste estudo as patentes que mencionassem essas palavras-chave no título e/ou resumo, considerando todos os pedidos de patente depositados.

Na base de dados INPI, as patentes foram pesquisadas utilizando-se as palavras-chave contidas no título e no resumo, bem como no LATIPAT e EPO. As pesquisas foram realizadas durante o mês de setembro de 2020. Posteriormente, foram definidos os critérios de exclusão: patentes duplicadas/cruzadas nas bases de dados; títulos e trabalhos não voltados para a saúde humana e como critérios de inclusão, patentes explorando a espécie *A. satureioides* e sua utilização no setor da saúde. Os resultados das análises de patentes estão representados em tabelas e gráficos, levando-se em consideração o número de patentes e sua classificação de acordo com o Código Internacional de Patentes (CIP).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na busca de patentes, foi encontrado um total de 22 patentes (tabela 1), sendo 11 com o nome científico da planta “*Achyrocline satureioides*” e 13 com o nome popular “macela”, nos campos de título e/ou resumo (gráfico 1). Esses dados demonstram que o nome popular é mais utilizado que o nome científico da planta.

PALAVRAS-CHAVE	EPO	LATIPAT	INPI
<i>Achyrocline satureioides</i>	3	6	4
Macela	3	6	6

Tabela 1: Relação das patentes encontradas de acordo com as palavras-chave em cada base de dados.

Fonte: Pesquisa bibliográfica (2020).

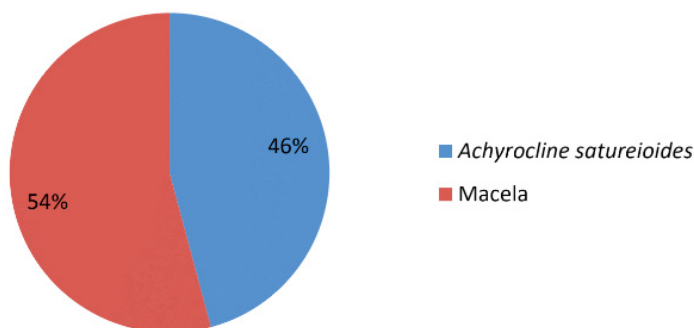


Gráfico 1: Total de patentes depositadas nos bancos de dados de patentes com o nome científico ou com o nome popular presentes no título e/ou resumo.

Fonte: Pesquisa bibliográfica (2020).

O banco de dados que apresentou o maior número de patentes foi o LATIPAT, onde apresentou 6 patentes utilizando a palavra-chave “*Achyrocline satureioides*” e 6 patentes utilizando a palavra-chave “macela”. A base de dados latino americana teve o maior número de patentes seguida da base de dados nacional INPI, onde foi encontrado um total de 10 patentes, destacando que a planta também é de grande interesse na região da América do Sul. Na base de dados EPO foram encontradas 6 patentes.

Após utilização dos critérios de inclusão e exclusão restaram um total de 8 patentes voltadas para a saúde humana, que estão listadas na tabela 2 de acordo com o CIP, título da patente, número do pedido, base de dados e ano de pedido de patente.

CIP	TÍTULO DA PATENTE	NÚMERO DO PEDIDO	BASE DE DADOS	ANO
A61K 36/28, A61L 15/40, A61P 17/02, A61P 23/02	FILME CICATRIZANTE, ANESTÉSICO E ANTI-INFLAMATÓRIO; COMPOSIÇÃO E SEUS USOS	BR 10 2016 020041 5 A2	INPI	2016
A61K31/353	PREPARAÇÃO LIPOSSÔMICA DE ACHYROCLINE SATUREIOIDES ("MARCELA"), FLAVONOIDES E DERIVADOS SEMISINTÉTICOS, PARA A PROTEÇÃO DO TECIDO CEREBRAL CONTRA DANOS ISQUÊMICO-VASCULARES E NEURODEGENERATIVOS	UY20010026816 20010704	LATIPAT	2014
A61K8/97	AGENTE ATIVO DE ILUMINAÇÃO CONTENDO EXTRATOS DE PLANTA, SEUS USOS E COMPOSIÇÕES CONTENDO OS MESMOS	WO2015176147A1	EPO	2014
A61K 36/28, A61P 17/10, A61P 29/00	PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UM EXTRATO PADRONIZADO DE QUERCETINA E 3-O-METILQUERCETINA DE FLORES E MACELA (ACHYROCLINE SATUREIOIDES), E COMPOSIÇÕES COSMÉTICAS E FARMACÊUTICAS COMPREENDENDO O REFERIDO EXTRATO	BR 11 2012 014566 5 A2	INPI	2012
A61K 36/28, A61K 9/22	COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA ANTIVIRAL PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA E SEU PROCESSO DE PREPARAÇÃO	PI 1001528-0 A2	INPI	2010
A61P17/14	EXTRATO ALCOÓLICO DE TROPAEOLUM MAJUS L. E ACHYROCLINE SATUREIOIDES PARA O TRATAMENTO DA ALOPECIA ANDROGENÉTICA	UY20030027818 20030521	LATIPAT	2010
A61K 36/28, A61P 11/00	COMPLEMENTO ALIMENTAR PARA AUXILIAR NO TRATAMENTO E CONTROLE DE PROBLEMAS NO SISTEMA RESPIRATÓRIO	PI 0602738-5 A2	INPI	2006
A61K8/00	PREPARAÇÃO DE PELE PARA USO EXTERNO	JPH10226619A	EPO	1997

Tabela 2: Classificação de patentes relacionadas quanto ao CIP, título, número do pedido, base de dados e ano.

Fonte: Pesquisa bibliográfica (2020).

Das patentes encontradas no INPI observamos tecnologias voltadas para a área da saúde humana que descrevem o uso da planta em um novo processo de extração para obter um extrato padronizado de quercetina e 3-o-metilquercetina de inflorescências de macela para uso cosmético, uma composição farmacêutica antiviral onde ocorre a liberação controlada do fármaco através de um muco-adesivo bucal para liberação controlada, um filme cicatrizante, anestésico e anti-inflamatório e na forma de um complemento alimentar para auxiliar no tratamento e controle de problemas no sistema respiratório. Nas patentes encontradas na base de dados LATIPAT encontramos tecnologias voltadas para o tratamento de alopecia e para proteção do tecido cerebral. E na base de dados do EPO foram encontradas tecnologias voltadas para o desenvolvimento de um produto clareador para a pele e de uma preparação cutânea de uso externo com ação antioxidante.

Foi observado que existe uma variedade de utilização da *A. saturoioides* em patentes voltadas para serviços em saúde humana, porém nem todos os usos descritos pela medicina popular, através de estudos etnofarmacológicos, são abrangidos. Evidenciando que ainda existem muitas possibilidades de inovação e desenvolvimento voltados para esta planta medicinal.

Na evolução temporal foram utilizadas somente as patentes que entraram nos critérios de inclusão e exclusão. Observamos que os anos de 2010 e 2014 foram os anos com maior número de pedidos de patentes ocorrendo declínio de pedidos de patentes nos anos seguintes. Esses achados demonstram pouco investimento em pesquisa e desenvolvimento voltados para a *A. saturoioides* na área da saúde humana.

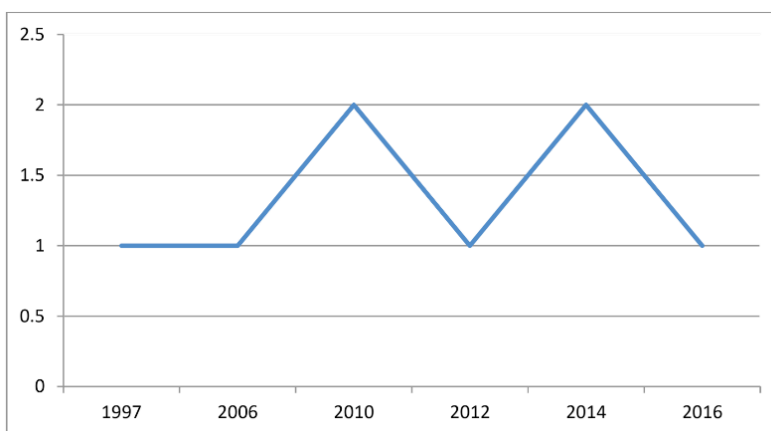


Gráfico 2: Evolução temporal de pedidos de patentes.

Fonte: Pesquisa bibliográfica (2020).

4 | CONCLUSÕES

Existem poucas patentes depositadas envolvendo a *A. saturoioides* em produtos voltados para saúde humana. Devido à espécie ser frequentemente encontrado na América do Sul, o Brasil é um dos países com grande facilidade de exploração do gênero, aumentando assim as possibilidades de produção científica e geração de novas patentes.

As patentes analisadas deixam claro que a espécie apresenta grande potencial para o desenvolvimento de produtos que visem o tratamento de diversas patologias encontradas nos seres humanos, vindo a servir tanto como fitoterápicos e/ou complementos alimentares, como também, em cremes de uso tópico e outros produtos em saúde. Porém, necessita de mais investimentos voltados para o setor de pesquisa, desenvolvimento e inovação.

REFERÊNCIAS

SALGUEIRO, A.; FOLMER, V.; ROSA, H.S.; COSTA, M.T; BOLIGON, A.A.; PAULA, F.R. et al. **In vitro** and **in silico** antioxidant and toxicological activities of **Achyrocline satureioides**. Journal of Ethnopharmacology, v. 194, p. 6-14, 2016.

GALVAN, N.S. **Teores de elementos essenciais e não essenciais em Achyrocline satureioides**. Dissertação, 65 p. UDESC, 2018.

GUARINIELLO, J.; IANNICELLI, J.; PERALTA, P.A.; ESCANDON, A.S. **Propagação in vivo e in vitro da “macela”: planta medicinal aromática nativa com potencial ornamental**. Ornam. Hortic. v. 24, n. 4, p. 361-370, 2018.

PATEL, N.F.; PEZOTI, A.R.; FERNANDES, D.Z.; Malfatti, C.R.M.; CRISOSTIMO, C.; SAVIGHAGO, V.K. **Technological assessment of Biological Activity and Technological Processes using Baccharis Genus Based on Patent applications**. Cadernos de Prospecção – Salvador, v. 11, n. 2, p. 628-639, 2018.

KALLUF, L. J. H. **Fitoterapia funcional: dos princípios ativos à prescrição de fitoterápicos**. 1. ed. São Paulo: VP Editora, 2008.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. – ANVISA, 2019.

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DA ECHINODORUS GRANDIFLORUS (CHAPÉU-DE-COURO)

Data de aceite: 01/12/2020

Data da submissão: 12/10/2020

Ana Graziela Soares Rêgo Lobão

UniFacid Wyden - Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia e Atenção Básica em Saúde
Teresina-PI

<http://lattes.cnpq.br/3951581360468335>

RESUMO: Estudos mundiais sobre a eficácia e o valor das plantas medicinais estão se acelerando, especialmente em países contendo uma biodiversidade expansiva com longa história na medicina tradicional. No Brasil, a espécie *Echinodorus grandiflorus*, comumente conhecida como “chapéu-de-couro”, possui várias indicações etnobotânicas com as propriedades mais frequentemente atribuídas sendo anti-hipertensivo, anti-inflamatório, diurético e antioxidante. O objetivo do estudo foi realizar um breve resumo sobre o uso tradicional e científico da *E. grandiflorus* e realizar um levantamento tecnológico a fim de identificar possíveis patentes relacionadas ao uso da *E. grandiflorus* em produtos voltados para a saúde humana. Foi realizado busca de patentes depositadas nas bases de dados EPO, INPI e LATIPAT, utilizando como palavras-chave o nome científico da espécie “*Echinodorus grandiflorus*” e o nome popular “chapéu-de-couro”, incluindo neste estudo as patentes que mencionassem essas palavras-chave no título e/ou resumo, considerando todos os pedidos de patente depositados. Na busca de

patentes nos três bancos de dados foi encontrado um total de 22 patentes. Após a análise dos critérios de exclusão foram selecionados 8 patentes que atendiam ao objetivo deste estudo. Observa-se que existe um espaçamento temporal nos depósitos de patentes além do número reduzido nos pedidos de patentes. Apesar de todas as indicações tradicionais, a literatura de pesquisa científica apoia principalmente duas indicações etnobotânicas para seu uso: como um anti-inflamatório natural e uma planta medicinal diurética / anti-hipertensiva. As evidências científicas para essas indicações vêm de experimentos realizados com modelos de cultura de células in vitro e in vivo usando ratos saudáveis e hipertensos. O extrato bruto e as frações enriquecidas desta espécie têm potencial para gerar inovação na preparação de formulações tópicas ou orais para uso de alternativa complementar em diversas doenças crônicas.

PALAVRAS - CHAVE: biodiversidade, inovação, fitoterápicos, produtos naturais.

TECHNOLOGICAL PROSPECTION OF ECHINODORUS GRANDIFLORUS (LEATHER HAT)

ABSTRACT: Worldwide studies on the effectiveness and value of medicinal plants are accelerating, especially in countries containing an expansive biodiversity with a long history in traditional medicine. In Brazil, the species *Echinodorus grandiflorus*, commonly known as “leather hat”, has several ethnobotanical indications with the properties most often attributed to being antihypertensive, anti-inflammatory,

diuretic and antioxidant. The objective of the study was to carry out a brief summary on the traditional and scientific use of *E. grandiflorus* and to carry out a technological survey in order to identify possible patents related to the use of *E. grandiflorus* in products aimed at human health. A search for patents filed in the EPO, INPI and LATIPAT databases was carried out, using as keywords the scientific name of the species “*Echinodorus grandiflorus*” and the popular name “leather hat”, including in this study the patents that mentioned these keywords in the title and / or summary, considering all patent applications filed. In the search for patents in the three databases, a total of 22 patents were found. After analyzing the exclusion criteria, 8 patents were selected that met the objective of this study. It is observed that there is a time spacing in patent filings in addition to the reduced number in patent applications. Despite all the traditional indications, the scientific research literature mainly supports two ethnobotanical indications for its use: as a natural anti-inflammatory and a diuretic / antihypertensive medicinal plant. The scientific evidence for these indications comes from experiments carried out with cell culture models in vitro and in vivo using healthy and hypertensive rats. The crude extract and enriched fractions of this species have the potential to generate innovation in the preparation of topical formulations or to use a complementary alternative in several chronic diseases.

KEYWORDS: biodiversity, innovation, herbal medicines, natural products.

1 | INTRODUÇÃO

Medicamentos valiosos e de base natural estão atualmente disponíveis a partir de relatos sobre seu uso anterior como medicamentos tradicionais. Quase 25% de todos os medicamentos usados nos países desenvolvidos são produzidos direta ou indiretamente a partir de produtos naturais. Para medicamentos antitumorais e antimicrobianos, quase 70% têm origem em fontes naturais, incluindo a semissíntese de precursores naturais. Estudos mundiais sobre a eficácia e o valor das plantas medicinais estão aumentando, especialmente em países contendo uma biodiversidade expansiva com longa história na medicina tradicional. No entanto, a pesquisa e o desenvolvimento de novos produtos medicinais de fontes naturais é um desafio nos países em desenvolvimento, onde um número limitado de plantas foi avaliado farmacologicamente (MARQUES, 2017).

No Brasil, a espécie *Echinodorus grandiflorus*, comumente conhecida como “chapéu-de-couro”, possui várias indicações etnobotânicas, como a ação anti-hipertensiva, anti-inflamatória, diurética e antioxidante. A planta faz parte da Farmacopeia Brasileira, porém não está presente na lista RENISUS – Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS.

Na literatura, relatos mostraram que o extrato bruto etanólico das folhas da *E. grandiflorus* apresentou atividade anti-hipertensiva significativa em ratos (TIBIRIÇA, 2007). Outras investigações farmacológicas sugeriram que um efeito anti-hipertensivo pode ser observado a partir da administração oral de um extrato hidroalcoólico sem causar toxicidade aparente em ratos (CONCEIÇÃO, 2011). Estudos etnofarmacológicos de espécies com

propriedades cardiovasculares podem levar à descoberta de novos potenciais fármacos, bem como, para comprovar, o uso adequado de plantas tradicionais como adjuvantes em terapias convencionais (MARQUES, 2017).

O objetivo do estudo foi realizar um breve resumo sobre o uso tradicional e científico da *E. grandiflorus* e realizar um levantamento tecnológico a fim de identificar possíveis patentes relacionadas ao uso da *E. grandiflorus em produtos voltados para a saúde humana*.

2 | METODOLOGIA

Foi realizada uma busca de patentes depositadas nas bases de dados: Escritório Europeu de Patentes, EPO (Espacenet); Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) (Brasil) e LATIPAT (América Latina e Espanha), utilizando como palavras-chave o nome científico da espécie “*Echinodorus grandiflorus*” e o nome popular “chapéu-de-couro”, incluindo neste estudo as patentes que mencionassem essas palavras-chave no título e/ou resumo, considerando todos os pedidos de patentes depositados.

Na base de dados do INPI, as patentes foram pesquisadas utilizando-se as palavras-chave contidas no título e no resumo, bem como no LATIPAT e EPO. As pesquisas foram realizadas durante o mês de setembro de 2020. Posteriormente, foram definidos os critérios de exclusão: patentes duplicadas/cruzadas nas bases de dados, títulos e trabalhos não voltados para a saúde humana e como critérios de inclusão patentes explorando a espécie *E. grandiflorus* e sua utilização no setor da saúde. Os resultados das análises patentárias estão representados em tabelas e figuras, levando-se em consideração o número de patentes e a classificação de acordo com o Código Internacional de Patentes (CIP).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na busca de patentes nos três bancos de dados foi encontrado um total de 22 patentes a partir da pesquisa com as palavras-chave, sendo 11 (50%) com o nome científico da planta *E. grandiflorus* e 11 (50%) com o nome popular “chapéu-de-couro” nos campos de título e/ou resumo. As patentes foram classificadas quanto à palavra-chave e à base de dados pesquisada. Os resultados estão expostos na Tabela 1. A partir dos resultados encontrados, verifica-se que o número de patentes nacionais e internacionais é baixo.

PALAVRAS-CHAVE	EPO	LATIPAT	INPI
<i>Echinodorus</i>	1	5	5
<i>grandiflorus</i>			
chapéu-de-couro	1	5	5

Tabela 1 – Relação das patentes encontradas de acordo com as palavras-chave em cada base de dados.

Fonte: Elaborado pelo autor do artigo.

Após a análise dos critérios de exclusão foram selecionados 8 patentes que atendiam ao objetivo deste estudo. A análise temporal esta descrita no Gráfico 1 e todas as patentes selecionadas foram classificadas de acordo com o CIP e os dados estão expostos na Tabela 2.

O número de patentes depositadas de acordo com o ano de depósito está esquematizado no Gráfico 1. Observa-se que existe um espaçamento temporal além do número reduzido nos pedidos de patentes. Vale ressaltar que esses pedidos referem-se somente a tecnologias voltadas para a saúde humana.

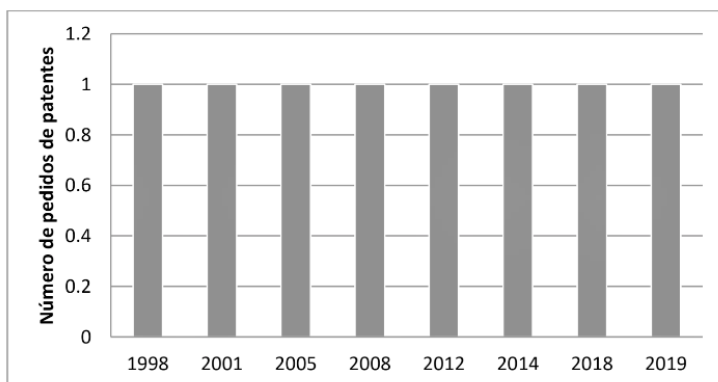


Gráfico 1: Número de patentes depositadas por ano.

Fonte: Elaborado pelo autor do artigo.

CIP	PATENTE	DESCRIÇÃO	ANO
A61K8/00, A61Q1/00	PREPARAÇÃO PARA USO EXTERNO PARA PELE	Preparo para uso externo para a pele, eficaz na prevenção e redução da caspa e queda de cabelos, além de promover a produção de cabelos e ter excelentes ações inibidoras das atividades da tirosinase.	1998
A61P 17/14	COMPOSIÇÃO COSMÉTICA NATURAL PARA CREME, SHAMPOO ANTI- QUEDA, SHAMPOO PARA MATAR PIOLHOS E CONDICIONADOR	A presente invenção, refere-se à composição cosmética natural para fabricação de creme, shampoo anti-queda, shampoo para matar piolhos e condicionador, as composições contêm elementos especiais que usados conforme indicação, produzem resultados positivos para os cabelos com maior rapidez e economia.	2001
A61K 31/00	COMPLEMENTO ALIMENTAR PARA AUXILIAR NO TRATAMENTO E CONTROLE DE VITILIGO	A presente formula vem para exercer a função de coadjuvante no tratamento e controle de Vitiligo.	2005
A61K 36/884, A61K 36/00	EXTRATO HIDROALCOÓLICO 75% DAS FOLHAS DE Echinodorus macrophyllus MICHELL, COM ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA E ANALGÉSICA	A invenção trata de um extrato hidroalcoólico 75% (EIIEm) obtido a partir das folhas de Echinodorus macrophyllus Micheil (chapéu-de-couro), com ação antiinflamatória aguda sistêmica e tópica, analgésica periférica e central e aparente ausência de toxicidade aguda e sub-crônica orais, em modelos experimentais animais.	2008
A61K 36/18, A61K 36/28, A61K 36/899, A61P 1/18	AÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS DE PLANTAS SOBRE LIPASE PANCREÁTICA	O presente invento consiste na inibição enzimática da lipase pancreática por extratos metanólicos de quatro plantas naturais do Brasil, sendo chapéu de couro (Echinodorus grandiflorus (Cham. & Schltdl.) Micheli.), cana do brejo (Costus spicatus (Jacq.) S.W.), capim limão (Cymbopogon citratus (DC) Stapf) e carqueja (Baccharis trimera (Less.) DC).	2012
A61K 31/194, A61K 36/884, A61P 19/02, A61P 29/00	COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO ÁCIDOS ACONÍTICOS DE FOLHAS DE ECHINODORUS GRANDIFLORUS E USO NO TRATAMENTO DE ARTRITE	A presente invenção descreve uma composição farmacêutica contendo os ácidos cis e/ou trans-aconítico (ácido prop-1-ene-1,2,3-tricarboxílico), obtidos a partir de folhas de Echinodorus grandiflorus, para o tratamento de artriterreumatóide e osteoartrite.	2014

A61K 36/884, A61K 127/000, A61P 19/02	COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO UMA FRAÇÃO RICA EM FLAVONÓIDES DE FOLHAS DE ECHINODORUS GRANDIFLORUS E USO NO TRATAMENTO DE ARTRITE	A presente invenção descreve uma composição farmacêutica contendo uma fração padronizada rica em flavonóides, a qual é composta por 5,5 a 16,5% massa/massa (m/m) de isoorientina, 1,5 a 4,5% m/m de isovitexina, 3,5 a 10,5% m/m de swertijaponina (expresso em isoorientina) e 1 a 3% m/m de swertisina (expresso em isovitexina), obtida a partir de folhas <i>Echinodorus grandiflorus</i> , e excipientes farmacêuticamente aceitáveis para o tratamento de artrite reumatóide e osteoartrite.	2018
A61K 36/884, A61K 127/00, A61K 135/00, A61P 3/06M A61P 9/10	FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA ORAL OBTIDA ATRAVÉS DA TÉCNICA DE INFUSÃO DO EXTRATO DE ECHINODORUS GRANDIFLORUS	A presente invenção descreve uma composição farmacêutica oral compreendendo Extrato de <i>Echinodorus grandiflorus</i> (chapéu de couro), em um veículo líquido, bem como a um processo para seu preparo.	2019

Tabela 2: Classificação das patentes selecionadas de acordo com o CIP.

Fonte: Elaborado pelo autor do artigo.

A espécie *E. grandiflorus*, popularmente conhecida como “chapéu-de-couro”, é utilizada como planta medicinal no tratamento de diversas enfermidades no Brasil. Apesar de todas as indicações tradicionais, a literatura de pesquisa científica apoia principalmente duas indicações para seu uso: como um anti-inflamatório natural e uma planta medicinal diurética / anti-hipertensiva. As evidências científicas para essas indicações vêm de experimentos realizados com modelos de cultura de células *in vitro* e *in vivo* usando ratos saudáveis e hipertensos (MARQUES, 2017).

As plantas do gênero *Echinodorus* pertencente à família Alismataceae que ocorrem, predominantemente, em terrenos brejosos e ácidos de todo o continente Americano. Em meio a quase 27 espécies de *Echinodorus*, as mais amplamente estudadas do ponto de vista químico e biológico são *Echinodorus grandiflorus* e *Echinodorus macrophyllus*, ambas conhecidas popularmente no Brasil como chapéu-de-couro, possuem características botânicas e propriedades medicinais semelhantes (LOPES, 2012; ALVES, 2011). O gênero é composto por espécies aquáticas que crescem comumente submersas na água e apresentam grandes folhas coriáceas, que dão origem ao seu nome, “chapéu-de-couro”. Muitas das espécies possuem inflorescências caracterizadas por delicadas flores brancas que são amplamente utilizadas na ornamentação (HAYNES E HOLM-NIELSEN, 1995).

O material vegetal mais comumente utilizado é composto pelas partes aéreas, normalmente utilizadas em preparações medicinais. No entanto, alguns estudos também

citam o uso de rizomas na medicina tradicional. Dados da literatura mostram que seus rizomas são utilizados como cataplasma para hérnias, enquanto as partes aéreas, ou apenas as folhas, são utilizadas principalmente como diurético e tônico, que é indicado para fins depurativos e utilizado para inúmeras condições como doenças hepáticas, problemas renais (incluindo cálculos renais) e inflamação da bexiga. De acordo com esses usos, um extrato de metanol feito dos rizomas foi considerado por seu uso potencial em terapias para o controle da dor e inflamação. Os resultados sugeriram que o extrato metanólico dos rizomas do “chapéu-de-couro” possuía propriedades analgésicas que agiam sobre o sistema nervoso central e periférico, com componentes ativos apresentando propriedades antinociceptivas e anti-inflamatórias, que poderiam ser de alto valor como uma terapia alternativa para dor e inflamação (MARQUES, 2017).

A infusão de folhas de “chapéu-de-couro” em um chá também é usada para tratar desconfortos relacionados a reumatismo e artrite. Como gargarejo ou enxaguatório bucal, infusões aquosas têm sido indicadas para problemas de inflamação da garganta, como amigdalite e faringite, estomatite e gengivite, os chás podem combater a inflamação da garganta e promover a cicatrização de feridas (MARQUES, 2017).

Em relação as características fitoquímicas a *E. grandiflorus* apresenta em suas folhas diterpenos (do tipo clerodano e cembrano), flavonoides (C-heterosídeos de flavonas como a isoorientina e a swertiajaponina), derivados do ácido *o*-hidroxicinâmico (ácidos chicórico e cafético), esteróides, ácidos graxos, arilpropanóides simples (ácido cafeico, ferúlico e isoferúlico) e ácido *trans*-aconítico (DIAS, 2013).

Curiosamente, extratos da espécie, que se correlacionam com suas propriedades diuréticas, têm sido usados na fabricação de dois refrigerantes no Brasil. Desde 1947 o refrigerante “Mate Couro®” é fabricado com a *E. grandiflorus* e o refrigerante “Mineirinho®” desde 1974. Essas bebidas são produzidas e consumidas popularmente principalmente nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais no Brasil (LIMA, 2006; BRUGIOLO, 2010). No entanto, apesar deste longo uso comercial de extratos de “chapéu-de-couro”, o uso de matérias-primas na forma de chás caseiros como preparações fitoterápicas ainda estão em estágios preliminares de estudo sobre os efeitos de seu uso e efeitos toxicológicos de longo prazo (LORENZI & MATOS, 2002).

4 | CONCLUSÃO

A espécie possui grande potencial para gerar inovação em preparações de formulações tópicas ou orais e ser usada como uma alternativa complementar em diversas doenças crônicas. Esse fato é animador, visto que essa espécie de planta já é popularmente utilizada. Existe uma necessidade urgente de estudar e registrar o conhecimento valioso dos medicamentos tradicionais, bem como da pesquisa em medicina de fontes naturais. Apesar do enorme potencial biológico do Brasil, o investimento na pesquisa, inovação e

produção de novos medicamentos a partir de espécies nativas são escassos.

REFERÊNCIAS

MARQUES, A.M.; PROVANCE, D.W.; KAPLAN, M.A.C.; FIGUEIREDO, M.R. **Echinodorus grandiflorus: Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological overview of a medicinal plant used in Brazil.** Food Chem Toxicol. v. 109(Pt 2), p. 1032-1047, 2017.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira.** 6. ed. – ANVISA, 2019.

BRASIL. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS).** Ministério da Saúde, 2020.

TIBIRIÇÁ, E., et al. **Pharmacological mechanisms involved in the vasodilator effects of extracts from Echinodorus grandiflorus.** J. Ethnopharmacol. v. 111, n. 1, p. 50–55, 2007.

CONCEIÇÃO, F.G. **Efeitos anti-hipertensivos e microcirculatórios do extrato hidroalcoólico de Echinodorus grandiflorus (chapéu de couro) em ratos espontaneamente hipertensos.** Dissertação, 59p. Msc. in Sciences. Instituto Oswaldo Cruz. Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular. Rio de Janeiro - RJ, Brasil, 2011.

ALVES, J.A.A. **Echinodorus grandiflorus Chapéu-de-couro. Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial.** Plantas para o Futuro - Região Sul. p. 608- 614. Brasília – DF, 2011.

HAYNES, R.R., HOLM-NIELSEN, L.B. **Flora of the Venezuelan Guayana.** vol. 2. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 1995.

BRUGIOLO, S.S.S. **Avaliação da toxicidade do extrato aquoso liofilizado de chapéu-de-couro (Echinodorus grandiflorus) em ratas prenhes.** 86p. PhD Thesis - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora - MG, Brasil, 2010.

LIMA, E.C. **Análise química e genotóxica de Echinodorus grandiflorus: suporte biotecnológico na preparação farmacêutica de extratos vegetais seguros para uso medicinal.** 124f. MSc Dissertation. (Mestrado em Biotecnologia Vegetal) – UFRJ, Rio de Janeiro – RJ, Brasil, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** 2 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LOPES, G.C.; SANTOS, P.V.P.; DÍCIAULA, M.C.; BLAINSKI, A.; GUTIERRE, M.A.M.; MELLO, J.C.P. **Validação de metodologia analítica para a determinação de derivados do ácido o-hidroxycinnâmico de Echinodorus grandiflorus.** Rev. bras. plantas med. v. 14, n. 3, p. 500-505, 2012.

DIAS, E.G.E.; VALENZUELA, V.C.T.; ALVES, M.R.; DUARTE, M.G.R.; GARCIA, E.F. **Qualidade e autenticidade de folhas de chapéu-de-couro (Echinodorus grandiflorus) oriundas de fornecedores de São Paulo.** Rev. bras. plantas med. v. 15, n. 2, p. 250-256, 2013.

PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DA SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI (ANACARDIACEAE) – AROEIRA VERMELHA

Data de aceite: 01/12/2020

Ana Graziela Soares Rêgo Lobão

UniFacid Wyden - Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia e Atenção Básica em Saúde
Teresina-PI
<http://lattes.cnpq.br/3951581360468335>

RESUMO: As ervas e especiarias são de grande importância comercial, em particular, *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). Essa planta fornece um fruto, utilizado como condimento refinado na culinária mundial, devido ao seu sabor macio, levemente apimentado e de boa aparência. É tradicionalmente empregada na medicina popular para o tratamento de infecções urinárias, infecções respiratórias, feridas e reumatismo. O extrato da casca do caule é amplamente utilizado como anti-inflamatório, para cicatrizar feridas, enquanto as frutas são utilizadas para resfriados, infecções fúngicas e bacterianas. A *S. terebinthifolius* possui importância comercial por se tratar de uma planta com propriedades medicinais, fitoquímicas e alimentícias, pelo uso de seus frutos na cozinha nacional e internacional. O trabalho objetivou realizar um levantamento tecnológico a fim de identificar sobre as possíveis formas de utilização da *S. terebinthifolius* em produtos voltadas para serviços na área da saúde humana. Foi realizada uma busca de patentes depositadas nas bases de dados, EPO, INPI e LATIPAT, utilizando como palavras-chave o nome científico

da espécie “*Schinus terebinthifolius* Raddi” e os nomes populares “aroeira vermelha” e “pimenta rosa”, incluindo patentes que mencionassem essas palavras-chave no título e/ou resumo, considerando todos os pedidos de patente depositados. Após a busca foi encontrado um total de 38 patentes. Os bancos de dados com maior número de patentes foram LATIPAT e INPI, porém, todas as patentes nos respectivos bancos de dados, estavam duplicados/cruzados. Após a utilização dos critérios de inclusão e exclusão restaram um total de 8 patentes voltadas para o setor de saúde humana. Observa-se que apesar do interesse científico na espécie, poucos depósitos de patentes foram encontrados no direcionamento do setor de saúde humana. Existe uma necessidade de estudos que apontem ao desenvolvimento de inovação tecnológica. Os achados demonstram que, em detrimento da vasta aplicabilidade, ainda há grande carência nos pedidos de depósitos de patentes nacionais. **PALAVRAS-CHAVE:** inovação, fitoterápicos, produtos naturais.

ABSTRACT: Herbs and spices are of great commercial importance, in particular *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). This plant provides a fruit, used as a refined condiment in world cuisine, due to its soft, slightly spicy flavor and good appearance. It is traditionally used in folk medicine to treat urinary infections, respiratory infections, wounds and rheumatism. The stem bark extract is widely used as an anti-inflammatory, to heal wounds, while fruits are used for colds, fungal and bacterial infections. *S. terebinthifolius* has commercial importance

because it is a plant with medicinal, phytochemical and nutritional properties, due to the use of its fruits in national and international cuisine. The work aimed to carry out a technological survey to identify the possible ways of using *S. terebinthifolius* in products aimed at services in the area of human health. A search for patents deposited in the databases, EPO, INPI and LATIPAT was carried out, using as keywords the scientific name of the species “*Schinus terebinthifolius* Raddi” and the popular names “aroeira red” and “pink pepper”, including patents that mention these keywords in the title and / or summary, considering all patent applications filed. A total of 38 patents were found after the search. The databases with the highest number of patents were LATIPAT and INPI, however, all patents in the respective databases were duplicated / crossed. After using the inclusion and exclusion criteria, a total of 8 patents remained for the human health sector. It is observed that despite the scientific interest in the species, few patent applications were found in the direction of the human health sector. There is a need for studies that point to the development of innovation. The findings demonstrate that, to the detriment of the wide applicability, there is still a great lack of applications for filings of national patents.

KEYWORDS: innovation, herbal medicines, natural products.

INTRODUÇÃO

As ervas e especiarias são de grande importância comercial. Em particular, *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), planta nativa da América do Sul, amplamente encontrada na costa brasileira em especial na vegetação litorânea do nordeste e popularmente conhecida como “pimenta rosa” ou “aroeira vermelha”. Essa planta fornece um fruto, utilizado como condimento refinado na culinária mundial, devido ao seu sabor macio, levemente apimentado e de boa aparência (OLIVEIRA^a, 2020).

É tradicionalmente empregada na medicina popular para o tratamento de infecções urinárias, infecções respiratórias, feridas e reumatismo (OLIVEIRA^b, 2020). O extrato da casca do caule é amplamente utilizado como anti-inflamatório, para cicatrizar feridas, enquanto as frutas são utilizadas para resfriados, infecções fúngicas e bacterianas (AFFONSO, 2012).

S. terebinthifolius Raddi está inserida na Relação Brasileira de Medicamentos Essenciais - RENISUS (BRASIL, 2020), no qual existem 71 plantas medicinais que apresentam potencial de geração de produtos de interesse do Sistema Único de Saúde (SUS). Esta espécie também está presente na Forma Fitoterápica da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2019). Apresenta importantes atividades biológicas, como ação anti-hipertensiva, vasodilatadora, antimicrobiana, antialérgica, antioxidante, anti-inflamatória e mais recentemente, contra cepas multirresistentes de origem hospitalar (OLIVEIRA^a, 2020).

Um número crescente de estudos indicou uma variedade de metabólitos secundários da família Anacardiaceae. Embora a composição química das plantas dependa da origem, maturidade, genótipo, clima, condições de processamento e outros aspectos, compostos como taninos, alcaloides, flavonoides, antocianinas, terpenos e ácidos fenólicos

foram previamente determinados nos frutos da *S. terebinthifolius* (OLIVEIRA^b, 2020). Os compostos fenólicos são os principais constituintes e exercem importantes atividades biológicas como a ação antioxidante e fotoprotetora, devido à sua capacidade de lutar contra as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e por absorver a radiação ultravioleta (UV) (OLIVEIRA^a, 2020).

O Brasil é um dos países com a maior biodiversidade do planeta com uma variedade de animais e plantas com grande potencial para o desenvolvimento e exploração biotecnológica. A *S. terebinthifolius* possui importância comercial por se tratar de uma planta com propriedades medicinais, fitoquímicas e alimentícias, pelo uso de seus frutos na cozinha nacional e internacional (MENDONÇA, 2014). O desenvolvimento tecnológico tem por finalidade contribuir para a sociedade como um todo, tanto na indústria como no comércio, e quando se fala em prospecção tecnológica seria o método de documentar este processo. Estudar prospecção é de fundamental importância para conduzir as tendências biotecnológicas atuais e suas perspectivas futuras (SOUZA, 2020). Nesse contexto o trabalho objetivou realizar um levantamento tecnológico a fim de identificar sobre as possíveis formas de utilização da *S. terebinthifolius* em produtos voltadas para serviços na área da saúde humana.

METODOLOGIA

Foi realizada uma busca de patentes depositadas nas bases de dados: Escritório Europeu de Patentes, EPO (Espacenet); Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) (Brasil) e LATIPAT (América Latina e Espanha), utilizando como palavras-chave o nome científico da espécie “*Schinus terebinthifolius* Raddi” e os nomes populares “aroeira vermelha” e “pimenta rosa”, incluindo neste estudo as patentes que mencionassem essas palavras-chave no título e/ou resumo, considerando todos os pedidos de patente depositados.

As pesquisas foram realizadas durante o mês de outubro de 2020. Posteriormente, foram definidos os critérios de exclusão: patentes duplicadas/cruzadas nas bases de dados; títulos e trabalhos não voltados para a saúde humana, e os critérios de inclusão, como patentes explorando a espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi e sua utilização no setor da saúde. Os resultados das análises patentárias estão representados em tabelas e figuras, levando-se em consideração o número de patentes e a classificação de acordo com o Código Internacional de Patentes (CIP).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a busca foi encontrado um total de 38 patentes. Os bancos de dados com maior número de patentes foram LATIPAT e INPI, porém, todas as patentes nos respectivos bancos de dados, estavam duplicados/cruzados, referindo-se ao mesmo produto, porém registradas em mais de uma base de dados (tabela 1). Observou-se que o nome científico da planta (52%) é mais utilizado do que os nomes populares, sendo o nome popular “pimenta rosa” (48%) mais utilizado do que o nome popular “aroeira vermelha” (gráfico 1).

Na base de dados EPO, das 4 patentes encontradas utilizando o nome científico da planta, 3 faziam referência a mesma patente. Nas bases de dados LATIPAT e INPI usando a palavra chave “pimenta rosa” foram encontradas respectivamente 10 patentes, porém, nenhuma fazia referência a produtos e/ou serviços voltados ao setor de saúde humana.

	EPO	LATIPAT	INPI
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	4	7	7
Aroeira Vermelha	0	0	0
Pimenta Rosa	0	10	10

Tabela 1: Relação das patentes encontradas de acordo com as palavras-chave em cada base de dados.

Fonte: Pesquisa bibliográfica (2020).

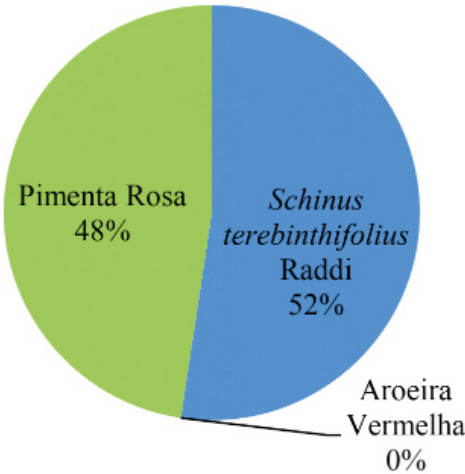


Gráfico 1: Total de patentes depositadas nos bancos de dados com o nome científico ou com o nome popular presentes no título e/ou resumo.

Fonte: Pesquisa bibliográfica (2020).

Após a utilização dos critérios de inclusão e exclusão restaram um total de 8 patentes voltadas para o setor de saúde humana, que estão listadas na tabela 2. Observa-se que apesar do interesse científico na espécie, poucos depósitos de patentes foram encontrados no direcionamento do setor de saúde humana.

CIP	PATENTE	DESCRIÇÃO	ANO
A61P 31/20	COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA O TRATAMENTO DE INFECÇÕES HPV UTILIZANDO EXTRATOS DE SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI	Preparo de formulações farmacêuticas adequadas para uso medicamentoso, em particular para uso genital nas apresentações em forma de sabões, tinturas, emulsões A/O e O/A (pomadas, cremes e géis), aerossóis, pastas, óvulos, supositório e similares, utilizadas para a profilaxia e tratamento (como adjuvante) das infecções e câncer cervical relacionados ao papilomavírus humano (HPV - human papillomavirus) e as suas manifestações.	2002
A61K 36/81, A61K 36/22, A61K 36/33, A61K 36/48, A61P 29/00, A61P 31/04, A61P 31/10,	CICATRIZANTE BIOFÁRMACO	O cicatrizante biofármaco se aplica a área da indústria farmacêutica de fitoterápicos para ser utilizado como "medicamento fitoterápico" com ação cicatrizante e antibacteriano em feridas de pacientes diabéticos ou não, em micoses, unheiros, assaduras, queimaduras, etc. É um produto a base de plantas brasileiras contendo extrato de quatro plantas (Schinus terebinthifolius Raddi, Physalis angulata Linné, Cereus hildemianus Shucus, e Anadenanthera colubrina Benth).	2006
A61K 36/22, A61P 2900	FITOMEDICAMENTO OBTIDO A PARTIR DE SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI	A invenção se refere ainda ao uso de substâncias isoladas de extratos alcoólicos da Schinus terebinthifolius Raddi como medicamento fitoterápico com atividades terapêuticas.	2007
A61K 36/22, A61P 1/00	FORMULAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA A BASE DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÃO DO SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI (AROEIRA) COM FINALIDADE TERAPÊUTICA NA INFLAMAÇÃO E CICATRIZAÇÃO DE AFECÇÕES DO ESTÔMAGO	A presente invenção refere-se ao processo de obtenção de formulação de composição farmacêutica e seu uso na inflamação e cicatrização do estômago.	2011

A61K 36/48, A61K 36/22, A61K 47/02, A61K 9/14, A61P 17/02, A61P 17/16, A61P 31/00	COMPOSIÇÃO A BASE DE EXTRATOS VEGETAIS E NANOPARTÍCULAS DE SÍLICAS DE ALTA ABSORÇÃO	O presente invento descreve uma composição e sua formulação hidratante contendo nanopartículas mesoporosas de sílica como facilitadoras e carreadoras de substâncias ativas dos extratos vegetais oleosos e aquosos de <i>Skyphnodendron barbatiman</i> e <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi, empregada principalmente no tratamento de infecções cutâneas oportunistas.	2012
A61K 36/22, A61P 25/00, A61P 25/16	COMPOSIÇÃO NEUROPROTETORA COMPREENDENDO EXTRATO OU FRAÇÕES DE SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI COMO INGREDIENTE ATIVO	A presente invenção tem efeitos de proteção das células nervosas cranianas e uma baixa citotoxicidade de acordo com a atividade inibitória contra a toxicidade do glutamato em uma linha celular N18-RE-105 com as propriedades das células cerebrais, de modo que o <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi extrato ou uma fração do mesmo pode ser usado na prática para uma composição farmacêutica para proteção de nervos, uma composição farmacêutica para prevenção e tratamento de doenças cerebrais ou alimento saudável para a referida finalidade.	2012
A61Q 19/08, A61K 8/97	COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO EXTRATO DE GUAÇATONGA E EXTRATO DE AROEIRA E USO DOS MESMOS	A presente invenção refere-se a uma composição cosmética compreendendo extrato de Guaçatonga (<i>Casearia silvestres</i>), extrato de Aroeira (<i>Schinus terebinthifolius raddi</i>) e adjuvantes cosmeticamente aceitáveis direcionada à prevenção e/ou tratamento de sinais ocasionados pelo envelhecimento da pele.	2014
A61K 36/22, A61K 4736, A61P 17/02, A61P 29/00	DESENVOLVIMENTO DE UM FITOTERÁPICO COM AÇÃO CICATRIZANTE PREPARADO A PARTIR DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI, BIOVEICULADO COM QUITOSANA	A presente invenção refere-se ao processo de produção de uma formulação farmacêutica em gel, denominada FExStrQ, contendo extrato hidroalcoólico de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi e utilizando como meio dispersante o polímero de quitosana.	2017

Tabela 2: Classificação das patentes selecionadas de acordo com o CIP.

Fonte: Elaborado pelo autor do artigo.

O número de patentes depositadas de acordo com o ano de depósito está esquematizado no gráfico 2, com o ano de 2012 apresentando o maior número de depósitos de patentes. Vale ressaltar que somente as patentes que passaram pelos critérios de inclusão e exclusão da pesquisa, estão presentes neste gráfico.

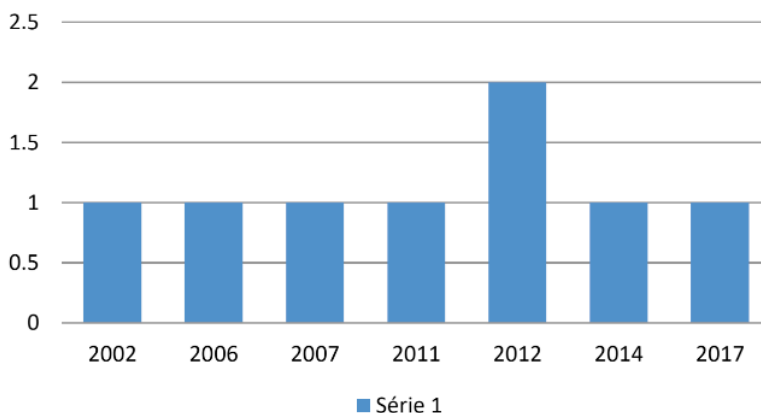


Gráfico 2: Número de patentes depositadas por ano.

Fonte: Elaborado pelo autor do artigo.

No estudo realizado por MENDONÇA (2014) que teve como objetivo realizar uma prospecção tecnológica de óleo essencial da *S. terebinthifolius*, teve como resultados também um número muito reduzido de patentes. Em outro estudo prospectivo de NASCIMENTO (2017) que teve como objetivo verificar a atividade antifúngica da *S. terebinthifolius* apresentou como resultados um baixo número de patentes e por fim conclui que apesar de haver o interesse científico sobre a espécie com muitas publicações sobre o tema, ainda existe uma carência nos avanços e investimentos tecnológico da *S. terebinthifolius*.

CONCLUSÕES

Ainda é reduzido o número de depósitos de patentes envolvendo a espécie *S. terebinthifolius* Raddi direcionadas ao setor de saúde humana. A espécie apresenta grande potencial para o desenvolvimento de produtos que visem o tratamento de diversas patologias encontradas nos seres humanos, vindo a servir tanto como fitoterápicos e/ou complementos alimentares. Existe uma necessidade de estudos que apontem ao desenvolvimento de inovação tecnológica. Os achados demonstram que, em detrimento da vasta aplicabilidade, ainda há grande carência nos pedidos de depósitos de patentes nacionais.

REFERÊNCIAS

OLIVEIRA, M.B.^a; VALENTIM, I.B.; ROCHA, T.S.; SANTOS, J.C.; PIRES, K.S.N.; TANABE, E.L.L.; et al. ***Schinus terebinthifolius* Raddi extracts: from sunscreen activity toward protection of the placenta to Zika virus infection, new uses for a well-known medicinal plant.** Industrial Crops and Products. v. 152, 112503, 2020.

OLIVEIRA, V.S.^b; AUGUSTA, I.M.; BRAZ, M.V.C.; RIGER, C.J.; PRUDÊNCIO, E.R.; SAWAYA, A.C.H.F.; et al. **Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: Chemical constituents, bioactive compounds and in vitro and in vivo antioxidant capacity.** Food Chemistry. v. 135, 126274, 2020.

AFFONSO, C.R.G.; FERNANDES, R.M.; OLIVEIRA, J.M.G.; MARTINS, M.C.C.E.; LIMA, S.G.; SOUSA JÚNIOR, G.R.; et al. **Efeitos do óleo essencial de frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) nas funções reprodutivas de ratos machos.** Jornal da Sociedade Brasileira de Química, v. 23, n. 1, p. 180-185, 2012.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira.** 6. ed. – ANVISA, 2019.

BRASIL. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS).** Ministério da Saúde, 2020.

MENDONÇA, V.M.; SILVA-MANN, R.; RABBANI, A.R.C. **Prospecção tecnológica de óleo essencial de aroeira-da-praia (*Schinus terebinthifolius* RADDI).** Revista GEINTEC Gestão, Inovação e Tecnologia, v. 4, n. 1, p. 704-715, 2014.

SOUZA, L.M.V.; SANTOS, J.L.; SANTOS, S.B.; OLIVEIRA, J.S.; MARÇAL, A.C.; ESTEVAM, C.S. **Technological exploration of *Schinus Terebinthifolius* Raddi extract as an anti-inflammatory agent.** Braz. J. of Develop., v. 6, n. 4, p. 20391-20400, 2020.

NASCIMENTO, J.S. et al. **Estudo prospectivo relativo à atividade antifúngica de *Schinus Terebinthifolius* (Aroeira) no período de 1990 a 2016.** Cad. Prospec., Salvador, v. 10, n. 4, p. 839-850, 2017.

CAPÍTULO 18

SYZYGIUM CUMINI: UMA PLANTA MEDICINAL COM PROPRIEDADE VASORELAXANTE

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 05/11/2020

Rachel Melo Ribeiro

Universidade Federal do Maranhão,
Departamento de Ciências Fisiológicas
São Luís – MA

<http://lattes.cnpq.br/4752952470368965>

<https://orcid.org/0000-0003-3684-3061>

Matheus Brandão Campos

Universidade Federal do Maranhão, Programa
de Pós-Graduação RENORBIO
São Luís – MA

<https://orcid.org/0000-0003-1698-9418>

Carlos José Moraes Dias

Universidade Federal do Maranhão,
Departamento de Educação Física
Pinheiro – MA

<https://orcid.org/0000-0002-0508-0308>

Herikson Araujo Costa

Universidade Federal do Maranhão,
Departamento de Educação Física
Pinheiro – MA

<https://orcid.org/0000-0003-1698-9418>

Raphael Ferreira Faleiro

Universidade Federal do Maranhão,
Departamento de Medicina
São Luís – MA

<http://lattes.cnpq.br/7416784698123109>

Vinícius Santos Mendes

Universidade Federal do Maranhão,
Departamento de Medicina
São Luís – MA

<https://orcid.org/0000-0002-5455-4389>

Gabriel Gomes Oliveira

Universidade Federal do Maranhão,
Departamento de Medicina
São Luís – MA

<http://lattes.cnpq.br/4567971471171880>

Fernanda Maria dos Santos Ribeiro

Universidade Federal do Maranhão,
Departamento de Farmácia
São Luís – MA

<http://lattes.cnpq.br/1245079686180519>

Fabio de Souza Monteiro

Universidade Federal do Maranhão,
Departamento de Ciências Fisiológicas
São Luís – MA

<https://orcid.org/0000-0001-6793-2628>

Marilene Oliveira da Rocha Borges

Universidade Federal do Maranhão,
Departamento de Ciências Fisiológicas
São Luís – MA

<https://orcid.org/0000-0003-1539-5888>

Antonio Carlos Romão Borges

Universidade Federal do Maranhão,
Departamento de Ciências Fisiológicas
São Luís – MA

<https://orcid.org/0000-0002-5498-6499>

RESUMO: *Syzygium cumini* L. Skeels é uma planta medicinal extensamente empregada para o tratamento de distúrbios cardiovasculares. Realizamos a prospecção farmacológica para a validação científica do uso medicinal. Nesse contexto, este estudo avaliou a capacidade do extrato hidroalcolico das folhas (EHSC), fração clorofórmica (FC) e acetato de etila (FAE) em

promover relaxamento vascular em artérias de resistência de ratos. Para tanto, os anéis de artéria mesentérica superior sem endotélio foram colocados em fio de aço inoxidável e posteriormente inseridos em banhos de órgãos contendo solução fisiológica aquecida continuamente mantida com carbogênio. Após estabilização da preparação, a capacidade vasodilatadora do extrato e fração foram avaliadas. As adições cumulativas de EHSC (0,1 a 10 mg/mL) causaram uma resposta relaxante dependente da concentração, em preparações contraídas por noradrenalina (NE) ou cloreto de potássio. Em continuidade, a FC (0,1 a 1,0 mg/mL) exibiu notável atividade relaxante em preparações pré-contraídas com NE, de forma dependente da concentração, melhor que a resposta relaxante obtida para a FAE nas mesmas concentrações, sendo esta proporcional a do EHSC. Ainda, incubação de FC (0,25 e 0,5 mg/ml) reduziu de maneira dependente de concentração a contração máxima induzida pelo cálcio na artéria mesentérica, com significativo desvio para a direita. Os resultados indicam que *S. cumini* atua como um agente relaxante vascular e interfere na capacidade de resposta contrátil da célula do músculo liso vascular, provavelmente atuando na regulação dos níveis intracelulares de cálcio.

PALAVRAS - CHAVE: *Syzygium cumini*, Plantas Medicinais, Anti-hipertensivo, Canais de cálcio.

SYZYGIUM CUMINI: A MEDICINAL PLANT WITH VASORELAXANT PROPERTY

ABSTRACT: *Syzygium cumini* L. Skeels is a medicinal plant widely used for the treatment of cardiovascular disorders. We carry out pharmacological prospecting for scientific validation of medicinal use. In this context, this study evaluated the ability of hydroalcoholic leaf extract (HESC), chloroformic fraction (CF) and ethyl acetate (AEF) to promote vascular relaxation in rat resistance arteries. For this purpose, the upper mesenteric artery rings without endothelium were placed in stainless steel wire and subsequently inserted in organ baths containing saline solution continuously maintained with carbogen. After preparation stabilization, the vasodilator capacity of the extract and fraction were evaluated. Cumulative additions of HESC (0.1 to 10 mg / mL) caused a concentration-dependent relaxing response in preparations contracted by noradrenaline (NE) or potassium chloride. In continuity, the CF (0.1 to 1.0 mg / mL) exhibited remarkable relaxing activity in pre-contracted preparations with NE, depending on the concentration, better than the relaxing response obtained for the AEF in the same concentrations, being this proportional to that of the HESC. In addition, FC incubation (0.25 and 0.5 mg / ml) reduced the maximum contraction induced by calcium in the mesenteric artery in a concentration-dependent manner, with a significant shift to the right. The results indicate that *S. cumini* acts as a vascular relaxing agent and interferes with the contractile response capacity of the vascular smooth muscle cell, probably acting in the regulation of intracellular calcium levels.

KEYWORDS: *Syzygium cumini*, Medicinal plant, Antihypertensive, calcium channels.

1 | INTRODUÇÃO

Globalmente, as doenças cardiovasculares são responsáveis por aproximadamente 17 milhões de mortes por ano. Destes, complicações da hipertensão são responsáveis

por 9,4 milhões mortes em todo o mundo todos os anos. A hipertensão é responsável por pelo menos 45% das mortes devido a doença isquêmica do coração e 51% das mortes por acidente vascular cerebral (OMS, 2013).

O objetivo do tratamento anti-hipertensivo é atingir níveis ideais de pressão arterial durante a terapia para reduzir complicações relacionadas à hipertensão. A pesquisa literaturar indica que metabólitos secundários de ervas e especiarias exibem efeitos anti-hipertensivos, contribuindo para reduzindo os níveis de pressão arterial e minimizando suas complicações (AL DISI et al., 2016).

A espécie *Syzygium cumini* L. Skeels (Figura 1) é nativa dos trópicos e pertencente à família Myrtaceae, ocorrendo predominantemente na Ásia, e é uma das espécies mais conhecidas e mais frequentemente cultivadas (AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012; MAZZANTI et. al, 2003).

É bastante difundida nos estados do Norte, Nordeste e Sudeste do Brasil, e bastante utilizada como forma alternativa de tratamento para diversas doenças pela população, que já conhece alguns efeitos benéficos que a planta apresenta, onde são utilizadas na preparação as cascas, folhas, frutos e sementes. Utiliza-se também várias preparações farmacêuticas desta planta como, por exemplo, extrato aquoso ou alcoólico, decocção ou sumo bruto (MIGLIATO et. al, 2009).

Estudos químicos mostram que as folhas são ricas em ácido gálico, metilgalato, canferol, miricetina, ácido clorogênico, quercetina e nilocitina (AYYANAR E SUBASH-BABU, 2012; MIGLIATO et. al, 2011). A literatura reporta que plantas medicinais ricas nesses compostos exercem efeitos anti-hipertensivos, através da combinação dos vasodilatadores e antioxidantes destas classes de compostos (MOHAMED, 2013; BONA, 2011, RIBEIRO et al., 2014).

O presente estudo propôs avaliar o extrato hidroalcoólico obtido das folhas secas e sua fração clorofórmica no leito vascular, mais especificamente analisando a capacidade vasorelaxante de *S. cumini* em preparações de artérias de resistência isoladas de ratos, a fim de validar essa planta medicinal como promissora no tratamento alternativo da hipertensão.

2 | METODOLOGIA

2.1 Drogas utilizadas

Cloridrato de norepinefrina, acetilcolina e Cloreto de tetraetilamônio foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, EUA). Todos os outros produtos químicos eram de alta pureza de grau analítico, sendo da Merck Darmstadt.

2.2 Preparação do material vegetal, obtenção do extrato e fração

As folhas de *S. cumini* foram coletadas no campus da Federal Universidade do Maranhão (2 ° 33'11,7 "S 44 ° 18'22,7" W), São Luís, Brasil, em outubro de 2013. Um exemplar de voucher foi identificado e depositado no herbário do "Prof. Dra. Berta Lange de Morretes" Jardim de plantas medicinais, UFMA (nº 1069).

As folhas foram secas à temperatura ambiente e pulverizadas. O extrato foi preparado por maceração do pó da folha (300 g) em 70% de etanol (1: 3 w / v) e concentração em um evaporador rotativo sob pressão reduzida a uma temperatura abaixo de 60 ° C e liofilizado. O extrato assim obtido foi chamado de hidroalcóólico extrato de folhas de *S. cumini* (EHSC) com peso seco de 49,8 g e rendimento de 16,6% (RIBEIRO et al., 2014). Alíquotas de EHSC foram mantidas a 4°C, protegidas da luz, até mais uso experimental, quando EHSC em pó foi ressuspenso em água nas concentrações desejadas. O EHSC foi particionado por sequencial extração usando hexano, clorofórmio (FC) e acetato de etila (FAE). Avaliamos os efeitos do EHSC, FC e FAE. A FC e FA foram evaporados, com um rendimento de 5,2% e 34,6%, respectivamente, testadas para avaliar o efeito vasorrelaxante. Neste estudo, a triagem fitoquímica para de menor polaridade revelou a presença de fenóis.

2.3 Animais

Ratos machos espontaneamente hipertensos com 12 semanas de idade (SHR) ou normotenso (Wistar), *Rattus norvegicus*, pesando 250 a 300 g, obtidos no biotério da UFMA. Os animais foram alojados sob condições controladas de temperatura (21 ± 2 ° C) sob um ciclo claro-escuro de 12 h, com ração e água disponível ad libitum. Todos os protocolos experimentais foram revisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UEMA, Brasil (Número 17/2012) e todos os métodos neste estudo foram realizados de acordo com as diretrizes aprovadas.

2.4 Testes farmacológicos

2.4.1 Preparação de tecido

As preparações da artéria mesentérica foram obtidas conforme descrito por Borges et al. (1999), onde segmentos de anel (3 a 5 mm) do superior artéria mesentérica foram colocados entre fios de aço inoxidável (50 µm de diâmetro) e imerso em uma câmara de banho de órgãos (5 mL) contendo solução nutritiva de Krebs (118 mM NaCl, 5 mM KCl, 1,2 MgCl₂ mM, NaH₂PO₄ 1,2 mM, NaHCO₃ 15,5 mM, CaCl₂ 2 mM, e Glicose 11 mM, pH 7,4) a 37 ° C, equilibrada com 5% de CO₂ / 95% de O₂. As preparações foram primeiro equilibradas sob uma tensão de 1,0 g e lavados em intervalos de 10 min, por 60 min. Mudanças na tensão isométrica das preparações foram medidas com um transdutor de força isométrica (PowerLab, ADInstruments Pty. Ltd., Sydney, Austrália). Devido à disfunção

endotelial e a produção ineficiente de vasodilatadores pelas células epiteliais presentes em síndrome hipertensiva, optamos por realizar todos os experimentos em preparações de artéria mesentérica sem endotélio. A remoção do endotélio vascular foi confirmada pela ausência de uma resposta de relaxamento pela acetilcolina ($10 \mu\text{M}$) para induzir mais de 70% de inibição dos vasos pré-contratados com norepinefrina (NE $10 \mu\text{M}$).

2.4.2 Efeito de EHSC na contração induzida por NE ou KCl

Após o período de estabilização, anéis de artéria sem endotélio, obtidos de SHR, foram pré-contratados com NE ($10 \mu\text{M}$) ou KCl (80 mM) e, na fase tônica, diferentes concentrações de EHSC (0,1, 0,25, 0,5, 5 e 10 mg / ml) foram adicionadas cumulativamente ao banho de órgãos. O efeito relaxante foi expresso como a porcentagem de contração induzida por NE ou KCl.

2.4.3 FC e FAE na contração induzida por NE

Após o período de estabilização, duas contrações sucessivas de magnitude foram induzidas com NE ($10 \mu\text{M}$). Durante a fase tônica do terceiro contrato, diferentes concentrações de FC e/ou FAE (0,01, 0,05, 0,10, 0,50 e 1,0 mg/mL) foram adicionados cumulativamente ao banho de órgãos. Os resultados foram expressos como porcentagem de contração induzida por NE.

2.4.4 Efeito da FC na contração do músculo liso arterial induzida por Ca^{2+}

As preparações foram primeiro equilibradas sob uma tensão de 1,0 g e lavados em intervalos de 10 min. Para avaliar a ação antagonista do FC no influxo de Ca^{2+} , o tecido vascular foi estabilizado com solução de Krebs normal. Depois de 30 min, o fluido da preparação foi substituído por uma solução de Krebs livre de Ca^{2+} (KCl 60 mM, nominalmente livre de Ca^{2+}). Além disso, após 30 minutos de lavagens sucessivas, o tônus basal era recuperado, permitindo obter resposta de concentração cumulativa curvas para CaCl_2 (10^{-6} a 10^{-2} M) na ausência ou presença de FC (0,25 e 0,5 mg / ml). A concentração necessária para produzir 50% de resposta máxima (EC_{50}) foi determinada usando análise estatística de regressão não linear. Os logaritmos negativos dos valores EC_{50} (pD_2) foram usados para análise estatística. Nos experimentos envolvendo K^+ extracelular elevado, a solução de Krebs contendo KCl 60 mM era preparada substituindo uma concentração equimolar de NaCl com KCl.

2.5 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). Análise de variância unilateral (ANOVA) seguida do pós-teste de Newman-Keuls e teste t de Student foram usados para comparações. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo

e a análise foi realizada com o programa GraphPad Prism® 5.0.

3 | RESULTADOS

Este trabalho demonstrou o vasorrelaxante das folhas de *S. cumini* e que pode possivelmente agir por mecanismos envolvendo os estoques intracelulares de cálcio.

Em anéis de artéria mesentérica desprovidos de endotélio, o EHSC (0,1 a 10 mg/ml) inibiu a contração tônica sustentada induzida por NE 10 μ M de uma maneira dependente da concentração com relaxamento máximo de $97,20 \pm 2,90\%$ (valores $EC_{50} = 2,82$ mg / ml). Além disso, o EHSC também promoveu um importante efeito vasorrelaxante em anéis de artérias contraídos com KCl (Figura 1), com relaxamento máximo de $100,0 \pm 0,0\%$ (EC_{50} 1,11 mg / ml). O efeito relaxante do EHSC foi reversível uma vez que o tecido recuperou sua atividade espontânea pelo menos dentro de uma hora após lavagens repetidas.

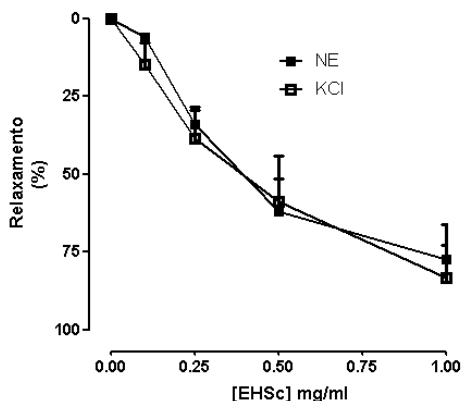


Figura 1: Curvas concentração-resposta para HESc (0,1 - 10 mg / ml) em artéria mesentérica desprovida de endotélio e contraída por NE (■) ou KCl (□). Os valores são expressos como média $\pm$ SEM ($n = 5$).

Uma característica particular dos fitomedicamentos é sua complexa composição, ou seja, o “fitocomplexo”, com diferentes efeitos específicos, no entanto, uma gama mais ampla de efeitos e propriedades curativas são garantidas apenas pelo fitocomplexo (MEDEIROS et al., 2008). A fim de caracterizar este efeito, o EHSC foi submetido a uma partição líquido-líquido, conforme descrito em Metodologia.

Na Figura 2 foi observado que a FAE e FC (0,1 a 1 mg / ml) também exibiram atividade vasorrelaxante em preparações desprovidas de endotélio pré-contraídas com NE (10 μ M), em uma maneira dependente da concentração, onde a FC a 1,0 mg/mL exibiu relaxamento máximo de %, em comparação à FAE cujo relaxamento máximo alcançado

foi %. Em continuidade, a resposta vascular da FC e FAE também foram reversíveis após repetidas lavagens.

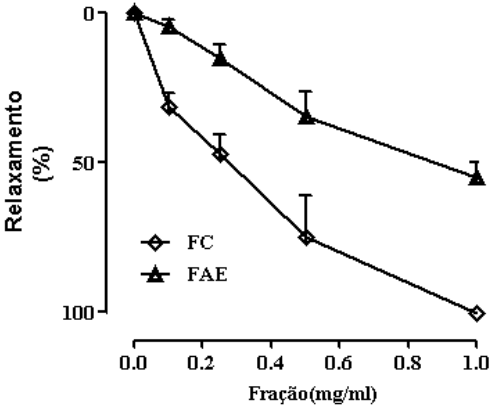


Figura 2: Curvas concentração-resposta em artéria mesentérica desprovida de endotélio e contraída por NE para FC (◊) e FAE (▲) à 0,1 - 10 mg / ml . Os valores são expressos como média ± SEM (n = 5).

Também foi observado que em uma concentração mais baixa a FC demonstrou um potencial vasorrelaxante maior que o EHSC e FAE (Figura 3).

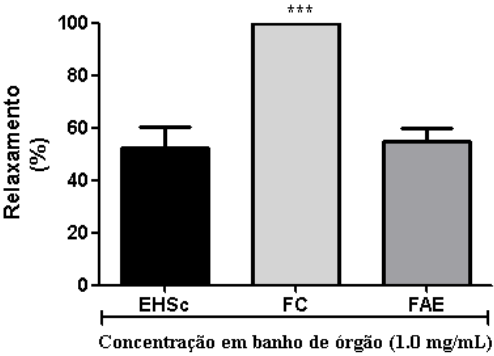


Figure 3: Emax comparativo (percentual dos valores em termos de efeitos vasorrelaxantes) do EHSC, FC e FAE a 1 mg/ml. Os valores são expressos como média ± SEM (n = 5) . *** p <0,00001 em comparação com EHSC como referência.

Além disso, contrações induzidas por CaCl_2 em anéis de artéria mesentérica privada de endotélio foram reduzidos em uma maneira dependente de concentração após a incubação com 0,25 e 0,5 mg / ml de FC (Figura 4). Houve um deslocamento da curva concentração- resposta para o CaCl_2 para a direita, com significativa alteração do pD_2 (Tabela 1). Esses efeitos foram revertidos após a lavagem com solução de Krebs.

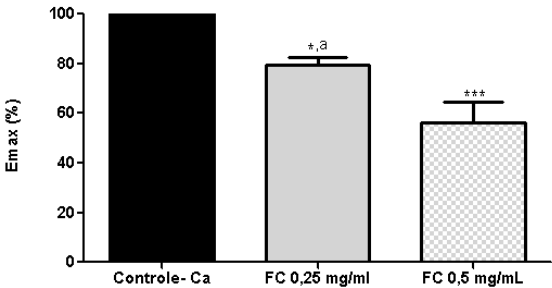


Figura 4: Emax comparativo para FC 0,25 mg/ml e FC 0,5 mg/ml em artérias mesentéricas despolarizadas e privadas de endotélio. Os valores são expressos como média $\pm$ SEM (n = 5).
*** p <0,0001; *p <0,05; ^ap<0,05.

Curva concentração-resposta	E _{max} (%)	pD ₂ (M)
Curva controle	100	-3,40 $\pm$ 0,13
Ca ²⁺ + FC 0,25 mg/mL	79,30 $\pm$ 3,43**	-3,25 $\pm$ 0,05*
Ca ²⁺ + FC 0,5 mg/mL	56,02 $\pm$ 8,7** ^a	-2,40 $\pm$ 0,90** ^a

Tabela 2: Parâmetros das curvas concentração-resposta para os efeitos da fração clorofórmica (FC) das folhas de *Syzygium cumini* na contração induzida por Ca^{2+} em artérias mesentéricas. Os valores indicam a média $\pm$ SEM do pD_2 e o Emax obtido a partir de 5 experiências. *Significante vs Controle; ^aSignificante vs FC 0,25 mg/ml.

Estudos têm mostrado que uma série de produtos vegetais incluindo polifenóis, flavonóides e várias plantas extrato exerce efeitos anti-hipertensivos que podem ser decorrentes à ação vasorrelaxante (CURIN; ANDRIANTSITOHAINA, 2005; WANG et al., 2014; VAN RYMENANT et al., 2017). Estudos químicos de folhas de *S. cumini* foram realizados por Ruan et al. (2008) e mostrou que FC contém fenólicos ácidos, os outros compostos fenólicos complexos. Os resultados da triagem fitoquímica mostraram que a FC

é rica nestes compostos, que podem ser responsáveis pela propriedade vasorelaxante da planta.

4 | CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que *S. cumini* L. (Skeels) possui potencial vasorelaxante, provavelmente como resultado de bloqueio dos canais de Ca^{2+} , como demonstrado neste estudo. Esses efeitos podem ser atribuídos à presença de compostos fenólicos detectado por triagem fitoquímica.

Dessa forma, este estudo contribui para atribuir às folhas de *S. cumini* potencial vasodilatador para o tratamento da hipertensão. Esses achados podem fornecer dados científicos para o desenvolvimento de uma possível droga candidata para uso clínico médico para tratar doenças cardiovasculares em o futuro. No entanto, mais experimentos são necessários para elucidar claramente esta suposição.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às agências de fomento brasileiras CAPES, CNPq e FAPEMA pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P. ***Syzygium cumini* (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses**. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, v. 2, n. 3, p. 240-246, 2012.
- BONA, K.S.; BELLÉ, L.P.; SARI, M.H. et al. ***Syzygium cumini* Extract decrease Adenosine Deaminase, 5' Nucleotidase Activities and oxidative Damage in Platelets of Diabetic Patients**. Cellular Physiology and Biochemistry, v. 26, n. 4-5, p. 729-738, 2010.
- BORGES, A.C.R. et al. **Effect of cholecalciferol treatment on the relaxant responses of SHR arteries to acetylcholine**. Hypertension. v. 34, p. 897-901, 1999.
- CURIN, Y.; ANDRIANTSITOHAINA, R. **Polyphenols as potential therapeutical agents against cardiovascular disease**. Pharmacol. Rep., v.57, p. 97-107, 2005.
- MAZZANTI, C.M. et al. **Extrato da casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos**. Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, Ciência Rural, Santa Maria. v.33, n.6, p.1061-1065, 2003.
- MEDEIROS, A.A.N.; Medeiros, F.A.; Queiroz, T.M. et al. **Effects of extract, fractions and 2,3-dihydromyrcetin-3-O- α -L-rhamnoside from *Pradosia huberi* (Ducke) Ducke on rat isolated mesenteric arteries**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.20, p. 542-548, 2008.

MIGLIATO, K.F.; Carvalho, E.S.D.; Sacramento, L.V.S.D., *et al.* **Total polyphenols from *Syzygium cumini* (L.) Skeels fruit extract.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 45, n. 1, p. 121-126, 2009.

MIGLIATO, K.F. *et al.* **Planejamento Experimental na Otimização da Extração dos Frutos de *Syzygium cumini* (L.) SKEELS.** Química Nova, v. 34, n. 4, p. 695-699, 2011.

MOHAMED, A.A.; ALI, S.I.; EL-BAZ, F.K. **Antioxidant and Antibacterial Activities of Crude Extracts and Essential Oils of *Syzygium cumini* Leaves.** *Plos One*, v. 8, n. 4, p. 1-8, 2013.

RIBEIRO, R.M.; Pinheiro Neto, V.F.; Ribeiro, K.S., *et al.* **Antihypertensive Effect of *Syzygium cumini* in Spontaneously Hypertensive Rats.** *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* p.1-7, 2014.

WANG, H.P. *ET al.* **Endothelium-dependent and - independent vasorelaxant actions and mechanisms induced by total flavonoids of *Elsholtzia splendens* in rat aortas.** *Environ. Toxicol. Pharmacol.* v.38, p. 453-9, 2014.

WHO. **A global brief on hypertension: Silent killer, global public health crisis.** World Health Day: World Health Organization. 2013.

SOBRE O ORGANIZADOR

BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia (Universidade Candido Mendes - RJ). Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática (2014). O segundo Pós doutoramento foi realizado pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com o projeto Análise Global da Genômica Funcional do Fungo *Trichoderma Harzianum* e período de aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany. Seu terceiro Pós-Doutorado foi concluído em 2018 na linha de bioinformática aplicada à descoberta de novos agentes antifúngicos para fungos patogênicos de interesse médico. Palestrante internacional com experiência nas áreas de Genética e Biologia Molecular aplicada à Microbiologia, atuando principalmente com os seguintes temas: Micologia Médica, Biotecnologia, Bioinformática Estrutural e Funcional, Proteômica, Bioquímica, interação Patógeno-Hospedeiro. Sócio fundador da Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente, desde 2016, no centro-oeste do país. Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Atuou como Professor Doutor de Tutoria e Habilidades Profissionais da Faculdade de Medicina Alfredo Nasser (FAMED-UNIFAN); Microbiologia, Biotecnologia, Fisiologia Humana, Biologia Celular, Biologia Molecular, Micologia e Bacteriologia nos cursos de Biomedicina, Fisioterapia e Enfermagem na Sociedade Goiana de Educação e Cultura (Faculdade Padrão). Professor substituto de Microbiologia/Micologia junto ao Departamento de Microbiologia, Parasitologia, Imunologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e Coordenador do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Atualmente o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais. Contato: dr.neto@ufg.br ou neto@doctor.com

ÍNDICE REMISSIVO

A

Acanthocephala 127, 128, 131, 133, 134, 137
Acidente Domésticos 9, 16
Aclimação Aquática 9, 8
Agentes de biocontrole 53, 54, 55, 56, 57, 59, 60, 63, 64
Amazônia 10, 6, 9, 14, 15, 104, 119, 122, 127, 128, 135, 136, 137, 138
Animais silvestres 120, 121, 122, 124, 126
Anticoagulante 10, 11, 25, 26, 28, 36, 40, 41, 44, 49, 51
Antioxidante 27, 80, 81, 82, 86, 158, 161, 164, 165, 173, 174
Atividade antimicrobiana 9, 29, 31, 41, 43, 44, 48, 49, 52

B

Biologia Experimental 9, 8

C

Chrysobalanus icaco L. Antimicrobiano 26
Cirurgia Bariátrica 9, 69, 70
Coagulação sanguínea 9, 28, 40, 41, 42
Coleta de resíduos sólidos 9, 105, 110, 117
Colossoma macropomum 8, 9, 14
Comunidade 10, 1, 2, 4, 5, 6, 96, 97, 98, 99, 101, 102, 103, 131, 140, 141, 142
Controle Alternativo 54
Copaifera pubiflora 11, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51
Cordia Salicifolia 10, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39
Criança 16, 17, 20, 22, 23, 24

E

Ecotoxicologia 10, 7, 8, 14, 80, 82
Ecotoxicologia Comportamental Aquática 8
Ensino-aprendizagem 9, 1, 2, 5, 90, 91, 92, 93, 98, 140
Ensino de Botânica 90, 93, 104, 139
Escola 10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 38, 39, 92, 95, 96, 97, 99, 101, 103, 104, 127, 140, 141, 142, 144, 146, 155
Espécies Arbóreas 54
Extrato vegetal 41, 84

F

Família 10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 17, 23, 27, 127, 129, 169, 173, 182

Financiamento 12, 139, 141, 145

Fitoproteção 80

Fungos 9, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 63, 64, 67, 120, 127, 129, 190

G

Gestão Pública 9, 105

L

Liposarcus pardalis 12, 127, 128, 129, 130, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138

M

Meio Ambiente 9, 54, 64, 89, 99, 106, 107, 115, 116, 123, 139, 140, 141, 142, 144

Mucosa Intestinal 9, 69, 70, 74, 131

Mycobacterium 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126

P

Parasita 127, 129, 131, 132, 133, 134

Parede Intestinal 68, 69, 73

Perfil Epidemiológico 9, 16, 17

Plantas medicinais 9, 26, 27, 38, 39, 41, 42, 52, 158, 164, 165, 171, 173, 182, 183

Políticas Públicas 9, 101, 139, 145

S

Símios 119, 122

Sistemas de Informação Geográfica 105

T

Tambaqui 7, 8, 9, 14

TNT 80, 81, 88, 89

Trato intestinal 12, 127, 129, 131, 132, 133, 134

Consolidação do Potencial Científico e Tecnológico das Ciências Biológicas 2

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

Consolidação do Potencial Científico e Tecnológico das Ciências Biológicas 2

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 