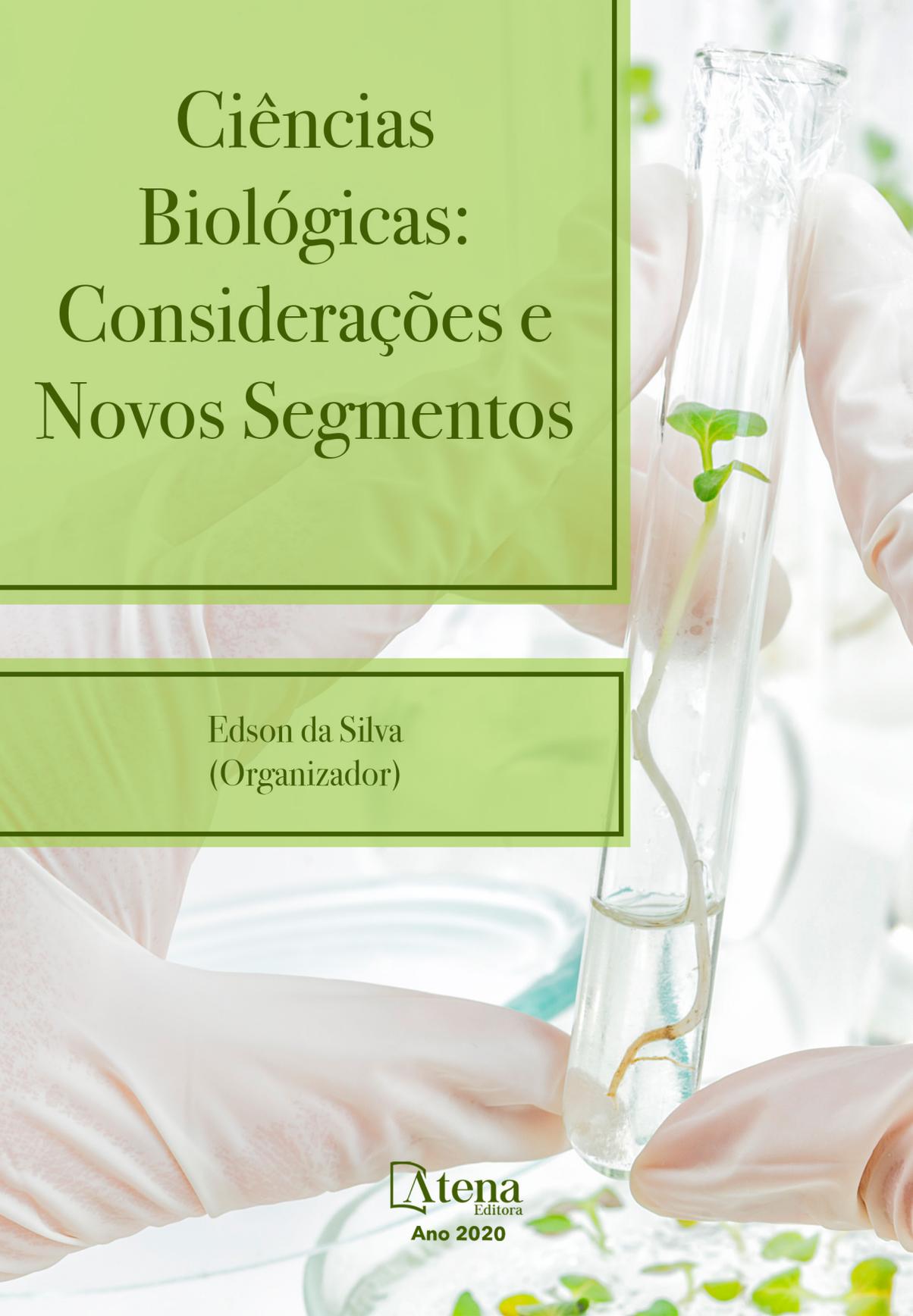


# Ciências Biológicas: Considerações e Novos Segmentos

Edson da Silva  
(Organizador)

 **Atena**  
Editora  
Ano 2020



# Ciências Biológicas: Considerações e Novos Segmentos

Edson da Silva  
(Organizador)

**Atena**  
Editora  
Ano 2020

### **Editora Chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

### **Assistentes Editoriais**

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

### **Bibliotecário**

Maurício Amormino Júnior

### **Projeto Gráfico e Diagramação**

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremona

Karine de Lima Wisniewski

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 4.0 Internacional (CC BY 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.

A Atena Editora não se responsabiliza por eventuais mudanças ocorridas nos endereços convencionais ou eletrônicos citados nesta obra.

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

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

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 Internazionele 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 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. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
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  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Profª Dr. 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  
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. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás  
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. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Andrezza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia  
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. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé  
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. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Me. Gustavo Krahl – 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 Albornoz – 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. Lillian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
Profª Drª Lívia 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

## Ciências biológicas: considerações e novos segmentos

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
**Bibliotecário** Maurício Amormino Júnior  
**Diagramação:** Camila Alves de Cremo  
**Edição de Arte:** Luiza Alves Batista  
**Revisão:** Os Autores  
**Organizador:** Edson da Silva

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
C569	Ciências biológicas [recurso eletrônico] : considerações e novos segmentos 1 / Organizador Edson da Silva. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web ISBN 978-65-5706-413-9 DOI 10.22533/at.ed.139202109  1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Silva, Edson da.
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

**Atena Editora**

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

A coleção “Ciências Biológicas: Considerações e Novos Segmentos” é uma obra com foco na discussão científica, por intermédio de trabalhos desenvolvidos por autores de vários segmentos da área de ciências biológicas. A obra foi estruturada com 36 capítulos e organizada em dois volumes.

A coleção é para todos aqueles que se consideram profissionais pertencentes às ciências biológicas e suas áreas afins. Especialmente com atuação formal, inserida no ambiente acadêmico ou profissional. Cada e-book foi organizado de modo a permitir que sua leitura seja conduzida de forma simples e com destaque no que seja relevante para você. Por isso, os capítulos podem ser lidos na ordem que você desejar e de acordo com sua necessidade, apesar de terem sido sequenciais, desde algumas áreas específicas das ciências biológicas, até o ensino e a saúde. Assim, siga a ordem que lhe parecer mais adequada e útil para o que procura.

Com 19 capítulos, o volume 1 reúne autores de diferentes instituições brasileiras que abordam trabalhos de pesquisas, relatos de experiências, ensaios teóricos e revisões da literatura. Neste volume você encontra atualidades nas áreas de biologia geral, biologia molecular, microbiologia, ecologia e muito mais.

Deste modo, a coleção Ciências Biológicas: Considerações e Novos Segmentos apresenta progressos fundamentados nos resultados obtidos por pesquisadores, profissionais e acadêmicos. Espero que as experiências compartilhadas neste volume contribuam para o enriquecimento de novas práticas multiprofissionais nas ciências biológicas.

Edson da Silva

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1..... 1**

#### **IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS PATOGENICOS EM AREIA DA PRAIA DO CALHAU, SÃO LUÍS-MA, LITORAL NORDESTE DO BRASIL**

Fernanda Costa Rosa  
Josivan Regis Farias  
Jéssica Furtado Soares  
Jéssica Kelly Reis Pereira  
Nívia Rhennyra do Nascimento Soares  
Camilla Itapary dos Santos  
Cristina de Andrade Monteiro

**DOI 10.22533/at.ed.1392021091**

### **CAPÍTULO 2..... 12**

#### **MANUTENÇÃO E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA VIRULÊNCIA DE CEPAS DE *TOXOPLASMA GONDII***

Isa Marianny Ferreira Nascimento Barbosa  
Antônio Roberto Gomes Junior  
Jéssica Yonara Souza  
Natália Domann  
Lais Silva Pinto Moraes  
Vanessa Oliveira Lopes de Moura  
Stéfanne Rodrigues Rezende  
Jaqueline Ataíde Silva Lima da Igreja  
Heloísa Ribeiro Storchilo  
Taynara Cristina Gomes  
Ana Maria de Castro  
Hanstter Hallison Alves Rezende

**DOI 10.22533/at.ed.1392021092**

### **CAPÍTULO 3..... 23**

#### **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DE EXTRATO METANÓLICO DA FOLHA DE *Hymenaea martiana Hayne***

Adryele Gomes Maia  
Nadghia Figueiredo Leite Sampaio  
Giovanna Norões Tavares Sampaio Gondim  
Jakson Gomes Figueiredo  
Emanuel Horácio Pereira da Cruz Matias Linhares  
Cícera Natália Figueiredo Leite Gondim  
Henrique Douglas Melo Coutinho  
Marta Maria de França Fonteles  
Fernando Gomes Figueredo

**DOI 10.22533/at.ed.1392021093**

### **CAPÍTULO 4..... 37**

#### **UTILIZAÇÃO DO TESTE DE EXCLUSÃO COM AZUL DE TRYPAN SOB CÂMARA**

## DE NEUBAUER PARA A CONTAGEM DE BACTÉRIAS DO ÁCIDO ACÉTICO

Tayara Narumi Andrade  
Natália Norika Yassunaka Hata  
Wilma Aparecida Spinosa

**DOI 10.22533/at.ed.1392021094**

### **CAPÍTULO 5..... 45**

#### **PRODUÇÃO SIMULTÂNEA DE EXOPOLISSACARÍDEOS POR *Komagataeibacter xylinus***

Natália Norika Yassunaka Hata  
Mariana Assis de Queiroz Cancian  
Rodrigo José Gomes  
Fernanda Carla Henrique Bana  
Wilma Aparecida Spinosa

**DOI 10.22533/at.ed.1392021095**

### **CAPÍTULO 6..... 53**

#### **ANÁLISE DO ESPECTRO INFRAVERMELHO, INVESTIGAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E POTENCIALIZAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER**

Raimundo Luiz Silva Pereira  
Ana Carolina Justino de Araújo  
Paulo Nogueira Bandeira  
Henrique Douglas Melo Coutinho  
Jean Parcelli Costa do Vale  
Alexandre Magno Rodrigues Teixeira  
Hécio Silva dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.1392021096**

### **CAPÍTULO 7..... 67**

#### **TESTE ALELOPÁTICO DO EXTRATO DE ERVA DE PASSARINHO (*Struthanthus marginatus* (Desr.) Blume) NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.) E PEPINO (*Cucumis sativus* L.)**

Juliana Baptista Simões  
Adriana Leonardo Lima Silva  
Gleisiane Braga da Silva  
Maycon do Amaral Reis  
Vitor Caveari Lage

**DOI 10.22533/at.ed.1392021097**

### **CAPÍTULO 8..... 83**

#### **ASPECTOS TOXICOLÓGICOS RELACIONADOS AO USO DE AGROTÓXICOS E SUA RELAÇÃO COM DANOS HEPÁTICOS: UMA REVISÃO**

Marcio Cerqueira de Almeida  
Ana Clara de Novaes Almeida  
Jaqueline de Souza Anjos  
Marta Rocha Batista  
José Eduardo Teles Andrade

José Marcos Teixeira de Alencar Filho  
Morganna Thinesca Almeida Silva  
Elaine Alane Batista Cavalcante  
Ivania Batista de Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.1392021098**

**CAPÍTULO 9..... 92**

**ADJUVANTES DO SOLO E SEUS EFEITOS NOS ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS E DESENVOLVIMENTO DA PLANTA**

Leopoldo Sussumu Matsumoto  
Aline de Oliveira Barbosa  
Fabiano Rogério Parpinelli Junior  
Gilberto Bueno Demétrio

**DOI 10.22533/at.ed.1392021099**

**CAPÍTULO 10..... 106**

**UTILIZAÇÃO DA QUITOSANA NA CONSERVAÇÃO DA LARANJA (*Citrus sinensis*) NA PÓS-COLHEITA**

João Pedro Silvestre Armani  
Carlise Debastiani  
Alessandro Jefferson Sato

**DOI 10.22533/at.ed.13920210910**

**CAPÍTULO 11 ..... 121**

**PHYSIOLOGICAL QUALITY AND INCIDENCE OF *Colletotrichum lindemuthianum* ON GERMINATION AND VIGOR OF COMMON BEAN SEEDS COLLECTED AT MATO GROSSO**

Rafhael Felipin-Azevedo  
Murilo Fuentes Peloso  
Valvenarg Pereira da Silva  
Germano Manente Neto  
Abner Pais dos Santos  
Marco Antonio Aparecido Barelli  
Cristiani Santos Bernini

**DOI 10.22533/at.ed.13920210911**

**CAPÍTULO 12..... 129**

**FUNGOS MICORRÍZICOS NA ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS DO CULTIVO *IN VITRO* E DIMINUIÇÃO DO USO DE FERTILIZANTES: UMA REVISÃO DE LITERATURA**

Mariana Pereira de Oliveira  
Mariane de Jesus da Silva de Carvalho  
Honorato Pereira da Silva Neto  
Vanessa de Oliveira Almeida

**DOI 10.22533/at.ed.13920210912**

**CAPÍTULO 13..... 136**

**BIODIGESTOR COMO FONTE DE MATÉRIA ORGÂNICA PARA O PLANTIO DE**

## LEGUMINOSAS

Breno Wentrick da Silva Costa  
Luana Ramos Astine  
Marcus Vinícius Javarini Temponi  
Rosângela Marques de Lima Paschoaletto  
Saulo Paschoaletto de Andrade

**DOI 10.22533/at.ed.13920210913**

## **CAPÍTULO 14..... 141**

### **MEDICINA VETERINÁRIA REGENERATIVA: O USO DE SCAFFOLDS BIOLÓGICOS COM PEIXES CARTILAGINOSOS**

Maiara Gonçalves Rodrigues  
Estela Silva Antoniassi  
Paula Fratini  
Carlos Eduardo Malvasi Bruno

**DOI 10.22533/at.ed.13920210914**

## **CAPÍTULO 15..... 148**

### **ANÁLISE MACROSCÓPICA DO CORAÇÃO DE TUBARÃO-MARTELO *SPHYRNA LEWINI* E *SPHYRNA ZYGAENA***

Inara Pereira da Silva  
Gabriel Nicolau Santos Sousa  
Gustavo Augusto Braz Vargas  
Alessandra Tudisco da Silva  
Daniela de Alcantara Leite dos Reis  
Carlos Eduardo Malvasi Bruno  
Marcos Vinícius Mendes Silva

**DOI 10.22533/at.ed.13920210915**

## **CAPÍTULO 16..... 156**

### **HÉRNIA INGUINAL EM LÊMURE-DE-CAUDA-ANELADA (*Lemur catta*): RELATO DE CASO**

Natália Todesco  
Lanna Torrezan  
Rode Pamela Gomes  
Vanessa Lanes Ribeiro  
Hanna Sibuya Kokubun  
Rodrigo Hidalgo Friciello Teixeira  
André Luiz Mota da Costa

**DOI 10.22533/at.ed.13920210916**

## **CAPÍTULO 17..... 166**

### **ETOGRAMA DE UM GRUPO DE MACACOS BARRIGUDOS (*LAGOTHRIX LAGOTRICHIA*) VIVENDO NA FUNDAÇÃO ZOOBOTÂNICA DE BELO HORIZONTE, MG**

Gabriel Spineli Rodrigues Lopes  
Kleber Felipe Alves da Silva  
Rayane Isabele Nunes Lopes

Rafaela Dalva Rodrigues de Carvalho  
Pedro Henrique Goulart Pinheiro  
Gabriel de Oliveira Rodrigues  
Clara Luísa Silveira  
Daniel Negreiros  
Evandro Gama de Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.13920210917**

**CAPÍTULO 18..... 182**

**LEVANTAMENTO PRELIMINAR DA AVIFAUNA NO INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS RIO VERDE**

Julia de Freitas Alves  
Ely Carlos Mendes do Nascimento Júnior  
Yasmin Giovanna Santos Carvalho  
Alessandro Ribeiro de Moraes  
Luiz Carlos Souza Pereira

**DOI 10.22533/at.ed.13920210918**

**CAPÍTULO 19..... 187**

**ASPECTOS DA FITOSSOCIOLOGIA DE UM FRAGMENTO DE CERRADO EM MEIO À CAATINGA DO CRISTALINO, SUL DO CEARÁ**

José Cícero de Moura  
Gabriel Venancio Cruz  
Maria Amanda Nobre Lisboa  
Maria Arlene Pessoa da Silva  
Ana Cleide Alcântara Moraes Mendonça  
Leonardo Silvestre Gomes Rocha  
Marcos Aurélio Figueirêdo dos Santos  
Luciana da Silva Cordeiro  
Marcos Antonio Drumond  
João Tavares Calixto Júnior

**DOI 10.22533/at.ed.13920210919**

**SOBRE O ORGANIZADOR..... 214**

**ÍNDICE REMISSIVO..... 215**

# CAPÍTULO 1

## IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS PATOGENICOS EM AREIA DA PRAIA DO CALHAU, SÃO LUÍS-MA, LITORAL NORDESTE DO BRASIL

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 20/08/2020

### **Fernanda Costa Rosa**

Faculdade Estácio de São Luis  
São Luis, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/2273952020738211>

### **Josivan Regis Farias**

Faculdade Estácio de São Luis  
São Luis, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/0211959384143831>

### **Jéssica Furtado Soares**

Faculdade Estácio de São Luis  
São Luis, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/0343503353451687>

### **Jéssica Kelly Reis Pereira**

Faculdade Estácio de São Luis  
São Luis, Maranhão

### **Nivia Rhenny do Nascimento Soares**

Faculdade Estácio de São Luis  
São Luis, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/2921511306968485>

### **Camilla Itapary dos Santos**

Universidade Ceuma  
São Luis, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/4821707886057748>

### **Cristina de Andrade Monteiro**

Instituto Federal do Maranhão – IFMA  
<http://lattes.cnpq.br/2495926580105868>

**RESUMO:** Nos últimos anos foi verificado um

aumento dos casos de micoses contraídas por pessoas que frequentam as praias e utilizam suas areias como local de recreação. Isso tem ocasionado maiores preocupações com a contaminação microbiana. Sendo assim o objetivo dessa pesquisa foi identificar a presença de fungos patogênicos em amostras de areia da praia do Calhau, São Luís-MA. As amostras de areia foram coletadas em três pontos da praia, levando-se em consideração aqueles que apresentam um maior fluxo de pessoas. A análise micológica foi realizada pela técnica de espalhamento. Os principais gêneros encontrados foram *Chaetonium*, *Trichophyton*, *Aspergillus* e *Candida*, sendo os três últimos de grande relevância clínica. As amostras de areia analisadas mostram que a praia do Calhau em São Luís-MA apresenta uma variedade de fungos patogênicos que podem aderir à epiderme dos frequentadores e gerar possíveis micoses. Portanto, sugere-se um monitoramento maior nas praias, não só para a zona hídrica, mas também para as zonas secas e úmidas, no que diz respeito ao aspecto sanitário.

**PALAVRAS-CHAVE:** Identificação, Fungos Patogênicos, Areia contaminada.

### IDENTIFICATION OF PATHOGENIC FUNGI IN SAND OF CALHAU BEACH, SÃO LUÍS – MA, NORTHEAST BRAZILIAN COAST

**ABSTRACT:** Over the last years there has been an increase in the number of people who develop mycoses, especially those who frequent the beaches and use the sand area as part of

recreation. This leads to greater concerns about microbial contamination. Therefore, the aim of this work was to identify the presence of pathogenic fungi in sand samples from Calhau beach, São Luís-MA. Sand samples were collected from three points of the beach, taking into consideration the parts with the largest flow of people. Mycological analysis was performed by the scattering technique. The main genera found were *Chaetonium*, *Trichophyton*, *Aspergillus* e *Candida*, the last three being of great clinical interest. The sand samples analyzed shown that Calhau beach in São Luís-MA has a variety of pathogenic fungi that can adhere to the visitors' epidermis, leading to possible mycoses. Therefore, greater monitoring on the beaches is suggested, not only for the water zone, but also for the wet and dry areas, as regards the sanitary aspect.

**KEYWORDS:** Identification, Pathogenic Fungi, Sand contamination.

## INTRODUÇÃO

O Maranhão está localizado na região nordeste do Brasil, possui 6.574.789 habitantes, é um dos maiores estados do país com área aproximada de 332 mil km<sup>2</sup>. O estado nordestino possui 640 km de litoral, o segundo maior do país, onde está localizada a capital São Luis, com 1.014.837 pessoas e 32 km de praias (EL-ROBRINI et al., 2016; SHORT E KLEIN, 2016).

O litoral maranhense está dividido em Litoral Ocidental, Golfão Maranhense e Litoral Oriental, o que pode ser justificado pela diferença em suas características geoambientais. Dentre estes três segmentos o Golfão Maranhense está localizado em uma posição em ângulo reto em relação ao litoral, caracterizado como um complexo estuarino, onde deságuam os afluentes dos rios Mearim, Itapecuru e Munim. No golfão, desembocam duas drenagens independentes, o sistema Mearim/Pindaré/Grajaú, na baía de São Marcos, e o rio Itapecurú, na baía de São José (EL-ROBRINI et al., 2016).

A baía de São Marcos é uma vasta zona estuarina ativa, compreende também o litoral norte da ilha de São Luís, com um canal central bem desenvolvido e dominado por correntes de vazante, onde sucedem-se bancos arenosos, em série, desde a foz da baía, até dezenas de quilômetros para o interior. As praias do litoral de São Luis que fazem parte da baía de São Marcos são: Praia da Ponta da Areia, Praia de São Marcos, Praia do Calhau, Praia do Olho D'água e Praia do Araçagi. As praias possuem largura média de aproximadamente 250 m, podendo variar em face da grande amplitude de maré; a faixa praial possui em geral extensão com cerca de até 8 km (EL-ROBRINI et al., 2016; DOMINGUEZ E MARTIN, 2004).

A praia do Calhau possui 7 km de extensão e a área apresenta significativas edificações; a ocupação da área está associada à expansão urbana de São Luís. O clima é quente e úmido com dois períodos distintos um chuvoso (janeiro a junho) e outro seco (julho a dezembro). O índice pluviométrico atinge cerca de 2.000 mm/ano. As médias de temperatura durante o período seco variam entre 25.5°C e 28.6°C

(SANTIAGO et al., 2012; MOURA et al., 2007).

Tem sido observado no litoral maranhense, um processo intenso de urbanização iniciado a partir da década de 70, nem sempre acompanhado por uma estruturação e planejamento do espaço urbano, ocasionando inúmeros problemas ambientais, principalmente com relação ao saneamento ambiental, além da depreciação da qualidade sanitária das águas, a qual pode repercutir em danos à saúde pública e ao setor econômico (SIQUEIRA et al., 2010).

Vieira (2000) em suas pesquisas sobre a poluição das praias brasileiras, observou que as cidades litorâneas do Brasil despejam seus detritos no mar sem um tratamento adequado, causando sérios danos aos banhistas e principalmente as diversas formas de vida desse ambiente. Nesse ambiente estuarino tem-se formas de vidas distintas, incluindo microrganismos, podendo ter o surgimento de microrganismos não típicos desse ambiente, compreendido por um fator de carreamento ou transporte por meio de algum vetor (BRANDÃO 2002).

Pinto e Oliveira (2011) destacam que, a areia apresenta um maior quantitativo de microrganismos, pela maior disposição de matéria orgânica. Outra evidência importante está relacionada com a localização desta área, visto que pela faixa litorânea a área se dispõe em uma zona úmida, que é banhada pela água do mar, e a zona seca, que não apresenta nenhuma ligação com fontes hídricas, sendo que ambas as áreas apresentam um risco inerente para a população, pela questão de serem divididas em maior circulação de pessoas (zona seca) e a parte recreativa (zona úmida) (BRANDÃO 2002). Além de sofrerem a ação da lavagem pela água do mar, existe a água de drenagem urbana durante as chuvas, onde recebem lixo, fezes e urina de animais e secreções do corpo de humanos, as quais podem apresentar altas densidades de microrganismos. Todos esses fatores podem contribuir para a proliferação e a disseminação de bactérias, fungos, vírus e parasitas patogênicos (PINTO E OLIVEIRA, 2011).

Em relação à saúde pública, o principal problema está no crescimento das populações humanas em cidades litorâneas, sem acompanhamento na melhoria da infraestrutura de saneamento básico (OLIVEIRA et al., 2010).

Dentre as infecções humanas ocasionadas por microrganismos, as infecções de etiologia fúngica são frequentemente observadas durante as estações do ano em que a temperatura do ambiente e a umidade relativa são altas, além da areia de praia representar um importante papel como veículo na transmissão de processos de infecção (MARTINS et al., 2005).

Nos últimos anos foi verificado um aumento dos casos de micoses contraídas por pessoas que frequentam as praias e utilizam suas areias como local de recreação. Isso tem ocasionado maiores preocupações com a contaminação microbiana (PINTO E OLIVEIRA, 2011; REGO, 2010).

A análise da qualidade ambiental das praias, durante muito tempo, foi realizada apenas para monitoramento da condição de suas águas, apesar da areia representar possível fonte de contágio de microrganismos patogênicos. Dessa forma, ressalta-se que as praias consideradas impróprias para banho, também apresentam areia com qualidade sanitária comprometida, devendo ser evitado o contato direto (REGO, 2010).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), em sua Resolução 274/200, que define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras, no Art. 8º recomenda aos órgãos ambientais a avaliação das condições parasitológicas e microbiológicas da areia, para futuras padronizações (CONAMA, 2000).

Por se tratar de uma cidade litorânea e com suas praias impróprias para banho (100%), este trabalho teve como objetivo caracterizar a diversidade de fungos isolados em diferentes pontos da praia do Calhau, uma das mais movimentadas e cartão-postal da cidade de São Luís e verificar a presença de fungos que possam ser prejudiciais à saúde.

## **METODOLOGIA**

### **Desenho e local de estudo**

De acordo com Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), através do censo realizado no ano de 2010, a cidade de São Luís encontra-se localizada ao norte do Estado do Maranhão, compreende um dos quatro municípios da ilha, sua população apresenta 1.014. 837 habitantes, tendo área de 834,785 km<sup>2</sup>, altitude de 3,66 m e clima tropical úmido.

A praia do Calhau, localizada ao norte de São Luís, possui 7 km de extensão e está delimitada pelas coordenadas geográficas 2° 24' 27" e 2° 29' 32" de latitude sul e 44° 14'48" e 44° 17'19" longitude oeste. A área apresenta significativas edificações residenciais, bares, restaurantes, pousadas etc.

### **Critério de inclusão e exclusão**

Foram incluídas nesse estudo amostras de areia das zonas secas e úmidas de pontos distintos da praia do Calhau, São Luís (MA). Os critérios de exclusão foram representados pelas zonas alagadas e com foco de poluentes.

### **Período da pesquisa**

A pesquisa foi iniciada durante o mês de fevereiro, perpetuando-se até o mês de abril de 2018, período da análise e identificação dos fungos.

## Amostragem

As amostras de areia foram coletadas de três pontos da praia do Calhau, levando-se em consideração as partes que apresentam um maior fluxo de pessoas. As amostras de areia foram coletadas conforme a Associação Bandeira Azul da Europa (ABAE, 2002) que preconiza zonas distintas para a coleta: zona seca e zona úmida.

Em cada uma das zonas delimita-se 2 m<sup>2</sup>, coletando cinco sub amostras, sendo uma no ponto central e nos quatro vértices do retângulo, a uma profundidade de 5 a 15 cm, através do auxílio de pá e luvas estéreis.

As amostras de areia foram acondicionadas em sacos estéreis devidamente identificadas com o local, data, hora da coleta e transportadas até o laboratório de Microbiologia e Parasitologia da Faculdade Estácio de São Luís.

Em laboratório procedeu-se a pesagem de 100 gramas de areia de cada um dos pontos, transferidas para frascos contendo 100 ml de solução salina a 0,85%, e agitou-se por uma hora, em seguida transferiu-se para tubos aguardando a decantação da areia espontaneamente (ABAE, 2002).



Figura 1- Imagens via satélite da praia do Calhau, ilustrando os pontos da coleta.

## Análise micológica

A análise micológica foi realizada pela técnica de espalhamento, retirando-se 100 µL do sobrenadante de cada tubo, adicionando em placas de Petri com meio ágar Sabouraud Dextrose com Cloranfenicol e ágar Batata, realizando a técnica de espalhamento com alça de Drigalski. As placas foram identificadas e incubadas na estufa por 7 dias a 30 °C (ALMEIDA, 2012). Logo após este período foram observados crescimento de diferentes gêneros fúngicos procedendo-se o isolamento de cada colônia, para posterior identificação.

Para identificação dos fungos filamentosos utilizou-se a técnica de

microcultivo, que consiste na deposição, em placa de Petri, de uma lâmina sobre camada de algodão umedecido com água destilada estéril, contendo um suporte (palitos de madeira paralelos).

Transferiu-se dois cubos de ágar Batata Dextrose, e logo após foi realizado o inóculo das colônias por fragmentação de hifas, cobrindo o meio com uma lamínula estéril. Após essa etapa, as placas foram incubadas em estufa durante 5 a 7 dias entre 25 a 30°C (SILVA FILHO E OLIVEIRA, 2004).

Depois do período de incubação, foi realizado o procedimento de inativação do fungo e fixação de suas estruturas, adicionando 1 mL de álcool 70% e envolvendo a placa com fita adesiva por 24h. As lâminas de identificação foram montadas, utilizando-se a lamínula do microcultivo que foi disposta sobre uma nova lâmina contendo uma gota do corante azul de algodão a 0,5%.

A observação das estruturas fúngicas foram observadas em microscopia óptica nas objetivas de 10x e 40x (SILVA FILHO E OLIVEIRA, 2004).

### Identificação das colônias

A identificação é então possível pela observação ao microscópio seguindo chaves e livros de identificação (MARTINS et al., 2005; BERNARDI, 2009).

Para as leveduras utilizou-se o teste presuntivo de identificação do gênero *Candida* spp.

As amostras obtidas em ágar Sabouraud-Dextrose com Cloranfenicol, foram inoculadas no meio CHROMagar *Candida*® em placas de Petri, e incubadas a 37°C por um período de 24 a 48 horas, com o objetivo de diferenciar as espécies de *Candida* spp. pela característica da coloração da colônia (HORVATH, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados três pontos distintos da praia do Calhau, investigando as zonas secas e úmidas. A partir dessa análise foi observado que apenas no ponto 2 em zona úmida não houve crescimento fúngico. Nos demais pontos foram obtidos os resultados expressos na Tabela 1.

Os resultados apresentados neste estudo demonstram claramente que o ambiente praiano possui uma grande diversidade de fungos, devido a contaminação observada nos ambientes avaliados. A presença de focos de poluição está associada, não só ao fluxo de pessoas que transitam no local, mas também aos córregos levando água de esgoto para a praia, tubulação de esgoto presente na praia e focos de lixo presentes na areia. Esses fatores associados a fatores ambientais como, ventilação, temperatura, umidade, contribuem para a disseminação de espécies atípicas do ambiente praiano (REGO, 2010; MCCOY et al., 1992).

	ZONA SECA	ZONA ÚMIDA
PONTO 1	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus terreus</i>
	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
	<i>Candida krusei</i>	<i>Aspergillus penicilioides</i> <i>Chaetomium</i> sp.
PONTO 2	<i>Aspergillus ibericus</i>	
	<i>Aspergillus niger</i>	-
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	
PONTO 3	<i>Aspergillus ibericus</i>	<i>Aspergillus niger</i>
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Trichophyton</i> sp.
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Candida albicans</i>
		<i>Candida tropicalis</i>

Tabela 1 – Identificação dos gêneros e espécies fúngicas nos pontos analisados.

Em um estudo realizado por Maier et al., (2003), no município do Rio de Janeiro, foi relatado a presença de espécies patogênicas como: *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium* sp., *Scopulariopsis* sp., *Chrysosporium* sp., *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, tendo semelhanças entre as espécies do gênero *Aspergillus* relatadas neste estudo.

A presença de fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* (Figuras 1, 2, 3 e 6) pode estar relacionada ao fenômeno de matéria orgânica, que serve de fonte de carbono, nitrogênio e sais minerais para proliferação dos microrganismos, fazendo com que a areia seja geralmente mais contaminada do que a água.

Cavalcanti et al., (2006) ao investigar fungos filamentosos no solo em municípios da região Xingó, evidenciou a presença principalmente de *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Humicola fuscoatra*, *Fusarium solani* e *Aspergillus japonicus*; resultados estes que concordam com a presente pesquisa. Faria et al., (2016), também analisaram amostras de areia de praia e detectaram a presença de fungos do gênero *Aspergillus*.

Dentre os trabalhos pesquisados, nenhum relatou a presença dos fungos dos gêneros *Chaetomium* em amostras de areia de praia. O fungo *Chaetomium* sp. é geralmente isolado de edifícios danificados pela água, possuindo a capacidade de produzir micotoxinas denominadas de chaetoglobosinas A e C, tendo ação letal em células de mamíferos ligando-se à actina, levando a inibição da locomoção e projeções da superfície celular (FOGLE, 2008).

O estudo de Brondani et al. (2016), relata a presença de fungos do gênero *Trichophyton* em amostras de areia de praças na cidade de Porto Velho (RO). O

*Trichophyton* sp. pertence ao grupo dos dermatófitos, microrganismos queratinofílicos e participam diretamente da decomposição de resíduos, removendo os debrís naturais e lixo depositados no meio ambiente, sendo esses fatores ecológicos descritos como responsáveis pela disseminação e a sobrevivência desses fungos no solo, além do fluxo de pessoas e animais na área, pois estes disponibilizam substratos queratinizados favorecendo o crescimento dos microrganismos (ACHTERMAN E WHITE, 2013).

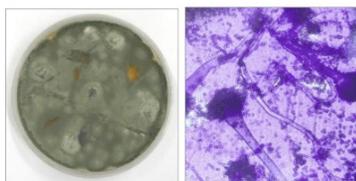


Figura 1- A) colônia de *Aspergillus fumigatus* em ágar Batata; B) *A. fumigatus* em objetiva de 40x.

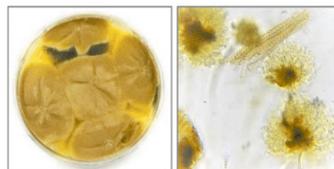


Figura 2- A) colônia de *Aspergillus terreus* em ágar Batata; B) *A. terreus* em objetiva de 40x.



Figura 3- A) colônia de *Aspergillus penicilloides* em ágar Batata; B) *A. penicilloides* em objetiva de 40x.

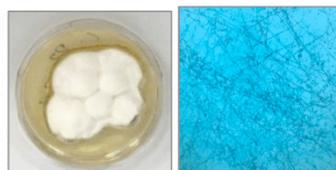


Figura 4- A) colônia de *Trichophyton interdigitale* em ágar Batata; B) *T. interdigitale* em objetiva de 40x.

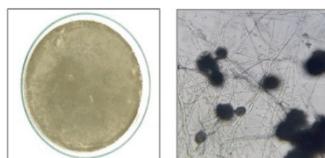


Figura 5- A) colônia de *Chaetomium* sp. em ágar Batata; B) *Chaetomium* sp. em objetiva de 40x.

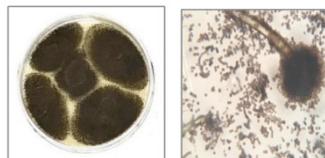


Figura 6- A) colônia de *Aspergillus niger* em ágar Batata; B) *A. niger* em objetiva de 40x.

Segundo Macêdo (2004) as espécies do gênero *Candida*, não conseguem sobreviver a longo prazo na água ou areia contaminada por poluentes e quando é relatada a sua presença é por virtude de uma poluição recente.

Leveduras do gênero *Candida* são responsáveis por infecções fúngicas

superficiais em imunocompetentes, como a onicomicose, caracterizada por um aumento significativo na espessura da região acometida, mudança na coloração da unha para a cor amarela e descolamento parcial ou total da unha. É também considerado um fungo oportunista uma vez que não é patogênico em indivíduos hígidos, desempenhando na espécie humana uma relação de comensalismo, entretanto pode causar infecções sistêmicas em imunodeprimidos (SANTOS E DUARTE, 2019; DROZDOWICZ et al., 2000; CROCCO et al., 2004).

No estudo realizado por Pinto e Oliveira (2011) ao analisar a areia de duas praias no município do Guarujá no estado de São Paulo, relatou-se a presença de leveduras do gênero *Candida*, onde foi encontrada uma variedade de espécies, tais como: *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. albicans*. Em outro estudo realizado por Vieira et al., (2000) em uma praia de Fortaleza-CE, foram encontradas espécies do gênero *Candida*, como: *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*.

## CONCLUSÃO

De acordo com as amostras da areia de praia obtidas e analisadas, infere-se que a praia do Calhau em São Luís - MA, apresenta uma variedade de fungos patogênicos, sugerindo contaminação de origem antropológica, dessa área de lazer. Provavelmente devido à falta de resoluções e/ou legislações municipais que visem analisar a areia da praia com relação a contaminação por microrganismos (bactérias, fungos e protozoários).

A falta de saneamento básico influencia diretamente nos resultados expressados, pois dados do Instituto Trata Brasil (2019) mostra que a capital maranhense encontra-se na 83ª colocação no ranking do saneamento, entre as 100 mais populosas cidades brasileiras; expondo que o Maranhão, gasta por habitante, 53% a menos que a média nacional com saneamento básico. Acessos adequados a rede coletora de esgoto e coleta de lixo, estão aquém da média nacional e nordestina.

## REFERÊNCIAS

ACHTERMAN, R.R; WHITE, T.C. Dermatophytes. *Curr Biol.* 2013, V.23, n.13, p. 551-2.

ALMEIDA, E.A.F. **Microbiologia e parasitologia da areia da praia do balneário Rincão, Içara, SC.** 2012.

ASSOCIAÇÃO BANDEIRA AZUL DA EUROPA – ABAE. **Qualidade microbiológica de areias de praias litorais – Relatório final.** Portugal: Instituto do Ambiente (I.A). 2002. 57p.

BERNARDI, A.C.A. et al. Estudo de fungos queratinofílicos geofílicos em praças públicas de Jaboticabal-SP. *Revista Brasileira Multidisciplinar*, v. 12, n. 2, p. 79-88, 2009.

BRANDÃO, J.B. et al. **Qualidade Microbiológica de Areias de Praias Litorais: relatório final.** 2002.

BRONDANI L.; BATISTA, L.D.R.; BRONDANI, F.M.M.; RODRIGUES F.M. Pesquisa de fungos dermatófitos queratinofílicos em amostras de areia de praças públicas do município de Porto Velho-RO. **Revista científica da faculdade de educação e meio ambiente** 7(1): 137-150, jan.-jun., 2016.

CAVALCANTI, M.A.Q.; OLIVEIRA, L.G.; FERNANDES, M.J.; LIMA, D.M. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na região Xingó, Brasil. **Acta. Bot. Bras.** [online]. 2006, vol.20, n.4, pp.831-837. ISSN 01023306.

CROCCO, E.I. et al. Identificação de espécies de *Candida* e susceptibilidade antifúngica in vitro: estudo de 100 pacientes com candidíases superficiais. **An Bras Dermatol**, v. 79, n. 6, p. 689-697, 2004.

DOMINGUEZ, J.M.L.; MARTIN, L. (consultado em 2004). **Controles Ambientais no desenvolvimento de dunas costeiras da região Nordeste do Brasil.** <http://www.cpgg.ufba.br/lec/dunas.htm>.

DROZDOWICZ, A.G. et al. **Introdução a ecologia microbiana.**v.2. São Paulo: Ed. Manole, 2000. 186p.

EL-ROBRINI, M; MARQUES VJ; SILVA, MMA; EL-ROBRINI, MHS; FEITOSA, AC; FARIA, AP et al. **Avaliação externa da qualidade em microbiologia de areias de praias-estudo piloto.** 43º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, 26-29 junho 2016. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

FOGLE, MR et al. Growth and mycotoxin production by *Chaetomium globosum* is favored in a neutral pH. **International journal of molecular sciences**, 9(12), 2357-2365. 2008.

HORVATH, L.L. et al. Direct Isolation of *Candida* spp. from blood cultures on the chromogenic Medium CHROMagar *Candida*. J. Clin. Microbiol., Washington, D.C., v. 41, p. 2629–2632, 2003. [https://www.mma.gov.br/estruturas/sqa\\_sigercom/\\_arquivos/ma\\_erosao.pdf](https://www.mma.gov.br/estruturas/sqa_sigercom/_arquivos/ma_erosao.pdf)

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo 2010.

MACÉDO, JAB. **Águas e águas.** 2º ed. São Paulo: Varela, 2004. 977p.

MAIER, L.M. et al. **Avaliação da presença de fungos e bactérias patogênicas nas areias de duas praias de baixo hidrodinamismo e alta ocupação humana no litoral do município do Rio de Janeiro** (estudos cariocas). Rio de Janeiro: Instituto Municipal de Urbanismo Pereira Passos, 2003.

MARTINS, J.E.C.; MELO, N.T.; HEINS-VACCARI, E.M. **Atlas de micologia médica.** 2005.

MCCOY, C.W.; STOREY, G.K.; MILANI, M.S.T. Fatores ambientais que afetam fungos entomopatogênicos no solo. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, 27, S/N: 107-111, abr. 1992. ISSN: 1678-3921

MOURA, M.S.B.; GALVINCIO, J.D.; BRITO, L.T.L.; SOUZA, L.S.B.; SÁ, I.I.S.; SILVA, T.G.F. **Clima e água de chuva no Semi-Árido**. 2007. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/159649/1/OPB1515.pdf>

OLIVEIRA, K.T.; SILVA, J.P.V.; DUARTE, A.J.C. **Despejo de esgoto, poluição marinha, qualidade de vida e saúde: o caso do emissário submarino da barra da tijuca**. Iniciação científica na educação profissional em saúde. 2010.

PINTO, A.B.; OLIVEIRA, A.J.F.C. Diversidade de microrganismos indicadores utilizados na avaliação da contaminação fecal de areias de praias recreacionais marinhas: estado atual do conhecimento e perspectivas. **O Mundo da Saúde**, v. 35, n. 1, 2011.

REGO, JCV. **Qualidade sanitária de água e areia de praias da Baía de Guanabara**. Dissertação. FIOCRUZ, Rio de Janeiro. 2010.

RESOLUÇÃO CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000. Disponível em: [file:///C:/Users/adnan/Downloads/Resolucao\\_Conama\\_274\\_Balneabilidade.pdf](file:///C:/Users/adnan/Downloads/Resolucao_Conama_274_Balneabilidade.pdf)

SANTIAGO, P.D.M.; SANTIAGO, P.M.M.; JÚNIOR, C.L.R.; CÔELHO, L.R.O.; VERAS, P.F. **Caracterização dos Resíduos Sólidos da Praia do Calhau, São Luís – MA**. 2012.

SANTOS, J.B; DUARTE, F.C. Identificação dos principais patógenos e manejo clínico. **Revista Ibero-americana de podologia**. ISSN: 2674-8215 - v1. n2 nov. 2019 - pag. 81 – 87. Revista eletrônica. [www.journal.iajp.com.br](http://www.journal.iajp.com.br)

SHORT, A.D.; KLEIN, A.H.F. **Brazilian Beach Systems**. Editora Springer, 19 de jul. de 2016

SILVA FILHO, G.N.; OLIVEIRA, V.L.M. **Microbiologia – Manual de aulas práticas**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2004.

SIQUEIRA, L.F.S.; NETO, J.J.G.C.; ROJAS, M.O.A.I.; BARBIERI, R.; SANTOS, M.V. **Diagnóstico socioambiental e avaliação das condições sanitárias da água de praias de São Luis - MA (Brasil), no decênio 1989-2009**. 2010.

VIEIRA, R.H.S.F. **Poluição microbiológica de algumas praias brasileira**. Arquivos de Ciências do Mar, v. 33, n. 1-2, p. 77-84, 2000.

# CAPÍTULO 2

## MANUTENÇÃO E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA VIRULÊNCIA DE CÉPAS DE *TOXOPLASMA GONDII*

Data de aceite: 01/09/2020

### **Isa Marianny Ferreira Nascimento Barbosa**

Universidade Federal de Jataí.  
<http://lattes.cnpq.br/3443767271222860>

### **Antônio Roberto Gomes Junior**

Universidade Federal de Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/3510728238408186>

### **Jéssica Yonara Souza**

Universidade Federal de Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/2043946024340069>

### **Natália Domann**

Universidade Federal de Jataí  
<http://lattes.cnpq.br/8556300196030202>

### **Lais Silva Pinto Moraes**

Universidade Federal de Jataí  
<http://lattes.cnpq.br/6446340730748392>

### **Vanessa Oliveira Lopes de Moura**

Universidade Federal de Jataí  
<http://lattes.cnpq.br/3344143571314267>

### **Stéfanne Rodrigues Rezende**

Universidade Federal de Jataí  
<http://lattes.cnpq.br/839644855906376>

### **Jaqueline Ataíde Silva Lima da Igreja**

Universidade Federal de Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/7620558415017849>

### **Heloísa Ribeiro Storchilo**

Universidade Federal de Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/3543813852521316>

### **Taynara Cristina Gomes**

Universidade Federal de Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/4412745819880267>

### **Ana Maria de Castro**

Universidade Federal de Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/9232309971000621>

### **Hanstter Hallison Alves Rezende**

Universidade Federal de Jataí  
<http://lattes.cnpq.br/4982752673858886>

**RESUMO:** O estudo biológico e genético de *Toxoplasma gondii* é essencial no entendimento da relação parasito-hospedeiro. O parasito possui diferentes cepas patogênicas que podem ser analisadas através da inoculação em modelos experimentais como o cultivo celular. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferenças morfométricas e analisar o efeito citopático de isolados de *Toxoplasma gondii*. Os parasitos utilizados no estudo foram previamente isolados de camundongos, utilizou-se as cepas RH e a cepa Me49. Para análise do efeito citopático, foram mantidas culturas estáveis de células VERO, em meio DMEM suplementado com SBF 10%. Em seguida, a cultura foi infectada com os taquizoítos dos isolados na proporção de dois parasitos por célula. A partir da infecção, monitorou-se a interação célula/parasito por meio de fotografias com o intervalo de 12 horas, durante 7 dias. Após este processo, a confluência celular foi realizada utilizando-se o programa Image J<sup>®</sup>. Para análises morfométricas foram confeccionadas lâminas pela coloração de Panótico<sup>®</sup>. Os taquizoítos foram fotografados com utilização de fotomicroscópio e as imagens analisadas através do programa Image J<sup>®</sup> para avaliação de diferenças no comprimento

longitudinal, largura na altura do núcleo e distância entre núcleo e complexo apical. Os resultados obtidos indicam que o tamanho é inversamente proporcional à patogenicidade da cepa, pois a confluência celular da cultura infectada com a cepa RH foi menor (6,34%) que a infectada por Me49 (15,89%). Além disso, a análise morfométrica da cepa Me49 em comparação com a RH demonstrou diferença significativa em pelo menos uma das variáveis analisadas. Assim, concluiu-se que o estudo do efeito citopático e da análise morfométrica de isolados de *T. gondii* poderão auxiliar na compreensão da complexa relação parasito-hospedeiro, podendo assim ser relacionada com diferenças na gravidade da infecção e no prognóstico da doença.

**PALAVRAS-CHAVE:** Alterações morfométricas, cepa Me49, efeito citopático e *Toxoplasma gondii*.

## MAINTENANCE AND *IN VITRO* EVALUATION OF THE VIRULENCE OF *TOXOPLASMA GONDII* STRAINS

**ABSTRACT:** The biological and genetic study of *Toxoplasma gondii* is essential in understanding the parasite-host relationship. The parasite has different pathogenic strains that can be analyzed through inoculation in experimental models such as cell culture. The objective of this work was to evaluate morphometric differences and analyze the cytopathic effect of *Toxoplasma gondii* isolates. The parasites used in the study were previously isolated from mice, using the RH strains and the Me49 strain. For cytopathic effect analysis, stable cultures of VERO cells were maintained in DMEM medium supplemented with 10% SBF. Then, the culture was infected with the tachyzoites of the isolates in the proportion of two parasites per cell. From infection, cell/parasite interaction was monitored through photographs with the 12-hour interval for 7 days. After this process, the cellular confluence was performed using the Image J® program. For morphometric analyses, slides were made by Panotic® staining. The tachyzoites were photographed using a photomicroscope and the images analyzed through the Image J® program for evaluation of differences in longitudinal length, width in core height and distance between nucleus and apical complex. The results obtained indicate that the size is inversely proportional to the pathogenicity of the strain, because the cell confluence of the infected culture with the RH strain was lower (6.34%) than Me49 (15.89%). In addition, morphometric analysis of the Me49 strain compared to RH showed a significant difference in at least one of the variables analyzed. Thus, it was concluded that the study of the cytopathic effect and morphometric analysis of *T. gondii* isolates can help in understanding the complex parasite-host relationship, and may therefore be related to differences in the severity of the infection and the prognosis of disease.

**KEYWORDS:** Morphometric changes, Me49 strain, cytopathic effect and *Toxoplasma gondii*.

## 1 | INTRODUÇÃO

A toxoplasmose, antroponose de distribuição universal, é uma infecção causada por *Toxoplasma gondii*. Este parasito possui ciclo biológico heteroxênico,

os felídeos são os hospedeiros definitivos, outros animais incluindo o homem constituem os hospedeiros intermediários. A transmissão da toxoplasmose pode ocorrer principalmente através da ingestão acidental de alimentos e/ou água contaminados por oocistos excretados nas fezes de hospedeiros definitivos, ou ainda, pela ingestão de cistos contidos na musculatura de hospedeiros intermediários (ZANDONA et al., 2019).

A transmissão congênita ocorre mediante a transferência placentária de *T. gondii* para o conceito, verifica-se alta frequência de casos quando a mulher adquire toxoplasmose (infecção aguda) pela primeira vez durante a gestação e, em menor proporção, na reinfecção ou reativação de um toxoplasma previamente adquirido em mulheres imunodeprimidas (GONÇALVES et al., 2019).

Quanto à sintomatologia, em indivíduos imunocompetentes a toxoplasmose é, geralmente, assintomática, porém pode ocasionar doença ocular grave como a retinite. Nos indivíduos imunocomprometidos, a infecção é grave devido à reativação de cistos cerebrais, com ocorrência, principalmente, de encefalite (MITSUKA-BREGANÓ, LOPES-MORI e NAVARRO, 2010). Durante o período gestacional, além de aborto espontâneo, há risco de doenças congênitas graves. Na maioria dos recém-nascidos a infecção ocorre de forma assintomática, no entanto, quando estas crianças são privadas de tratamento pode ocorrer, posteriormente, quadros clínicos graves, com recidiva de toxoplasmose ocular que resulta em cegueira (MENDES, 2019).

A forma evolutiva do parasito define o estágio da doença. Na fase aguda, encontra-se taquizoítos; os bradizoítos representam a fase crônica, sendo encontrados em forma de cistos nos tecidos dos hospedeiros e os oocistos são eliminados nas fezes dos hospedeiros definitivos (SILVA, 2016).

O estudo biológico e genético de *Toxoplasma gondii* é essencial no entendimento da relação parasito-hospedeiro. O parasito possui diferentes cepas patogênicas que podem ser analisadas através da inoculação em modelos experimentais. Sendo assim, os camundongos correspondem aos critérios essenciais no estudo da virulência destas cepas. Outro método alternativo de estudo, é a avaliação *in vitro* por meio de cultivo celular.

A variação do comportamento biológico do parasito possui forte relação com a cepa patogênica em questão. Por exemplo, a cepa RH é aguda, provocando rompimento rápido das células infectadas (AJZEMBERG, 2010; REY, 2001), enquanto a cepa Me49 forma cistos, possuindo multiplicação mais lenta (COMMODARO et al, 2009).

A virulência dessas cepas pode ser analisada através da confluência celular por meio de fotografias. Além disso, pode-se comparar o efeito citopático com a análise morfométrica dos taquizoítos obtidos através do preparo de lâminas

microscópicas.

Trabalhos avaliando a morfometria e o efeito citopático da cepa Me49 não são descritos na literatura para *T.gondii*, assim sendo, a avaliação das cepas correspondendo o comportamento biológico (efeito citopático) com as diferenças morfométrica poderá ser de suma importância para se compreender o melhor prognóstico da infecção em humanos. Dessa forma, o presente estudo visa à avaliação morfométrica e à análise da virulência de cepas de *T. gondii*.

## 2 | METODOLOGIA

### 2.1 Caracterização dos parasitos

A cepa RH e a Me49 foram mantidas em camundongos BALB/c no biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP- UFG).

Os camundongos infectados pela cepa RH foram eutanasiados por deslocamento cervical, para obtenção de um exsudato peritoneal. O procedimento consistiu na inoculação de 5 mL de salina estéril via intraperitoneal, homogeneização e aspiração do lavado. O exsudato foi, então, analisado em microscópio (entre lâmina e lamínula) a fim de observar presença de formas infectantes do parasito (taquizoítos e/ou células infectadas) e constatar a infecção, logo após, inoculou-se em cultura de células.

Os camundongos, infectados pela cepa Me49, foram eutanasiados por deslocamento cervical, em seguida, extraiu-se o cérebro, realizando o macerado cerebral para observação de cistos. Os cistos obtidos foram inoculados via oral em três camundongos BALB/c, após quatro dias de infecção os animais apresentaram sinais clínicos de toxoplasmose aguda, como: letargia, alterações respiratórias, aumento dos batimentos cardíacos, cegueira, piloereção e diarreia. Os animais foram eutanasiados e realizou-se a obtenção de um exsudato peritoneal para obtenção de taquizoítos, conforme a cepa RH.

### 2.2 Manutenção em células Vero

As células Vero foram mantidas em meio de cultura DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) Sigma-Aldrich<sup>®</sup>. O meio DMEM utilizado foi suplementado com Soro Bovino Fetal (SBF) 10% e 40 mg/L de gentamicina. Trocou-se o meio de cultura a cada 48 horas, e o crescimento do parasito foi monitorado pela observação em microscópio invertido (OLIVEIRA, 2016).

### 2.3 Avaliação do efeito citopático por lise celular

Inicialmente, foram mantidas culturas estáveis de VERO, com troca de meio DMEM suplementado com SBF 10% em dias alternados. Transferiram-se  $10^5$  células para quatro garrafas de cultura e incubadas a 37 graus por 24 horas. A partir da

análise do lavado peritoneal de dois camundongos BALB/c infectados com as cepas RH e Me49, respectivamente, foi possível realizar a inoculação dos taquizoítos na proporção de dois parasitos por célula nas quatro garrafas de cultura, realizando o procedimento em duplicata para cada cepa.

A partir da infecção, monitorou-se a interação célula/parasito por meio de fotografias com o intervalo de 12 horas, durante 7 dias. Após este processo, a confluência da lise celular foi realizada por intermédio do programa Image J®.

## **2.4 Confeção das lâminas para análise morfométrica**

Após a manutenção do parasito em cultura de células, confeccionou-se uma lâmina a partir do líquido do meio DMEM de cada repetição, sendo fixado e corado pelo método do Panótico (Instant Prov, Pinhais, PR, Brasil). As lâminas foram feitas com, aproximadamente, 30 µL do lavado e, após o esfregaço, foram secas em estufa (24 horas à 25 °C). Posteriormente, realizou-se a coloração de Panótico® (Instant Prov, Pinhais, PR, Brasil), conforme orientação do fabricante.

## **2.5 Análise morfométrica dos isolados**

Foram fotografadas cinco imagens de cada isolado com utilização de fotomicroscópio Zeiss® acoplado a uma câmera digital Sony® para registro e digitalização dos resultados obtidos. As imagens foram analisadas através do programa Image J® a partir da avaliação de características morfológicas dos parasitos como: diferenças no comprimento longitudinal, largura na altura do núcleo e distância entre núcleo e complexo apical. Para cada cepa, foram documentados 100 taquizoítos e os valores de cada parâmetro foi salvo em planilha para calcular-se médias das medidas dos isolados.

## **2.6 Análise estatística**

As morfometrias das cepas foram comparadas através do programa Sigma Stat® 3.2, todas as variáveis foram testadas quanto à distribuição normal e variância homogênea, utilizando o teste t.

# **3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A análise morfométrica dos isolados da cepa Me49 (figura 1) com a cepa padrão RH (figura 2) demonstrou diferença significativa em pelo menos uma das variáveis analisadas, durante o período de sete dias. A média e o desvio padrão destas variáveis estão descritos na tabela 1.

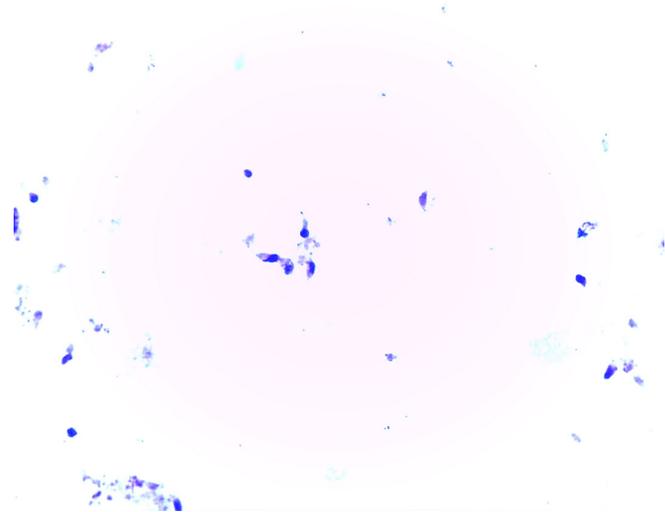


Figura 1: Taquizoítos da cepa RH. Coloração Panóptico (aumento de 1000x)

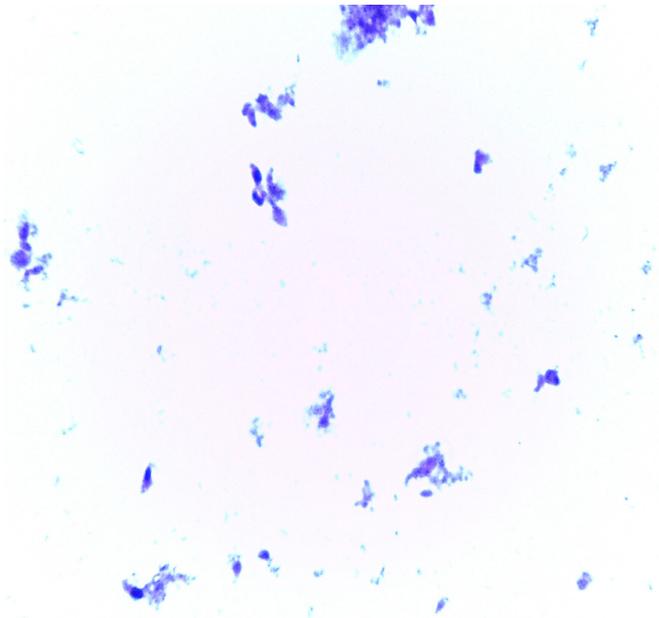


Figura 2: Taquizoítos da cepa Me49. Coloração Panóptico (aumento de 1000x)

	Isolados	Distância núcleo – complexo apical ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )
1º dia	Cepa RH	2,21 $\pm$ 0,59	9,91 $\pm$ 1,11	2,11 $\pm$ 0,23
	Cepa Me49	2,19 $\pm$ 0,50	9,85 $\pm$ 1,08	<b>2,21 <math>\pm</math> 0,76*</b>
2º dia	Cepa RH	2,23 $\pm$ 0,58	10,02 $\pm$ 1,24	2,07 $\pm$ 0,25
	Cepa Me49	<b>2,07 <math>\pm</math> 0,51*</b>	9,99 $\pm$ 1,13	2,22 $\pm$ 0,25
3º dia	Cepa RH	2,25 $\pm$ 0,55	10,13 $\pm$ 1,18	2,09 $\pm$ 0,29
	Cepa Me49	2,23 $\pm$ 0,51	<b>9,97 <math>\pm</math> 1,05*</b>	2,26 $\pm$ 0,22
4º dia	Cepa RH	2,27 $\pm$ 0,76	10,32 $\pm$ 1,02	2,04 $\pm$ 0,28
	Cepa Me49	2,20 $\pm$ 0,48	<b>10,01 <math>\pm</math> 0,99*</b>	2,19 $\pm$ 0,24
5º dia	Cepa RH	2,25 $\pm$ 0,72	10,21 $\pm$ 1,22	2,09 $\pm$ 0,30
	Cepa Me49	<b>2,22 <math>\pm</math> 0,52*</b>	9,99 $\pm$ 1,05	2,15 $\pm$ 0,21
6º dia	Cepa RH	2,23 $\pm$ 0,71	10,21 $\pm$ 1,09	2,11 $\pm$ 0,24
	Cepa Me49	2,21 $\pm$ 0,55	10,01 $\pm$ 0,99	<b>2,16 <math>\pm</math> 0,19*</b>
7º dia	Cepa RH	2,27 $\pm$ 0,74	10,24 $\pm$ 1,21	2,08 $\pm$ 0,38
	Cepa Me49	2,20 $\pm$ 0,49	<b>10,26 <math>\pm</math> 1,04*</b>	2,27 $\pm$ 0,31

Tabela 1: Análise morfométrica de isolados das cepas RH e Me49.

Os valores representam média  $\pm$  desvio padrão de medidas; \*  $p \leq 0,05$  (Teste t) comparando a cepa me49 com a cepa padrão RH.

Em estudo realizado por Gomes-Junior et al. (2018), que avaliou sete isolados obtidos de galinha caipira foram observadas diferenças estatísticas em pelo menos uma das variáveis analisadas. Outro estudo realizado por Da Silva et al. (2018) que avaliou três isolados obtidos de gestantes e recém-nascidos foram observadas diferenças estatísticas nas medidas de áreas e um dos isolados apresentou maior diâmetro, em comparação com a cepa padrão RH/BH.

A diferença significativa entre as cepas RH e Me49 na distância núcleo-complexo apical, comprimento e largura reforça a hipótese de que, além das diferenças de comportamento e variações genéticas, há variações morfológicas entre diferentes cepas de *T. gondii* (TREVISANI, 2013).

Na avaliação da capacidade infectiva, 100% das cepas apresentaram capacidade de promover efeito citopático. Foi possível observar taquizoítos no meio extracelular após decorrer 48 horas da inoculação das cepas nos meios de cultura. A cepa padrão RH apresentou expressiva capacidade de lise celular. Este fato pode ser observado ao comparar o período de 12 horas após inoculação (figura 1) com sete dias de incubação (figura 2). A confluência inicial era de 86%, após sete dias da inoculação, observou-se uma confluência de 6,34%. Não se observou formação de

paredes císticas nesta cultura.

A cepa me49 também apresentou diferença significativa após 12 horas de inoculação (Figura 3) e sete dias (Figura 4). A confluência inicial era de 86%, após sete dias de incubação, encontrou-se uma confluência de 15,89%, evidenciando, assim, a lise celular. Observou-se formação de cistos nesta cultura.

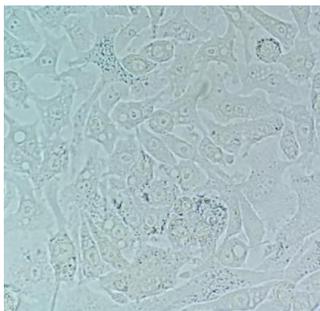


Figura 3: Células após 7 dias de inoculação da cepa padrão RH observadas em microscópio invertido (Aumento de 400X).

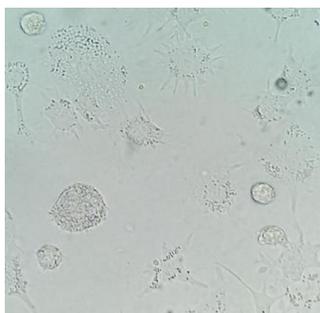


Figura 4: Células após 7 dias de inoculação da cepa padrão RH observadas em microscópio invertido (Aumento de 400X).

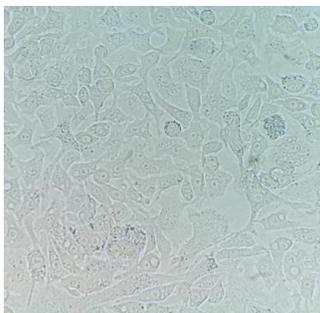


Figura 5: Células após 12 horas de inoculação da cepa Me49 observadas em microscópio invertido(Aumento de 400X).



Figura 6: Células após sete dias de inoculação da cepa Me49, observadas em microscópio invertido (Aumento de 400X).

De modo semelhante, um trabalho feito por Ferreira (2005), que avaliou mastócitos infectados pela cepa RH, após 24 horas de infecção foram encontrados vacúolos parasitóforos em quantidade variada, de modo que decorrido 48 horas havia taquizoítos no meio extracelular, corroborando com o resultado encontrado nesta avaliação do efeito citopático. Outra pesquisa realizada por Rocha et al. (2014) detectou lise celular em células retinares infectadas pela cepa Me49 corroborando com o presente estudo. Acredita-se que essa susceptibilidade das células às cepas RH e Me49 ocorre devido à ação das enzima ciclooxigenase em associação com endocitose mediada por clatrina (PEREIRA, 2016; PORTES, 2020).

Estudos realizados em diferentes regiões mundiais apontam que as cepas de *T. gondii* do Brasil são morfometricamente e geneticamente divergentes em comparação com aquelas encontradas na América do Norte e Europa devido ao padrão de patogenicidade. Essas evidências são baseadas em metodologias que avaliam a virulência, seja *in vitro* ou *in vivo* (OLIVEIRA et al., 2014; YADAV; MAITY; SAHA, 2014).

Além disso, os taquizoítos que apresentaram maior comprimento e largura foram os da cepa Me49 no sétimo dia de incubação. Ao comparar este parâmetro com o efeito citopático, infere-se que o comprimento é inversamente proporcional à patogenicidade da cepa uma vez que a confluência celular da cultura infectada com a cepa RH foi menor (6,34%) que a infectada por Me49 (15,89%). Da Silva et al. (2018) também constatou que taquizoítos menores possuem maior patogenicidade.

#### 4 | CONCLUSÃO

Nas cepas analisadas foi possível detectar diferenças tanto na morfometria como na capacidade infectiva, inferindo assim que a associação das diferenças fenotípicas em análises morfométricas e efeito citopático, pela lise celular, demonstram serem importantes para compreensão da complexa relação parasito-

hospedeiros. Após minuciosa análise genotípica, estas informações poderão ser relacionadas ao prognóstico da infecção nos seres humanos.

## REFERÊNCIAS

- AJZEMBERG, D. Type I strains in human toxoplasmosis: myth or reality? **Future Microbiol.**, v. 5, n. 6, p. 841-843, 2010.
- COMMODARO, A. G. et al. Ocular toxoplasmosis: an update and review of the literature. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 2, p. 345-350, 2009.
- BURNIER J.R., M. N.; BELFORT J.R., R. Ocular toxoplasmosis: an update and review of the literature. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 345-350, 2009.
- DA SILVA, M. G. et al. MORPHOMETRIC ANALYSIS AND VIRULENCE OF ISOLATES OF *TOXOPLASMA GONDII* RECOVERED FROM PREGNANT AND NEWBORN MICE IN GOIÂNIA-GO. **AMAZÔNIA: SCIENCE & HEALTH**, v. 6, n. 1, p. 48-53, 2018.
- FERREIRA, G. L. S. **Mastócitos de camundongos BALB/c e C57BL/6 e a susceptibilidade a infecção por *Toxoplasma gondii* (cepas RH e ME-49)**. 2005. 135 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.
- GOMES JUNIOR, Antonio Roberto. **ANÁLISE DA VIRULÊNCIA E DE ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS DE ISOLADOS DE *Toxoplasma gondii* OBTIDOS DE GALINHAS CAIPIRAS NA REGIÃO METROPOLITANA DE GOIÂNIA, GOIÁS, BRASIL**. 2018. 38 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.
- GONCALVES, Daniela Dias et al. TOXOPLASMOSE CONGÊNITA: ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DURANTE O PRÉ-NATAL. **Cadernos da Medicina-UNIFESO**, v. 2, n. 1, 2019.
- ZANDONÁ, I. et al. Encefalopatia inespecífica por toxoplasmose aguda em indivíduo imunocompetente/Inespecific acute toxoplasmosis in immunocompetent individual. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 2, p. 970-973, 2019.
- MENDES, J. C. et al. TOXOPLASMOSE: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **Mostra Científica da Farmácia**, v. 5, 2019.
- MITSUKA-BREGANÓ, R.; LOPES-MORI, F. M. R.; NAVARRO, I. T. **Toxoplasmose adquirida na gestação e congênita: vigilância em saúde, diagnóstico, tratamento e condutas**. Eduel, 2010.
- OLIVEIRA, P. A. de et al. Patogenicidade e virulência de *Toxoplasma gondii* isolado de suínos de criação artesanal no sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 1186-1190, 2014.
- OLIVEIRA, C. B. S. de. **Determinação de Patogenicidade e Resistência à Sulfadiazina de Três Isolados de *Toxoplasma gondii* do Estado do Rio Grande do Norte e Atividade Anti-*Toxoplasma* do Timol e Estragol**. 2016. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE, 2016.

PORTES, Juliana et al. *Toxoplasma gondii* Mechanisms of Entry Into Host Cells. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 294, 2020.

REY, L. **Parasitologia**, 2ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Kogan, 2001.

REZENDE, H. H. A. **Epidemiologia molecular de isolados de *Toxoplasma gondii* na região metropolitana de Goiânia, Goiás, Brasil**. 2018. Universidade Federal de Goiás, 2018.

ROCHA, A. C. H. et al. Morphometric changes in C57BL/6 mice retina infected by *toxoplasma gondii* ME 49 strain. **Experimental parasitology**, v. 136, p. 1-4, 2014.

SILVA, P. V. da. **Caracterização soropidemiológica da infecção por *Toxoplasma gondii* em catadores de materiais recicláveis, Campo Grande, MS**. 2016. Dissertação de Mestrado.

TREVISANI, N. et al. Genotipagem de isolados de *Toxoplasma gondii* obtidos de *Gallus gallus* naturalmente infectados no estado de Santa Catarina. 2013.

YADAV, R. K.; MAITY, S.; SAHA, S. A review on TORCH: groups of congenital infection during pregnancy. **J Sci In Res**, v. 3, n. 2, p. 258-264, 2014.

# CAPÍTULO 3

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DE EXTRATO METANÓLICO DA FOLHA DE *Hymenaea martiana* Hayne

Data de aceite: 01/09/2020

### **Adryele Gomes Maia**

Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte– FMJ  
Juazeiro do Norte, Brazil

### **Nadghia Figueiredo Leite Sampaio**

Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte– FMJ  
Juazeiro do Norte, Brazil

### **Giovanna Norões Tavares Sampaio Gondim**

Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte– FMJ  
Juazeiro do Norte, Brazil

### **Jakson Gomes Figueiredo**

Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte– FMJ  
Juazeiro do Norte, Brazil

### **Emanuel Horácio Pereira da Cruz Matias Linhares**

Universidade Federal do Ceará-UFC  
Fortaleza, Brazil

### **Cícera Natália Figueiredo Leite Gondim**

Universidade Regional do Cariri, URCA  
Crato, Brasil

### **Henrique Douglas Melo Coutinho**

Universidade Regional do Cariri, URCA  
Crato, Brasil

### **Marta Maria de França Fonteles**

Universidade Federal do Ceará-UFC  
Fortaleza, Brazil

### **Fernando Gomes Figueiredo**

Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte– FMJ  
Juazeiro do Norte, Brazil  
Universidade Federal do Ceará-UFC  
Fortaleza, Brazil

**RESUMO:** *Hymenaea martiana* Hayne, é uma espécie arbóreo, amplamente distribuído na América Central e América do Sul, principalmente na bacia do Amazonas, conhecida como popularmente como Jatobá. São amplamente utilizados para tratar processos inflamatórios, infecções bacterianas, reumatismo e anemia. Este trabalho tem como principal fundamento realizar triagem fitoquímica, avaliar a atividade antimicrobiana e modulatória do extrato metanólico da folha de *Hymenaea martiana* Hayne frente a cepas de bactérias padrões. O extrato metanólico da folha de *Hymenaea martiana* Hayne foi analisado para a atividade antibacteriana por meio de teste de microdiluição para determinação de concentração inibitória mínima (CIM) e modulação dos aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) e lincosamidas (clindamicina), frente às bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. A prospecção fitoquímica do extrato revelou a presença de diversas classes, entre eles: Fenóis; Taninos Pirogálicos, Flavonoides, Catequinas e alcaloides. Na avaliação da CIM foram obtidos resultados  $\geq 1024\mu\text{g/mL}$ . Os resultados obtidos através dos testes de modulação mostraram potencial atividade sinérgica quando associados os antibióticos

frente às cepas multirresistentes de *Escherichia coli*. Para cepas de *Staphylococcus aureus*, houve sinergismo somente frente ao antibiótico amicacina, enquanto a linhagem de *Pseudomonas aeruginosa* houve efeito sinérgico quando associados à gentamicina e amicacina. Novas pesquisas são necessárias para comprovar atividade moduladora e elucidar o mecanismo da mesma. Através dos resultados sugere-se que os produtos naturais representam fontes promissoras no combate à resistência bacteriana.

**PALAVRAS-CHAVE:** Jatobá, Microdiluição, Atividade antimicrobiana, Modulação

**ABSTRACT:** *Hymenaea martiana* Hayne, is an arboreal species, widely distributed in Central and South America, mainly in the Amazon Basin, popularly known as Jatobá. They are widely used to treat inflammatory processes, bacterial infections, rheumatism and anemia. This work has as main basis to carry out phytochemical screening, to evaluate the antimicrobial and modulatory activity of the methanolic extract of the leaf of *Hymenaea martiana* Hayne against strains of standard bacteria. The methanolic extract of the leaf of *Hymenaea martiana* Hayne was analyzed for the antibacterial activity by means of microdilution test for determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and modulation of the aminoglycosides (gentamicin and amikacin) and lincosamides (clindamycin), against the bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The phytochemical prospection of the extract revealed the presence of several classes, among them: Phenols; Pyrogallol tannins, Flavonoids, Catechins and alkaloids. In the MIC evaluation results were obtained  $\geq 1024\mu\text{g} / \text{mL}$ . The results obtained through the modulation tests showed potential synergistic activity when the antibiotics were associated with the multiresistant *Escherichia coli* strains. For strains of *Staphylococcus aureus*, there was synergism only against the antibiotic amikacin, while the *Pseudomonas aeruginosa* line had a synergistic effect when associated with gentamicin and amikacin. New research is needed to prove modulatory activity and elucidate the mechanism of modulating activity. Through the results it is suggested that natural products represent promising sources in the fight against bacterial resistance.

**KEYWORDS:** Jatobá, Microdilution, Antimicrobial activity.

## 1 | INTRODUÇÃO

No Brasil a utilização das plantas está presente antes mesmo da colonização, quando os índios faziam uso destes recursos com o intuito de prevenir ou tratar doenças, e estas tradições foram passadas para os colonizadores e conseqüentemente usada na medicina popular, já que os recursos naturais era a única alternativa (LIMA et al., 2011). Considera-se que desde tempos mais remotos, o convívio com a flora pelos indígenas, trouxeram-nos o conhecimento, que juntamente com a cultura européia e africana constituíram o cabedal de técnicas e usos das plantas medicinais no país, formando assim, a base de nossa etnobotânica (GIRALDI; HANAZAKI, 2010).

Sabe-se que o Brasil é o detentor das maiores florestas do mundo, e da maior biodiversidade do planeta, sendo que hoje é um grande importador de matérias primas farmacêutica, mobilizando milhões de dólares neste segmento; depreende-se que a maioria das moléculas utilizadas como medicamentos teve sua origem nas plantas (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE SERVIÇO FLORESTAL BRASILEIRO, 2010; DAVID et al., 2004). Confrontando os dois fatos, encontramos-nos em um grande paradoxo: Somos a maior fonte e não a conhecemos profundamente.

De acordo com o Ministério da Saúde o uso direto ou indiretamente das plantas cresceu cerca de 161% entre 2013 e 2015, isso se deve a uma iniciativa da Política nacional implantada pelo Ministério da Saúde, a qual garante o acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos no país, que já está presente em cerca de 3.250 unidades de 930 municípios brasileiros.

Diversas plantas relatadas na literatura apresentam atividades antimicrobianas, como também mostram ser capazes de modular a ação dos antibióticos, ou seja, o antibiótico associado com o fitoterápico terá uma maior atividade farmacológica. Assim, as indústrias farmacêuticas, como também os botânicos, dependem, em grande parte, da flora para a produção de drogas com fins curativas e financeiras (MATIAS et al., 2010).

Para visualizarmos melhor vejamos a *Hymenaea martiana* Hayne que é conhecida popularmente como jatobá, este gênero pertence à família Fabaceae e está distribuído geograficamente no Cerrado e na Caatinga (R. M. PEIXOTO et al., 2016). O gênero *Hymenaea* possui em maior concentração os compostos de flavonas, que são metabólicos secundários da classe dos flavonóides, encontrados no extrato e resina das cascas do caule (DOMÉNECH-CARBÓ et al., 2009). O jatobá é utilizado para fins medicinais para tratar doenças como reumatismo, anemia, inflamações, infecções bacterianas, diurético, antifúngico, antioxidante, entre outros (OLIVEIRA et al., 2018). Das cascas, uma resina é exudada e esta é utilizada na medicina tradicional para o tratamento de ferimentos, distúrbios gástricos e bronquite (MARSAIOLI et al., 1975).

Neste sentido, partindo da premissa de que há relatos na literatura de que outras espécies apresentam importantes atividades biológicas, este projeto tem como objetivo realizar uma triagem fitoquímica e testar *in vitro* o extrato metanólico das folhas de *Hymenaea martiana hayne* frente a cepas de bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosas*, como também avaliar o espectro de ação e o grau de inibição dos extratos obtidos a partir da mesma, determinando a Concentração Inibitória Mínima (CIM), além de avaliar a atividade antibacteriana e moduladora do extrato metanólico da folha frente a cepas de bactérias padrões verificando a eficácia dos mesmos na modulação da resistência bacteriana em associação com antibióticos: Gentamicina, Amicacina e Clindamicina.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local de realização do estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina Estácio – FMJ, Juazeiro do Norte - CE, Brasil e no Laboratório de Microbiologia da Universidade Regional do Cariri, Crato-CE, Brasil.

### 2.2 Material vegetal

As folhas de *Hymenaea martiana Hayne* foram coletadas no município de Cariri – CE, no mês de Junho de 2018. Uma amostra representativa da espécie foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) do Departamento de Ciências Biológicas (URCA).

### 2.3 Preparação dos extratos metanólico

Para preparação dos extratos foram coletadas folhas que permaneceram submersas em metanol por 72h. Após esse período, o eluente foi filtrado em papel filtro para separação dos resíduos sólidos e concentrado em condensador rotativo a vácuo e banho-maria (model Q-214M2 – Quimis, Brazil) (BRASILEIRO et al., 2006), obtendo-se rendimentos dos extratos brutos de 17%. Para os testes foram utilizadas soluções preparadas a partir dos extratos sob uma concentração de 10 mg/mL, dissolvidos em DMSO (dimetil sulfóxido), em seguida diluídos com água destilada para uma concentração de 1024µg/mL.

### 2.4 Prospecção fitoquímica

Os testes fitoquímicos foram realizados seguindo o método descrito por Matos (1997). Os ensaios se baseiam na observação visual da alteração de cor ou formação de precipitado após a adição de reagentes específicos.

### 2.5 Material bacteriano

Os microorganismos utilizados nos testes foram obtidos através do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) da Universidade Regional do Cariri (URCA). Foram utilizadas linhagens padrão de bactérias *Escherichia coli* ATCC 10536; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. Antes dos ensaios, as linhagens foram cultivadas a 35°C por 24 horas em Brain Heart Infusionbroth – BHI (Difco Laboratories Ltda).

### 2.6 Teste de atividade antibacteriana

A CIM (concentração inibitória mínima) foi determinada em ensaio de microdiluição em caldo (NCCLS, 2014) utilizando-se um inóculo de 100 µL de cada linhagem, suspensas em caldo BHI que apresentava uma concentração de 105 UFC/mL em placas de microtitulação com 96 poços, com diluições em série ½. Em

cada poço foi adicionado 100µL de solução de cada extrato. A concentração final do extrato foi de 5000µg/mL.

Para os controles foram utilizados os antibióticos padrões amicacina, gentamicina e clindamicina cuja concentração final foi de 5000 µg/mL. As CIM's foram registradas como as menores concentrações para a inibição do crescimento. Para evidenciá-las, preparou-se uma solução indicadora de resazurina sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após a incubação, 20µL da solução indicadora serão adicionados em cada cavidade e as placas passarão por um período de incubação de 1 hora em temperatura ambiente. A mudança de coloração azul para rosa, devido à redução da resazurina, indica o crescimento bacteriano (JAVADPOUR et al., 1998), auxiliando a visualização da CIM, definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano, evidenciado pela cor azul inalterada. O ensaio antibacteriano foi realizado em triplicata e os resultados foram expressos como média das repetições.

## **2.7 Execução e Leitura dos Ensaios**

O extrato foi misturado em caldo BHI 10% em concentrações subinibitórias, obtidos e determinados após a realização de teste de avaliação da CIM, sendo que para o teste de modulação a concentração da solução de extrato foi reduzida 8 (oito) vezes (CIM/8). A preparação das soluções de antibióticos foi realizada com a adição de água destilada estéril em concentração dobrada (1024µg/mL) em relação à concentração inicial definida e volumes de 100µL diluídos seriadamente 1:1 em caldo BHI 10%. Em cada cavidade com 100µL do meio de cultura continha a suspensão bacteriana diluída (1:10). Os mesmos controles utilizados na avaliação da CIM para os extratos foram utilizados durante a modulação (COUTINHO et al., 2008). As placas preenchidas foram incubadas a 35°C por 24 horas e após esse período a leitura foi evidenciada pelo uso de resazurina como citado anteriormente no teste de determinação da CIM.

## **2.8 Análise Estatística dos resultados de microbiologia**

Os ensaios foram feitos em triplicata, e expressos em média geométrica, já que a leitura das amostras foi feita através de observação visual da mudança de coloração das mesmas. A análise estatística foi aplicada à análise de variância de duas vias seguida pelo teste de Bonferroni utilizando o software Graph Pad Prism 5.0.

## **3 | RESULTADOS**

Na prospecção fitoquímica foi possível identificar a presença de metabólitos secundários, descritos na tabela abaixo:

METABÓLITOS															
Extrato	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
EMHH	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-

**Tabela 1.** Prospecção fitoquímica do extrato metanólico das folhas de *Hymenaea martiana* Hayne.

1 – Fenóis; 2 – Taninos Pirogálicos; 3 – Taninos Flobabênicos; 4 – Antocianinas; 5 – Antocianidinas; 6 – Flavonas; 7 – Flavonóis; 8 – Xantonas; 9 – Chalconas; 10 – Auronas; 11 – Flavononóis; 12 – Leucoantocianidinas; 13 – Catequinas; 14 – Flavononas; 15 – Alcalóides; (+) presença; (-) ausência. EMHH – Extrato Metanólico *Hymenaea martiana* Hayne.

Foi realizado o procedimento para a determinação do CIM (Concentração Inibitória Mínima), com as bactérias de linhagem padrão (*Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*, e *Pseudomonas aeruginosa*) e foram obtidos resultados  $\geq 1024\mu\text{g/mL}$ .

Em relação à avaliação da atividade moduladora do extrato, associadas aos aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) e lincosamidas (clindamicina), os resultados demonstraram que o extrato associado com os antibióticos apresentaram sinergismo com  $p < 0,001$  frente à bactéria *Escherichia coli* (Figura 1). Na linhagem de *Staphylococcus aureus* houve efeito sinérgico apenas na associação do extrato com a amicacina com  $p < 0,001$  (Figura 2). Enquanto a linhagem de *Pseudomonas aeruginosa* houve efeito antagônico apenas na associação do extrato com a clindamicina (Figura 3)

Uma das substâncias presentes no extrato foram a flavonas e flavonóis que são flavonoides, eles modulam a atividade de enzimas e afetam o comportamento de muitos sistemas celulares, exercendo efeitos benéficos sobre o organismo. Os mecanismos da atividade antimicrobiana dos flavonoides inibem a síntese de ácidos nucleicos, inibem a função da membrana citoplasmática, do metabolismo energético, a aderência e formação de biofilme, além de inibirem as porinas na membrana celular que afetam a bomba de efluxo, a permeabilidade de membrana e diminuem a patogenicidade (XIE et al. 2015)

Um outro estudo desenvolvido, pode-se evidenciar a forte presença de compostos fenólicos e flavonoides, bem como terpenos, derivados antracênicos e esteroides em extratos obtidos por diferentes métodos em várias partes da planta. A maceração das cascas foi o método que demonstrou ser mais eficiente para a extração de compostos fenólicos e flavonoides das cascas de *H. martiana* (OLIVEIRA et al., 2016). Foram estudados os métodos extrativos por maceração e turbólise e a melhor condição extrativa foi o do extrato obtido por turbólise preparado com etanol a 50% e proporção 1:30, que apresentou melhores resultados no planejamento

fatorial para rendimento, compostos fenólicos totais e flavonoides totais (OLIVEIRA, 2015).

Foi realizado o procedimento para a determinação do CIM (Concentração Inibitória Mínima), com as bactérias de linhagem padrão (*Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*, e *Pseudomonas aeruginosa*) e foram obtidos resultados  $\geq 1024\mu\text{g/mL}$ .

Em relação à avaliação da atividade moduladora do extrato, associadas aos aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) e lincosamidas (clindamicina), os resultados demonstraram que o extrato associado com os antibióticos apresentaram sinergismo com  $p < 0,001$  frente à bactéria *Escherichia coli* (Figura 1). Na linhagem de *Staphylococcus aureus* houve efeito sinérgico apenas na associação do extrato com a amicacina com  $p < 0,001$  (Figura 2). Enquanto a linhagem de *Pseudomonas aeruginosa* houve efeito antagônico apenas na associação do extrato com a clindamicina (Figura 3).

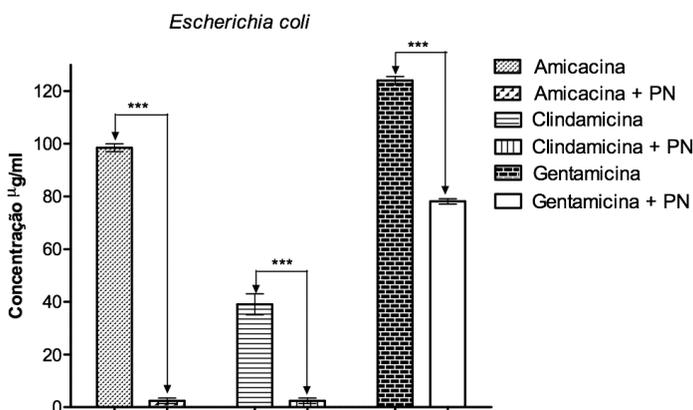


Figura 1. Gráfico demonstrativo da modulação do extrato metanólico da folha de *Hymenaea martiana* Hayne na presença e na ausência dos antibióticos frente à bactéria *Escherichia coli*.

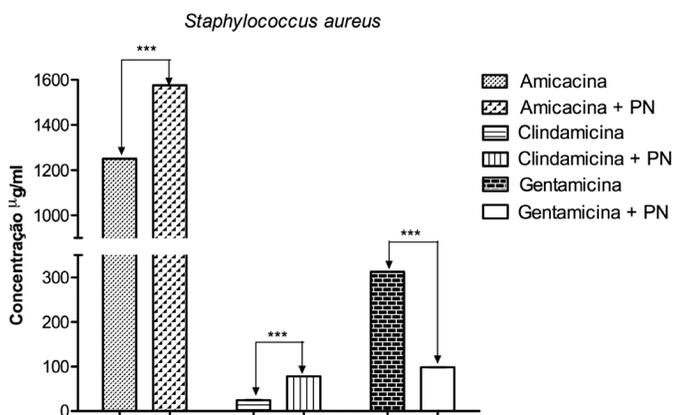


Figura 2. Gráfico demonstrativo da modulação do extrato metanólico da folha de *Hymenaea martiana* Hayne na presença e na ausência dos antibióticos frente à bactéria *Staphylococcus aureus*.

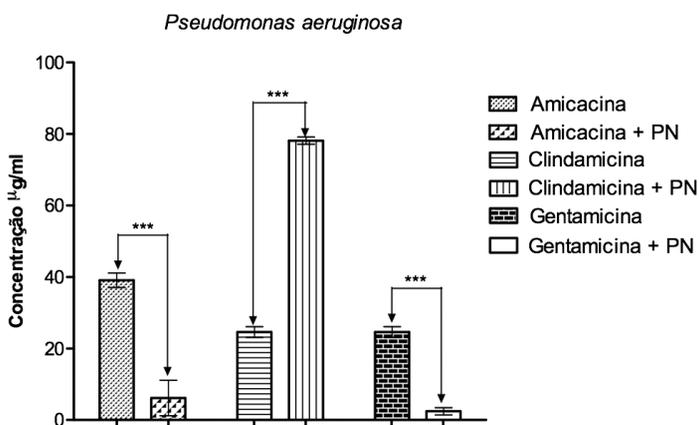


Figura 3. Gráfico demonstrativo da modulação do extrato metanólico da folha de *Hymenaea martiana* Hayne na presença e na ausência dos antibióticos frente à bactéria *Pseudomonas aeruginosa*.

## 4 | DISCUSSÃO

Os resultados fitoquímicos mostraram presença de flavonóides, estes metabólicos secundários são compostos aromáticos que podem ser divididos em flavonóis (quercetina), flavonas (rutina), flavanóis (catequina), flavanonas (naringenina), isoflavonas (genisteína) e antocianinas (cianidina) (SCALBERT et al., 2005). Os flavonóides nas plantas têm a capacidade de protegê-las contra fatores

externos como danos causados pela radiação, contra microrganismos, insetos e outros animais herbívoros, e também na interação mutualística de insetos e plantas por meio da atração de insetos polinizadores onde há benefício para ambas as espécies. (HARBORNE; WILLIAMS, 2000).

Nos seres humanos estes compostos podem reduzir o risco de várias doenças (KREIS et al., 2017) , devido a seu poder antioxidante (funcionam como sequestradores de radicais ou como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação de processos oxidativos) (HEIM et al., 2002). Vários estudos descritos na literatura mostram que os flavonóides apresentam atividades farmacológicas como antiinflamatória, vasodilatadora, antiplaquetária e antimicrobiana (OLIVEIRA et al., 2018; COUTINHO et al., 2009; WOODMAN, 2009, FENG et al., 2012, FU et al., 2013).

Foram evidenciados também presença de fenóis que possui grande importância farmacológica, pois apresenta propriedades antioxidantes, bactericida e cicatrizante em feridas cutâneas, o que confirma uma atividade moduladora frente a alguns antibióticos (LOPES et al., 2005). A determinação do CIM (Concentração Inibitória Mínima), com as bactérias de linhagem padrão (*Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*, e *Pseudomonas aeruginosa*) foram obtidos resultados  $\geq 1024\mu\text{g/mL}$ , concentração considerada clinicamente irrelevante.

Em relação à avaliação da atividade moduladora do extrato, associadas aos antibióticos, os resultados demonstraram que o extrato apresentou sinergismo em alguns casos, essa atividade está relacionado com a capacidade que o extrato tende a modificar a ação de antimicrobianos, pois podem apresentar maior afinidade com a estrutura da bactéria (COUTINHO et al., 2010; SILVA, 2018).

Enquanto o antagonismo pode está associado como a quelação do antibiótico, ligação dos compostos a locais específicos dos antibióticos, fazendo com que reduza o seu espectro de atividade dos antibióticos (WAGNER; ULRICH-MERZENICH, 2009).

Outra possível explicação para o sinergismo deve-se ao fato da presença dos flavanóides e fenóis, pois este apresenta grupos fenólicos hidroxilo que aumenta a afinidade entre as proteínas das bactérias e do extrato, por esse motivo, atuam como inibidores de enzimas bacterianas, assim como interferem nas suas vias de síntese (ALCARÁZ et al., 2000; ÀVILA, et al., 2008; LI et al., 2012; SATO et al., 1995).

Muitos estudos descritos na literatura evidenciam que extratos de plantas podem modificar a atividade de antimicrobianos e assim melhorar seu desempenho diminuindo a concentração necessária para que haja inibição do crescimento, atuando na eliminação de plasmídios ou inibição da bomba de efluxo (COUTINHO et al., 2010; SILVA, 2018)

## 5 | CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa são promissores, pois os estudos indicaram que o extrato metanólico da folha de *Hymenaea martiana* Hayne não apresentou atividade antimicrobiana, no entanto foi capaz de modificar a ação dos antibióticos em alguns casos, possivelmente essa capacidade sinérgica deve-se a presença de metabólitos secundários no extrato com reconhecida atividade antimicrobiana. No entanto novos estudos devem ser realizados para comprovar atividade moduladora e elucidar o mecanismo da mesma.

## REFERÊNCIAS

AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

Alcaráz, L.E., Blanco, S.E., Puig, O.N., Tomás, F., Ferreti, F.H. (2000). Antibacterial Activity of Flavonoids Against Methicilin – resistant *Staphylococcus aureus* strains. *J. theor. Biol.*, 205, pp. 231 – 240.

ÁVILA, P.H., SMÂNIA, E.F.A., MONACHE, F.D., JÚNIOR, A. S. Structure – activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v.16, p. 9790 -9794, 2008.

BATISTA, A. G.; ESTEVES, E. A.; DESSIMONI-PINTO, N. A. V.; OLIVEIRA, L. G.; PIRES, S. T.; SANTANA, R. C. Chemical composition of jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) flour and its effect on growth of rats. **Alimentos e Nutrição**. v. 22, n. 2, p. 173-180, 2011.

Brasil. Ministério da Saúde. Ministério do meio ambiente serviço florestal brasileiro. Brasília: Ministério do meio Ambiente; 2010a.

Brasil. Ministério da Saúde. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde; 2016a.

Brasileiro BG. Antimicrobial and cytotoxic activities screen in some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. **Rev Bras Ciên Farm.** v.42: p.195-202, 2006.

CIPRIANO, J.; MARTINS, L.; DEUS, M. S. M.; PERON, A. N. O gênero *Hymenaea* e suas espécies mais importantes do ponto de vista econômico e medicinal para o Brasil. **Caderno de Pesquisa**, Série Biologia. v. 26. n. 2. p. 41-51, 2014.

Coutinho HD, Costa JGM, Siqueira JR, Lima EO. In vitro screening by phototoxic properties of *Eugenia uniflora* L., *Momordica charantia* L., *Mentha arvensis* L. and *Turnera ulmifolia* L. **Rev. Bras. Biociênc.** 2010;8(3):299-301.

Coutinho HDM, Costa JGM, Falcão-Silva VS. Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Comp Immunol Microbiol Infect.** 2010;33(6):467-471. Doi:10.1016/j.cimid.2009.08.001.

Coutinho HDM, Costa JGM, Siqueira-Júnior JP, Lima EO. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* MRSA strains. **Rev Bras Farmacogn.** 2008;18:670-675. Doi:10.1590/S0102-695X2008000500005.

COUTINHO, M. A. S.; Muzitano, M. F.; Costa, S. S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório, **Revista Virtual de Química**, v.1, p. 241- 256, 2009.

David JPL, Nascimento JAP, David JM. Produtos fitoterápicos: uma perspectiva de negócio para a indústria, um campo pouco explorado pelos farmacêuticos. *Infarma* 2004; 16(9-10):71-6.

DOMENECH-CARBO, M. T.; DE LA CRUZ-CANIZARES, J.; OSETE-CORTINA, L.; DOMENECH-CARBO, A.; DAVID, H. Ageing behaviour and analytical characterization of the Jatoba resin collected from *Hymenaea stigonocarpa* Mart. **International Journal of Mass Spectrometry**, v.284, p.81-92, 2009.

FENG, R. et al. Anti-inflammatory flavonoids from *Cryptocarya chingii*. **Phytochemistry**, v. 76, p. 98–105, 2012.

Ferreira VF, Pinto AC. (2010). A fitoterapia no mundo atual. *Química Nova* 33:1829.

FREITAS, Cícero Carlos. O fenômeno da tolerância bacteriana aos antibióticos. **J. Bras. De Doenças Sex. Transm.**, Rio de Janeiro, v. 1, N. 3, Out./Nov./Dez. 1989.

FU, Y. et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of six flavonoids separated from licorice. **Food chemistry**, v. 141, p. 1063–1071, 2013.

GAZZANEO, L.R.S.; LUCENA, R.F.P.; ALBUQUERQUE, U.P. Knowledge and use of medicinal plants by local specialists in a region of Atlantic Forest in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 1, n. 9, p. 1-9, 2005.

Gelatti LC, Becker AP, Bonamigo RR, d’Azevedo PA. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **AnBrasDermatol.** v.84, n.5, p.501-6, 2009.

GIRALDI, M.; HANAZAKI, N. Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. *Acta bot. bras.*, 24(2): 395-406, 2010.

Gurgel TC, Carvalho WS. A assistência farmacêutica e o aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos. **Lat Am J Pharm.** v.27, n.1,118-23, 2008.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, p. 481-504, 2000.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 13, p. 572–584, 2002.

ISHIBASHI, M.; ODA, H.; MITAMURA, M.; OKUYAMA, E., KOMIYAMA, K., KAWAGUCHI, K.; WATANABE, T.; ALVES, S. M.; MAEKAWA, T., OHTSUK,

K. Casein Kinase II Inhibitors Isolated From Two Brazilian Plants *Hymenaea parvifolia* and *Wulffia baccata* **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters** 9 , 2157 -2160, 1999.

Javadpour MM. New antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **J Med Chem.**v.39, n.16, p. 3107– 3113, 1996 Doi:10.1021/jm9509410.

Kaper, J. B. Molecular pathogenesis of enteropathogenic *Escherichia coli*. In Miller, V. L., Kaper, J. B., Portnoy, D. A., and Isberg, R. R. (Eds.), *Molecular Genetics of Bacterial Pathogenesis*. **American Society of Microbiology**. v. 12, p. 173-195, 1994.

Li, Y., Luo, Y., Hu, Y., Zhu, D.D., Zhang, S., Liu, Z.J., Gong, H.B.,Zhu, H.L. Design, synthesis and antimicrobial activities of nitroimidazole derivatives containing 1,3,4 – oxadiazole scaffold as FabH inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 4316 – 4322, 2002.

LIMA, C.M.B.L. et al. Ultrastructural study on the morphological changes to male worms of *Schistosoma mansoni* after in vitro exposure to allicin. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.44, n.3, p.327-30, 2011.

LOPES, G.C.; SANCHES, A.C.C.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; HERNANDES, L. & MELLO, J.C.P. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wounds in rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 99, p. 265–272, 2005.

MARSAIOLI, A.J.; LEITÃO-FILHO, H.F.; CAMPELLO, J.P. Diterpenes in the bark of *Hymenaea courbaril*. **Phytochemistry**, v. 14, n. 8, p. 1882-1883, 1975.

MATIAS, E. E. F. et al. Enhancement of Antibiotic Activity by *Cordia verbenacea* DC. *LatinAm. J. Pharm*, v. 29, p. 1049 1052. Juazeiro do Norte, 2010.

Matos FJA. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. 2ª Ed. Fortaleza: Edições UFC, p. 141 .1997.

MATOS, E.; QUEIROZ, L. P. *Árvores para cidades*. Salvador: Ministério Público do Estado da Bahia/Solisluna, 2009. 344 p.

Mayer, G. (2010). Genetic Exchange. em *Microbiology and Immnology On-line*. Visualizado Dezembro 20, 2012.

MEJIA, Carlos; ZURITA, Jeannete; GUZMAN-BLANCO, Manuel. Epidemiologia e vigilância de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. *Braz J Infect Dis*, Salvador, 2011.

MOTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, v. 24, p. 105-111, 2001.

NCCLSI. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 22nd informational supplement. Document M100-S22. In: *Clinical Laboratory Standards Institute*, Wayne, PA. 2012.

- Moraes Peixoto, Rodolfo, et al. Potencial Antibacteriano de Plantas Nativas do Bioma Caatinga Frente a *Staphylococcus* spp. Isolados de Mastite em Pequenos Ruminantes. **Revista Caatinga**. v.29, n.3, p.758-763, 2016.
- Neihardt, F. (2004). Bacterial genetics. Em McGraw Hill (Eds.), Sherris Medical Microbiology - An introduction to infectious diseases (4ª ed., pp. 53 - 74). Nova Iorque.
- NEVES, Patrícia R.; MAMIZUKA, Elsa M.; LEVY, Carlos E. and LINCOPAN, Nilton. Pseudomonasaeruginosa multirresistente: um problema endêmico no Brasil. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**[online]. v. 47, n.4, p. 409-420, 2011, ISSN 1676-2444. <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442011000400004>.
- NICOLINI, Paola; NASCIMENTO, Jorge William Leandro; GRECO, KARIN Vicente; MENEZES, Fabiana Gatti de. Fatores relacionados à prescrição médica de antibióticos em farmácia pública da região Oeste da cidade de São Paulo. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, 2013.
- OLIVEIRA, V. B. et al. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 48, p. 170–179, 2012.
- Pereira AV, Almeida TC, Beltrame FL, Costa ME, Garrido LH. Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chás verde e preto–*Camellia sinensis* (L.) Kuntze, **Theaceae**. **Acta Sci**. 2009;31(2):119-124. Doi:10.4025/actascihealthsci.v31i2.6233
- PETTIT, G. R., MENG, Y., STEVENSON, C. A., DOUBEK, D. L., KNIGHT, J. C., CICHACZ, Z., PETTIT, R. K., CHAPUIS, JEAN-CHARLES, RATES, S. M. K. ( 2001). Plants as source of drugs. **Toxicon**. v. 39, n. 5, p. 603-613.
- RAZERA, Fernanda et al . CA-MRSA em furunculose: relato de caso do sul do Brasil. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 5, 2009.
- RODRIGUEZ-NORIEGA, Eduardo; SEAS, Carlos. The changing pattern of methicillinresistant staphylococcus aureus clones in Latin America: implications for clinical practice in the region. **Braz J Infect Dis**, Salvador, 2011.
- SATO, M., TSUCHIYA, H., MIYAZAKI, T., FUJIWARA, S., YAMAGUCHI, R., KURESHIRO, H., LINUMA, M. Antibacterial activity of hydroxychalcone against methicilin – resistance *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.6, p. 227 – 231, 1996.
- SILVA JA, BÜNDCHEN M. Conhecimento etnobotânico sobre as plantas medicinais utilizadas pela comunidade do Bairro cidade Alta, município de Videira, Santa Catarina, Brasil. **Unoesc & Ciência – Acbs**. V.2, p.129-140, 2011.
- Silva N, Silveira NFA, Yokoya F, Okazaki M. Ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em vegetais e resistência aos agentes de desinfecção de verduras. **CiêncTecnolAliment**. 2003;167-73.
- Tafur JD, Torres JA, Villegas MV. Mechanisms of antibiotic resistance in Gram negative bactéria. **Infect**. V.12, n.3,p. 217-226, 2008

Tortora, G.J.; Funke, B.R.; Case, C.L. O mundo microbiano e você. In: \_\_\_\_\_. Microbiologia. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012, p. 706-717.

Trabulsi LR, Alterthum F, Gompertz OF, Candeias JAN, Microbiologia 3ª Ed. Atheneu, São Paulo, 1999.

Turolla MSR, Nascimento ES. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Rev Bras Cienc Farm [online]**. 2006 Abr-Jun. Disponível em: [http:// www.scielo.br/scielo.php](http://www.scielo.br/scielo.php).

VEIGA. (1984). Os antibióticos na prática clínica. Lisboa: Infecon.

Wagner H, Ulrich-Merzenich G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. **Phytomedicine**. v.16, p.97-110, 2009. Doi: 10.1016/j. fitote.2010.11.016.

WOODMAN, O. L. Vasoactivity of Flavonols, Flavones and Catechins. In: PREEDY, V. R. (Org.). Beer in Health and Disease Prevention. USA: Academic Press, p. 843-855, 2008.

## UTILIZAÇÃO DO TESTE DE EXCLUSÃO COM AZUL DE TRYPAN SOB CÂMARA DE NEUBAUER PARA A CONTAGEM DE BACTÉRIAS DO ÁCIDO ACÉTICO

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 05/06/2020

### Tayara Narumi Andrade

Universidade Estadual de Londrina - UEL  
Londrina-Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/8468991896110392>

### Natália Norika Yassunaka Hata

Universidade Estadual de Londrina - UEL  
Londrina-Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/2109234116411472>

### Wilma Aparecida Spinosa

Universidade Estadual de Londrina - UEL  
Londrina-Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/1982711995508281>

**RESUMO:** Bactérias do ácido acético (BAA) desempenham um importante papel na produção de vinagre, sendo responsáveis pela oxidação do etanol diluído a ácido acético e água. Quantificações rápidas e precisas de células viáveis de BAA são de grande interesse para a indústria de vinagre, uma vez que o seu processo é dinâmico e exige um controle bastante rigoroso. Tendo isso em vista, o presente trabalho teve como objetivo propor o teste de exclusão com azul de trypan (TB) sob câmara de Neubauer como um método alternativo e rápido em substituição ao método de contagem em placas. Primeiramente, o isolado bacteriano, *Komagataeibacter intermedius*, foi cultivado (30 °C / 96 horas / 120 rpm) em caldo MYP para a construção da curva de crescimento. Verificou-se que em 72 horas, a

sua viabilidade foi máxima. A partir desses dados procedeu-se a padronização do inóculo para a comparação entre os dois métodos de contagem. Nossos resultados mostraram que a viabilidade celular de *K. intermedius*, utilizando-se o teste de exclusão com TB e a contagem em placas, não mostraram diferença significativa entre si. Sendo assim, a utilização do método de TB sob câmara de Neubauer pode ser considerado promissor no controle qualidade microbiológico de indústrias vinagreira.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ácido acético, azul de trypan, Neubauer.

### USE OF THE TRYPAN BLUE EXCLUSION TEST UNDER NEUBAUER'S CHAMBER FOR THE COUNTING OF ACETIC ACID BACTERIA

**ABSTRACT:** Acetic acid bacteria (BAA) play an important role in the production of vinegar and are responsible for the oxidation of dilute ethanol to acetic acid and water. Rapid and accurate quantifications of viable BAA cells are of great interest to the vinegar industry since its process is dynamic and requires quite strict control. The objective of this study was to propose the exclusion test with trypan blue (TB) under Neubauer chamber as an alternative and fast method to replace the plate counting method. First, the bacterial isolate, *Komagataeibacter intermedius*, was cultured (30 °C / 96 hours / 120 rpm) in MYP broth to construct the growth curve. It was verified that in 72 hours, its viability was maximum. From these data, the inoculum was standardized to compare the two counting methods. Our results showed that the cellular

viability of *K. intermedius*, using the TB exclusion test and the plaque count, showed no significant difference between them. Therefore, the use of the TB method under Neubauer chamber can be considered promising in the control of the microbiological quality of vinegar industries.

**KEYWORDS:** Acetic acid, trypan blue, Neubauer.

## 1 | INTRODUÇÃO

A produção do vinagre é um processo biotecnológico na qual, bactérias do ácido acético (BAA) desempenham um importante papel na oxidação do etanol diluído a ácido acético e água (GULLO; GIUDICI, 2008). Conhecido pelas mais antigas civilizações (TESFAYE et al., 2002), o processo fermentativo do vinagre tem sido alvo de numerosos estudos microbiológicos. No entanto, o conhecimento sobre a diversidade microbiana e seus papéis envolvidos na fermentação ainda são bastante limitados (LI et al., 2015).

Atualmente, muitas indústrias vinagreiras modernas ainda utilizam culturas mistas desconhecidas ou “mãe do vinagre” para dar início ao processo, uma vez que, culturas iniciadoras bem definidas não estão disponíveis comercialmente devido a dificuldades no isolamento de cepas, cultivo e preservação de BAA (SOKOLLEK, HERTEL, HAMMES, 1998; NDOYE et al., 2009). A transformação biotecnológica do vinagre também necessita de programas de controle de qualidade que possam monitorar sua dinâmica microbiana de forma rápida, barata e precisa.

Métodos de detecção convencionais, além de requererem um tempo maior, são incapazes de identificar microrganismos não-viáveis ou não-cultiváveis, podendo resultar em subestimação da concentração microbiana (MESA et al., 2003; BAENA-RUANO et al., 2006). A viabilidade de BAA tem sido avaliada com sucesso por métodos mais sofisticados, como a microscopia de epifluorescência direta e citometria de fluxo. No entanto, são métodos que necessitam de equipamentos de alto custo e conhecimento técnico especializado em relação à célula microbiana e ao gerenciamento de dados instrumentais obtidos (MALACRINÒ et al., 2001; MESA et al., 2003; BAENA-RUANO et al., 2006).

O teste de exclusão por azul de trypan (TB) é um ensaio simples que pode contribuir muito para a rápida determinação de microrganismos viáveis em processos de alimentos como a do vinagre. Neste método, as células mortas absorvem o TB dentro do citoplasma devido à perda da seletividade da membrana, enquanto as vivas permanecem não coradas (STROBER, 2015; AVELAR-FREITAS et al., 2014). Assim, o número relativo de células mortas e vivas pode ser obtido por microscópio óptico, utilizando-se uma câmara de Neubauer (AVELAR-FREITAS et al., 2014). A avaliação da viabilidade celular com o corante TB sob câmara de Neubauer tem sido amplamente aplicada em pesquisas biomédicas (KIM et al., 2011; SALEM, ATTIA,

GALAL, 2016; ) MÜLLER et al., 2015; CHANG et al., 2015; KIESEL, STAN, 2017), porém, seu potencial não tem sido explorado para a enumeração de BAA a partir da fermentação do vinagre.

Tendo isso em vista, o objetivo deste trabalho foi avaliar a possibilidade do uso do teste de exclusão por TB sob câmara de Neubauer para contagem de células viáveis de BAA como um método alternativo e rápido em substituição ao método de contagem em placas.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Microrganismo e condições de crescimento

Neste trabalho, a linhagem isolada de acetador submerso, *Komagataeibacter intermedius*, foi obtida de dorna de fermentação de indústria localizada no Estado de São Paulo. O isolado bacteriano foi preservado com o crioprotetor extrato de malte a 20% (p/v) (SOKOLLEK; HERTEL; HAMMES, 1998) e armazenado a -80 °C na coleção de culturas da Universidade Estadual de Londrina, sediada em Londrina-PR.

Anteriormente à realização dos experimentos, uma alíquota de 100 µL do microrganismo estocado foi cultivado em tubo contendo 3 mL de caldo Manitol Yeast Peptone (MYP; Manitol, 25 g/L; Extrato de levedura, 5 g/L; Peptona 3 g/L) (DE LEY; GOSSELE; SWINGS, 1984) e incubado a 30 °C em agitador rotatório a 120 rpm por 48 horas. Após incubação, o inóculo foi semeado por esgotamento em placas de ágar MYP solidificado, preparadas segundo o método da dupla camada (ENTANI et al., 1985), e incubadas em estufa a 30 °C por no mínimo 48 horas, em estufa com umidade relativa > 90%. A partir da placa com crescimento, 3 a 5 colônias características e isoladas foram tocadas e transferidas para tubo contendo 5 mL de caldo MYP e incubado novamente em agitador rotatório a 120 rpm por 48 horas. Em seguida, todo conteúdo foi transferido para um erlenmeyer de 50 mL de caldo MYP e novamente incubado a 30 °C sob agitação (120 rpm) por 96 horas.

### 2.2 Curva de crescimento de *K. intermedius*

O crescimento bacteriano foi monitorado durante 96 horas a 30°C, conforme Lida e colaboradores (2008) com algumas modificações. As amostras foram coletadas a cada 24 horas e várias diluições seriadas foram realizadas para a semeadura em ágar MYP pelo método de semeadura em gotas (Drop Plate) (MILES; MISRA; IRWIN, 1938). As placas foram incubadas a 30°C, por no mínimo 48 horas. Concomitantemente, alíquotas de 2 ml foram utilizadas para a determinação da concentração celular do inóculo através de espectrofotometria a 660 nm de Absorbância.

## 2.3 Comparação de métodos de quantificação da população

### 2.3.1 Padronização do inóculo

A partir da curva de crescimento, foi possível definir o período ideal em que a bactéria estivesse próxima a fase estacionária, com contagens próximas a 9 log UFC/mL, ou seja, com 72 horas de incubação. Assim, a bactéria foi então coletada por centrifugação a 5000 rpm por cinco minutos, lavando-se três vezes e sendo ressuspensa em água peptonada 0,1% estéril. O inóculo foi padronizado por espectrofotometria a 580 nm (%T 22-26) ou 660 nm (OD 1,2 – 1,3) de modo que a concentração final apresentasse aproximadamente 9 log UFC/mL.

### 2.3.2 Teste de exclusão de azul trypan sob câmara de Neubauer

Este teste avalia a integridade estrutural da membrana bacteriana empregando-se o corante azul de trypan. O inóculo padronizado foi diluído em água peptonada 0,1%, quando necessário, e adicionadas de corante de azul de trypan 0,2%. A mistura foi homogeneizada e uma pequena alíquota foi aplicada no hemocítmetro para a contagem das células e análise sob microscópio. Tomou-se o devido cuidado para que este procedimento fosse realizado dentro de um período de 3 – 5 minutos, uma vez que um longo período de incubação poderia acarretar na morte celular e redução da viabilidade (STROBER, 2015).

Embora a câmara fosse subdividida em 25 grupos, compostos por 16 quadrados cada, apenas cinco grupos (0,04 mm<sup>2</sup> cada um) na diagonal foram utilizados para contar. A contagem de células viáveis foi realizada a partir daquelas que não apresentaram coloração azulada e os resultados expressos em log UFC/mL. Os experimentos foram realizados em triplicata.

### 2.3.3 Contagem por semeadura em superfície (drop plate)

A partir do inóculo padronizado em OD, contagens de *Komagataeibacter intermedius* foram realizadas pelo método de semeadura em gotas. Alíquotas de 0,2 ml de diluições apropriadas foram semeadas em placas contendo ágar MYP com sobrecamada e incubadas em estufa a 30 °C, por no mínimo 48 horas. A contagem de células viáveis foi expressa em log UFC/ml. Os experimentos foram realizados em triplicata.

## 3 | ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey. A análise estatística foi realizada com nível de 5% de significância.

## 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Curva de crescimento de *K. intermedius*

A construção da curva de crescimento é uma importante ferramenta para análise do número de bactérias presentes no meio de cultura ao longo do período de incubação. O crescimento padrão é composto por seis fases distintas: fase lag, fase de aceleração, fase exponencial (ou log), fase de desaceleração, fase estacionária e fase de morte (FORSYTHE, 2013).

Sabendo disso, construiu-se primeiramente a curva de crescimento para *K. intermedius* (Figura 1). Observou-se que à medida que o tempo de incubação aumentava, a turbidez das amostras e a densidade ótica também aumentavam proporcionalmente. A concentração inicial de células viáveis foi equivalente a 7,22 log UFC/mL, alcançando um crescimento máximo de 9,18 log UFC/mL em 72 horas. A densidade ótica, por equivalência, atingiu um valor máximo de 1,34 no período de 96 horas, porém, observou-se um decréscimo da viabilidade de *K. intermedius* de aproximadamente 1,0 log UFC/mL.

A partir do que foi analisado, foi possível definir o melhor período para a coleta do inóculo (72 horas), ou seja, próximo à fase estacionária, na qual, as contagens bacterianas apresentaram-se próximas a 9 log UFC/mL.

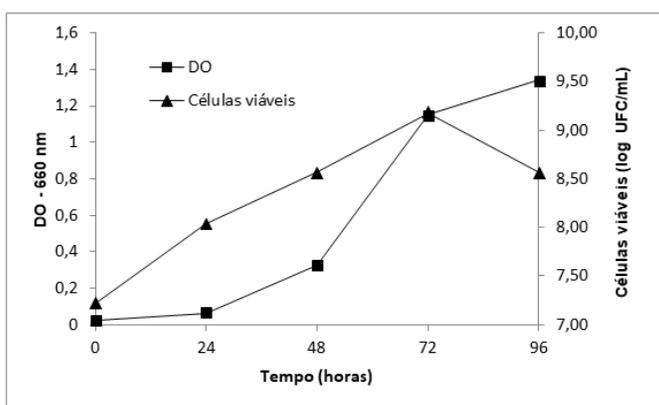


Figura 1 - Curva de crescimento e densidade ótica (DO) a 660 nm de *K. intermedius*

### Comparação de métodos de quantificação da população de BAA

O processo de fabricação do vinagre ainda carece de métodos microbiológicos que possam monitorar a sua diversidade microbiana de forma rápida, precisa, barata e que possibilite o isolamento de BAA.

Conforme Entani et al. (1985), no método de semeadura em placas, a adição

de 0,5% de ágar na camada inferior e de 1,0% de ágar na segunda camada reduz parcialmente o problema de cultivo e isolamento de BAA. No entanto, o tempo de incubação o torna inviável para processos fermentativos como a do vinagre. Diferentemente do teste de exclusão com TB sob câmara de Neubauer, que fornece resultados rápidos e precisos, como foi observado no presente trabalho. Podemos observar por meio da Figura 2 que as contagens de células viáveis de *K. intermedius* pelo método de exclusão com TB não apresentaram diferenças significativas em relação as contagens realizadas em placa.

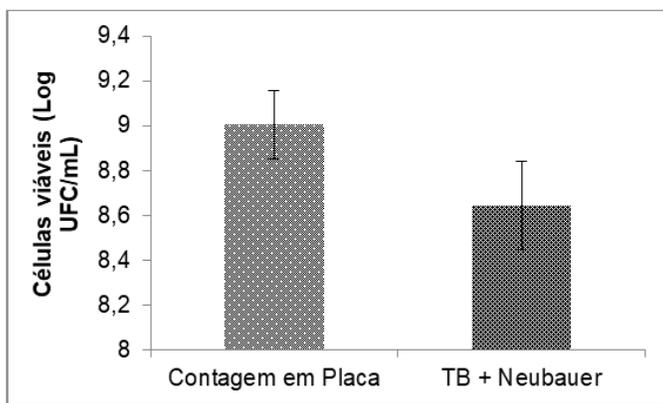


Figura 2 - Comparação nas contagens de células viáveis de *K. intermedius* pelos métodos de semeadura em placas (Drop plate) e teste de exclusão por TB sob câmara de Neubauer.

De acordo com nosso conhecimento, não há trabalhos que comparem contagens de BAA realizadas por este teste com a semeadura em placas. No entanto, um estudo conduzido por Avelar-Freitas e colaboradores (2014), comparou simultaneamente a viabilidade de células mononucleares de sangue periférico (CMSP) por três métodos (citometria de fluxo, coloração com Iodeto de propídio e teste de exclusão por TB) e não encontrou diferenças significativas em seus resultados. Além disso, a avaliação da viabilidade celular com o corante TB sob câmara de Neubauer tem sido amplamente aplicada em pesquisas biomédicas (KIM et al., 2011; SALEM, ATTIA, GALAL, 2016; MÜLLER et al., 2015; CHANG et al., 2015; KIESEL, STAN, 2017).

## 5 | CONCLUSÃO

Nosso estudo mostrou que a utilização do método de TB sob câmara de Neubauer para a contagem de BAA pode ser uma ferramenta promissora no controle

de qualidade microbiológico e para a investigação da dinâmica de crescimento de microrganismos de indústrias vinagreiras.

## REFERÊNCIAS

AVELAR-FREITAS, B. A. et al. Trypan blue exclusion assay by flow cytometry. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 47, n. 4, p. 307-315, 2014.

BAENA-RUANO, Silvia et al. Rapid method for total, viable and non-viable acetic acid bacteria determination during acetification process. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 5, p. 1160-1164, 2006.

CHANG, Hsun-Ming et al. Growth differentiation factor 8 suppresses cell proliferation by up-regulating CTGF expression in human granulosa cells. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 422, p. 9-17, 2016.

DE LEY, J.; GOSSELE, F.; SWINGS, J. Genus I Acetobacter. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, v. 1, p. 268-274, 1984.

ENTANI, Etsuzo et al. *Acetobacter polyoxogenes* sp. nov., a new species of an acetic acid bacterium useful for producing vinegar with high acidity. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 31, n. 5, p. 475-490, 1985.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. Artmed Editora, 2013.

GULLO, Maria; GIUDICI, Paolo. Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: phenotypic traits relevant for starter cultures selection. **International journal of food microbiology**, v. 125, n. 1, p. 46-53, 2008.

IIDA, Aya; OHNISHI, Yasuo; HORINOUCHI, Sueharu. Control of acetic acid fermentation by quorum sensing via N-acylhomoserine lactones in *Gluconacetobacter intermedius*. **Journal of bacteriology**, v. 190, n. 7, p. 2546-2555, 2008.

KIESEL, Violet A.; STAN, Silvia D. Dialllyl trisulfide, a chemopreventive agent from Allium vegetables, inhibits alpha-secretases in breast cancer cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 484, n. 4, p. 833-838, 2017.

KIM, Jang Su et al. Comparison of the automated fluorescence microscopic viability test with the conventional and flow cytometry methods. **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 25, n. 2, p. 90-94, 2011.

LI, Sha et al. Microbial diversity and their roles in the vinegar fermentation process. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 12, p. 4997, 2015.

MALACRINÒ, Paola et al. Rapid detection of viable yeasts and bacteria in wine by flow cytometry. **Journal of Microbiological Methods**, v. 45, n. 2, p. 127-134, 2001.

MESA, M. M. et al. Use of the direct epifluorescent filter technique for the enumeration of viable and total acetic acid bacteria from vinegar fermentation. **Journal of Fluorescence**, v. 13, n. 3, p. 261-265, 2003.

MILES, A. A.; MISRA, S. S.; IRWIN, J. O. The estimation of the bactericidal power of the blood. **Journal of Hygiene**, v. 38, n. 06, p. 732-749, 1938.

MÜLLER, Isabelle et al. Static image analysis as new approach for the characterization of tumor cell lysate used in dendritic cell vaccine preparation. **Transfusion Medicine and Hemotherapy**, v. 42, n. 2, p. 122-128, 2015.

NDOYE, Bassirou et al. Preservation of vinegar acetic acid bacteria. In: **Vinegars of the World**. Springer Milan, 2009. p. 61-71.

SALEM, Mohamed L.; ATTIA, Zeinab I.; GALAL, Sohaila M. Acute inflammation induces immunomodulatory effects on myeloid cells associated with anti-tumor responses in a tumor mouse model. **Journal of advanced research**, v. 7, n. 2, p. 243-253, 2016.

SOKOLLEK, Stephan J.; HERTEL, Christian; HAMMES, Walter P. Cultivation and preservation of vinegar bacteria. **Journal of Biotechnology**, v. 60, n. 3, p. 195-206, 1998.

STROBER, Warren. Trypan blue exclusion test of cell viability. **Current protocols in immunology**, 111:A3.B.1-A3. B.3, 2015.

TESFAYE, W. et al. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 1, p. 12-21, 2002.

# CAPÍTULO 5

## PRODUÇÃO SIMULTÂNEA DE EXOPOLISSACARÍDEOS POR *Komagataeibacter xylinus*

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 05/06/2020

### Natália Norika Yassunaka Hata

Universidade Estadual de Londrina - UEL  
Londrina-Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/2109234116411472>

### Mariana Assis de Queiroz Cancian

Universidade Estadual de Londrina - UEL  
Londrina-Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/1817422617471896>

### Rodrigo José Gomes

Universidade Estadual de Londrina - UEL  
Londrina-Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/3021451673808754>

### Fernanda Carla Henrique Bana

Universidade Estadual de Londrina - UEL  
Londrina-Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/9914076716311423>

### Wilma Aparecida Spinosa

Universidade Estadual de Londrina - UEL  
Londrina-Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/1982711995508281>

**RESUMO:** Bactérias do ácido acético são conhecidas pela sua habilidade em produzir quantidades expressivas de exopolissacarídeos, tal como a levana, celulose, acetana ou xilanana, assim como gluconacetanas. Espécies de *Komagataeibacter* produzem celulose bacteriana (CB) a níveis comerciais, e estas, devido às suas propriedades únicas demonstram aplicabilidade

em vários setores industriais, que varia desde a fabricação de alimentos até o seu uso como um material para tratamentos de pele. Além da CB, *Komagataeibacter* também tem demonstrado produzir exopolissacarídeos solúveis em água a partir de substrato à base de sacarose. E assim como a CB, poderiam ser empregadas tanto na área biomédica como na indústria alimentícia. Esta pesquisa buscou verificar a capacidade da bactéria *Komagataeibacter xylinus* ATCC 700178 produzir simultaneamente a CB e exopolissacarídeos solúveis em água (EPS1) a partir de substrato contendo sacarose em condições de agitação. Como resultado, obtivemos que, apesar do meio de fermentação ainda não estar otimizado, a cepa de referência produziu simultaneamente quantidades razoáveis dos dois exopolissacarídeos ( $0,70 \pm 0,03 \text{ g.L}^{-1}$  de CB e  $14,23 \pm 0,35 \text{ g.L}^{-1}$  de EPS1). Deste modo, estudos posteriores seriam necessários com relação ao aumento de produção (CB e EPS1) e caracterização do EPS1, uma vez que a aplicabilidade da CB já é bastante conhecida em várias áreas e a descoberta de novos biopolímeros poderia abrir ainda mais o leque de oportunidades para as indústrias.

**PALAVRAS-CHAVE:** Exopolissacarídeos, celulose, ácido acético, sacarose.

### SIMULTANEOUS PRODUCTION OF EXOPOLYSACCHARIDES BY KOMAGATAEIBACTER XYLINUS

**ABSTRACT:** Acetic acid bacteria are known for their ability to produce significant amounts of exopolysaccharides, such as levan, cellulose,

acetan or xylan, as well as gluconacetans. *Komagataeibacter* species produce bacterial cellulose (CB) at commercial levels, and these, due to their unique properties, demonstrate applicability in several industrial areas, ranging from the manufacture of food to its use as a material for skin treatments. In addition to CB, *Komagataeibacter* has also been shown to produce water-soluble exopolysaccharides from sucrose-based substrate under shaker conditions. Just like CB, they could be used both in the biomedical area and in the food industry. This research sought to verify the ability of the bacteria *Komagataeibacter xylinus* ATCC 700178 to simultaneously produce CB and water-soluble exopolysaccharides (EPS1) from substrate containing sucrose. As a result, we obtained that, although the fermentation medium is not yet optimized, the reference strain produced simultaneously reasonable amounts of the two exopolysaccharides ( $0.70 \pm 0.03 \text{ g.L}^{-1}$  of CB and  $14.23 \pm 0.35 \text{ g.L}^{-1}$  of EPS1). Thus, further studies would be necessary in relation to the increase in their production (CB and EPS1) and characterization of EPS1, since the applicability of CB is already well known in several areas and the discovery of new biopolymers could open even more the range of opportunities for industries.

**KEYWORDS:** Exopolysaccharides, cellulose, acetic acid, sucrose.

## 1 | INTRODUÇÃO

Polissacarídeos microbianos são produzidos por uma ampla gama de bactérias, apresentando uma extrema diversidade em termos de estrutura química e composição (PERUMPULI; WATANABE; TOYAMA, 2014; ROCA et al., 2015). Bactérias do ácido acético, por exemplo, são capazes de produzir grandes quantidades de exopolissacarídeos, quer homopolissacarídeos como a levana e a celulose bacteriana, compostos por monômeros de frutose e glicose, respectivamente, assim como heteropolissacarídeos como a acetana ou xilanana (formados por monômeros de glicose, manose, ácido glucurônico e ramnose) e gluconacetana (BRANDT et al., 2017; KORNMAN et al., 2003; SEMINO; DANKERT, 1993).

A celulose bacteriana é um exopolissacarídeo que tem chamado bastante atenção devido às suas propriedades únicas. Este polímero possui alta resistência à tração, estabilidade térmica, alta pureza, alto grau de polimerização, grande capacidade de retenção de água, além de mostrar excelente biodegradabilidade e biocompatibilidade (CACICEDO et al., 2016; QIU; NETRAVALI, 2014; RUKA et al., 2014; FAN et al., 2016; HUANG et al., 2014; KESHK, 2014; SHODA; SUGANO, 2005; WANG et al., 2017). Todas essas características fazem dela um polímero promissor em diversas áreas de aplicação. Na indústria de alimentos, a utilização mais popular da celulose é na fabricação da Nata de coco, uma sobremesa tradicional bastante consumida no sudeste asiático, produto da fermentação realizada pela bactéria *Komagataeibacter xylinus* (SHI et al., 2014; ULLAH; SANTOS; KHAN, 2016). Além da área de alimentos, a celulose tem sido utilizada na área médica, farmacêutica, de

cosméticos, em materiais de embalagens e fabricação de papéis (SHI et al., 2014).

Por outro lado, estudos recentes têm mostrado que BAA também possuem habilidade a produzir exopolissacarídeos solúveis a partir de substrato à base de sacarose (HERMANN; PETERMEIER; VOGEL, 2015; JAKOB et al., 2013; MOLINARI, BOIARDI, 2013 SEMJONOV et al., 2015; SRIKANTH et al., 2015; UA-ARAK, JAKOB, VOGEL, 2016; UA-ARAK, JAKOB, VOGEL, 2017). Estes biopolímeros têm demonstrado variadas atividades biológicas como atividade antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, entre outros, sendo aplicáveis à diversas áreas da biomedicina. Em alimentos, têm sido estudadas como possíveis candidatas à prebióticos e impactado diretamente na qualidade de produtos de panificação (HERMANN; PETERMEIER; VOGEL, 2015; JAKOB; STEGER; VOGEL, 2012).

Tendo isso em vista, o objetivo deste trabalho foi verificar a capacidade da bactéria *K. xylinus* produzir simultaneamente a CB e EPS1 a partir de substrato contendo sacarose.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Microrganismo, condições de cultivo e fermentação

Neste trabalho, foi utilizada a cepa de referência *K. xylinus* ATCC 700178, armazenada na coleção de culturas da Universidade Estadual de Londrina, sediada em Londrina-PR.

Primeiramente, a bactéria foi cultivada em ágar MYP (2,5% manitol, 0,5% extrato de levedura, 0,3% peptona, 1,0% ágar) (SOKOLLEK; HERTEL; HAMMES, 1998) e incubada por 72 h a 30 °C. Em seguida, uma alçada a partir da placa foi inoculada em frascos de 250 mL contendo meio líquido HS (2,0% D-glicose, 0,5% peptona, 0,5% extrato de levedura, 0,27% Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,115% ácido cítrico, pH ajustado para 6,0) e adicionada de 0,2% de celulase. Este inóculo foi mantido a 30 °C sob agitação a 120 rpm (WANG; XIANG; WANG; LI, 2016) até que uma absorbância de 0,6 (600nm) fosse alcançada. Células foram centrifugadas e lavadas repetidamente com água destilada, ressuspensas e inoculadas a 1,0% (v/v) em meio HS modificado contendo 50 g.L<sup>-1</sup> de sacarose. O meio inoculado foi incubado por 96 h a 30 °C sob agitação a 150 rpm.

### 2.2 Isolamento e determinação da CB e do exopolissacarídeo solúvel a partir do meio líquido

Após o término do processo fermentativo, a CB (em forma de esferas e insolúvel em água) foi separada fisicamente por filtração e o EPS1 foi isolado a partir do caldo remanescente.

### 2.2.1 Purificação e quantificação da CB

A CB foi primeiramente lavada em água e submetida à purificação com NaOH 1,0 mol/L a 80 °C por 1 h para a remoção de células e meio de cultura residual. Após aquecimento, as esferas de CB foram lavadas repetidamente com água para a completa remoção de álcali (até pH neutro). Por fim, a CB foi secada a 60 °C por 24 h e a produção determinada por pesagem ( $\text{g.L}^{-1}$ ).

### 2.2.2 Isolamento e quantificação do EPS1

Para o isolamento do EPS1, um volume do sobrenadante remanescente foi centrifugado a 5000 rpm por 20 minutos para a remoção de células, e em seguida homogeneizado com três volumes de álcool etílico 99% (1:3; v.v<sup>-1</sup>) para precipitação. Esta mistura foi mantida a -20 °C por 24 h e subsequentemente centrifugada a 5000 rpm por 30 minutos. O precipitado foi então ressuspensionado em água destilada, e a solução resultante liofilizada. O EPS1 foi finalmente pesado e a produtividade calculada em peso seco ( $\text{g.L}^{-1}$ ). A Figura 1 ilustra todo o processo de produção e isolamento dos exopolissacarídeos produzidos.

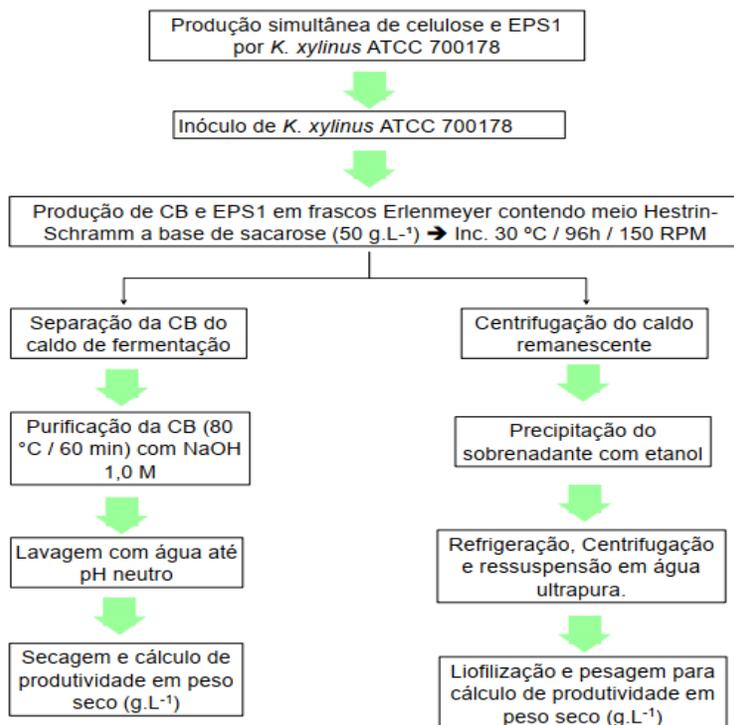


Figura 1 – Processo de produção e isolamento de CB e EPS1 a partir de *K. xylinus* ATCC 700178.

### 3 | ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey. A análise estatística foi realizada com nível de 5% de significância.

### 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Várias espécies de BAA sintetizam consideráveis quantidades de exopolissacarídeos (KORNMAN et al., 2003; ROCA et al., 2015). Espécies pertencentes aos gêneros *Gluconacetobacter*, *Komagataeibacter* e *Acetobacter* são hábeis a sintetizar celulose (VALERA et al., 2015), porém, apenas espécies de *Komagataeibacter* podem produzir CB a níveis comerciais, dando-se destaque especialmente para *K. xylinus* e *K. hansenii* (LIN et al., 2013; RANGASWAMY et al., 2015). Já a produção de exopolissacarídeos solúveis em água por *K. xylinus* quando cultivada em meio contendo sacarose foi previamente reportada por TAJIMA et al. (1998), KORNMAN et al. (2003) e recentemente por SRIKANTH et al. (2015), apesar de outros gêneros de BAA como *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, *Neoasaia* e *Kozakia* também apresentarem esta capacidade (HERMANN; PETERMEIER; VOGEL, 2015; JAKOB et al., 2013; MOLINARI, BOIARDI, 2013 SEMJONOV et al., 2015; SRIKANTH et al., 2015; UA-ARAK, JAKOB, VOGEL, 2016; UA-ARAK, JAKOB, VOGEL, 2017).

Neste trabalho, *K. xylinus* ATCC 700178 foi capaz de produzir simultaneamente,  $0,70 \pm 0,03 \text{ g.L}^{-1}$  de CB (insolúveis em água e em formato de esferas) e  $14,23 \pm 0,35 \text{ g.L}^{-1}$  de EPS1 (solúvel em água) em meio HS sacarose sob condições de agitação (Figura 2).

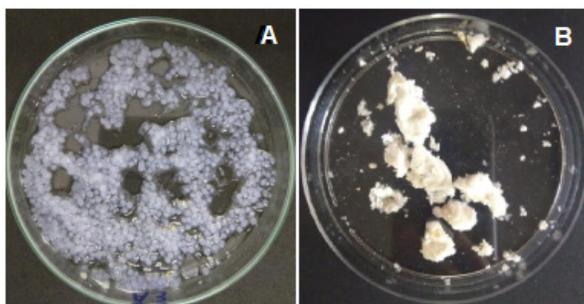


Figura 2 – Produção simultânea de celulose (A) e EPS1 (B) por *K. xylinus* ATCC 700178 a partir de substrato contendo sacarose.

Apesar da produção de CB pela cepa de referência não ter sido produzida em maiores quantidades quando comparadas aos estudos de MOHITE et al. (2013) (5,0

g.L<sup>-1</sup>; meio de sacarose), ATWA et al. (2015) (8,25 g.L<sup>-1</sup>; Meio CSL modificado), UI-ISLAM et al. (2013) (10,45 g.L<sup>-1</sup>; meio MAE), podemos justificar nossos resultados pelo fato de que a produção de CB varia conforme as condições fermentativas (fonte de carbono, nitrogênio, velocidade de agitação, tempo de incubação e diferentes indutores), da cepa bacteriana utilizada, assim como outros fatores. Além disso, podemos salientar que as condições empregadas neste trabalho ainda não foram otimizadas.

Quanto à produção de EPS1, podemos dizer que é necessário uma posterior caracterização do biopolímero para que o mesmo seja corretamente identificado e assim possamos comparar os resultados encontrados. A identificação do polissacarídeo pode ser realizada por meio de análises cromatográficas a fim de se obter os monômeros que o compõe, por análises de FT-IR (Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier) para a verificação dos grupos funcionais da molécula, assim como por análises de RMN (Ressonância Magnética Nuclear) para a determinação dos tipos de ligação envolvidos.

## 5 | CONCLUSÃO

Nosso estudo mostrou que apesar do meio de fermentação ainda não estar otimizado, a cepa de referência foi capaz de produzir simultaneamente quantidades razoáveis dos dois exopolissacarídeos. Deste modo, seria necessário um estudo mais aprofundado em relação ao aumento de produção (CB e EPS1) e caracterização do EPS1, uma vez que a aplicabilidade da CB já é bastante conhecida em várias áreas e a descoberta de novos biopolímeros poderia abrir ainda mais o leque de oportunidades para as indústrias.

## REFERÊNCIAS

ATWA, Nagwa A. et al. Improvement in bacterial cellulose production using *Gluconacetobacter xylinus* ATCC 10245 and characterization of the cellulose pellicles produced. **Egyptian Pharmaceutical Journal**, v. 14, n. 2, p. 123, 2015.

BRANDT, J. U.; BORN, F. L.; JAKOB, F.; VOGEL, R. F. Environmentally triggered genomic plasticity and capsular polysaccharide formation are involved in increased ethanol and acetic acid tolerance in *Kozakia baliensis* NBRC 16680. **BMC Microbiology**, v. 17, 2017.

CACICEDO, Maximiliano L. et al. Progress in bacterial cellulose matrices for biotechnological applications. **Bioresource technology**, v. 213, p. 172-180, 2016.

FAN, Xin et al. Production of nano bacterial cellulose from beverage industrial waste of citrus peel and pomace using *Komagataeibacter xylinus*. **Carbohydrate polymers**, v. 151, p. 1068-1072, 2016.

- HERMANN, M.; PETERMEIER, H.; VOGEL, R. F. Development of novel sourdoughs with in situ formed exopolysaccharides from acetic acid bacteria. **European Food Research and Technology**, v. 241, n. 2, p. 185-197, 2015.
- HUANG, Yang et al. Recent advances in bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 21, n. 1, p. 1-30, 2014.
- JAKOB, F.; PFAFF, A.; NOVOA-CARBALLAL, R.; RÜBSAM, H.; BECKER, T.; VOGEL, R. F. Structural analysis of fructans produced by acetic acid bacteria reveals a relation to hydrocolloid function. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1234-1242, 2013.
- JAKOB, F.; STEGER, S.; VOGEL, R. F. Influence of novel fructans produced by selected acetic acid bacteria on the volume and texture of wheat breads. **European Food Research and Technology**, v. 234, n. 3, p. 493-499, 2012.
- KESHK, Sherif MAS. Bacterial cellulose production and its industrial applications. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, v. 4, n. 2, p. 1, 2014.
- KORNMANN, Henri et al. Influence of nutritional factors on the nature, yield, and composition of exopolysaccharides produced by *Gluconacetobacter xylinus* I-2281. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, n. 10, p. 6091-6098, 2003.
- LIN, Shin-Ping et al. Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 20, n. 5, p. 2191-2219, 2013.
- MOLINARI, M. L.; BOIARDI, J. L. Levans production by *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 3, p. 7-7, 2013.
- MOHITE, Bhavna V.; SALUNKE, Bipinchandra K.; PATIL, Satish V. Enhanced production of bacterial cellulose by using *Gluconacetobacter hansenii* NCIM 2529 strain under shaking conditions. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 169, n. 5, p. 1497-1511, 2013.
- PERUMPULI, P. A. B. N.; WATANABE, T.; TOYAMA, H. Pellicle of thermotolerant *Acetobacter pasteurianus* strains: characterization of the polysaccharides and of the induction patterns. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 118, n. 2, p. 134-138, 2014.
- QIU, Kaiyan; NETRAVALI, Anil N. A review of fabrication and applications of bacterial cellulose based nanocomposites. **Polymer Reviews**, v. 54, n. 4, p. 598-626, 2014.
- RANGASWAMY, B. E.; VANITHA, K. P.; HUNGUND, Basavaraj S. Microbial cellulose production from bacteria isolated from rotten fruit. **International Journal of Polymer Science**, v. 2015, 2015.
- ROCA, Christophe et al. Exopolysaccharides enriched in rare sugars: bacterial sources, production, and applications. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 288, 2015.
- RUKA, Dianne R.; SIMON, George P.; DEAN, Katherine M. Bacterial cellulose and its use in renewable composites. **Nanocellulose Polymer Nanocomposites: Fundamentals and Applications**, p. 89-130, 2014.

- SEMINO, C. E.; DANKERT, M. A. In vitro biosynthesis of acetan using electroporated *Acetobacter xylinum* cells as enzyme preparations. **Microbiology**, v. 139, n. 11, p. 2745-2756, 1993.
- SEMJONOV, P.; SHAKIROVA, L.; TREIMANE, R.; SHVIRKSTS, K.; AUZINA, L.; CLEENWERCK, I.; ZIKMANIS, P. Production of extracellular fructans by *Gluconobacter naphelii* P1464. **Letters in Applied Microbiology**, v. 62, n. 2, p. 145-152, 2015.
- SHI, Zhijun et al. Utilization of bacterial cellulose in food. **Food hydrocolloids**, v. 35, p. 539-545, 2014.
- SHODA, Makoto; SUGANO, Yasushi. Recent advances in bacterial cellulose production. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 10, n. 1, p. 1, 2005.
- SOKOLLEK, S. J.; HERTEL, C.; HAMMES, W. P. Cultivation and preservation of vinegar bacteria. **Journal of Biotechnology**, v. 60, n. 3, p. 195-206, 1998.
- SRIKANTH, R.; SIDDARTHA, G.; REDDY, C. H. S.; HARISH, B. S.; RAMAIAH, M. J.; UPPULURI, K. B. Antioxidant and anti-inflammatory levan produced from *Acetobacter xylinum* NCIM2526 and its statistical optimization. **Carbohydrate Polymers**, v. 123, p. 8-16, 2015.
- TAJIMA, K.; UENISHI, N.; FUJIWARA, M.; ERATA, T.; MUNEKATA, M.; TAKAI, M. The production of a new water-soluble polysaccharide by *Acetobacter xylinum* NCI 1005 and its structural analysis by NMR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 305, n. 1, p. 117-122, 1997.
- UA-ARAK, T.; JAKOB, F.; VOGEL, R. F. Influence of levan-producing acetic acid bacteria on buckwheat-sourdough breads. **Food Microbiology**, v. 65, p. 95-104, 2017b.
- UA-ARAK, T.; JAKOB, F.; VOGEL, R. F. Characterization of growth and exopolysaccharide production of selected acetic acid bacteria in buckwheat sourdoughs. **International Journal of Food Microbiology**, v. 239, p. 103-112, 2016.
- UL-ISLAM, Mazhar et al. Effects of glucuronic acid oligomers on the production, structure and properties of bacterial cellulose. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 1, p. 360-366, 2013.
- ULLAH, Hanif; SANTOS, Hélder A.; KHAN, Taous. Applications of bacterial cellulose in food, cosmetics and drug delivery. **Cellulose**, v. 23, n. 4, p. 2291-2314, 2016.
- VALERA, Maria José et al. Cellulose production and cellulose synthase gene detection in acetic acid bacteria. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 3, p. 1349-1361, 2015.
- WANG, Shan-Shan et al. Physicochemical characterization of high-quality bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter* sp. strain W1 and identification of the associated genes in bacterial cellulose production. **RSC advances**, v. 7, n. 71, p. 45145-45155, 2017.
- WANG, Z.-G. et al. Preparation of an inoculum of *Gluconacetobacter xylinus* without mutants in shaken culture. **Journal of applied microbiology**, v. 121, n. 3, p. 713-720, 2016.

## ANÁLISE DO ESPECTRO INFRAVERMELHO, INVESTIGAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E POTENCIALIZAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *VITEX GARDNERIANA* SCHAUER

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 01/06/2020

### **Raimundo Luiz Silva Pereira**

Universidade Regional de Cariri  
Crato, CE, Brasil  
<https://orcid.org/0000-0001-8205-7120>

### **Ana Carolina Justino de Araújo**

Universidade Regional de Cariri  
Crato, CE, Brasil  
<https://orcid.org/0000-0001-9261-3901>

### **Paulo Nogueira Bandeira**

Universidade Estadual Vale do Acaraú  
Sobral, CE, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/7212288309449337>

### **Henrique Douglas Melo Coutinho**

Universidade Regional de Cariri  
Crato, CE, Brasil  
<https://orcid.org/0000-0002-6634-4207>

### **Jean Parcelli Costa do Vale**

Universidade Estadual Vale do Acaraú  
Sobral, CE, Brasil  
<https://orcid.org/0000-0001-5598-8886>

### **Alexandre Magno Rodrigues Teixeira**

Universidade Regional de Cariri  
Crato, CE, Brasil  
<https://orcid.org/0000-0001-6786-2076>

### **Hélcio Silva dos Santos**

Universidade Estadual do Ceará  
Fortaleza, CE, Brasil  
<https://orcid.org/0000-0001-5527-164X>

**RESUMO:** As plantas são fontes naturais de várias substâncias bioativas, encontradas em extratos, metabólitos secundários e óleos essenciais. Várias atividades biológicas foram atribuídas aos óleos essenciais como antivirais, inseticidas, antiparasitários, antioxidantes e antimicrobianos. O uso indiscriminado de antibióticos aumentou o desenvolvimento de mecanismos de resistência de microrganismos. Assim, a busca por compostos naturais eficientes com atividade antimicrobiana e baixa toxicidade aumentou, portanto os óleos essenciais têm sido uma alternativa promissora no combate às infecções microbianas. Este estudo foi realizado para investigar a composição química e espectros de absorvância no infravermelho, atividade antibacteriana e atividade potencializadora de antibióticos de óleos essenciais de folhas de *V. gardneriana*. Os óleos essenciais foram extraídos das folhas de *V. gardneriana* e caracterizados por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier por refletância total atenuada (ATR-FTIR). O efeito antibacteriano desses óleos e a atividade potenciadora de antibióticos, ambos determinados pela concentração inibitória mínima, foram avaliados usando placas de microtitulação. Pela primeira vez, apresentamos o uso de espectros de absorvância infravermelha desses óleos essenciais e mostramos a influência da sazonalidade sobre eles. Efeitos sinérgicos foram observados para os óleos essenciais associados aos antibióticos testados (gentamicina, ampicilina e ofloxacina). Em relação ao teste de atividade antibacteriana, os óleos essenciais das folhas de *V. gardneriana* não apresentaram efeito direto nas cepas

testadas. Entretanto, os óleos essenciais, quando associados aos antibióticos, apresentaram variações na concentração inibitória mínima com os meses do período sazonal, indicando efeitos sinérgicos contra a resistência bacteriana a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*

**PALAVRAS-CHAVE:** *Vitex gardneriana*, ATR FT-IR, Atividade antimicrobiana, Atividade potenciadora de antibióticos.

## ANALYSIS OF THE INFRARED SPECTRUM, INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND POTENTIALIZATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL ON THE LEAVES OF VITEX GARDNERIANA SCHAUER

**ABSTRACT:** Plants are natural sources of several bioactive substances, which have been found in extracts, secondary metabolites, and essential oils. Several biological activities have been attributed to essential oils as antiviral, insecticidal, antiparasitic, antioxidant, and antimicrobial. The indiscriminate use of antibiotics has increased the development of resistance mechanisms of microorganisms. Thus, search for efficient natural compounds with antimicrobial activity and low toxicity has increased, so essential oils have been a promising alternative for combating microbial infections. This study was carried out to investigate the chemical composition and infrared absorbance spectra, antibacterial activity, and antibiotic potentiating activity of essential oils from *V. gardneriana* leaves. Essential oils were extracted from *V. gardneriana* leaves and characterized by attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy. The antibacterial effect of these oils and antibiotic potentiating activity, both determined by the minimum inhibitory concentration, were assessed using microtiter plates. For the first time, we present the use of infrared absorbance spectra of these essential oils and show the influence of seasonality on them. Synergistic effects were observed for the essential oils associated with the antibiotics tested (gentamicin, ampicillin, and ofloxacin). In regard to antibacterial activity test, the essential oils of the *V. gardneriana* leaves did not show a direct effect on the strains tested. However, the essential oils when associated with the antibiotics showed variations in the minimum inhibitory concentration with the months of the seasonal period, indicating synergistic effects against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacterial resistance

**KEYWORDS:** *Vitex gardneriana*, ATR FT-IR, Antimicrobial activity, Antibiotic potentiating activity.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são misturas que apresentam uma certa complexidade dentre os compostos químicos presentes em diversas espécies vegetais, dentre estes os metabólitos secundários. Eles constituem um dos mais importantes grupos de matéria prima para a indústria alimentícia, farmacêutica, perfumaria e afins. Estes óleos podem ser extraídos de diferentes partes da planta como: folhas, galhos, raízes, frutos, sementes, flores, dentre outros. Algumas das estruturas vegetais

são anatomicamente especializadas em acumular e secretar componentes dos óleos essenciais, como os idioblastos secretores, ductos e tricomas glandulares. No organismo vegetal, os óleos essenciais apresentam determinadas funções ecológicas, agindo como mensageiros internos, defesa contra predadores e como atrativo de agentes polinizadores (BASER e BUCHBAUER, 2010). Os óleos essenciais encontram sua maior aplicação biológica como agentes antimicrobianos. Esta capacidade, presente na grande maioria destes compostos, de certa maneira representa uma extensão do próprio papel que exercem nas plantas, defendendo-as de bactérias e fungos fitopatogênicos.

Na literatura trabalhos com gênero *Vitex* foram descritos etnofarmacologicamente onde permitiu identificar o uso medicinal tradicional de espécies desse gênero, dentre elas: *V. mollis*, como analgésico e anti-inflamatório, além de ser usado para diminuir a dispesia, diarreia e disenteria (MEENA *et al.* 2011) e a espécie *V. agnus-castus* cujo frutos têm sido utilizados em distúrbios menstruais, transtorno disfórico pré-menstrual, insuficiência do corpo lúteo, hiperprolactinemia, infertilidade, menopausa, interrupção da lactação, dor cíclica na mama, condições inflamatórias, mastalgia cíclica, diarreia e flatulência (CARMICHAEL, 208; DUGOUA *et al.* 2008; ONO *et al.* 2008).

*V. gardneriana*, popularmente conhecida como “jaramataia” (Figura 1), é uma das únicas espécies do gênero *Vitex* do sertão Nordestino, podendo ser encontrada em leitos de rios situados nos estados da Paraíba, Recife e Ceará. Apresenta um hábito de crescimento em arbusto, alcançando 6 a 7 metros de altura. Possui folhas simples e inflorescências de cor roxa claro. Seu fruto é tipo drupa carnosa, de formato ovóide e coloração verde oliva (SÁ BARRETO, 2004). Há poucas informações sobre as atividades biológicas desta espécie. Foi demonstrado que os extratos de folhas e cascas de caule de *V. gardneriana* apresentou atividade moluscicida em embriões de *Biomphalaria glabrata* (Sá Barreto *et al.*, 2007). Também foi relatada atividade larvicida do extrato etanólico de *V. gardneriana* sobre as larvas de *Aedes aegypti* (MONTEIRO *et al.* 2015). Já seu extrato metanólico não demonstrou atividade antifúngica contra *C. albicans* (SÁ BARRETO *et al.* 2008). . A utilização da solução aquosa do extrato bruto não apresentou toxicidade aguda em camundongos nem por administração oral, nem intraperitoneal, no entanto, houve um potente efeito anti-edematogênico, antinociceptivo e hipnótico (SÁ BARRETO *et al.* 2008).



Figura 1 – *V. gardneriana*

Há relato da presença de iridóides e ecdisteroides nas cascas do caule de *V. gardneriana* (SÁ BARRETO *et al.* 2005). A composição química do óleo essencial de *V. gardneriana* foi determinada num período sazonal por Silva e colaboradores (SILVA *et al.* 2019). Eles identificaram 27 compostos entre monoterpenos e em sua maioria sesquiterpenos. Os componentes químicos majoritários foram 6,9-guaiadieno, cis-calameneno e óxido de cariofileno. No mesmo estudo, foi comprovada atividade larvicida contra o *A. aegypti*.

Dada a importância de conhecer o espectro característico e as propriedades antibacteriana do óleo essencial da *V. gardneriana* é feito neste trabalho um estudo de espectroscopia vibracional usando Infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (ATR-FTIR) e uma detalhada investigação atividade antibacteriana e potencialização da atividade antibacteriana de óleo essencial das folhas de *V. gardneriana*.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

As folhas de *V. gardneriana* foram coletadas em 2016 em um experimento fazenda da Universidade Estadual do Vale do Acaraú, localizado a 11 km da cidade de Sobral, estado do Ceará, nordeste do Brasil. A autenticação da planta foi realizada pela Elnatan Bezerra de Souza (taxonomista de plantas) e uma amostra de voucher (No17703) foi depositado no Herbário Francisco José de Abreu Matos, Sobral, Ceará, Brasil.

### 2.2 Obtenção dos óleos essenciais

O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger durante 2h. Em seguida, o óleo essencial foi coletado, armazenado frascos de vidro e estocados em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

## 2.3 Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM)

A análise por CG-EM foi realizado em um instrumento Agilent modelo GC-7890B /MSD-5977A (quadropolo), com impacto de elétrons a 70 eV, coluna HP-5MS metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ , Agilent), gás carreador hélio com fluxo 1,00 mL.min<sup>-1</sup>, temperatura do injetor 250 °C, detector a 150 °C e linha de transferência a 280 °C. Utilizou-se a seguinte programação do forno cromatográfico: temperatura inicial de 70 °C, com rampa de aquecimento de 4 °C.min<sup>-1</sup> até 180 °C e acréscimo de 10 °C/min até 250 °C ao término da corrida (34,5 min). A identificação dos compostos foi realizada pela análise dos padrões de fragmentação exibidos nos espectros de massas com aqueles presentes na base de dados fornecidos pelo equipamento (NIST versão 2.0 de 2012-243.893 compostos).

## 2.4 Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chamas (CG-DIC)

A análise por CG-DIC foi realizada em um instrumento Shimadzu modelo CG-2010 Plus, coluna RTX-5 metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ), modo de injeção com divisão de fluxo 1:30, gás carreador nitrogênio com fluxo 1,00 mL.min<sup>-1</sup>, temperatura do injetor 250°C e temperatura do detector a 280°C. Utilizou-se a mesma programação do forno cromatográfico das análises realizadas em GC-EM. A identificação dos compostos foi realizada através da comparação dos seus índices de retenção com os de compostos conhecidos, obtidos por injeção de uma mistura de padrões contendo uma série homóloga de alcanos C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>.

## 2.5 Caracterização Espectroscópica por ATR-FTIR

O óleo essencial das folhas de *V. gardneriana* foi caracterizada pela técnica de Reflexão Total Atenuada com Transformada de Fourier (ATR-FTIR) à temperatura ambiente usando o espectrofotômetro da marca Bruker, modelo Equinox-55. O espectro de absorbância foi registrado, na região de 130 à 4000 cm<sup>-1</sup>, com resolução de 4 cm<sup>-1</sup>.

## 2.6 Testes Microbiológicos e Análises Estatísticas

### 2.6.1 Concentração inibitória mínima (MIC)

A CIM foi realizada em microplacas estéreis com 96 poços e serão diluídas em serie 1:1. A cultura em ágar mantido em estoque serão repicadas e repassadas para caldo BHI e incubadas a 37° C por 24 horas. Após esse período, foi preparado o meio de distribuição em serie 1:10, será adicionado em frascos de 100 $\mu\text{L}$  de meio BHI em 900 $\mu\text{L}$  de inóculo, e este meio de distribuição foi transferido para cada cavidade 100  $\mu\text{L}$ . Após esse processo, foi realizado a microdiluição do óleo essencial das folhas

de *V. gardneriana*, com concentração de 1024 µg/dL, sendo feita a diluição de 100 µL até penúltima cavidade. Controles positivos (meio + inóculo) foram incluídos nos ensaios, na última cavidade. As placas preenchidas foram incubadas a 35 ± 2°C por 24 horas (NCCLS, 2003). Para evidenciar a CIM da amostra de óleo essencial das folhas de *V. gardneriana* foi preparada uma solução indicadora de resazurina sódica em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após a incubação, 20 µL da solução indicadora foram adicionados em cada cavidade e as placas passarão por um período de incubação de 1 hora em temperatura ambiente. A mudança de coloração azul para rosa devido à redução da resazurina indica o crescimento bacteriano auxiliando a visualização da CIM, definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano, evidenciado pela cor azul inalterada.

### 2.6.2 Potencialização da atividade antimicrobiana

Para avaliar o óleo essencial das folhas de *V. gardneriana* como possível moduladora da ação antibiótica e antifúngica, a CIM de antibióticos orfloxacina, gentamicina e ampicilina foram avaliadas na presença e na ausência do óleo essencial das folhas de *V. gardneriana* em microplacas estéreis. Os antibióticos foram avaliados nas concentrações variando de 1024 a 1,0 µg/mL pelo método de microdiluição em caldo (CLSI, 2003). A metodologia proposta por Coutinho e colaboradores (Coutinho et al., 2008) foi utilizada para avaliar o potencial do óleo essencial das folhas de *V. gardneriana* para modificar a resistência aos antibióticos.

## 2.7 Análise estatística

Os resultados foram expressos em média aritmética ± desvio padrão, avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) seguido pelo pos-test *Bonferroni* utilizando o software *GraphPad Prism.*, as diferenças serão consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 Composição Química

A Tabela 1 resume o resultado obtido por Análise por CG / EM e CG / DIC. Na composição identificada, três monoterpenos, dois não oxigenados ( $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno) e um oxigenado (eucaliptol) e 24 sesquiterpenos, 21 não oxigenados e 3 oxigenados. Esse resultado concorda com a literatura para a composição química de óleos essenciais do gênero *Vitex*, caracterizados por predominância de sesquiterpenos (SILVA *et al.* 2019). Os principais componentes identificados foram 6,9-guaiadeno (1) , cis-calameneno (2) e óxido de cariofileno (3) (Figura 1).

Compostos	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	%
$\alpha$ - Pineno	941	939	0,41
$\beta$ -Pineno	984	979	0,55
$\alpha$ -Cubebeno	1354	1348	1,66
$\alpha$ -Copaeno	1380	1376	5,14
(-)- $\beta$ -Bourboneno	1388	1388	0,11
$\beta$ -Cubebeno	1393	1387	0,46
$\beta$ -Elemeno	1395	1390	1,23
$\beta$ -Cariofileno	1423	1419	3,03
6,9-guaiadieno	1448	1444	12,23
$\alpha$ -Cariofileno	1458	1457	0,63
<i>Trans</i> -Cadina-1(6),4-dieno	1477	1476	0,31
$\gamma$ -Muuroleno	1484	1479	0,21
<i>Trans</i> -Muurolo-4(14),5-dieno	1494	1493	2,73
$\alpha$ -Muuroleno	1502	1500	1,16
$\alpha$ -Bulneseno	1508	1509	0,24
$\gamma$ -Cadineno	1520	1513	1,51
Calameneno< <i>cis</i> >	1527	1529	34,92
<i>Trans</i> -Cadina-1,4-dieno	1536	1534	1,44
$\alpha$ -Calacoreno	1547	1547	3,98
$\beta$ -Calacoreno	1568	1565	1,22
Oxido de Cariofileno	1586	1583	13,77
1- <i>epi</i> -Cubenol	1632	1628	3,41
Cubenol	1646	1646	3,02
$\alpha$ -Cadinol	1659	1654	0,87
Calamenen-10-ol< <i>cis</i> >	1664	1661	1,05
Cadaleno	1679	1676	1,74
Monoterpenos			0,96
Sesqueterpenos			96,28
Total			97,24

Tabela 1- Composição química do óleo essencial das folhas de *V. Gardneriana*

<sup>a</sup>índice de retenção na coluna DB-5, <sup>b</sup>Índice de retenção na literatura

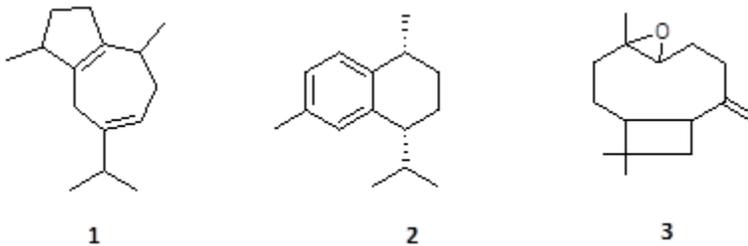


Figura 2 - Constituintes majoritários do óleo essencial das folhas de *V. gardneriana*

### 3.2 Análise do espectro infravermelho

A figura 3 mostra o espectro experimental de absorvância no infravermelho do óleo essencial das folhas da *V. gardneriana*. Foram identificadas doze bandas no espectro infravermelho que estão destacadas na Tabela 1. Os modos vibracionais associados as bandas espectrais no infravermelho que são características deste óleo essencial foram atribuídos com a ajuda de dados da literatura que fornecem as vibrações características esperadas para os números de onda observados no espectro infravermelho (STUART, 2004).

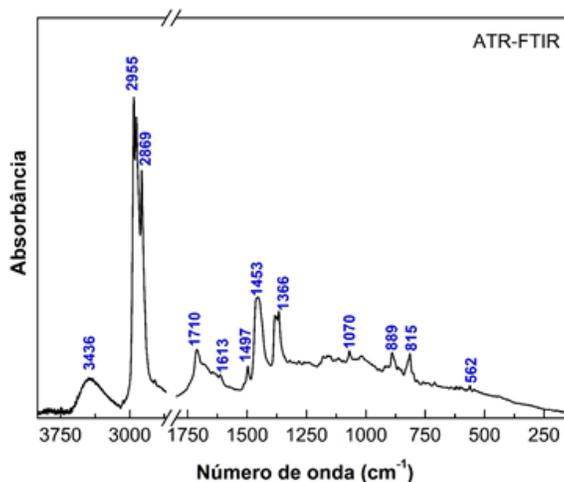


Figura 3 - Espectro experimental de absorvância no infravermelho do óleo essencial das folhas da *V. gardneriana*.

Número de onda das bandas ATR-FTIR de <i>V. Gardneriana</i> $\omega_{exp}$ (cm <sup>-1</sup> )	*Intensidade das bandas ATR-FTIR de <i>V. Gardneriana</i>	Atribuição dos modos vibracionais of essencial oil of <i>V. Gardneriana</i>
3436	0.11	$\nu$ (OH)
2955	1.00	$\nu$ (CH <sub>3</sub> )+ $\nu_{as}$ (CH <sub>2</sub> ) + $\nu$ (CH)
2869	0.77	$\nu_{as}$ (CH <sub>2</sub> )
1710	0.21	$\nu$ (CC)
1613	0.13	$\nu$ (CC) + $\nu$ (CO)
1497	0.15	wag (CH <sub>3</sub> ) + wag (CH <sub>2</sub> )
1453	0.37	sc (CH <sub>3</sub> ) + sc (CH <sub>2</sub> )
1366	0.33	$\delta$ (HCC)
1070	0.20	$\delta$ (HCCC) + $\tau$ (CCCC)
889	0.20	$\delta$ (CCC)
815	0.19	$\delta$ (HCCC)
562	0.10	$\tau$ (HCCC) + $\gamma$ (CCCC) + $\delta$ (HCCC)

Tabela 2 - Algumas bandas do espectro infravermelho do óleo essencial de *V. Gardneriana* Schauer com a respectiva atribuição dos modos vibracionais.

Nomenclature  $\tau$  = torsion;  $\gamma$  = deformation out of plane; sc= scissoring; wag = wagging;  $\delta$  = bending;  $\nu$  = stretching. \*As intensidades das bandas do espectro ATR-FTIR que estão em unidade arbitrária foram normalizadas de 0 à 1. \*As intensidades das bandas do espectro ATR-FTIR que estão em unidade arbitrária foram normalizadas de 0 à 1.

A banda de absorção no infravermelho do espectro ATR-FTIR localizada em 3436 cm<sup>-1</sup> corresponde ao estiramento das hidroxilas presentes nos constituintes químicos dos óleos, entre eles o 1-epi-Cubenol,  $\alpha$ -cardinol, Cubenol e *cis*-Calameneno que não são componentes majoritários do óleo essencial da *V. Gardneriana*, mas que têm a sua assinatura no espectro de absorção no infravermelho. Como é conhecido, os óleos essenciais são misturas complexas de moléculas, e as suas características espectrais são o resultado de sinergismo entre elas, e mesmo compostos químicos que participam na composição do óleo essencial em percentagem relativamente baixa podem ter uma contribuição importante no espectro vibracional de um óleo essencial (TEIXEIRA *et al.* 2018).

Na região espectral de número de onda superior a 2900 cm<sup>-1</sup> do espectro de infravermelho são esperados o aparecimento dos modos de estiramento dos grupos CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> presentes nos constituintes químicos do óleo essencial das folhas da *V. Gardneriana*. Podemos observar que a banda de absorbância mais intensa no espectro ATR-FTIR localizado em 2955 cm<sup>-1</sup> tem origem nas misturas de modos de estiramentos dos grupos metílicos, etílicos e CH das moléculas constituintes do óleo essencial de *V. Gardneriana*, principalmente de seus constituintes majoritários.

Na região de número de onda entre 1710 e 1100 cm<sup>-1</sup> do espectro

infravermelho do óleo essencial de *V. gardneriana* há predominância dos modos de estiramento dos carbono-carbono, e dos átomos de oxigênio-carbono. No entanto, nesta região também é possível observar modos de deformação angular dos grupos CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>. O espectro ATR-FTIR mostrou uma fraca banda de absorbância em 1710 que corresponde ao estiramento do grupo carbono-carbono. Modo de deformação *scissoring* dos grupos etílicos foi observado com intensidade média no espectro infravermelho em 1453 cm<sup>-1</sup>.

Na região de número de onda abaixo de 1100 cm<sup>-1</sup> do espectro infravermelho do óleo essencial de *V. gardneriana* há predominância dos modos de torção e deformações dos anéis aromáticos. A fraca banda de infravermelho observada em 1070 cm<sup>-1</sup> corresponde a mistura de modos de deformação dos átomos HCCC e torção dos átomos CCCC. Observa-se também uma banda de infravermelho muito fraca em 562 cm<sup>-1</sup> que corresponde a mistura de modos de deformação e torção dos átomos HCCC e deformação fora do plano dos CCCC dos anéis aromáticos.

### 3.3 Concentração inibitória mínima

O óleo extraído das folhas de *V. gardneriana* apresentou MICs de 1024 µg/mL para, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* 06. Para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 o óleo apresentou uma concentração inibitória de 32 µg/mL e *S. aureus* 10 de 161 µg/mL sendo percebido na leitura colorimétrica das placas de microdiluição. Resultado demonstrado na Tabela 3.

OEFVG	SA-ATCC 25923	EC-ATCC 25922	SA-10	EC- 06
	32 µg/mL	≥1024 µg/mL	161 µg/mL	≥1024 µg/mL

Tabela 3 - Resultado das concentrações inibitórias mínimas (CIM).

### 3.4 Efeito da modificação antibiótica

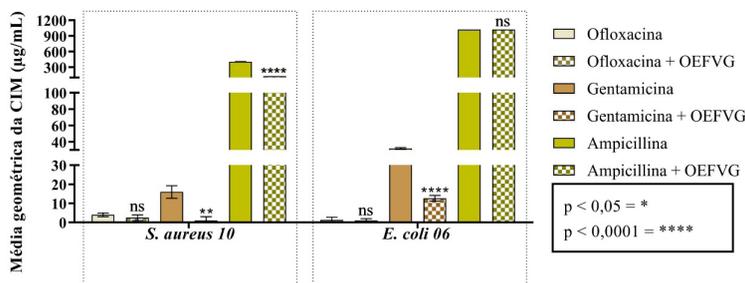


Figura 4 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos antibióticos orfloxacina, gentamicina, e ampicilina na presença e na ausência do **óleo essencial de *V. gardneriana***, em uma concentração CIM (128 µg/mL), frente a bactéria *Staphylococcus aureus* 10 e *Escherichia coli* 06.

O óleo essencial de *V. gardneriana* apresentou um o efeito modificador da ação antibiótica para as duas cepas testadas *S. aureus* 10 e *E.coli* 06 em relação ao antibiótico gentamicina da classe dos aminoglicosídeos, sinergismo esse que não foi observado nos demais antibiótico usados. Para o ofloxacino em associação com o óleo para a cepa *S. aureus* 10 revelaram valores indiferentes em relação ao seu controle, resultado parecido foi encontrado também para o antibiótico ampicilina para a cepa *E.coli* 06.

A sensibilidade de um microrganismo a um óleo essencial varia dependentemente das propriedades do óleo e das características do microrganismo em si. O efeito do óleo de *V. gardneriana* pode ser atribuído à sua interação com peptídeos anfífilos na membrana celular desordenando-os e resultando numa lise celular, danos esses observados em estudos usando óleos essenciais (AZEVEDO *et al.* 2016; MOLLICA *et al.* 2018). A quantidade de cada composto no óleo exibindo atividade antibacteriana também pode desempenhar um papel importante na sua eficácia (DEVI *et al.* 2012).

Os aminoglicosídeos são antibióticos inibidores da síntese proteica que têm como local de ação a subunidade 30S do ribossoma bacteriano sua síntese tem a produção de proteínas *non sense*, que ao serem integradas na membrana citoplasmática da bactéria, altera a sua permeabilidade seletiva. Deste modo, os aminoglicosídeos são considerados bactericidas. E ainda classificados como antibióticos de largo espectro, ativos contra bactérias aeróbias de Gram positivo e Gram negativo (SOUSA, 2006). Tendo em vista que essa associação desses compostos contribuiu de forma benéfica em ação antibiótica frente as cepas testas com o antibiótico gentamicina.

O efeito modulador contra *E. coli* foi observado de forma inesperada pois os microrganismos Gram-positivos possuem mais suscetibilidade a antibióticos do que os micro-organismos gram-negativos como *E. coli* devido à sua composição da parede celular, o que dificulta a passagem de antibióticos (AZZOPARDI *et al.* 2013; GUIMARAES *et al.* 2010). *P. aeruginosa* apresenta vários mecanismos de resistência, por exemplo, a produção de beta-lactamase e o aumento da expressão de bombas de efluxo sendo que *S. aureus* apresenta alguns componentes que também lhe conferem a capacidade de resistir as drogas (LIVERMORE, 2002) e, portanto, possui resistência a uma ampla classes de antibióticos (FUENTEFRÍA *et al.* 2008).

Os resultados encontrados de atividade antibacteriana para esse óleo de *V. gardneriana* com as cepas testadas são inéditos. Acrescenta-se ainda que o experimento do efeito de combinação dos antibióticos testados com este produto natural é um achado relevante, pois mostrou efeito modulatório com antibióticos de uso clínico.

## 4 | CONCLUSÃO

A análise espectroscópica do espectro ATR FT-IR do óleo essencial das folhas da *V. gardneriana* forneceu informação sobre os modos vibracionais das principais bandas de infravermelho. O óleo essencial de *V. gardneriana* apresentou uma atividade antibacteriana para as duas cepas de *S. aureus* testadas o que não foi observado para *E. coli*. Para o efeito modificador da ação antibiótica, as duas cepas testadas *S. aureus* 10 e *E.coli* 06 em relação ao antibiótico gentamicina apresentaram valores significantes.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio financeiro do CNPq e da FUNCAP. A.M.R. Teixeira, Ph.D., reconhece também o apoio financeiro do CNPq (subvenção n°: 305719/2018-1), e FUNCAP/Edital N° 03/2019 (processo DEP-0164-00234.01.00/19). H.S. Santos reconhece o apoio financeiro do FUNCAP (Subvenção n°: BP2-0107-00026.01.00/15).

## REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, IZABELA et al. **Eficácia in vitro do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus* Steud. Wats.) frente a bactérias entéricas de origem avícola.** Acta Veterinaria Brasilica v. 10, p. 25-31, 2016. <https://doi.org/10.21708/avb.2016.10.1.5467>
- ERNEST, A. AZZOPARDI; ELAINE, L. FERGUSON; DAVID, W. THOMAS. **The enhanced permeability retention effect: a new paradigm for drug targeting in infection.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy v. 68, p. 257-274, 2013. <https://doi.org/10.1093/jac/dks379>
- BASER, K.H.C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: science, technology, and applications Chemistry of Essential Oils.** CRC Press, 2010. p. 39-82., New York, USA. <https://doi.org/10.1201/b19393>
- CARMICHAEL, A.R. **Can Vitex Agnus Castus be Used for the Treatment of Mastalgia? What is the Current Evidence?** Evidence-based Complementary and Alternative Medicine v. 5, p. 247-250, 2008. <https://doi.org/10.1093/ecam/nem074>
- CLSI, **Clinical and Laboratory Standards Institute - Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard**, Sixth ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, pp. 14 - 18, 2003.
- COUTINHO, H.D.M. et al. **In vitro anti-staphylococcal activity of Hyptis martiusii Benth against methicillin-resistant Staphylococcus aureus: MRSA strains.** Revista Brasileira de Farmacognosia v. 18, p. 670-675, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2008000500005>
- DEVI, L.R. et al. **Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Curcuma leucorrhiza Roxb.** Journal of Essential Oil Research v. 24, p. 533-538, 2012 <https://doi.org/10.1080/10412905.2012.728089>

- DUGOUA, J.J. et al. **Safety and efficacy of chastetree (*Vitex agnus-castus*) during pregnancy and lactation.** Journal canadien de pharmacologie clinique v. 15, e74-79, 2008.
- FUENTEFRIA, D.B. et al. ***Pseudomonas aeruginosa*: spread of antimicrobial resistance in hospital effluent and surface water.** Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical v. 41, p. 470-473, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822008000500007>
- GUIMARAES, D.O.; MOMESSO, L.D.; PUPO, M.T. **Antibiotics: Therapeutic importance and perspectives for the discovery and development of new agents.** Quimica Nova v. 33, p. 667-679, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000300035>.
- LIVERMORE, D.M. **Multiple Mechanisms of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our Worst Nightmare?** Clinical Infectious Diseases v. 34, p. 634-640, 2002. <https://doi.org/10.1086/338782>
- MEENA, A.K. et al. **A review of the important chemical constituents and medicinal uses of *Vitex* genus.** Asian Journal of Traditional Medicines v. 6, p. 54-60, 2011.
- MOLLICA, A. et al. **Arginine- and Lysine-rich Peptides: Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity.** Letters in Drug Design & Discovery v. 15, p. 220-226, 2018. <https://doi.org/10.2174/1570180814666170213161341>
- MONTEIRO, L.C.C.F. et al. **Atividade antioxidante, teor de fenóis e atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* de *Vitex gardneriana* Schauer.** 5º Encontro Regional de Química & 4º Encontro Nacional de Química 3, 2015.
- ONO, M. et al., **Five New Diterpenoids, Viteagnusins A-E, from the Fruit of *Vitex agnus-castus*.** Chemical & Pharmaceutical Bulletin v. 56, p. 1621-1624, 2008. <https://doi.org/10.1248/cpb.56.1621>
- SÁ BARRETO, L.C.L. et al. **Avaliação Preliminar da Atividade Biológica e Toxicidade Aguda de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae).** Latin American Journal of Pharmacy v. 27, p. 909-913, 2008.
- SÁ BARRETO, L.C.L. **Estudo farmacognóstico e determinação da atividade biológica de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae), Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas.** Universidade Federal de Pernambuco, Recife -PE, p. 114, 2004.
- SÁ BARRETO, L.C.L. et al. **Atividade moluscicida de extratos e de aucubina de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae) em embriões da *Biomphalaria glabrata*.** Latin American Journal of Pharmacy v. 26, p. 339-343, 2007
- SÁ BARRETO, L.C.L. et al. **Ecdisteróide e iridóide glicosilado de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae).** Revista Brasileira de Farmacognosia v. 15, p. 51-54, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2005000100011>.
- SILVA, P.T. et al. **Seasonal variation in the chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Vitex gardneriana* Schauer.** South African Journal of Botany v. 124, p. 329-332, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.04.036>

SOUSA, J.C.D. **Manual de Antibióticos Antibacterianos**, 2ª ed. Universidade Fernando Pessoa, 2006.

STUART, B.H. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**, 1ª ed. John Wiley & Sons, Ltd, 2004.

TEIXEIRA, A.M.R. et al. **Vibrational spectroscopy study of essential oils from *Plectranthus amboinicus* Lour. Spreng and *Vanillosmopsis arborea* Baker**. *Vibrational Spectroscopy* v. 98, p. 22-29, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2018.05.008>

# CAPÍTULO 7

## TESTE ALELOPÁTICO DO EXTRATO DE ERVA DE PASSARINHO (*Struthanthus marginatus* (Desr.) Blume) NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE ALFACE (*Lactuca sativa* L.) E PEPINO (*Cucumis sativus* L.)

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 23/05/2020

### Juliana Baptista Simões

LAQUA, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense – IFF  
Itaperuna – RJ  
<http://lattes.cnpq.br/6856049915466856>

### Adriana Leonardo Lima Silva

Centro Universitário São José de Itaperuna  
Itaperuna – RJ  
<http://lattes.cnpq.br/3541179594540162>

### Gleisiane Braga da Silva

Instituto Federal Fluminense  
Itaperuna – RJ

### Maycon do Amaral Reis

Instituto Federal Fluminense  
Itaperuna – RJ

### Vitor Caveari Lage

Universidade Iguazu- UNIG  
Itaperuna – RJ  
<http://lattes.cnpq.br/3580607134878592>

**RESUMO:** O Brasil possui uma imensa diversidade de espécies vegetais pouco estudadas. O avanço tecnológico, científico e econômico atrelado à agricultura tem levado a processos degenerativos da natureza. O desenvolvimento de técnicas e produtos que minimizem esses danos podem ser uma solução sustentável. Nesse contexto, o teste alelopático da erva-de-passarinho mostra-se como uma

alternativa à produtos nocivos ao meio ambiente. A alelopatia é um processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um vegetal são liberados, interferindo no desenvolvimento de outras plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos extratos de erva-de-passarinho na germinação de sementes de alface e pepino. Os experimentos foram conduzidos entre setembro de 2017 e março de 2018. Os ensaios foram realizados em placas de Petri com papel de filtro umedecidos com os extratos de folhas e galhos em três concentrações 10%, 20% e 50% (m/v), com fotoperíodo de 24 horas (Ensaio 1) e 11 horas (Ensaio 2), a germinação foi monitorada por sete dias. No Ensaio 1, a solução clorofórmica de galhos (50% m/v) apresentou uma significativa redução na taxa de germinação do alface. No Ensaio 2 nenhum dos extratos apresentaram diferença significativa na taxa de germinação das sementes. Entretanto, o extrato metanólico em todas as concentrações causou um aumento do índice de velocidade de germinação do alface e do pepino. Conclui-se que os extratos influenciaram na germinação das espécies vegetais pesquisadas. Ainda não são descritos na literatura compostos isolados da erva de passarinho tornando os extratos uma rica fonte para estudos fitoquímicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Alelopatia, Germinação, *Struthanthus marginatus*, Extrato Clorofórmico, Extrato Metanólico.

## ALLELOPATHIC TEST OF THE PASSARINE HERB EXTRACT (*Struthanthus marginatus* (Desr.) Blume) IN THE GERMINATION AND DEVELOPMENT OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.) AND CUCUMBER (*Cucumis sativus* L.)

**ABSTRACT:** Brazil has an immense diversity of plant species that have been little studied. Technological, scientific and economic advances linked to agriculture have led to degenerative processes in nature. The development of techniques and products that minimize these damages can be a sustainable solution. In this context, the allelopathic test of finch is shown as an alternative to products harmful to the environment. Allelopathy is a process by which products from the secondary metabolism of a plant are released, interfering with the development of other plants. The objective of this work was to evaluate the influence of bird weed extracts on the germination of lettuce and cucumber seeds. The experiments were carried out between September 2017 and March 2018. The tests were performed in Petri dishes with filter paper moistened with the extracts of leaves and branches in three concentrations 10%, 20% and 50% (m / v), with a 24 hour photoperiod (Trial 1) and 11 hours (Trial 2), germination was monitored for seven days. In Test 1, the chloroform solution of branches (50% w / v) showed a significant reduction in the germination rate of lettuce. In Test 2 none of the extracts showed a significant difference in the germination rate of the seeds. However, the methanolic extract in all concentrations caused an increase in the rate of germination speed of lettuce and cucumber. It was concluded that the extracts influenced the germination of the researched plant species. Compounds isolated from bird grass are not described in the literature, making the extracts a rich source for phytochemical studies.

**KEYWORDS:** Allelopathy, Germination, Chlorophoric Extract, Methanolic Extract.

### INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma imensa biodiversidade de espécies vegetais nativas e que ainda não foram totalmente estudadas, muitas delas são comumente utilizadas na medicina popular em todo país (ALVES, 2003). A exploração ambiental de forma inadequada está diretamente ligada ao avanço do desenvolvimento tecnológico, científico e econômico e na maioria das vezes tem alterado de modo irreversível os principais biomas do planeta, levando a processos degenerativos profundos da natureza. Somado a isso, temos a expansão da agricultura “moderna” que ocorre concomitante à constituição do complexo agroindustrial, modernizando a base técnica dos meios de produção, alterando as formas de produção agrícola e gerando efeitos sobre o meio ambiente (NASRALA NETO, 2014). O agronegócio é a principal fonte de renda do Brasil, consiste em 1/3 do produto interno bruto (PIB), pelo emprego de 38% da mão-de-obra e por 36% das exportações, sendo os principais setores da economia brasileira (NASRALA NETO, 2014). Segundo Nasrala Neto (2014), a intensiva produção agrícola acarreta excessiva utilização de agrotóxicos

e fertilizantes artificiais que trazem alguns problemas para o meio ambiente e para a saúde da população urbana ou rural. Os problemas causados na população são: efeitos carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos, neuroendócrinos, dificuldades respiratórias, problemas de memória e de pele, depressão, entre outros. (CARNEIRO et al., 2012). Para o meio ambiente, os impactos gerados às águas são a contaminação de rios e córregos, afetando a biota da região e de lençóis freáticos (NASRALA NETO, 2014). Nesse contexto, o desenvolvimento de novas técnicas agrícolas que minimizem os danos causados ao meio ambiente, podem ser uma alternativa para garantir uma produção agrícola sustentável. Sendo assim a erva-de-passarinho (*Struthanthus marginatus* (Desr.) Blume), uma planta que parasita muitas espécies de árvores, pode apresentar-se como uma alternativa para a substituição de produtos nocivos a esses diferentes ecossistemas. A reprodução dessa espécie se dá em uma planta hospedeira através do excremento de passarinhos, que se alimentam da semente da planta e pondo-as em contato com seu suco gástrico que favorece a germinação (VEGAS, 2000). Desse modo, decidiu-se testar a influência dessa planta diante a germinação em outras duas espécies vegetais, por meio do teste alelopático. A escolha das sementes para o experimento foi realizada de acordo com os parâmetros indicados por Alves et al., (2003), que assinala que para serem empregadas em ensaios alelopáticos, as sementes devem ser de espécies que possuam germinação rápida e uniforme e sensibilidade a substâncias alelopáticas. Destarte, foram utilizadas sementes de *Lactuca sativa* L. (alface) e *Cucumis sativus* L. (pepino) que se adequam a esses parâmetros.

Alelopatia pode ser definida como um processo pelo qual produtos do metabolismo secundário de um determinado vegetal são liberados, impedindo a germinação e desenvolvimento de outras plantas relativamente próximas (ALVES, 2003). Essa relação ecológica interespecífica é classificada como amensalismo ou antibiose, um processo desarmônico no qual uma espécie tem seu desenvolvimento prejudicado ou inibido por substâncias liberadas por outra espécie.

Conhecida popularmente como erva de passarinho, a *Struthanthus marginatus* é uma espécie botânica da família Loranthaceae, plantas categorizadas como hemiparasitas ou holoparasitas por atuarem nos sistemas condutores de seiva da planta hospedeira: xilema e floema, respectivamente (NICKRENT, 2001). Espécie do gênero *Struthanthus* que é considerado o mais importante dentre os 74 gêneros que compõe a família Loranthaceae, possuindo cerca de 60 espécies próprias da América tropical em sua grande maioria localizadas na América do Sul e, em particular, no Brasil representando 40 espécies de visco parasita onde tem sido estudada devido ao seu peculiar estilo de sobrevivência (BARBOSA, 1999; KRAUS, 2002). Essa planta aparece, frequentemente, parasitando pomares. Sua propagação é feita pelos pássaros ao se alimentarem de seus frutos viscosos e

suas sementes adocicadas dispersando-as através de suas fezes ou de seus bicos em cuja superfície se adere passando desta forma a outras árvores onde germinam (LORENZI,1991). 9 Essa espécie botânica é usada na medicina popular para tratar de diversos tipos de doenças respiratórias. Dias da Silva, em 1926, incluiu na Farmacopéia Brasileira, primeira edição, a erva-de-passarinho, *Struthanthus marginatus* (Figura 1), pelo seu uso popular nas infecções das vias respiratórias, como descongestionante, na tosse, bronquite e pneumonia (MARTINS, 2006).

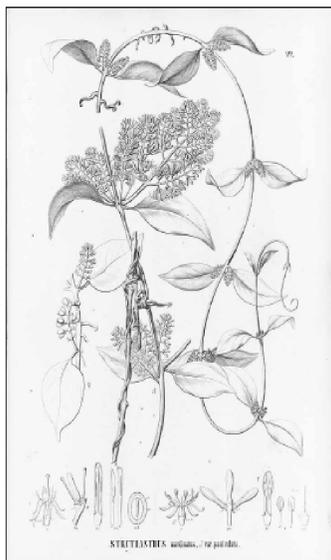


Figura 1 - Erva-de-passarinho (*Struthanthus marginatus*).

Fonte: FLORA BRASILIENSIS (1868).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do extrato metanólico das folhas e clorofórmico dos galhos de erva-de-passarinho (*Struthanthus marginatus*) na germinação e desenvolvimento de sementes de alface (*Lactuca sativa*) e pepino (*Cucumis sativus*).

## METODOLOGIA

As folhas e galhos da erva de passarinho (*S. marginatus*) foram coletados no mês de agosto de 2017 na Avenida Deputado José de Cerqueira, no município de Itaperuna - RJ, às margens de um córrego d'água que atravessa o bairro, parasitando um espécime de *Psidium guajava* (goiabeira). O material foi comparado com exsicata depositada no herbário Carolus Linnaeus no *Campus* Santo Antônio

de Pádua do Instituto Federal Fluminense para confirmação da espécie vegetal. Após coletado, o material foi separado em galhos e folhas e seco em estufa de ar circulante a temperatura de 70°C, sendo posteriormente triturado e pesado. Os experimentos foram conduzidos no laboratório de química do IF Fluminense campus Itaperuna - RJ.

As folhas secas da espécie foram trituradas e submetidas a extração com metanol durante sete dias. A mistura resultante foi filtrada, o sólido remanescente foi submetido a nova extração com metanol, o filtrado foi concentrado em evaporador rotativo. Após sete dias, a mistura foi novamente filtrada, o sólido foi descartado e o filtrado foi concentrado. Posteriormente foi reunido com o filtrado anterior, fornecendo o extrato metanólico que foi pesado. Os galhos secos da espécie foram triturados e submetidos à extração com clorofórmio durante sete dias. A mistura resultante foi filtrada, o sólido remanescente foi submetido à nova extração com clorofórmio, o filtrado foi concentrado em evaporador rotativo. Após sete dias, a mistura foi novamente filtrada, o sólido foi descartado e o filtrado foi concentrado e reunido com o filtrado anterior, fornecendo o extrato em clorofórmio, que foi pesado obtendo-se as massas apresentadas na Tabela 1.

<i>Extrato</i>	<i>Sigla</i>	<i>Massa (g)</i>	<i>Volume de solvente (mL)</i>
Metanólico folhas	MF	218,262	2.000
Clorofórmio galhos	CG	332,8858	750

Tabela 1 - Extratos obtidos a partir da espécie vegetal *S. marginatus*

Vale salientar que, de acordo com o planejamento inicial, ambos extratos seriam metanólicos, mas em função do baixo estoque de metanol disponível, optou-se por usar clorofórmio como solvente para o extrato de galhos.

Os experimentos se deram no período de setembro, outubro e novembro de 2017 e janeiro, fevereiro e março de 2018. Foram realizados dois ensaios (testes de germinação) para analisar a presença de possíveis metabólitos secundários presentes na erva-de-passarinho (*S. marginatus*) e sua influência na germinação e crescimento de sementes de pepino e alface

O Ensaio 1 foi iniciado em 27 de outubro de 2017. Em razão do tamanho da estufa, optou-se por realizar o teste de germinação em duas etapas. Na primeira delas, lotes de 20 sementes de alface (*L. Sativa*) foram depositados em 3 placas de Petri de 9 cm diâmetro previamente limpas e autoclavadas tendo como substrato uma folha de papel filtro ao fundo. Estas foram umedecidas com 3 mL das soluções

dos extratos obtidos (concentrações 10% m/v, 20% m/v e 50% m/v) e o branco que foi regado somente com água destilada. O papel de filtro foi mantido úmido por meio de regas com água destilada, quando necessário. As placas de Petri com as sementes foram acondicionadas em estufa, confeccionadas originalmente para secagem de exsiccatas e adaptadas para o teste de germinação. Trata-se de uma estrutura em madeira composta por dois módulos que se encaixam de modo a minimizar a interferência de luz externa. O primeiro possui 130 cm de comprimento, 30 cm de largura e 35,5 cm de profundidade e a instalação elétrica para até cinco lâmpadas. O segundo módulo com 133,5 cm de comprimento, 32,5 cm de largura e 38 cm de profundidade é a base da estufa onde as placas foram depositadas. Uma única lâmpada fluorescente de 30 watts foi utilizada nos ensaios. (Figura 2).



Figura 2 - Estufa utilizada no Ensaio 1.

Fonte: Dados da pesquisa

Com fotoperíodo de 24h por dia e temperatura média de 30°C, as placas foram observadas durante 7 dias, e a cada 24 horas foi contabilizada a quantidade de sementes germinadas. Foram consideradas germinadas as sementes que demonstraram o crescimento de um broto na parte superior. Dando continuidade ao Ensaio 1, no dia 27 de janeiro de 2018, iniciou-se a segunda etapa utilizando sementes de pepino (*C. sativus*), diferindo apenas na quantidade de sementes devido ao tamanho das sementes de pepino em relação às placas de petri. Neste caso foram semeadas 10 sementes por placa de Petri.

Para se comparar os resultados obtidos na estufa de madeira com os resultados obtidos na estufa de germinação do tipo BOD, marca Lima Tec (Figura

3), um novo ensaio (Ensaio 2) foi iniciado no dia 23 de fevereiro de 2018, seguindo metodologia proposta.



Figura 3 - Estufa do Laboratório de Biologia do Instituto Federal Fluminense *Campus Itaperuna-RJ*.

Fonte: Dados da pesquisa.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com três repetições. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste F,  $\alpha = 95\%$ . A análise de variância é um procedimento utilizado para comparar as médias dos tratamentos. Seu resultado nos informará apenas se existe pelo menos uma diferença entre os tratamentos utilizados ou não. É importante que se diga sobre o teste conhecido como Teste F, que foi desenvolvido pelo estatístico Fisher, detecta se há existência ou não de diferenças entre as médias dos tratamentos. Se  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ , rejeitamos a hipótese de nulidade  $H_0$ , ou seja, existem evidências de diferença significativa entre pelo menos um par de médias de tratamentos, ao nível  $\alpha$  de significância escolhido. Caso contrário, não se rejeita a hipótese de nulidade  $H_0$ , não há evidências de diferença significativa entre tratamentos, ao nível  $\alpha$  de significância escolhido.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis calculadas no ensaio de germinação (teste alelopático) foram: porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e velocidade média de germinação (VMG). A germinação pode ser calculada pela fórmula  $G = (N/100) \times 100$ , em que: N = número

de sementes germinadas ao final do teste (sete dias). Unidade: %. O Índice de velocidade de germinação (IVG) é calculado pela fórmula  $IVG = \sum(n_i/t_i)$ , em que:  $n_i$  = número de sementes que germinaram no tempo 'i';  $t_i$  = tempo após instalação do teste;  $i = 1 \rightarrow 7$  dias. Unidade: adimensional.

O Tempo médio de germinação (TMG) é obtido pela fórmula  $TMG = (\sum n_i t_i) / \sum n_i$ , em que:  $n_i$  = número de sementes germinadas por dia;  $t$  = tempo de incubação;  $i = 1 \rightarrow 7$  dias. Unidade: dias.

A Velocidade média de germinação (VMG) é dada pela fórmula  $VMG = 1/t$  em que:  $t$  = tempo médio de germinação. Unidade: dias<sup>-1</sup>.

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos no Ensaio 1 após sete dias, para as sementes de *L. Sativa* (alface).

Extrato (concentração)	Germinação (G)	Desvio Padrão	Variância	Teste F em relação ao branco
Branco (H <sub>2</sub> O)	40%	7,5%	11,5%	-
MF (10%)	40%	6%	6,5%	1,8
MF (20%)	30%	3%	1,5%	7,7
MF (50%)	35%	6%	6,5%	1,8
Branco (H <sub>2</sub> O+MeOH)	40%	12,5%	31,5%	-
CG (10%)	35%	7,5%	11,5%	2,7
CG (20%)	40%	5%	5%	6,3
CG (50%)	35%	3%	1,5%	21*

Tabela 2 - Resultados da porcentagem de germinação para as sementes de *L. sativa* (alface) no Ensaio 1.

Fonte: Dados da pesquisa. \*Resultados significativos

Conforme pode-se observar na Tabela 2 não houve diferença significativa na germinação das sementes nas concentrações testadas para o extrato metanólico. Entretanto para a concentração mais alta (50% m/v) do extrato CG houve diferença significativa, constatando que ocorreu a inibição do crescimento das sementes.

Os extratos em clorofórmio (CG) são apolares, por isso insolúveis em água, para preparar as soluções desses extratos foi utilizado como solvente metanol, ao invés de água destilada. É sabido, que o metanol é tóxico, para que não houvesse interferência do solvente no teste, as placas de germinação foram regadas com solução metanólica dos extratos GC, antes de se adicionar as sementes, esperamos 1 hora, até que o metanol tivesse evaporado para então dispor as sementes sobre a placa. O mesmo foi feito ao branco, adicionou-se metanol puro, ocorreu a evaporação e posteriormente adicionou-se a água.

A Tabela 3 mostra os resultados obtidos para os parâmetros de germinação de sementes de alface (*L. Sativa*) no Ensaio 1. Podemos notar que o tempo médio de germinação e a velocidade média de germinação foram muito próximos para os extratos em todas as concentrações.

Extrato (concentração)	Índice de velocidade de germinação (IVG) - adimensional	Tempo médio de germinação (TMG) - em dias	Velocidade média de germinação (VMG) - dias <sup>-1</sup>
Branco	7,74	5,16	0,19
MF (10%)	6,04	5,45	0,18
MF (20%)	5,89	5,14	0,19
MF (50%)	6,99	5,12	0,19
CG (10%)	5,54	5,39	0,18
CG (20%)	7,29	5,39	0,18
CG (50%)	5,74	5,20	0,19

Tabela 3 - Resultado dos parâmetros de germinação para as sementes de *L. Sativa* no Ensaio 1

Fonte: Dados da pesquisa.

Todas as sementes de *C. sativus* do branco germinaram em sete dias, obtendo-se uma taxa de germinação de 100%, com desvio padrão e variância igual a zero. Neste caso não foi possível realizar a análise da variância. Observou-se, também, que, em grande parte das soluções dos extratos houve 100% de germinação em sete dias com o fotoperíodo de 24 horas, este fato inspirou o grupo a realizar o teste novamente em um fotoperíodo de 11 horas diárias.

O tempo médio de germinação (TMG) de *C. Sativus* no Ensaio 1 é apresentado na Tabela 4 onde se pode observar que tanto para o extrato metanólico quanto para o clorofórmico o TMG foi em torno de 4 dias, enquanto que para o alface esse valor foi de aproximadamente 5 dias, apresentado na Tabela 3. A velocidade de germinação para o pepino foi maior que para a alface, esses resultados corroboram com a alta germinação das sementes de pepino. Observa-se ainda que o índice de velocidade de germinação (IVG) para o pepino foi pelo menos quatro vezes maior que para a alface.

Extrato (concentração)	Índice de velocidade de germinação (IVG) - adimensional	Tempo médio de germinação (TMG) - em dias	Velocidade média de germinação (VMG) - dias <sup>-1</sup>
Branco	24,07	4,09	0,24
MF (10%)	23,37	4,11	0,24
MF (20%)	24,37	4,07	0,25
MF (50%)	20,33	4,20	0,24
CG (10%)	24,07	4,09	0,24
CG (20%)	24,07	4,09	0,24
CG (50%)	24,07	4,09	0,24

Tabela 4 - Resultado dos parâmetros de germinação para as sementes de *C. sativus* no Ensaio 1

Com o fotoperíodo de 11 horas não ocorreu a germinação da semente da *L.Sativa* durante os setes dias de teste. Foi possível observar, no experimento anterior, que a alface requer um tempo maior do que a *C. sativus* para ocorrer a germinação das sementes.

A Tabela 6 mostra os resultados da porcentagem de germinação para as sementes de *C. sativus* com o fotoperíodo de 11 horas.

Extrato (concentração)	Germinação (G)	Desvio Padrão	Variância	Teste F em relação ao branco
Branco	5%	7%	5%	-
MF (10%)	33%	26%	63%	12,6
MF (20%)	20%	10%	10%	2
MF (50%)	37%	21%	43%	8,6
CG (10%)	10%	17%	30%	6
CG (20%)	3%	6%	3%	1,7
CG (50%)	3%	6%	3%	1,7

Tabela 6 - Resultados da porcentagem de germinação para as sementes de *C. sativus* no Ensaio 2

Fonte: Dados da pesquisa. \*Resultados significativos

Conforme pode-se observar na Tabela 6, não houve diferença significativa na germinação das sementes dos diferentes extratos. Observou-se que o extrato clorofórmico de galhos não apresentou boa solubilidade em água. Devido à essa baixa solubilidade em água e metanol, observada no primeiro ensaio, utilizou-se como solvente, no Ensaio 2, o etanol para solubilizar totalmente o extrato e preparar as soluções neste segundo ensaio. Neste caso, não esperou-se o solvente evaporar, as soluções etanólicas foram adicionadas diretamente sobre as sementes.

A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos para os parâmetros de germinação de sementes de *C. sativus* no Ensaio 2. Comparando esses resultados com os obtidos no Ensaio 1 (Tabela 4), observamos que o índice de velocidade de germinação (IVG) teve um grande decréscimo, que é atribuído à redução do fotoperíodo. Já o tempo médio de germinação (TMG) passou de 4 para 5 a 6 dias dependendo do tratamento e a velocidade média de germinação (VMG) teve um decréscimo.

Extrato (concentração)	Índice de velocidade de germinação (IVG) - adimensional	Tempo médio de germinação (TMG) - em dias	Velocidade média de germinação (VMG) - dias <sup>-1</sup>
Branco	0,15	6,50	0,15
MF (10%)	2,07	5,60	0,18
MF (20%)	1,23	5,58	0,18
MF (50%)	3,19	5,90	0,17
CG (10%)	0,96	5,17	0,19
CG (20%)	0,32	5,00	0,20
CG (50%)	0,32	5,00	0,20

Tabela 7 - Resultado dos parâmetros de germinação para as sementes de *C. sativus* no Ensaio 2

Com isso, é possível concluir que o fotoperíodo foi um fator determinante nos ensaios realizados. Para a alface, os ensaios devem ser conduzidos em um fotoperíodo maior que 11 horas, os resultados obtidos no Ensaio 1 foram mais satisfatórios, pois houve a germinação. Para o pepino, os ensaios alelopáticos devem ser conduzidos em um fotoperíodo menor. Para essa espécie, o fotoperíodo de 11 horas se mostrou mais adequado. Ainda com relação aos dados apresentados na Tabela 7, podemos observar que o extrato metanólico folhas (MF,) em todas as concentrações, causou um aumento considerável do IVG, indicando que este extrato possa ter ajudado a germinação das sementes. Seria viável repetir o ensaio para este extrato em um fotoperíodo um pouco maior que 11 horas.

Nos estudos alelopáticos, a Germinação é um índice muito usado, embora não demonstre outros aspectos do processo de germinação, como atrasos, já que envolve apenas resultados finais, ignorando períodos de germinação inativa no decorrer do ensaio (CHIAPUSO et al. 1997). Muitas vezes, o que se observa são efeitos significativos de extratos sobre o tempo médio e entropia de germinação e nenhuma diferença na germinabilidade, em relação ao controle (FERREIRA & AQUILA 2000), sendo que o mesmo foi verificado nos ensaios realizados com a espécie testada, com exceção ao extrato CG.

As alterações no padrão de germinação podem resultar de diversos

efeitos causados em nível primário. Entre elas, Ferreira & Aqüila (2000) destacam alterações na permeabilidade de membranas, na transcrição e tradução do DNA, no funcionamento de mensageiros secundários, na respiração, devido ao seqüestro de oxigênio, na conformação de enzimas e receptores, ou ainda pela combinação destes fatores. Os efeitos alelopáticos podem variar quanto à sua intensidade, visto que a ação dos aleloquímicos é condicionada por diversos fatores, tais como concentração, temperatura e outras condições ambientais. Geralmente, os efeitos causados tendem a ser dependentes da concentração dos aleloquímicos, ou seja, tendem a ser mais acentuados em concentrações mais altas, sendo essa tendência observada nos ensaios.

Os resultados até aqui apresentados apontam que dentre os extratos estudados o clorofórmico dos galhos se mostra o mais atraente para os químicos de produtos naturais. Já que causou uma redução significativa na germinação da *L. Sativa*.

A química do gênero *Struthanthus* é praticamente desconhecida. Até o momento os trabalhos sobre o isolamento e identificação de metabólitos secundários desse gênero, são da espécie *S. Subtilis* (Cordero, et al. 2003), *S.concinnus* e *S. Marginatus* (Leitão, et al. 2013).

O trabalho de Cordero et al. (2003) trata-se do isolamento da rutina da espécie *S. Subtilis*.

Em 2013, o estudo fitoquímico realizado por Leitão, et al. levou ao isolamento e identificação de três metabólitos de *S. marginatus*, o derivado do lupeol **1**, e sitosterol glicolisado **2**, o diterpeno fitol **3** (Figura 5) e o lupeol (Figura 6). Neste mesmo trabalho os autores também estudaram a espécie *S.concinnus* que permitiu o isolamento e caracterização dos triterpenos: taraxerol **4**, obtusifolio **5**, taraxasterol **6**,  $\beta$ -amirina **7** e  $\alpha$ -amirenona **8** (Figura 5).

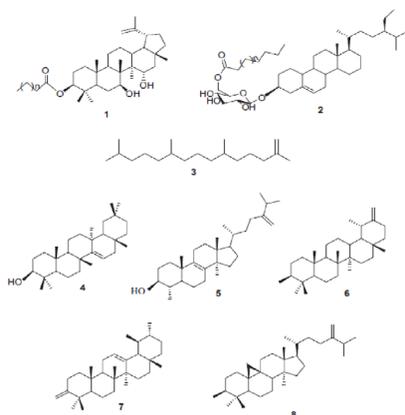


Figura 5 – Metabólitos isolados de *S. Marginatus* e *S. Concinnus*

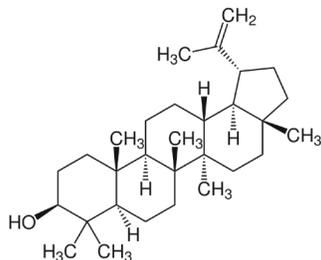


Figura 6 – Estrutura química do lupeol

O lupeol é um triterpenóide pentacíclico, amplamente encontrado em frutas e vegetais comestíveis (Gauthier et al., 2011). O lupeol tem potencial para atuar como anti-inflamatório, antibacteriano, antiviral, antiprotozoário, antiproliferativo, anti-angiogênico e como agente redutor de colesterol (Gauthier et al., 2011).

O isolamento e identificação do composto **1** em *S. marginatus* é o segundo registro de sua ocorrência na natureza, esses trióis de lupeno são raros na natureza. O hidrocarboneto **3** também é pouco encontrado na natureza, sendo descrito como componente de óleos essenciais das espécies *Scoparia dulcis*, *Stachys byzantine*, *Ajuga austro-iranica*, *Centaurea pullata*, *Nervilia fordii* (Leitão, et al. 2013). Esses três metabólitos secundários foram isolados do extrato hexano folhas e galhos de *S. Marginatus*, neste trabalho o extrato clorofórmico galhos da espécie causou uma redução da germinação de *L. Sativa*, vale ressaltar a semelhança de polaridade dos extratos e da parte da planta utilizada para fazer o extrato.

O taraxerol (Figura 5, Estrutura **4**) é amplamente encontrado na natureza e tem sido amplamente investigado por suas atividades biológicas, que incluem atividade anti-inflamatória (Singh et al., 2002), anticâncer (Schütz et al., 2006) e antimicrobiana.

Outros trabalhos referem-se à prospecção fitoquímica de diferentes classes de metabólitos secundários e relatam reações positivas em várias partes de plantas de *S. marginatus* para alcalóides, saponinas, esteróides, triterpenóides, taninos, flavonóides, catequinas, açúcares, polissacarídeos, proteínas e aminoácidos (Pissinate, 2006).

Altos níveis de oligoelementos, incluindo silício, manganês, ferro, cobre e zinco foram descritos para *S. marginatus* (Freire et al., 2011).

Em contraste com a informação escassa da literatura sobre a química do gênero, existem alguns relatos sobre as atividades biológicas de alguns representantes do gênero. Entretanto, testes sobre a atividade alelopática do gênero ainda não haviam sido descritas.

As atividades biológicas descritas para o gênero incluem atividade

antimicrobiana para o extrato hidroalcoólico de folhas frescas de *S. vulgaris* (Vieira et al., 2005); a neutralização do veneno de *Bothrops atrox* para extratos de *S. orbicularis* (Otero et al., 2000); hipotensão dependente da dose e efeitos cardiotóxicos em camundongos anestesiados para o extrato metanólico de folhas de *S. venetus* (Lorenzana-Jiménez et al., 2006); e toxicidade para extratos de *S. cassythoides* (Coe et al., 2010).

## CONCLUSÃO

Os extratos metanólico de folhas e clorofórmio de galhos da espécie *Struthanthus marginatus* foram testados para germinação de sementes de alface e pepino, sendo que o único extrato que apresentou uma taxa de germinação significativamente menor quando comparada ao branco foi o extrato clorofórmio do galho na concentração de 50%.

Os dados da pesquisa mostraram que para os ensaios alelopáticos o fotoperíodo de incubação das sementes mais adequado foi de 24 horas para as sementes de alface, enquanto que para o pepino foi de 11 horas.

Apesar do extrato metanólico das folhas não ter apresentado uma diferença significativa na taxa de germinação, para as sementes de pepino, esse extrato causou um aumento do índice de velocidade de germinação, fato este que deve ser melhor investigado, podendo ter ocorrido uma diminuição do tempo de germinação com a aplicação do extrato.

Durante a realização da pesquisa, encontrou-se na literatura poucas citações e referências sobre a espécie estudada, este fato reforça a necessidade da importância de mais estudos empregando o gênero e a espécie, principalmente, no campo do isolamento e identificação de compostos ativos.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Instituto Federal Fluminense Campus Itaperuna pela infraestrutura para execução do projeto.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, G. D.; ZUCOLOTO, M.; ZETUN, M; C.; COELHO, I.; SOBREIR, F. M. **Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos**. Revista Faculdade Nacional de Agronomia, Medellín- Colombia, 61, 1, 4237, **2008**.

ALLEM, L. N. **Atividade alelopática de extratos e triturados de folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. (*Caryocaraceae*) sobre o crescimento inicial de espécies alvo e identificação de frações ativas através de fracionamento em coluna cromatográfica**. 84f. [Dissertação] (Mestrado em Botânica), Universidade de Brasília, Brasília, DF, **2010**.

- ALVES, C. C. F. **Atividade alelopática de alcalóides glicosilados de *Solanum crinitum*. Revista Floresta e Ambiente**, 10, 1, 93, 2003.
- AQUÍLA, M.E.A. **Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L.** Iheringia, Série Botânica 53, 51, 2000.
- BARBOSA, M. A.; PROENÇA, C. E. B. **Loranthaceae no bioma cerrado. In: Anais do 50º Congresso nacional de Botânica.** Blumenau, Santa Catarina, 243, 1999.
- BORELLA, J.; PASTORINI, L. H. **Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto.** Revista Biotemas, Florianópolis-SC, 22, 3, 67, 2009.
- CARNEIRO, F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R.; AUGUSTO, L.G.; RIZZOLO, A.; FARIA, N.M.X.; ALEXANDRE, V.P.; FRIEDRICH, K.; MELLO, M.S.C.; **Agrotóxicos, segurança alimentar e nutricional e saúde: Parte 1.** In: CD ROM - Dossiê ABRASCO - **Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde.** ABRASCO, 2012. 88p.
- CHIAPUSIO, G.; SÁNCHEZ, A.M.; REIGOSA, M.J.; GONZÁLEZ, L. & PELLISSIER, F. **Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process?** Journal of Chemical Ecology 23, 2445, 1997.
- COE, F.G., PARIKH, D.M., JOHNSON, C.A., **Alkaloid presence and brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay of medicinal species of eastern Nicaragua.** Pharm. Biol. 48, 439, 2010.
- CORDERO, C.P., PINZÓN, R., ARISTIZÁBAL, F.A., **Cytotoxicity of bixin, rutin, pinitol B and ent-16-kauren-19-oic acid isolated from Colombian plants,** Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. 32, 137, 2003.
- DIAS, J.F.G.; CÍRIO, G.M.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.; **Contribuição ao estudo alelopático de *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss., Celastraceae.** Revista Brasileira de Farmacognosia, Curitiba-PR, 15, 3, 220, 2005.
- FELIX, R. A. Z. **Efeito alelopático de extratos de *Amburana cearensis* (fr. all.) A.C. Smith sobre a germinação e emergência de plântulas.** 100f. [Tese] (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências Botucatu, Universidade Estadual Paulista, SP, 2012.
- FERNÁNDEZ, T.; WAGNER, M. L.; VARELA, B. G.; RICCO, R. A.; HAJOS, S. E.; GURNI, A. A.; ALVAREZ, E. **A Study of an Argentine mistletoe, the hemiparasite *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae).** Journal of Ethnopharmacology, 62, 25, 1998.
- FERREIRA, A. G.; AQUÍLA, M. E. A. **Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia.** Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, Campinas-SP, 12, 175, 2000.
- FREIRE, S.M.F., ANDRADE, K.N.S., ARAGÃO JR., G.A., NORONHA, E.P., SILVA, S.N., CARTÁGENES, M.S.S., BORGES, M.O.R., RIBEIRO, M.N.S., TORRES, L.M.B., BORGES, A.C.R., **Antiulcerogenic activity of the extracts of *Struthanthus marginatus*, Braz. J. Pharmacogn.** 21, 1089, 2011.
- FOLHA DO NOROESTE. Prefeitura Regional da Lapa. Vila Escolástica e Pompeia, 22/02/2018.
- GAUTHIER, C., LEGAULT, J., PIOCHON-GAUTHIER, M., PICHETTE, A., **Recent progress in the synthesis of naturally occurring triterpenoid saponins,** Phytochem. Rev. 10, 521, 2011.

- KRAUS, J.E.; ARDUIN, M.; VENTURELLI, M. **Anatomy and ontogenesis of hymenoptera leaf of *Struthanthus vulgaris* Mart. (Lorantaceae)**. Revista Brasileira de Botânica, 25, 4, 449, 2002.
- LEITÃO, F., MOREIRA, D. L., ALMEIDA, M. Z., LEITÃO, S. G. **Secondary metabolites from the mistletoes *Struthanthus marginatus* and *Struthanthus concinnus* (Lorantaceae)** Biochemical Systematics and Ecology 48, 215, 2013.
- LORENZANA-JIMÉNEZ, M., GUERRERO, G.A.M., GONZÁLEZ, X.G., GRANADOS, E.G., CASSANI, J., **Phytochemical and pharmacological preliminary study of the methanolic extract from *Struthanthus venetus* in cardiovascular system of anesthetized rat**. Pharmacologyonline, 3, 359, 2006.
- LORENZI, H. *Plantas Daninhas do Brasil. - erva-de-passarinho (*Struthanthus concinnus* Mart., Lorantaceae)*. Editora Plantarum Ltda, 302, 1991.
- MANO, A. R. O. **Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de Cumaru (*Amburana cearensis* S.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho**, [Dissertação] (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2006.
- MARTINS, L.G.S.; VALE, L.S.; LAINETTI, R.; PEREIRA, N.Á.; **Um estudo sobre a toxicidade da erva-de-passarinho (*Struthanthus marginatus*, Lorantaceae), parasitando trombeteira (*Datura suaveolens*, Solanaceae)**. Revista Brasileira de Farmácia, 87, 63, 2006.
- MARTIUS, C; EICHLER, A.G., URBAN, I. **Flora Brasiliensis**, v. 5, n. 2, fascicle 44, t. 22 (1868).
- NASRALA NETO, E.; LACAZ, F.A.C.; PIGNATI, W.A.; **Vigilância em saúde e agronegócio: os impactos dos agrotóxicos na saúde e no ambiente. perigo à vista!**, Ciência e Saúde Coletiva, 19, 12, 4709, 2014.
- NICKRENT, D.L. **Encyclopedia of Life Sciences - Santalales (Mistletoe) Macmillan Reference Ltd, 2001**. Disponível em: <[www.science.siu.edu/parasitic-plants/Lorantaceae/index.html](http://www.science.siu.edu/parasitic-plants/Lorantaceae/index.html)> Acessado: 08/08/2017
- OTERO, R., NÚÑEZ, V., BARONA, J., FONNEGRA, R., JIMÉNEZ, S.L., OSORIO, R.G., SALDARRIAGA, M., DÍAZ, A., **Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia. Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom**. J. Ethnopharmacol. 73, 233, 2000.
- PISSINATE, K. Masterthesis, UFRRJ, Brazil, (in Portuguese), 2006.
- SANTOS, L.M. **Avaliação dos constituintes químicos polares e da atividade alelopática de *Schinus terebinthifolius* (Anarcadiaceae)**. Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF; Campos dos Goytacazes - RJ; fevereiro, 2009.
- VIEIRA, M.C., SANTOS, M.H., SILVA, G., SIQUEIRA, M., **Atividade antimicrobiana de *Struthanthus vulgaris* (erva-de-passarinho)**. Braz. J. Pharmacogn. 15, 149, 2005.
- VEGAS, C. **Erva de Passarinho**. Jornal O Estado do Paraná, Curitiba, 06 de Agosto de 2000. Pragas, p. 1.

# CAPÍTULO 8

## ASPECTOS TOXICOLÓGICOS RELACIONADOS AO USO DE AGROTÓXICOS E SUA RELAÇÃO COM DANOS HEPÁTICOS: UMA REVISÃO

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 12/06/2020

### **Marcio Cerqueira de Almeida**

Faculdade Irecê (FAI)

Irecê – Bahia

<http://lattes.cnpq.br/3203246137710061>

### **Ana Clara de Novaes Almeida**

Faculdade Irecê (FAI)

Irecê – Bahia

<http://lattes.cnpq.br/6337640099730544>

### **Jaqueline de Souza Anjos**

Faculdade Irecê (FAI)

Irecê – Bahia

<http://lattes.cnpq.br/4904465904075052>

### **Marta Rocha Batista**

Faculdade Irecê (FAI)

Irecê – Bahia

<http://lattes.cnpq.br/5251687083904158>

### **José Eduardo Teles Andrade**

Faculdade Irecê (FAI)

Irecê – Bahia

<http://lattes.cnpq.br/8951226945578942>

### **José Marcos Teixeira de Alencar Filho**

Universidade Federal Rural de Pernambuco

(UFRPE)

Recife – PE

Faculdade Irecê (FAI)

Irecê – Bahia

<http://lattes.cnpq.br/0807801389134684>

### **Morganna Thinesca Almeida Silva**

Faculdade Irecê (FAI)

Irecê – Bahia

<http://lattes.cnpq.br/1370186142096453>

### **Elaine Alane Batista Cavalcante**

Faculdade Irecê (FAI)

Irecê – Bahia

<http://lattes.cnpq.br/0673859141602662>

### **Ivania Batista de Oliveira**

Faculdade Irecê (FAI)

Irecê – Bahia

<http://lattes.cnpq.br/5112850755258633>

**RESUMO:** Introdução: O fígado é a maior víscera do corpo humano, desempenhando grande número de funções vitais à saúde do organismo, sendo um órgão muito suscetível a danos por substâncias químicas. As doenças hepáticas podem ser causadas por uma variedade de agentes químicos, físicos ou biológicos que danificam o fígado, como é o caso dos compostos presentes nos agrotóxicos utilizados por trabalhadores rurais. Objetivos: Relatar sobre os problemas hepáticos provenientes do uso indiscriminado dos agrotóxicos, bem como apresentar formas de detectar previamente tais problemas, por meio do diagnóstico laboratorial. Métodos: Foi realizada uma revisão narrativa de literatura, através dos seguintes descritores: praguicidas, perfil hepático e diagnóstico laboratorial. A busca de dados foi realizada na biblioteca eletrônica Scientific Electronic Library Online (SciElo), na qual foram selecionados artigos referentes ao tema, além de livros de

Toxicologia, Fisiologia e Patologia, no período entre maio e junho de 2020. Resultados e Discussão: Os componentes químicos presentes nos agrotóxicos apresentam vários efeitos na saúde humana, e a exposição à essas substâncias podem comprometer as funções hepáticas, pois, aumentam o risco de desenvolvimento de diversas doenças. Dessa forma, são utilizados testes para identificar, detectar e avaliar as doenças hepáticas, sendo as principais avaliações periódicas recomendadas, as atividades das enzimas alanina aminotransferase (ALT), a fosfatase alcalina (FA), aspartato aminotransferase (AST), a bilirrubina, a gama-glutamiltransferase (GGT) e a colinesterase (CHE). Assim, as alterações laboratoriais mais frequentes nessas condições são o aumento na atividade dessas enzimas, e a diminuição da colinesterase. Conclusão: É necessário alertar os trabalhadores rurais, aos riscos que correm ao utilizar essas substâncias químicas, às doenças hepáticas que podem lhe acometer, assim como orientar sobre a correta aplicação. Além disso, informar sobre os tipos de exames laboratoriais que podem ser realizados para identificar as doenças hepáticas decorrentes da exposição aos agrotóxicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Praguicidas, Perfil hepático, Diagnóstico laboratorial.

## TOXICOLOGICAL ASPECTS RELATED TO THE USE OF PESTICIDES AND THEIR RELATIONSHIP WITH HEPATIC DAMAGE: A REVIEW

**ABSTRACT: Introduction:** The liver is the largest viscera in the human body, performing a large number of vital functions to the health of the organism, being an organ very susceptible to damage by chemical substances. Liver diseases can be caused by a variety of chemical, physical or biological agents that damage the liver, as is the case with compounds present in pesticides used by rural workers. **Objectives:** To report on liver problems arising from the indiscriminate use of pesticides, as well as to present ways of previously detecting such problems, through laboratory diagnosis. **Methods:** A literary narrative review was carried out using the following descriptors: pesticides, liver profile, and laboratory diagnosis. The data search was carried out in the electronic library Scientific Electronic Library Online (SciELO), in which articles related to the theme were selected, in addition to books on Toxicology, Physiology, and Pathology, between May and June 2020. **Results and Discussion:** The chemical components present in pesticides have several effects on human health, and exposure to these substances can compromise liver functions, as they increase the risk of developing several diseases. Thus, tests are used to identify, detect and evaluate liver diseases, the main recommended periodic evaluations being the activities of the enzymes alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (FA), aspartate aminotransferase (AST), bilirubin, gamma-glutamyltransferase (GGT) and cholinesterase (CHE). Thus, the most frequent laboratory alterations in these conditions are an increase in the activity of these enzymes and a decrease in cholinesterase. **Conclusion:** It is necessary to alert rural workers to the risks they face when using these chemical substances, to the liver diseases that may affect them, as well as to advise on the correct application. In addition, information about the types of laboratory tests that can be performed to identify liver diseases resulting from exposure to pesticides.

**KEYWORDS:** Pesticides, Liver profile, Laboratory diagnosis.

## 1 | INTRODUÇÃO

No Brasil e no mundo, as intoxicações por praguicidas, bem como os consequentes danos ambientais advindos da utilização indiscriminada destes, tem tomado grandes proporções, de modo a se tornarem importante problema de saúde pública mundial e alvo potencial de estudos, sobretudo na área da Toxicologia (FARIA, 2004).

O termo praguicida possui uma infinidade de classificações, já que trata de um produto químico, substância ou mistura de substâncias destinadas à prevenção, destruição ou controle de pragas (MEDEIROS, 2014). Usadas, sobretudo na agricultura, para combater pragas, ervas daninhas ou doenças nas plantas, são classificados a partir do tipo de praga a ser controlada e da sua estrutura química, bem como pelo grau de toxicidade exercido, com base nos índices de  $DL_{50}$  aguda (dose letal que causa morte em 50% do grupo testado) pelas vias oral, inalatória e tópica, bem como irritação/corrosão dérmica e ocular (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

Assim como ocorre em outros tipos de exposição a praguicidas, a aplicação de agrotóxicos na agricultura tem como principais vias de absorção, a respiratória e a cutânea (TEIXEIRA, 2014). Apesar de a absorção assumir proporções diferentes a depender do composto utilizado, podem surgir quadros graves de intoxicação, caso os trabalhadores não estejam devidamente equipados com seus equipamentos de segurança individual (ARAÚJO; NOGUEIRA; AUGUSTO, 2000). Após a absorção, são rapidamente distribuídos por todos os tecidos, sendo que, boa parte desses xenobióticos é metabolizada no fígado, principalmente pelo sistema enzimático Citocromo P450 (BAHIA; GUIMARÃES; ASMUS, 2014).

O fígado é considerado a maior víscera do corpo humano, onde desempenha uma série de funções essenciais à saúde do organismo, dentre as quais está a síntese e processamento de substâncias que são transportadas para fora das células hepáticas e trazidas de outras áreas do organismo (GUYTON, 2011).

Dentre uma infinidade de funções do órgão, destacam-se a secreção da bile relacionada a função digestiva, a regulação do metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios, o armazenamento de substâncias e a degradação e excreção de hormônios (BERNE; LEVY, 2010). Outras funções incluem a transformação e excreção de drogas e o auxílio à resposta imune, de modo que, o conhecimento da fisiologia hepática torna-se fundamental para a investigação dos processos patológicos envolvidos (BELLATO, 2015).

As patologias hepáticas mais comuns, que podem ser causadas por uma

variedade de fatores químicos, físicos ou biológicos que danificam o fígado, podendo levar a graus diversos de distúrbios da sua função, compreendem as de natureza inflamatória, lesões da árvore biliar, alterações vasculares, hepatites virais (A, B,C, D, E), entre outras (KUMAR, 2010). Esses diversos padrões de lesão hepática podem resultar em várias formas de cirrose, podendo evoluir para quadros de hipertensão portal, insuficiência hepatocelular e transformação neoplásica (BOGLIOLO; BRASILEIRO FILHO, 2011). Esse conjunto de enfermidades, muitas vezes decorrentes do uso indiscriminado de agrotóxicos, gera um grande impacto na saúde do indivíduo, podendo inclusive ser fatal (BOCHNER, 2015).

Nesse contexto, a presente revisão tem como objetivo relatar os aspectos toxicológicos relacionados ao uso de agrotóxicos e sua relação com danos hepáticos.

## 2 | METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão narrativa de literatura, a partir de uma pesquisa exploratória, que tem como princípio proporcionar maior familiaridade com o problema, visando torná-lo mais explícito, por meio de levantamento bibliográfico, de caráter qualitativo. A pesquisa se deu em três etapas, sendo elas: revisão de literatura, pesquisa nas bases de dados, e análise e seleção das informações a serem utilizadas.

Inicialmente, foi feito um levantamento e leitura da bibliografia existente em livros e artigos a respeito da toxicidade das mais diversas classes de praguicidas, com foco na relação entre agrotóxicos e o perfil hepático dos trabalhadores rurais, bem como nas patologias que estes podem causar e as formas de detectá-las.

Foram realizados levantamentos bibliográficos, disponíveis na biblioteca eletrônica Scientific Electronic Library Online (SciELO), na qual foram encontrados e selecionados artigos referentes ao tema, além de livros de Toxicologia, Fisiologia e Patologia, no período entre maio e junho de 2020.

Em seguida, foram excluídos estudos que incluíssem em seu título, subtítulo ou no resumo, poucas informações sobre o assunto abordado. Finalmente, após leitura e análise, foram incluídos artigos que tinham, em seus resumos, metodologias e conclusões, assuntos referentes às patologias hepáticas causadas pela exposição aos agrotóxicos. Todos os artigos selecionados foram lidos e os dados extraídos com base nos critérios de inclusão e exclusão de artigos, considerando os objetivos da revisão, por meio da utilização dos seguintes descritores: praguicidas; perfil hepático; diagnóstico laboratorial.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho agrícola representa uma das ocupações mais perigosas atualmente, no que tange à ocorrência de intoxicações agudas e/ou doenças crônicas, problemas reprodutivos e danos ambientais (CARNEIRO, 2015).

Representantes da categoria dos praguicidas químicos, os agrotóxicos (organofosforados, carbamatos, organoclorados, piretroides, entre outros), antes chamados também de defensivos agrícolas, termo não mais utilizado devido à toxicidade exercida sobre a saúde humana, bem como aos animais e ao meio ambiente como um todo, são agentes muito utilizados na agricultura para controlar insetos, ervas daninhas e microrganismos, sendo eles divididos em classes, tais como, inseticidas, herbicidas e fungicidas (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

Uma vez que o Brasil se encontra entre os maiores consumidores mundiais de agrotóxicos, e levando em consideração que estes são responsáveis pelo maior número de intoxicações no ramo do agronegócio, a exposição a esses compostos pelos trabalhadores rurais assume a posição de grave fator de risco à Saúde Pública (LEVIGARD; ROZEMBERG, 2004).

Segundo o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG), a venda de venenos agrícolas entre 2001 e 2008 no país saltou de 2 bilhões para mais de 7 bilhões, quando o Brasil alcançou a triste posição de maior consumidor mundial de venenos (LONDRES, 2011).

Portanto, a lista dos benefícios do agrotóxico à plantação é tão extensa quanto os seus efeitos nocivos à saúde humana (PERES; MOREIRA, 2003), os quais podem ser classificados por dois tipos, efeitos agudos e crônicos, após absorção por via oral, inalatória e/ou dérmica (WATKINS III; KLAASSEN, 2012).

Os efeitos agudos se manifestam rapidamente, após a exposição à substância tóxica, enquanto, a fase crônica da intoxicação costuma se manifestar muito tempo depois, podendo ser em semanas, meses ou até anos após o primeiro contato com o xenobiótico (FARIA; FASSA; FACCHINI, 2007).

De um modo especial, a exposição crônica aos compostos químicos presentes nos agrotóxicos pode levar ao aparecimento de efeitos tóxicos aos mais diversos sistemas orgânicos, principalmente ao sistema hepático, já que se trata de substâncias que adentram facilmente os hepatócitos (LANGER; GUERINO; BOAS, 2012).

Os altos níveis de hepatotoxicidade se explicam pelo fato de que a maioria dos xenobióticos, absorvidos pelo trato gastrointestinal, são transportados até o fígado, onde sofrem efeito de primeira passagem, havendo o contato direto do órgão com as substâncias tóxicas (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014). Outro fator determinante é o envolvimento do complexo Citocromo P450 no processo de

metabolismo desses compostos, além do acúmulo desses compostos no fígado, devido à formação da bile e sua movimentação pelo trato gastrointestinal, de modo que essas substâncias podem ser reabsorvidas e levadas novamente ao fígado (BAHIA; GUIMARÃES; ASMUS, 2014).

O Metil paration, da classe dos organofosforados, por exemplo, atua diretamente sobre o Sistema Nervoso Central, por meio da inibição da enzima acetilcolinesterase, responsável por liberar e hidrolisar acetilcolina, e por atuarem nos receptores do sistema nervoso como o ácido gama-aminobutírico (GABA) (COUTINHO, 2005).

Seu mecanismo tem início a partir da ação de enzimas importantes do Complexo Citocromo P450, especificamente as esterases na síntese do Metil paraoxon, o qual potencializa seus efeitos tóxicos, etapa esta que ocorre na fase I, e as glutatona-S-transferases na fase II, por meio das quais são expressos os seus principais metabólitos, o 4-nitrofenila e o fosfato de 4-nitrofenila (SOARES, 2016).

Em virtude disso, o tecido hepático é alvo importante de pesquisas nas mais diversas áreas da saúde, devido suas características fisiológicas imprescindíveis no controle de diversas vias metabólicas do organismo (GUYTON, 2011).

Os hepatócitos contêm milhares de enzimas que são responsáveis pela metabolização das substâncias presentes no sangue, sejam elas benéficas ou prejudiciais ao organismo (CANANI, 2013). Assim, a exposição contínua à substâncias tóxicas podem prejudicar as funções exercidas pelo fígado, aumentando o risco de desenvolvimento de diversas doenças, as quais podem ser identificadas precocemente por meio de testes de função hepática (DE JESUS; DE SOUSA; BARCELOS, 2014).

Sendo assim, o diagnóstico se dá por meio da avaliação periódica da atividade de enzimas importantes na manutenção das funções hepáticas e que representam, portanto, alvos de grande valor na detecção das intoxicações por organofosforados, sendo as principais, alanina aminotransferase (ALT-TGP), encontrada principalmente no fígado, sendo o melhor teste para detectar hepatite, fosfatase alcalina (FA) relacionada com os ductos biliares, aspartato aminotransferase (AST-TGO), bilirrubina para avaliar o funcionamento do fígado, a gama-glutamiltransferase (GGT) e a colinesterase (CHE), mais especificamente a pseudocolinesterase (SCHINONI, 2008).

As alterações laboratoriais mais frequentes nessas condições são o aumento na atividade dessas enzimas. Quanto maior for a atividade tóxica, maior será a presença da enzima no sangue, exceto a colinesterase, que será encontrada em valores diminuídos, indicando lesão nos hepatócitos, devido ao comprometimento de suas funções pela exposição contínua ao xenobiótico (VARIANI et al., 2014).

Em um estudo realizado com trabalhadores rurais expostos a agrotóxicos

pelo Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), nos anos de 2006 e 2007, foram observados que em 37,2% dos casos havia alterações hepáticas nos exames laboratoriais realizados. Sendo que a maioria apresentava adulteração de GGT (35,6%), seguida por AST (31,6%), ALT (28,9%) e FA (3,9%). Estes dados demonstram a importância da avaliação constante do perfil hepático de trabalhadores expostos aos agrotóxicos (FIGUEIREDO; TRAPE; ALONZO, 2011).

Por fim, evidencia-se que a aplicação dos agrotóxicos pode ocasionar sérios problemas na saúde dos trabalhadores que manipulam estas substâncias, os quais, geralmente não seguem as recomendações contidas nos rótulos dos produtos (RECENA; CALDAS, 2008).

## 4 | CONCLUSÃO

Em virtude do que foi mencionado, conclui-se que, a intoxicação se dá por uma infinidade de fatores, dentre os quais, a exposição ocupacional aos agrotóxicos e as condições de trabalho existentes, o que aumenta o grau de exposição por parte dos trabalhadores rurais. É necessário alertar esses profissionais sobre os riscos que correm ao utilizar tais substâncias químicas, principalmente quando o contato com o xenobiótico ocorre sem a utilização de equipamentos de segurança individual, potencializando a ocorrência de alterações na sua função hepática e, conseqüentemente, os quadros graves de intoxicação.

Além disso, informar-lhes a respeito dos mais diversos tipos de exames laboratoriais que podem ser realizados para diagnosticar precocemente doenças hepáticas decorrentes da exposição aos agrotóxicos, com vista a reduzir o índice de mortalidade nessas circunstâncias, já que são doenças, muitas vezes silenciosas que podem se manifestar muito tempo após a exposição, dificultando o tratamento. É imprescindível haver uma preparação dos indivíduos antes da realização dos exames, por exemplo, fazer uma dieta hipolipídica prévia, ou seja, dieta pobre em gorduras, ou não realizar coleta de sangue após as refeições, fatores estes que poderiam aumentar as chances de encontrar níveis alterados de enzimas hepáticas, representando assim um falso positivo.

Dessa forma, ao levar conhecimento aos trabalhadores rurais, alertando-os sobre a gravidade de uma intoxicação, espera-se promover uma maior sensibilização sobre a necessidade de adoção de medidas profiláticas individuais e coletivas no âmbito dos cuidados à saúde, humana e ambiental, quanto ao uso das mais diversas substâncias tóxicas presentes no cotidiano do agronegócio, resultando em um impacto significativo na melhoria da qualidade de vida desses profissionais.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Adélia CP; NOGUEIRA, Diogo P.; AUGUSTO, Lia GS. **Impacto dos praguicidas na saúde: estudo da cultura de tomate**. *Revista de Saúde Pública*, v. 34, p. 309-313, 2000.

BAHIA, Camila Alves; GUIMARÃES, Raphael Mendonça; ASMUS, Carmen Ildes Rodrigues Fróes. **Alterações nos marcadores hepáticos decorrentes da exposição ambiental a organoclorados no Brasil**. *Cad. saúde colet.*,(Rio J.), v. 22, n. 2, p. 133-141, 2014.

BELLATO, Hugo Ribeiro et al. **Análise Histopatológica do Fígado, Estômago e Intestinos de Camundongos Submetidos ao Consumo Agudo de Etanol/Histopathological analysis of the liver, stomach and intestines of mice undergoing acute ethanol exposure**. *REVISTA CIÊNCIAS EM SAÚDE*, v. 5, n. 2, p. 100-107, 2015.

BERNE, Robert M.; LEVY, Matthew N. (Ed.). **Fisiologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

BOCHNER, Rosany et al. **Óbito ocupacional por exposição a agrotóxicos utilizado como evento sentinela: quando pouco significa muito**. 2015.

BOGLIOLO, Luigi; BRASILEIRO FILHO, Geraldo. **Bogliolo patologia**. 8 ed Guanabara-Koogan, 2011.

CANANI, Jéssica Klein et al. **FISIOLOGIA HEPÁTICA**. *Ação Odonto*, v. 1, n. 1, p. 11-11, 2013.

CARNEIRO, Fernando Ferreira et al. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. EPSJV/Expressão Popular, 2015.

COUTINHO, Cláudia FB et al. **Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez**. *Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente*, v. 15, 2005.

DE JESUS, Gisleide Cardoso; DE SOUSA, Helio Henrique Barros Arruda; BARCELOS, Rejane da Silva Sena. **Principais patologias e biomarcadores das alterações hepáticas**. *Revista EVS-Revista de Ciências Ambientais e Saúde*, v. 41, n. 3, 2014.

FARIA, Neice Müller Xavier et al. **Trabalho rural e intoxicações por agrotóxicos**. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 20, p. 1298-1308, 2004.

FARIA, Neice Müller Xavier; FASSA, Anaclaudia Gastal; FACCHINI, Luiz Augusto. **Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos**. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 12, n. 1, p. 25-38, 2007.

FIGUEIREDO, G. M.; TRAPE, Angelo Zanaga; ALONZO, Herling Aguilar. **Exposição a múltiplos agrotóxicos e prováveis efeitos a longo prazo à saúde: estudo transversal em amostra de 370 trabalhadores rurais de Campinas (SP)**. *Rev Bras Med Trab*, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2011.

GUYTON, Arthur C.; HALL, John E. **Fundamentos de fisiologia**. 2011.

KUMAR, Vinay. **Robbins & cotran-patologia bases patológicas das doenças 8a edição**. Elsevier Brasil, 2010.

LANGER, Katia Carine Lauer; GUERINO, Adriane Cristina; BOAS, Gustavo Roberto Villas. **Análise das enzimas hepáticas em indivíduos que se submetem à exposição ocupacional a agrotóxicos de uso agrícola**. *Revista Pleiade*, v. 6, n. 11, p. 112-128, 2012.

LEVIGARD, Yvonne Elsa; ROZEMBERG, Brani. **A interpretação dos profissionais de saúde acerca das queixas de “nervos” no meio rural: uma aproximação ao problema das intoxicações por agrotóxicos**. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 20, n. 6, p. 1515-1524, Dec. 2004.

LONDRES, Flavia. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. Rio de Janeiro: AS-PTA—Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, v. 1, 2011.

MEDEIROS, Márcia Noelle Cavalcante; MEDEIROS, Marília Cavalcante; SILVA, Maria Beatriz Araújo. **Intoxicação aguda por agrotóxicos anticolinesterásicos na cidade do Recife, Pernambuco, 2007-2010**. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília, v. 23, n. 3, p. 509-518, set. 2014.

OGA, Seizi; CAMARGO, Márcia Maria de Almeida; BATISTUZZO, José Antonio de Oliveira. **Fundamentos de toxicologia**. 2014.

PERES, Frederico; MOREIRA, Josino Costa. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2003.

RECENA, Maria Celina Piazza; CALDAS, Eloisa Dutra. **Percepção de risco, atitudes e práticas no uso de agrotóxicos entre agricultores de Culturama, MS**. *Revista de Saúde Pública*, v. 42, p. 294-301, 2008.

SCHINONI, Maria Isabel. **Fisiologia hepática**. *Gazeta Médica da Bahia*, v. 76, n. 2, 2008.

SOARES, Paulo Roberto Serrão. **Estudos de biotransformação de pesticidas organofosforados e biometilação de compostos fenólicos por fungos de ambiente marinho**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

TEIXEIRA, Jules Ramon Brito et al. **Intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola em estados do Nordeste brasileiro, 1999-2009**. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília, v. 23, n. 3, p. 497-508, set. 2014.

VARIANI, A. G. ; CAVAGNOLLI, N. I. ; MAZIERO, L. ; RODRIGUES, A. D. . **Avaliação do perfil hepático e consumo alimentar de trabalhadores de uma indústria metalúrgica na Caxias do Sul-RS**. *REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIA E MOVIMENTO*, v. 33, p. 17-26, 2014.

WATKINS III, J. B.; KLAASSEN, C. D. **Fundamentos em toxicologia de Casaret e Doull**. 2012.

# CAPÍTULO 9

## ADJUVANTES DO SOLO E SEUS EFEITOS NOS ATRIBUTOS MICROBIOLÓGICOS E DESENVOLVIMENTO DA PLANTA

Data de aceite: 01/09/2020

### Leopoldo Sussumu Matsumoto

Universidade Estadual do Norte do Paraná  
Bandeirantes – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/0857955043436449>

### Aline de Oliveira Barbosa

<http://lattes.cnpq.br/8870424357010500>

### Fabiano Rogério Parpinelli Junior

<http://lattes.cnpq.br/4275752380128330>

### Gilberto Bueno Demétrio

<http://lattes.cnpq.br/5348299355813850>

**RESUMO:** O Brasil está em segundo e terceiro lugar no ranking, na produção de soja e milho. O fato do clima se estabelecer irregularmente dentro das estações do ano tem trazido consigo mudanças, que afeta diretamente a lavoura. Neste sentido o uso de ativadores de microrganismos do solo (AM) e adjuvantes, tais como de retenção de água (ADRT) e de infiltração (ADIF), tem se tornado muito frequente. O trabalho teve como objetivo avaliar a influência desses adjuvantes (ADRT e ADIF) e ativadores de microrganismos (AM) na microbiota do solo e no desenvolvimento da soja e milho. Os tratamentos consistiram em avaliar os adjuvantes (ADRT e ADIF) nas concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0 L ha<sup>-1</sup> e ativadores da microbiota do solo, nas concentrações de 2,0, 4,0 e 6,0 L ha<sup>-1</sup>, com e sem os adjuvantes, totalizando 16 tratamentos por cultura. Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação. Foram avaliados carbono da

biomassa microbiana (CBM), respiração basal (RB), quociente metabólico ( $qCO_2$ ) e microbiano ( $qMIC$ ), análise química do solo e massa fresca e seca da parte aérea e raiz. A menor concentração de ADRT e maior de ADIF trouxeram melhores resultados, nos atributos microbiológicos e no desenvolvimento da planta nas duas culturas, mostrando influência direta da umidade do solo. A menor dose de FMA na soja foi melhor comparado com o milho, em todos os parâmetros analisados. O uso de AM com ADIF ou ADRT, se comportou de maneira oposta nas duas culturas, com melhor desenvolvimento da soja em maior concentração de AM com os adjuvantes e menor concentração de AM com os adjuvantes no milho. Tal fato pode estar relacionado à diversidade da comunidade microbiana que colonizam a rizosfera. Conclui-se, que os adjuvantes ADRT e ADIF na presença ou ausência de AM, influenciam na disponibilidade de água no solo, promovendo incremento ou diminuição da microbiota, conseqüentemente o desenvolvimento da planta.

**PALAVRAS-CHAVE:** Microbiota do solo, Soja, Milho, Ativadores de microrganismos.

### SOIL ADJUVANTS AND THEIR EFFECTS ON MICROBIOLOGICAL ATTRIBUTES AND PLANT DEVELOPMENT

**ABSTRACT:** Brazil is in second and third place without classification, in the production of soybean and corn. The fact that the climate establishes irregularly within the seasons of the year, has brought with it changes, that directly affect the crop. In this sense the use of soil microorganism activators (MA) and adjuvants has become very frequent, ADRT and infiltration (ADIF). The

objective of this work was to evaluate these products in the soil microbiota and in the development of soybean and corn. The treatments consisted of customs commissions (ADRT and ADIF) at concentrations of 0.5, 1.0 and 2.0 L ha<sup>-1</sup> and soil microbiota activators at concentrations of 2.0, 4.0 and 6.0 L ha<sup>-1</sup>, with and without adjuvants, totaling 16 treatments per culture. The trials were conducted under greenhouse conditions. Microbial biomass carbon (CBM), basal respiration (RB), metabolic ( $qCO_2$ ) and microbial quotient ( $qMIC$ ), soil chemical analysis and fresh and dry mass of shoot and root. The lower concentration of ADRT and higher ADIF showed better results, in the microbiological attributes and in the development of the plant in the two cultures, showing direct influence of soil moisture. A lower dose of AMF in soybean was improved with maize in all analyzed parameters. The use of MA with ADIF or ADRT behaves in opposite ways in the two cultures, with better soybean development in higher concentration of MA with the adjuvants and lower concentration of FMA with the adjuvants in maize. This may be related to the diversity of the microbial community colonizing the rhizosphere. It is concluded that the ADRT and ADIF adjuvants in the presence or absence of MA influence the availability of water, promoting the increase or decrease of the microbiota, consequently the development of the plant.

**KEYWORDS:** Soil microbiota, Plant, Microorganism activators.

## 1 | INTRODUÇÃO

A agricultura é um dos setores de maior importância na economia brasileira (TEIXEIRA, 2005). O cereal mais produzido no mundo atualmente é o milho e no ranking de produtores o Brasil encontra-se em terceira posição. Na produção de soja, o país ocupa o segundo lugar, com produção de 114 milhões de toneladas por ano, possuindo uma área plantada de 331,77 milhões de hectares e produtividade de 3.364 kg ha<sup>-1</sup>. O Mato Grosso é o estado com maior produção, 30,5 milhões de toneladas de soja, possuindo uma área de plantação de 9,32 milhões de hectares e produtividade de 3.273 kg/ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2018). O estado do Paraná é o segundo maior produtor dessa cultura, atingindo produtividade de 19,5 milhões de toneladas, com uma área plantada de 5,2 milhões de hectares, produzindo 3.731 kg ha<sup>-1</sup>, seguido pelo Rio Grande do Sul, com produção de 18,7 milhões de hectares e produtividade 3.367 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2018).

*Glycine max* (L) Merrill é uma das espécies de maior influência na econômica mundial. Os grãos produzidos por esta espécie são utilizados em grande escala, na indústria de alimentos, química, na agroindústria, na produção de rações para animais, biocombustíveis (COSTA NETO; ROSSI, 2000), e produtos alimentícios (bebidas, óleos vegetais, farinha, proteína vegetal, shoyu) (CABRAL; MODESTA, 1981). A espécie *Zea mays* L., o milho, é uma planta rústica, consumida a mais de cinco mil anos, sendo essencial na alimentação de várias populações na antiguidade. Cereal de grande demanda na alimentação da população, que é farta no consumo

de carboidratos. Os grãos também são utilizados como alimento para aves e nas atividades agropecuárias (CANÇADO, 2004).

O solo é um recurso natural, habitado por organismos vivos, e cuja atividade contribui para a produção de alimentos. A qualidade edáfica é estabelecida por meio de seu funcionamento, ou seja, a associação de parâmetros físicos, químicos e biológicos (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007). Dentre os parâmetros microbiológicos os mais utilizados são a biomassa microbiana, respiração basal, quocientes metabólico e microbiano e atividade de enzimas microbianas (SANTOS; MAIA, 2013). Estes indicadores permitem realizar o monitoramento ou a avaliação do que está ocorrendo no solo de um determinado local naquele momento, pois os parâmetros biológicos são sensíveis e respondem rapidamente a qualquer alteração ocorrida devido ao manejo desse recurso (SANTOS; MAIA, 2013).

Dentre as alternativas que têm sido utilizadas para melhorar as características do solo, estão os polímeros ou condicionadores. Os polímeros hidroabsorventes (conhecidos também como polímeros absorventes, superabsorventes ou hidrogéis) possuem capacidade de absorver uma quantidade de água muito superior à sua própria massa. Como exemplo destes polímeros, encontram-se as poliácridamidas e os polimetacrilatos, os quais desde os anos 60 são utilizados na agroindústria (REZENDE, 2000; GERVÁSIO; FRIZONEE, 2004). Outros polímeros sintéticos são indicados para o uso na agricultura com a finalidade de retenção de água no próprio material, a qual posteriormente é liberada lentamente no solo (MARQUES; PINTO, 2013). Portanto, os adjuvantes de retenção pode disponibilizar água para os vegetais mesmo em períodos de escassez de água (AZEVEDO; BERTONHA; GONÇALVES, 2002).

As atuais mudanças abruptas nas condições climáticas, como a precipitação pluviométrica, geram longos períodos de chuva ou de seca que afetam negativamente a produção agrícola brasileira. Assim, é necessária a busca por alternativas sustentáveis que possam reduzir o impacto decorrente desse desequilíbrio na produtividade agrícola e na qualidade do solo. Nesse contexto, o uso de ativadores de microrganismos do solo (AM) e adjuvantes como de retenção de água (ADRT) e de infiltração (ADIF), tem se tornado muito frequente na tentativa de amenizar o impacto negativo causado na lavoura pelas mudanças climáticas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência desses dois adjuvantes e do AM na dinâmica da microbiota do solo e no desenvolvimento da soja e do milho.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado em casa de vegetação na Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP) – *Campus* Luiz Meneghel, as plantas cresceram em vasos

com capacidade para nove litros de solo (LATOSSOLO VERMELHO eutroférico), coletado na fazenda escola. O ensaio consistiu de duas culturas, soja e milho e 17 tratamentos (Tabela 1), com 4 repetições para cada espécie, totalizando 68 vasos por cultura.

A aplicação dos produtos (Ativadores de Microrganismos [AM]; Adjuvante e retenção [ADRT]; Adjuvante de infiltração [ADIF] e adubo biológico [AB]), foi realizada utilizando-se pipetas automáticas, no estágio V3 das plantas. As coletas de solo e das plantas das duas espécies foram realizadas no mês de fevereiro, no período em que as plantas estavam em florescimento.

	Tratamentos	Descrição
s/ aplicação	Testemunha	Controle (150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup> )
ADIF	1	0,5 L ADIF + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
	2	1,0 L ADIF + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
	3	2,0 L ADIF + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
ADRT	4	0,5 L ADRT + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
	5	1,0 L ADRT + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
	6	2,0 L ADRT + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
AM	7	2,0 L AM + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
	8	4,0 L AM + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
	9	6,0 L AM + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
AM+ADRT	10	2,0 L AM + 1,0 L ADRT + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
	11	4,0 L AM + 1,0 L ADRT + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
	12	6,0 L AM + 1,0 L ADRT + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
AM+ADIF	13	2,0 L AM + 1,0 L ADIF + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
	14	4,0 L AM + 1,0 L ADIF + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
	15	6,0 L AM + 1,0 L ADIF + 150 L H <sub>2</sub> O ha <sup>-1</sup>
AB	16	150 L AB ha <sup>-1</sup>

Tabela 1. Tratamentos dos ensaios com cultivo de soja e milho.

**Dados:** [ADIF] = adjuvante de infiltração; [ADRT] = adjuvante de retenção; [AM] = ativador de microrganismos; [AB] = adubo biológico.

## 2.1 Análise agronômica das plantas

Foram realizadas pesagem da massa fresca e seca da raiz e parte aérea e determinação do volume da raiz. Após a pesagem da massa fresca, as plantas foram colocadas em saco de papel e levadas para estufa com circulação forçada a 60 °C até obtenção da peso constante.

## 2.2 Análise do solo (microbiológica e química)

A separação do solo foi manual e com cautela para que não houvesse perdas significativas de raízes. Assim, após a separação, as amostras foram colocadas em sacos plásticos e transportadas para o laboratório de Fertilidade do Solo da Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP, onde ficaram armazenadas em geladeiras, até a realização das análises microbiológicas. Estas foram peneiradas em peneiras com malha de 2 mm.

## 2.3 Determinação do carbono da biomassa microbiana (CBM) – Método de fumigação-extração

O procedimento de quantificação do carbono da biomassa microbiana, foi pelo método proposto por Vance; Brookes; Jenkinson (1987). Teores de carbono foram determinados a partir do método proposto por WALKLEY; BLACK (1934) modificado segundo TEDESCO et al. (1985).

## 2.4 Respiração Basal do Solo (RBS) e Quociente metabólico ( $qCO_2$ )

Dentre as análises, está a que quantifica atividade microbiana, está analisada com a determinação da respiração basal ( $C-CO_2$ ) com base no método proposto por JENKINSON; POWLSON (1976).

Conforme os resultados adquiridos através das análises de Carbono da Biomassa Microbiana (CBM) e do teor de Carbono Orgânico Total (COT) foi calculado o quociente metabólico ( $qCO_2$ ), conforme proposto por Anderson; Domsch (1993).

## 2.5 Determinação do carbono orgânico total (COT) e Quociente Microbiano ( $qMIC$ )

A determinação do COT foi realizada em combustão da matéria orgânica via úmida, com uso de 0,5 g de amostra, segundo WALKLEY; BLACK (1934), modificado por Tedesco et. al. (1985), sem aquecimento externo em chapa.

O quociente microbiano ( $qMIC$ ) foi determinado pela razão CBMS/COT. De acordo com Baretta et al. (2005) esta relação tem sido utilizada como indicador de qualidade da matéria orgânica presente no solo, esses valores expressam a eficiência da biomassa microbiana em utilizar o C desta matéria orgânica, solubilizando e mineralizando nutrientes para disponibilização das plantas. Valores maiores e menores a 1,8% expressam acúmulo ou perda de C respectivamente, ou seja, valores maiores o carbono está imobilizado na biomassa microbiana ficando indisponível e valores menores a matéria orgânica não está sendo degradada pelos microrganismos, ocorrendo perda por oxidação.

## 2.6 Determinação da colonização das raízes pelos Fungos Micorrízicos Arbusculares

A ocupação das raízes, sucedida pelos fungos foi estabelecida através de

amostras (raízes), com diâmetro menor que 2 mm, estas clarificadas com KOH 10%, acidificadas com HCl 0,1 N e após, as estruturas dos AM presente nas raízes, passaram por um processo de coloração, por meio de uma solução de tripano 0,05% de acordo com o método proposto por Phillips; Hayman (1970). O percentual de colonização foi estipulado pelo procedimento de intersecção de acordo com Mcgonigle; Evnas; Miller (1990), sendo possível assim, analisar as estruturas dos fungos (hifas asseptadas, arbúsculos e vesículas).

### 3 I RESULTADOS E DISCUSSÕES

O uso de adjuvante de infiltração (ADIF) na dose de 2,0 L na área total apresentou melhores resultados nos parâmetros microbiológicos e agrônômicos analisados, destacando um aumento significativo no carbono da biomassa microbiana (CBM) no solo de cultivo de ambas as culturas (Tabelas 2 e 4). Foi também observado, através do ( $qCO_2$ ), maior disponibilidade e degradação da matéria orgânica (M.O.) pelos microrganismos, que em porcentagem mostra a quantidade de dióxido de carbono liberado, e o quanto está sendo perdido, comparado com a testemunha e com o adubo biológico (Tabelas 2 e 4). O volume, o peso de raiz e a massa aérea, tanto na soja, quanto no milho, também apresentaram resultados mais relevantes, na maior dosagem 2,0 L em área total do ADIF (Tabelas 3 e 5).

No uso de adjuvante de retenção (ADRT) as doses 0,5 L e 2,0 L foram as que apresentaram os resultados microbiológicos mais satisfatórios na cultura do milho (Tabela 2) enquanto que na soja foi a dose 0,5 L (Tabela 4). Os dados coletados mostraram maior biomassa microbiana do solo (C-BMS), maior degradação da matéria orgânica, que levou a taxa de  $CO_2$  ser menor. Podendo considerar, que está dosagem não interferiu na metabolização dos componentes, ou seja, não causou perturbação ao ambiente, o que manifestou menos estresse ( $qCO_2$ ) na comunidade microbiana.

TRATAMENTO	C_BMS (mg C. Kg <sup>-1</sup> solo)	qMIC (%)	RBS (mg de C-CO <sub>2</sub> Kg <sup>-1</sup> . h <sup>-1</sup> )	qCO <sub>2</sub> (C_BMS / RBS)	Umidade	Micorriza (%)
Testemunha	61,13	0,49	0,35	6,45	1,24	70,80
1	96,65	0,72	0,27	2,69	1,16	64,00
2	92,21	0,65	0,44	4,78	1,19	59,60
3	136,97	1,16	0,40	3,39	1,24	63,80
4	86,88	0,67	0,56	6,53	1,21	56,80
5	131,11	0,93	0,32	2,54	1,24	40,40
6	107,91	0,80	0,59	5,09	1,22	44,40

7	26,33	0,18	0,24	8,95	1,20	38,40
8	60,23	0,46	0,37	6,26	1,22	51,60
9	72,52	0,52	0,48	6,93	1,21	43,20
10	124,03	0,90	0,55	4,61	1,31	37,20
11	48,09	0,37	0,32	6,84	1,24	77,60
12	55,15	0,42	0,51	9,46	1,40	66,00
13	116,59	0,88	0,39	3,16	1,24	73,60
14	88,38	0,58	0,51	5,77	1,23	63,60
15	94,27	0,76	0,07	0,76	1,17	63,60
16	142,57	0,98	0,50	3,48	1,20	58,40

Tabela 2. Resultados microbiológicos: carbono da biomassa microbiana do solo (C\_BMS); respiração basal do solo (RBS); quociente microbiano ( $qMIC$ ); quociente metabólico ( $qCO_2$ ) da cultura do milho.

Esses resultados foram comparados com a testemunha e com o adubo biológico. Os dados referentes ao ( $qCO_2$ ), quando elevados indicam que a biota do solo, está sofrendo alguma interferência em sua estabilidade, o que ocasiona situações de estresse na comunidade microbiana (ANDERSON; DOMSCH, 1993).

Os resultados se estabeleceram dentro do esperado, uma vez que todos os vasos foram mantidos constantemente em condição de campo (CC) a 60%, sendo esta, a capacidade ideal para a maioria dos vegetais, portanto, era esperado que a maior infiltração e menor retenção de água afetaria de maneira positiva o desenvolvimento da planta (Tabela 3 e 5).

Na cultura do milho, em condições ideais de água (60% CC), quanto maior é a concentração do produto AM, melhores foram os resultados dos parâmetros analisados da comunidade microbiana (Tabela 2) e análise agrônômica das plantas (Tabela 3). O único indicador microbiológico que oscilou foi a colonização micorrízica, que foi maior na concentração de 4,0 L. Levando em consideração, que a composição química e biológica do produto em teste é desconhecida.

No milho, o uso do adjuvante de retenção nas maiores concentrações, juntamente com AM, apresentou efeito deletérico nos parâmetros microbiológicos (Tabela 2) e no desenvolvimento da planta, quando em comparação com a menor dose, testemunha e adubo biológico (Tabela 3). Nenhuma das dosagens do adjuvante de infiltração apresentaram efeito negativo (Tabelas 2 e 3).

TRATAMENTO	RAIZ		AÉREA		RELAÇÃO RAIZ / PARTE AÉREA
	VOL (mL)	Peso (g)	P F (g)	P S (g)	
Testemunha	68,00	28,27	192,50	44,99	2,065
1	76,67	22,13	211,33	51,67	0,751
2	40,00	28,63	209,33	46,78	0,581
3	80,00	45,22	261,00	54,17	0,770
4	82,50	40,23	258,50	58,31	0,682
5	60,00	26,95	227,00	52,07	0,557
6	53,33	28,96	220,00	52,52	0,605
7	70,00	32,18	239,50	55,27	0,583
8	75,00	35,59	233,25	52,13	0,687
9	102,50	49,93	239,00	60,47	0,795
10	120,00	37,15	260,33	59,50	0,659
11	73,33	24,00	254,75	56,39	0,536
12	65,00	20,64	217,50	50,42	0,413
13	73,33	22,82	234,67	54,54	0,417
14	60,00	23,11	222,00	51,49	0,563
15	77,50	22,85	217,50	51,35	0,427
16	82,50	16,93	215,00	53,70	0,317

Tabela 3. Resultados agrônômicos: peso fresco (PF); peso seco (PS) da cultura do milho

Na cultura da soja, observamos exatamente o contrário, em condições ideais hídricas a dose intermediária (4,0 L) de AM aumentou a biomassa do solo, como consequência teve-se maior mineralização. Em relação a testemunha e a adubo biológico, a concentração 2,0 L aumentou a micorrização e apresentou menor nível de perturbação/estresse, na comunidade edáfica. Levando em consideração que a menor dosagem expôs resultados de C-BMS e  $qMIC$  satisfatórios dentro dos parâmetros analisados e comparados (Tabela 4). No desenvolvimento da planta, a que mais otimizou os quesitos agrônômicos foi a 2,0 L (Tabela 5).

Em condições de retenção de água, a comunidade microbiana do solo se favoreceu na dosagem (4,0 L) de AM, considerando que, a maior dosagem, também apresentou resultados satisfatórios comparados com os modelos propostos (testemunha e adubo biológico). Nas avaliações agrônômicas a maior concentração de AM, juntamente com ADRT, manteve os melhores resultados, sendo que o mesmo ocorreu com a maior concentração do ADIF em todos os parâmetros analisados.

TRATAMENTO	C_BMS (mg C. Kg <sup>-1</sup> solo)	qMIC (%)	RBS (mg de C-CO <sub>2</sub> Kg <sup>-1</sup> . h <sup>-1</sup> )	qCO <sub>2</sub> (C_BMS / RBS)	Umidade	Micorriza (%)
TESTEMUNHA	48,98	0,61	0,54	18,04	1,295	65,0
1	48,13	0,61	0,32	6,56	1,253	59,0
2	95,01	1,20	0,26	2,81	1,209	65,0
3	93,48	1,41	0,38	4,27	1,285	65,0
4	93,82	1,46	0,54	5,60	1,313	75,0
5	83,12	1,85	0,53	7,13	1,298	48,0
6	28,18	0,51	0,51	20,10	1,302	60,0
7	102,11	1,63	0,24	2,35	1,206	73,0
8	116,99	1,90	0,52	4,43	1,276	63,0
9	87,68	1,00	0,41	4,47	1,236	60,0
10	67,73	0,79	0,39	5,79	1,276	48,0
11	207,06	2,54	0,27	1,37	1,316	69,0
12	104,59	1,19	0,58	5,88	1,237	68,0
13	90,96	1,10	0,48	5,47	1,310	65,0
14	74,48	0,76	0,55	7,19	1,274	55,0
15	138,46	1,72	0,27	1,94	1,317	54,0
16	141,81	1,88	0,34	3,47	1,336	53,0

Tabela 4. Resultados microbiológicos: carbono da biomassa microbiana do solo (C\_BMS); respiração basal do solo (RBS); quociente microbiano (qMIC); quociente metabólico (qCO<sub>2</sub>) da cultura do soja.

TRATAMENTO	RAIZ		AÉREA		RELAÇÃO RAIZ / PARTE AÉREA
	VOL (mL)	Peso (g)	P F (g)	P S (g)	
Testemunha	82,00	16,67	124,23	42,40	0,395
1	54,67	19,37	137,62	42,05	0,451
2	63,50	13,01	137,94	44,63	0,292
3	87,00	19,57	152,81	40,82	0,530
4	95,00	17,10	163,39	40,97	0,374
5	76,00	13,41	135,77	39,17	0,343
6	63,67	13,27	148,54	40,43	0,370
7	102,00	20,08	163,97	46,90	0,431
8	79,67	15,97	158,36	46,23	0,371
9	78,33	14,47	145,14	43,73	0,342
10	83,00	12,73	154,52	41,43	0,374
11	92,67	17,83	157,78	58,95	0,464
12	104,00	27,49	170,28	47,02	0,562
13	96,00	20,11	154,61	41,45	0,480
14	96,33	22,87	154,85	43,10	0,571

15	121,67	24,89	170,69	46,73	0,505
16	117,33	24,63	165,27	47,80	0,471

Tabela 5 resultados agrônômicos: peso fresco (PF); peso seco (PS) da cultura da soja.

Na relação raiz/parte aérea, a aplicação dos produtos na cultura do milho provocou maior investimento de carbono na parte aérea, o que levou estas terem maior biomassa do que as raízes. Com o aumento na disponibilidade de nutrientes, não se torna necessário o elevado crescimento do sistema radicular para a melhor nutrição, pois os elementos estão disponíveis em grande quantidade. Isso influencia de forma direta o desenvolvimento das estruturas aéreas, como grãos, vagens, entre outros, conseqüentemente a produtividade. Já na cultura da soja, os resultados se mantiveram em relação a testemunha. O controle mostrou que a maior parte do investimento de carbono está sendo direcionado à parte aérea e que mesmo com a aplicação dos produtos em teste, os valores não se distanciaram da testemunha.

Rodrigues et al., (2011), observaram em condições microclimáticas em solo de Floresta Tropical úmida, maior crescimento populacional bacteriano, em período chuvoso, o que mostra que a pluviosidade tem participação fundamental no desenvolvimento bacteriano no solo.

Porém, considerando o experimento em questão, os dados foram expressos de maneira contraditória, onde as concentrações 0,5 ADRT e 2,0 ADIF, as que demonstraram melhores resultados, são as que proporcionam ao solo menor retenção e maior infiltração, ou seja, menor disponibilidade de água. O que traz evidências de que a água é importante no desenvolvimento da microbiota em geral, no entanto, a alta quantidade pode desequilibrar a comunidade. A microbiota edáfica é composta por uma rica biodiversidade, onde muitos dos microrganismos são aeróbicos e sofrem com o aumento da quantidade de água, que desencadeia diminuição na taxa de oxigenação.

Mas, deve-se considerar que o presente trabalho mostrou a dinâmica dos microrganismos, diante das diversas condições propostas pelos produtos aplicados, se diferenciando do experimento feito por Rodrigues et al. (2011) em condições ambientais naturais, nos diversos períodos do ano.

O presente estudo, foi de encontro a pesquisa de Souto et al. (2008), estudando a comunidade de fungos e bactérias edáficas no estado da Paraíba. Os autores encontraram maior população de fungos no período de menor pluviosidade, assemelhando-se do experimento com a soja e milho, onde as concentrações que proporcionaram menor quantidade de água, a colonização micorrízica apresentou os melhores resultados. De acordo com Souto et al. (2008), o aumento do suprimento hídrico pode reduzir ou contribuir na redução do fornecimento de O<sub>2</sub>, refletindo na

população de fungos. Ressaltando que Souto et al. (2008), conduziram o experimento em ambiente natural, porém com a aplicação de esterco, que também promove a retenção de água.

Zonta et al. (2009), em seu experimento com um produto hidroabsorvente (retém água), obteve bons resultados nos quesitos observados, referentes à estimativa da massa seca e fresca do sistema radicular e da parte aérea das plantas de café. Porém, a concentração que mais beneficiou a cultura, foi 9 gramas do produto, dose elevada, em relação as utilizadas no presente trabalho, com a cultura da soja e milho, onde os melhores resultados, foram em concentração do produto adjuvante, de 1/18 da dosagem usada no café. No entanto, tais dados, podem estar relacionados com a fisiologia das plantas em estudo, que no caso do café, espécie arbustiva, com raiz profunda e bem desenvolvida, grande superfície de contato e exsudação no solo.

A utilização de um polímero hidrofílico (retenção), na cultura do melão, mostrou que a irrigação com o produto possibilita maior teor de água no solo, o que favorece a produtividade do cultivar no estudo (BERNARDI; TAVARES; SCHMITZ, 2005). Tal estudo não se estabeleceu de forma paralela ao trabalho com a soja e milho, onde o produto retentor ADRT favoreceu e influenciou de maneira direta a comunidade microbiana, porém em dosagens que proporcionaram um meio com menor disponibilidade de  $H_2O$ , que conseqüentemente foi melhor no desenvolvimento dos vegetais. Tendo em vista, que se trata de plantas com fisiologia e anatomia distintas.

Segundo Hafle et al. (2008), em um trabalho com maracujá, a massa seca da parte aérea e raiz dos vegetais, apresentaram aumentos significativos, quando aplicado doses de um polímero retentor.

A inoculação de fungos micorrízicos e hidrogel, na cultura do tomate, mostrou resultados significativos, tanto na aplicação somente do hidrogel, quanto na combinação de hidrogel com o inóculo micorrízico, sendo que dentre os parâmetros analisados houve aumento na absorção de nutrientes, na produção da biomassa e na colonização micorrízica (FELIPE; RANFERE; LANGEN, 2003).

Tais fatos, podem estar associados a fisiologia e anatomia de ambas as culturas, visto que uma apresenta um sistema radicular intenso (fasciculado), com maior superfície de contato e grande exsudação no solo (milho) e a outra um sistema radicular de um eixo principal (pivotante) e menor exsudação, tendo em vista que, a colonização microbiana na rizosfera de planta é influenciada diretamente pelos exsudatos liberados por estas, de acordo com a fisiologia e disposição anatômica. Um fator que pode também se correlacionar aos resultados apresentados é a diversidade da comunidade microbiana que colonizam a rizosfera, ou a origem do produto AM adicionado.

Assim, podemos concluir que os adjuvantes ADRT e ADIF na presença ou ausência de AM, influenciam diretamente na disponibilidade de água no solo, promovendo incremento ou diminuição da microbiota do solo e consequentemente o desenvolvimento da planta.

## 4 | CONCLUSÃO

Os adjuvantes de retenção e infiltração apresentam grande influência no aumento da comunidade microbiana do solo e desenvolvimento da planta do milho e soja. O AM “Feed de Microrganismos” apresentou relação contrária nas culturas da soja e milho, na ausência e presença dos adjuvantes, fato importante pela diferença fisiológica e anatômica das plantas, no entanto, foi expressivamente significativo o aumento da comunidade microbiana e desenvolvimento das plantas em comparação a testemunha.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. **Indicadores biológicos de qualidade do solo.** Bioscience Journal, v. 23, n. 3, p.66-75, 2007.

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. **The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (*q*CO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils.** Soil Biology and Biochemistry, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

AZEVEDO, T. L.; BERTONHA, A.; GONÇALVES, A. C. A. **Uso de hidrogel na agricultura.** Revista do Programa de Ciências Agro-Ambientais, v. 1, n. 1, p. 23-31, 2002.

BARETTA, D.; SANTOS, J. C. P.; FIGUEIREDO, S. R.; KLAUBERG-FILHO, O. **Efeito do monocultivo de pinus e da queima do campo nativo em atributos biológicos do solo no Planalto Sul Catarinense.** Revista Brasileira Ciência do Solo, v. 29, p. 715-724, 2005.

BERNARDI, A. C. C.; TAVARES, S. R. L.; SCHMITZ, A. A. **Produção de meloeiro utilizando um polímero hidrofílico em diferentes frequências de irrigação em casa de vegetação.** Irriga, Botucatu, v. 10, n. 1, 2005.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos.** V. 5 – Safra 2017/18 n. 7 2018, 144 p.

CABRAL, L. C.; MODESTA, R. C. D. **Soja na Alimentação Humana.** Rio de Janeiro, EMBRAPA: Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar, 1981. 59 p.

CANÇADO, R. A. **Avaliação microbiológica e micotoxicológica de grãos de milho (*zea mays* Linné) e soja (*Glycine max.* (Linné) Merrill) provenientes de cultivo convencional das sementes naturais e geneticamente modificadas [Tese].** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2004, 148 p.

COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S. **Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em fritura.** Química Nova, v. 23, n. 4, p. 531-537, 2000.

FELIPE, T. S. I.; RANFERI, M. T.; LANGEN, C. C. **Endomicorriza e hidrogel en la nutrición mineral de jitomate (*Lycopersicon esculentum*).** [Tese]. Universidade Autónoma de Chapingo, 2003, 66 p.

GERVÁSIO, E. S.; FRIZZONE, J. A. **Caracterização físico-hídrica de um condicionador de solo e seus efeitos quando misturado a um substrato orgânico.** Irriga, Botucatu, v. 9, n. 2, p. 94-15, 2004.

HAFLE, O. M.; CRUZ, M. C. M.; RAMOS, J. D.; RAMOS, P. S.; SANTOS, V. A. **Produção de mudas de maracujazeiro-doce através da estaquia utilizando polímero hidrorretentor.** Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v. 3. n. 3, p. 232-236, 2008.

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. **The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass.** Soil Biology Biochemistry, v. 8, n. 3, p. 209-213, 1976.

MARQUES, T. A.; PINTO, L. E. V. **Energia de biomassa a partir da cana sob influência de hidrogel, cobertura vegetal e profundidade de plantio.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 17, n. 6, p. 680-685, 2013.

MCGONIGLE, T. P.; EVANS, D. G.; MILLER, M. H. **Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiments.** New Phytologist, v. 116, n. 4, p. 629-636, 1990.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. **Improved procedures for clearing roots and staining parasitic vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection.** Transactions of the British Mycological Society, v; 55, p. 158-161, 1970.

REZENDE, L. S. **Efeito da incorporação de polímeros hidroabsorventes na retenção de água de dois solos.** [Dissertação] (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós Graduação, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000, 85 p.

RODRIGUES, H. J. B.; SÁ, L. D. A.; RUIVO, M. L. P.; COSTA, A. C.; SILVA, R. B.; MOURA, Q. L.; MELLO, I. F. **Variabilidade quantitativa e população microbiana associada às condições microclimáticas observadas em solo de floresta tropical úmida.** Revista Brasileira de Meteorologia, v.26, n. 4, p. 629-638, 2011.

SANTOS, V. M.; MAIA, L. C. **Bioindicadores de qualidade do solo.** Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, Recife, v. 10, p.195-223, 2013.

SOUTO, P. C.; SOUTO, J. S.; MIRANDA, J. R. P. DE; SANTOS, R. V. DOS; ALVES, A. R. **Comunidade microbiana e mesofauna edáficas em solo sob caatinga no semi-árido da Paraíba.** Revista brasileira de ciência do solo, V-32, p.151-160, 2008.

TEDESCO, M. J; VOLKWEISS, S. J.; BOHENEN, H. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1985. (Boletim Técnico, 5).

TEIXEIRA, J. C. **Modernização da agricultura no Brasil: impactos econômicos, sociais e ambientais.** Revista Eletrônica da Associação dos Geógrafos Brasileiros Seção Três Lagoas, v. 2, n. 2, p. 21-42, 2005

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. **An extraction method for measuring soil microbial biomass C.** Soil Biology and Biochemistry, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987.

WALKLEY, A.; BLACK, I. A. **An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method.** Soil Science, v. 37, n. 1, p. 29-38, 1934.

ZONTA, H. J.; BRAUN, H.; REIS, E. F.; PAULUCIO, D.; ZONTA, J. B. **Influência de diferentes turnos de rega doses de hidroabsorventes no desenvolvimento inicial da cultura do café conillon (*coffea canephora pierre*).** Idesia, v. 27, n. 3, p. 29-34, 2009.

## UTILIZAÇÃO DA QUITOSANA NA CONSERVAÇÃO DA LARANJA (*Citrus sinensis*) NA PÓS-COLHEITA

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 17/07/2020

### João Pedro Silvestre Armani

Colégio Alfa Premium

Toledo – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/8893855310969053>

### Carlise Debastiani

União de Ensino Superior do Paraná (UESPAR)

Palotina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/2670121526356703>

### Alessandro Jefferson Sato

Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Palotina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/4488963530146292>

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi comparar o efeito protetor das diferentes soluções de quitosana (0,5 e 1,0%) em laranjas descascadas inteiras, partidas ao meio e em quatro pedaços com as soluções de ácido acético 2% e água destilada. Além disso, quantificar, sólidos solúveis totais, acidez, aparência e gosto das laranjas submetidas aos tratamentos com as diferentes soluções em diferentes dias de análise. Foram realizados 5 tratamentos com 4 repetições totalizando 160 laranjas. Os tratamentos foram dispostos da seguinte forma, para laranjas inteiras: T1 (controle - sem aplicação), T2 (aplicada água destilada), T3 (ácido acético 2%), T4 (quitosana 0,5%), T5 (quitosana 1,0%). Para laranjas cortadas ao meio, os tratamentos foram: T6 (Controle - sem aplicação), T7 (água

destilada), T8 (ácido acético 2%), T9 (quitosana 0,5%), T10 (quitosana 1,0%). Para as frutas partidas em quatro pedaços, os tratamentos foram: T11 (Controle - sem aplicação), T12 (água destilada), T13 (ácido acético 2%), T14 (quitosana 0,5%), T15 (quitosana 1,0%). O experimento foi mantido durante 30 dias no laboratório e a temperatura média foi de 25 °C. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05\%$ ). Concluiu-se que entre os tratamentos não houve diferença para acidez titulável, gosto e SST (sólidos solúveis totais), porém na aparência percebe-se uma larga diferença nas laranjas tratadas com quitosana a 0,5 e 1,0%. Estas apresentaram aparências melhores e tiveram maior durabilidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Laranja, Quitosana, Biofilme.

### USE OF CHITOSAN FOR CONSERVATION OF ORANGES (*Citrus sinensis*) IN POST- HARVEST

**ABSTRACT:** This study aimed to compare the protective effect of different concentrations of chitosan solutions (0.5 % and 1.0 %) on whole, split-in-two and split-in-four peeled off oranges with the solutions of acetic acid 2 % and distilled water. Besides, it aimed to quantify the soluble solids (SS), titratable acidity (TA), appearance and taste of the oranges which were submitted to the treatments with different solutions in different days of analyses. For this experiment, five treatments with 4 repetitions each were performed, totalizing 160 oranges. The evaluated

treatments were, for whole peeled oranges: T1 (tcontrol group), T2 (distilled water), T3 (acetic acid 2 %), T4 (chitosan 0.5 % solution) and T5 (chitosan 1.0 % solution). For the split-in-two oranges, the treatments were T6 (control group), T7 (distilled water), T8 (acetic acid 2 %), T9 (chitosan 0.5 %) and T10 (chitosan 1.0 %). For the split-in-four peeled oranges, the treatments were T11 (control group), T12 (distilled water), T13 (acetic acid 2 %), T14 (chitosan 0.5 %), T15 (chitosan 1.0%). The experiment was maintained for 30 days in the laboratory and the average temperature was 25 ° C. The obtained data were submitted to a variance analysis and the mean numbers were compared by the Tukey test ( $p < 0,05\%$ ). It was concluded that no significant differences for TA, taste and SS (soluble solids) were observed among the treatments, however, there was a significant difference in the appearance of oranges treated with chitosan 0.5 % and 1.0 %, which were better looking and had greater durability.

**KEYWORDS:** Orange, Chitosan, Biofilm.

## 1 | INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de laranjas (*Citrus sinensis*) do mundo, produzindo anualmente cerca de 18 milhões de toneladas da fruta (G1, 2019).

A safra 2019/2020 do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro é reestimada em 384,87 milhões de caixas, segundo a FUNDECITRUS (2020).

Já a safra de 2017/2018, alcançou um milhão de toneladas ou 24 milhões de caixas representando um crescimento de 33% sobre as 750 mil toneladas de 2016/2017. O Paraná é o terceiro maior produtor do Brasil, estando atrás de São Paulo e Minas Gerais. Essa prática emprega em torno de três mil pessoas no campo e gera R\$ 315 milhões em Valor Bruto da Produção (VBP), caracterizando 6% do total nacional (IAPAR (2017).

Ao escolher frutos para consumir, as pessoas sempre consideram, ao comprar, a qualidade dos mesmos. No que tange aos cítricos, a qualidade está relacionada a muitos fatores ligados às suas condições intrínsecas e às manipulações que ocorreram. A qualidade das frutas na colheita representa a “qualidade potencial”, sendo que a mesma poderá sofrer alterações, dependendo principalmente dos tratamentos que os alimentos receberão. É comum que, após a colheita até chegar ao local de compra no varejo, a qualidade sofra muitas perdas, ocasionando rejeições e prejuízos para todos os setores produtivos desse ciclo (POZZAN, 2004).

Os motivos que provocam as chamadas perdas pós-colheita podem ser catalogadas, segundo Chitarra e Chitarra (1990) são:

- a) fisiológicas – perdas consideradas inevitáveis e decorrentes dos fatores endógenos;

b) mecânicas – ferimentos ou amassamentos ocorridos nos frutos que irão provocar aumento nas taxas de respiração e de transpiração, incrementando as perdas fisiológicas;

c) microbiológicas – ataques por microorganismos; no caso dos citros, fungos que atuam na pré e pós-colheita são, certamente, uma das maiores causas de perdas; também injúrias mecânicas e ataques de pragas aumentam a predisposição dos frutos aos microorganismos.

Acresce-se aos problemas da pós-colheita os referentes a aparência dos frutos, visto que para o consumidor tem um peso grande na hora da sua escolha, podendo ser mais importante que suas características organolépticas (AZEVEDO, 2007).

No trabalho de Souza *et al.* (2008), apresenta-se que o aspecto considerado mais importante em seu experimento foi a qualidade (aparência, sabor, aspectos nutricionais e durabilidade das frutas, legumes e verduras.

Atualmente, é preciso realizar a conservação de produtos alimentícios, principalmente de frutos e seus subprodutos, e assim observa-se sensível impacto sobre a disponibilidade deles ao longo do tempo, ao serem minimamente processados (RESENDE, 2017). A presença de fungos e de sua atividade metabólica é identificada como uma das principais causas biológicas primárias de perdas de produtos perecíveis de origem vegetal (CANELLA, 2001).

Os Sólidos Solúveis Totais (SST) são compostos solúveis em água que estão presentes nos frutos como, por exemplo, açúcares, vitaminas, aminoácidos e pectinas. O teor de SST depende do nível de maturação em que a fruta foi colhida e comumente cresce ao longo da maturação por intermédio de processos biossintéticos ou pela degradação de polissacarídeos (CHITARRA, CHITARRA, 1990).

A acidez titulável de um fruto se dá através da presença de ácidos orgânicos. Conforme Brody (1996), o teor dos ácidos citados normalmente diminui durante o processo de maturação por causa da oxidação dos ácidos no ciclo dos ácidos tricarbóxicos devido à respiração, assim faz-se fundamental a síntese de lipídios, compostos fenólicos e aromas voláteis, como afirma Chitarra (2005). Logo, a variação do Teor de Acidez indica a etapa de maturação do fruto, já que esse teor diminui de acordo com o avanço do amadurecimento.

Os principais substratos da respiração são ácidos orgânicos, açúcares e lipídeos que foram reunidos no decorrer do desenvolvimento (HOBSON *et al.* 1993). No decurso da respiração os mesmos são oxidados em moléculas mais simples ( $\text{CO}_2$  e  $\text{O}_2$ ), com produção de energia e esqueleto carbônico que podem ser utilizados em reações de síntese. A energia liberada encontra-se em forma de ATP e calor (WILLS *et al.* 1998). A respiração acarreta modificações no fruto, levando ao apodrecimento (WILLS *et al.*, 1981).

O controle químico atualmente se constitui como a principal forma de controlar a amenização da incidência de doenças pós-colheita provocadas por fungos em frutos e em seus derivados, os quais promovem uma considerável perda desses produtos antes mesmo de chegar ao consumidor. A enorme utilização de fungicidas sintéticos nesses produtos apresenta significativas desvantagens, como os perigos para os que entram em contato como o alimento, elevação do custo da produção, preocupação referente aos resíduos que podem permanecer nos produtos, ameaça à saúde pública e ao meio ambiente (RESENDE, 2017).

Inúmeras pesquisas apresentam que há muita contaminação de recursos hídricos por defensivos agrícolas, assim ocasionando a morte de diversas espécies da fauna e flora que estão em contato com essas águas. Além de que, parte dos agrotóxicos utilizados se acumula no organismo humano, inclusive no leite materno. O consumo do leite contaminado pode ocasionar problemas à saúde dos recém-nascidos, devido ao fato de possuírem maior susceptibilidade à exposição a agentes químicos presentes no ambiente (ABRASCO, 2015).

A quitosana tem uma ampla aplicabilidade na área biomédica, pois além de ser facilmente moldadas em várias formas, pode ser biodegradada pela lisozima, uma enzima presente no corpo humano. Esse biopolímero tem demonstrado ser eficaz como analgésico no tratamento de feridas abertas e ao ser associado a fármacos analgésicos e a anti-inflamatórios, melhora a biodisponibilidade e a atividade analgésica destes medicamentos (LARANJEIRA E FÁVERE, 2009).

Na indústria alimentícia, a quitosana possui um amplo espectro de possíveis aplicações, como a produção de filmes biodegradáveis (biomembranas), a reutilização de subprodutos, a purificação de água, a clarificação de sucos de frutas, a encapsulação de aromas, a atuação como agente antioxidante, emulsificante e estabilizante, podendo-se observar sua eficácia quanto à preservação da qualidade microbiológica dos alimentos (ARNAUD *et al.*, 2017). Desta forma, utilizar a quitosana é um bom recurso para evitar o espectro de possíveis problemas acima citados.

## 2 | OBJETIVO DA PESQUISA

- Comparar o efeito protetor das diferentes soluções de quitosana (0,5 e 1,0%) em laranjas descascadas inteiras e laranjas descascadas e partidas em quatro pedaços com as soluções de ácido acético 2% e água destilada.

## 3 | QUESTÃO PROBLEMA

- É possível utilizar a quitosana na conservação da laranja na pós-colheita?

- Qual das concentrações utilizadas possui melhor efeito?
- Existe diferença no retardo do amadurecimento das laranjas descascadas e partidas em quatro pedaços quando tratadas com quitosana e com as demais soluções?

#### 4 | HIPÓTESES DA PESQUISA

- A quitosana pode ser utilizada na conservação da laranja na pós-colheita;
- Existe uma concentração ideal que funciona como potencial biofilme na conservação da laranja na pós-colheita;
- Laranjas descascadas e tratadas com quitosana possuem uma durabilidade maior do que laranjas descascadas e partidas em quatro pedaços.

#### 5 | DESCRIÇÃO DE MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada neste trabalho foi quali-quantitativa onde o conhecimento é objetivo e quantificável, de modo que o mesmo é obtido, em geral, por intermédio da realização de pesquisas científicas do tipo experimental. Destarte, a realidade objetiva existencial concreta é estável, observável e mensurável, compreendendo-se que:

[...] num estudo quantitativo o pesquisador conduz seu trabalho a partir de um plano estabelecido *a priori*, com hipóteses claramente especificadas e variáveis operacionalmente definidas. Preocupa-se com a mediação objetiva e a quantificação dos resultados. Busca a precisão, evitando distorções na etapa de análise e interpretação dos dados, garantindo assim uma margem de segurança em relação às inferências obtidas. (GODOY, 1995, p.58)

Assim, entende-se que na perspectiva quali-quantitativa de pesquisa científica, a explicação da realidade concreta somente ocorre ao ser feita por equipamentos padronizados, neutros, tornando possível, generalizações com precisão e objetividade, a qual priorize a busca de técnicas de controle sobre a natureza, mais do que seu conhecimento e compreensão (BORGES E DALBÉRIO, 2007, P. 4).

Vale ressaltar que além dos experimentos foram realizadas inúmeras pesquisas bibliográficas com objetivo de conhecimento prévio sobre o assunto e pesquisas que já foram desenvolvidas nesta área.

Para o preparo as soluções de quitosana (0,5 e 1,0%), foram adicionadas em um mixer água destilada, ácido acético 2% e o percentual de quitosana, e assim foi

deixado em temperatura ambiente por 24 horas no laboratório de Química da UFPR – Setor Palotina.

A experimentação foi desenvolvida no laboratório de Ciências do Colégio e os tratamentos e controle foram dispostos a fim de comparar o resultado de um com o outro. A disposição das réplicas ocorreu de modo não casualizado, a fim de garantir resultados mais exatos e precisos.

As laranjas utilizadas no experimento foram agroecológicas, produzidas no município de Iporã-Paraná, com latitude 16° 26' 29" Sul e longitude 51° 7' 11" Oeste. Os frutos foram todos descascados, pois a casca dos mesmos já é uma proteção natural, assim descascaram-nas para evidenciar o efeito conservante ou não das soluções. Porém elas estavam divididas em três variáveis: frutas inteiras, partidas ao meio e em quatro pedaços. Realizaram-se cinco tratamentos com quatro repetições cada, totalizando 160 laranjas, as quais foram ou não imersas nas soluções. A temperatura média do laboratório foi de 25 °C.

Os tratamentos foram dispostos da seguinte forma:

*Laranjas descascadas inteiras:*

- T1- Controle (Sem aplicação)
- T2- Água destilada
- T3- Ácido acético 2%
- T4- Quitosana 0,5%
- T5- Quitosana 1,0%

*Laranjas descascadas cortadas ao meio:*

- T6- Controle (Sem aplicação)
- T7- Água destilada
- T8- Ácido acético 2%
- T9 - Quitosana 0,5%
- T10- Quitosana 1,0%

*Laranjas descascadas cortadas em quatro pedaços:*

- T11- Controle (Sem aplicação)
- T12- Água destilada

- T13- Ácido acético 2%
- T14- Quitosana 0,5%
- T15- Quitosana 1,0%



Figura 1 – Disposição das laranjas para o experimento, onde respectivamente estão, as laranjas apenas descascadas, descascadas e partidas ao meio, e laranjas descascadas e cortadas em quatro pedaços.

Fonte: Os autores (2017).

Foram realizadas duas análises, uma a cada quinze dias, pois como as laranjas foram descascadas, possuem uma durabilidade menor. Nestas avaliações, foram comparadas a aparência, o gosto, a quantidade de açúcar (SST) e a acidez titulável dos frutos.

A aparência dos frutos, assim como o gosto, foi avaliada através de três voluntários que realizaram a prova e a análise do espectro das frutas em questão. O teor de SST foi quantificado com o auxílio de um refratômetro de Brix de campo e a acidez titulável, por meio da titulação das laranjas.

A partir dos dados coletados foi realizado um teste de comparação de médias e foi aplicado o Teste de Tukey ( $p > 0,05$ ), o qual indica em qual (is) tratamentos houve (ram) a diferença se a mesma existir. Após a realização da análise estatística, os dados foram inseridos em tabelas e gráficos para melhor visualização dos resultados.

## 6 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que não houve diferença estatística para o teor de sólidos solúveis, acidez titulável e sabor na primeira avaliação. No entanto, para a aparência (Tabela 01) houve diferença para a laranja dividida em quatro pedaços, sendo que as soluções feitas com quitosana apresentaram menor média, diferente do que afirmam Chitarra & Chitarra (2005), ou seja, que a quitosana auxilia na conservação de frutas e hortaliças. Em mangas a aplicação de quitosana promoveu redução do

processo maturação, o que deve ao fato de ocorrer uma diminuição na difusão de oxigênio e, como consequência, a redução no índice de respiração (CHITARRA E CHITARRA, 2005).

Aparência 1ª Avaliação	Inteira	Meia	¼
Testemunha	8,5 Aa	9,0 Aa	7,0 Ba
Água destilada	8,5 Aa	9,0 Aa	7,0 Ba
Ácido acético	7,8 Aab	8,0 Ab	7,0 Ba
Quitosana 0,5%	7,5 Bb	9,0 Aa	6,0 Cb
Quitosana 1,0%	8,0 Bab	9,0 Aa	6,0 Cb

Tabela 01 – Aparência de laranjas (inteiras, partidas ao meio e em quatro pedaços) aos 15 dias de experimento após a aplicação de diferentes revestimentos. Palotina, PR.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não variam entre si de acordo com teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Os autores (2017).

De acordo com a tabela abaixo, observou-se diferença para as aparências, porém não houve diferença estatística para açúcar e gosto na segunda avaliação.

Na segunda avaliação de aparência (Tabela 02) houve diferença estatística entre os tratamentos, no qual o melhor resultado foi observado para os frutos inteiros com quitosana a 0,5%. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), a aplicação da quitosana pode reduzir a respiração dos tecidos vegetais o que leva à maior durabilidade das laranjas, principalmente daquelas que foram mantidas inteiras, pois desta forma, não houve qualquer tipo de dano físico nas mesmas. A quitosana a 1% pode ter gerado uma camada muito espessa de cobertura o que pode ter reduzido excessivamente a respiração da laranja inteira levando assim à maior degradação dos frutos. Os tratamentos com meia laranja e quitosana a 0,5% também se destacaram sendo o melhor entre todos, seguido pelo de quitosana a 1,0% e ácido acético. A aparência obtida foi similar à da laranja inteira.

Para a laranja dividida em quatro partes, a testemunha e a água destilada houve apodrecimento dos frutos, antes mesmo da segunda avaliação de aparência, assim foi possível observar a importância da cobertura comestível para frutas minimamente processadas, para maior durabilidade e aparência. O melhor resultado de aparência foi com a quitosana a 1,0% (TABELA 02), pois pode ser que por se tratar de “pedaços danificados” a quitosana a 1,0% promoveu o preenchimento

parcial dessas aberturas presentes no tecido dermal, minimizando significativamente a transferência de umidade (transpiração) e as trocas gasosas (respiração), o que diminui a velocidade de maturação, de acordo com ASSIS (2014).

Visto que o processo de maturação dos frutos está diretamente relacionado a um acréscimo na produção de etileno e, considerando-se que para essa produção é necessário oxigênio (O<sub>2</sub>) exógeno, a atenuação da permeação de O<sub>2</sub> para o interior da fruta acarretará uma redução na produção de etileno (Watada e Qi, 1999), o que permite, em princípio, prolongar a shelf life dos frutos. Onde isso não ocorreu em laranja inteiro por não ter esses cortes.

Aparência 2ª Avaliação	Inteira	Meia	¼
Testemunha	5,0 Ab	5,5 Abc	0 Bc
Água destilada	5,0 Ab	4,5 Ac	0 Bc
Ácido acético	5,5 Bb	6,5 Aab	3,5 Cb
Quitosana 0,5%	7,0 Aa	7,0 Aa	4,5 Bab
Quitosana 1,0%	5,0 Ba	6,8 Aab	5,8 Abb

Tabela 02 – Tabela 01 – Aparência de laranjas (inteiras, partidas ao meio e em quatro pedaços) aos 30 dias de experimento após a aplicação de diferentes revestimentos. Palotina, PR.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não variam entre si de acordo com teste de Tukey (p<0,05).

Fonte: Os autores (2017).

Segundo estudo feito pela Faculdade de Saúde Pública (FSP) da USP, parâmetros estéticos e sensoriais são um dos principais requisitos considerados por consumidores no momento em que ponderam a segurança de alimentos (ZH, 2010).

Apesar de existir diferença estatística apenas na segunda análise de aparência, foi possível observar a variação neste aspecto entre os tratamentos e o tipo de corte nas laranjas (FIGURA 02).



Figura 02 – Laranjas inteiras (A), seccionadas ao meio (B) e seccionadas em quatro partes (C) e submetidas a diferentes tipos de revestimentos.

Fonte: Os autores (2017).

Na segunda avaliação a acidez obteve-se diferença somente quanto ao tamanho da laranja, sendo superior nas laranjas inteiras (TABELA 03).

Acidez 2ª Avaliação	Inteira	Meia	¾
	0,51 ab	0,53 a	0,46 c

Tabela 03 – Médias de acidez titulável dos frutos na segunda análise realizada (após 30 dias da aplicação das soluções). Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não variam entre si de acordo com teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não variam entre si de acordo com teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Fonte: Os autores (2017).

O teor de sólidos solúveis é utilizado como um parâmetro indireto do teor de açúcares, assim como estão incluídos outros componentes que se encontram no suco celular dos frutos, a exemplo de fenólicos, vitaminas, pectinas, ácidos orgânicos, dentre outros (CHITARRA E CHITARRA, 2005).

De acordo com Souza Júnior (2016), esse teor, normalmente, aumenta com o amadurecimento das frutas através de processos biossintéticos ou por meio da degradação de polissacarídeos, quando há conversão de amido em açúcares.

Outro fator que contribui para o aumento no teor dos SST ao longo do amadurecimento é a perda de massa fresca, o que faz com que os sólidos fiquem mais concentrados no suco (GONÇALVES, 2014). O teor de açúcares na polpa do fruto pode diminuir após um período prolongado de armazenamento, caso o consumo de açúcares como substrato no processo respiratório seja superior aos processos de degradação de polissacarídeos.

Não se obteve diferença estatística entre os tratamentos para SST, porém o

melhor resultado foi com o ácido acético (Figura 03) e a laranja dividida em quatro pedaços (Figura 04), devido a seu amadurecimento e degradação ser mais rápida, podendo verificar isso na aparência 02, onde obteve diferença estatística, sendo uma das aparências menos agradáveis.

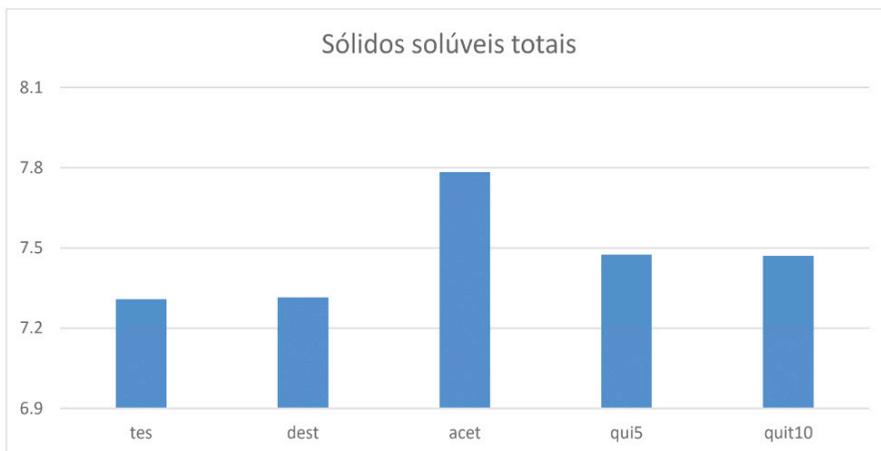


Figura 03 – Teor de sólidos solúveis (°Brix) de laranjas submetidas ao tratamento com diferentes revestimentos.

\*tes: testemunha, dest: tratamento com água destilada, acet: tratamento com ácido acético, qui5: tratamento com quitosana a 0,5% e quit10: tratamento com quitosana a 1,0%.

Fonte: Os autores (2017).

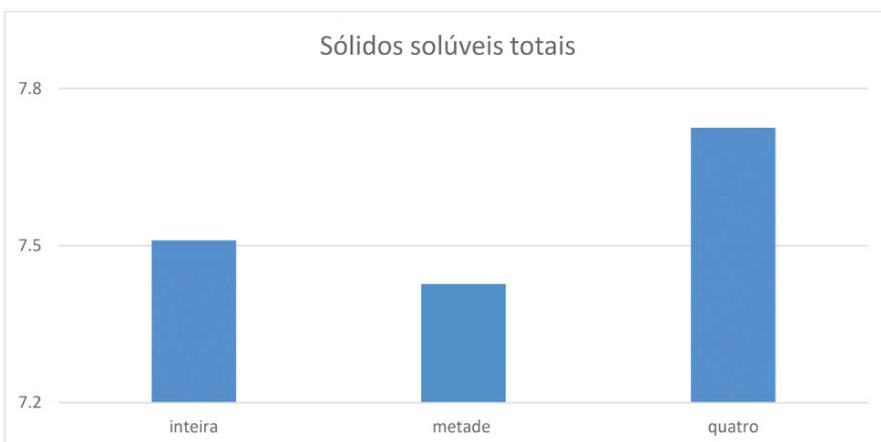


Figura 04 – Teor de sólidos solúveis (°Brix) em laranjas inteiras, partidas ao meio e em quatro pedaços e submetida a diferentes tratamentos de revestimento.

Fonte: Os autores (2017)

A acidez titulável não se mostrou estatisticamente diferente entre os tratamentos. Porém foi superior no tratamento com ácido acético (Figura 05), e na laranja inteira (Figura 06), a qual pelo fato de não estar cortada pode ter apresentado uma degradação de açúcares mais lenta, o que também retardou seu amadurecimento.



Figura 05 - Acidez titulável (% ácido de cítrico).

\*tes: testemunha, dest: tratamento com água destilada, acet: tratamento com ácido acético, qui5: tratamento com quitosana a 0,5% e quit10: tratamento com quitosana a 1,0%.

Fonte: Os autores (2017).

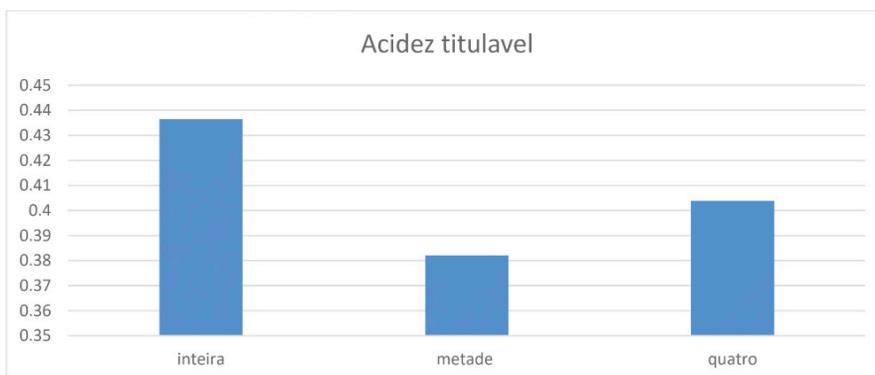


Figura 06 - Acidez titulável (% de ácido cítrico) em laranjas inteiras, partidas ao meio e em quatro pedaços e submetida a diferentes tratamentos de revestimento.

Fonte: Os autores (2017).

## 7 | CONCLUSÕES

Para o consumidor a aparência é um dos principais indicativos que o alimento possui boa qualidade e é seguro. Entre os tratamentos não houve diferença para acidez titulável e SST, porém quanto à aparência das laranjas houve diferença, destacando-se os tratamentos com quitosana a 0,5 e 1,0%. Desta forma, os resultados da utilização da quitosana para a conservação de frutos destacam este polímero como uma potencial alternativa sustentável à cadeia produtiva da laranja, sendo imprescindíveis mais estudos em pequena, média e grande escala.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, V.R **Aplicação de revestimento comestível à base de quitosana em brócolis minimamente processado** ( Trabalho de conclusão de curso) Campo Mourão, 2015.

ARNAUD, Thatiana Montenegro Stamford; STAMFORD, Thayza Christina Montenegro; STAMFORD, Tânia Lúcia Montenegro; STAMFORD, Newton Pereira; “Produção, propriedades e aplicações da quitosana na agricultura e em alimentos”, p. 503 -528. In: **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol. 4**. São Paulo: Blucher, 2017.

ASSIS, O.B.G; BRITTO, D. **Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações**. Campinas, v. 17, n. 2, p. 87-97, abr./jun. 2014.

AZEVEDO VVC, CHAVES SA, BEZERRA DC, LIA FOOK MV, COSTA ACFM. **Quitina e Quitosana: Aplicações como biomateriais**. Rev. Eletron Mater Proces. 2007;2:27-34

BORGES, Maria C.; DALBERIO, Osvaldo. Aspectos metodológicos e filosóficos que orientam as pesquisas em educação. **Revista Iberoamericana de Educación**, n. 43, p. 1-10, jul. 2007.

BRODY, A.L. **Envasado de alimentos** en atmosferas controladas, modificadas y a vacío. Zaragoza: Acribia, 1996. 220p.

CANELLA KMNC, GARCIA RB. **Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel – influência do método de preparação e do solvente**. Química Nova. 2001;24:13-7.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320p.

CARNEIRO FF, Rigotto RM, Augusto LGS, Friedrich K, Búrigo AC, organizadores. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV, São Paulo: Expressão Popular, 2015.

COOPERCITRUS. **Na laranja, permanece quem tem vocação**. Disponível em: <http://www.coopercitrus.com.br/index.php?pag=revista&p=materia&codigo=6634>. Acesso em: 14 jul. 2020.

FUNDECITRUS. **Safra de laranja 2019/20 em SP e MG é reestimada em 384,87 milhões de caixas**. Disponível em: <https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/safra-de-laranja-201920-em-sp-e-mg-e-reestimada-em-38487-milhoes-de-caixas/893>. Acesso em: 17 jul. 2020.

GODOY, A. S. **Introdução à pesquisa qualitativa e suas possibilidades**. In: Revista de Administração de Empresas. São Paulo: EDUSP, v.35, n.2, p.57-63, mar./abr., 1995.

GONÇALVES, B. J. **Monitoração por termografia infravermelha da qualidade pós-colheita de goiabas armazenadas sob refrigeração**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Lavras, MG: UFLA, 2014. 125p.

G1. **Paraná é o terceiro maior produtor de laranja do Brasil**. Disponível em: <https://g1.globo.com/pr/parana/caminhos-do-campo/noticia/2020/02/16/parana-e-o-terceiro-maior-produtor-de-laranja-do-brasil.ghtml>. Acesso em: 14 jul. 2020.

HOBSON, G. E.; GRIERSON, D. Tomato. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (Ed.). **Biochemistry of fruits ripening**. London: Champman & Hall, 1993. Cap.13, p. 405-442.

IAPAR. **Safra de laranja deve crescer 33% no Paraná**. Disponível em: <http://www.iapar.br/2017/06/2178/Safra-de-laranja-deve-crescer-33-no-Parana.html>. Acesso em: 15 ago. 2017.

LARANJEIRA, M. C. M; FÁVERE, V. T. D. Qitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Revista Química Nova**, São Paulo - SP, v. 32, n. 3, p. 672- 678, abr./2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n3/a11v32n3.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2020.

POZZAN, Marcos. Problemas fitossanitários e de resíduo de agrotóxicos na pós-colheita de citros. **Visão Agrícola**, São Paulo, v. 2, n. 4, p. 117-122, dez./2004. Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va02-praticas-associadas04.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2020.

PROFESSORNEWS. **Pesquisas científicas de abordagem quali-quantitativa: o impasse dos intelectuais**. Disponível em: <https://www.professornews.com.br/index.php/component/content/article/96-artigos/6041-pesquisas-cientificas-de-abordagem-quali-quantitativa-o-impasse-dos-intelectuais>. Acesso em: 14 jul. 2020.

RESENDE, Rodrigo R. **Biotecnologia aplicada à agro&indústria: fundamentos e aplicações**. Editora Blucher, 2017.

SOUZA, Renato Santos de et al. . Comportamento de compra dos consumidores de frutas, legumes e verduras na região central do Rio Grande do Sul. **Cienc. Rural**, Santa Maria , v. 38, n. 2, p. 511-517, Apr. 2008 . Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782008000200034&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000200034&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 14 Jul. 2020.

SOUZA JÚNIOR, José Carlos Azevedo de. **Avaliação das características físico-químicas do umbu (*Spondias tuberosa*) com aplicação de revestimento comestível a base de goma arábica.** 2016.

WATADA, A. E.; QI, L. **Quality of fresh-cut produce.** Postharvest Biology and Technology, Amsterdam, v. 15, n. 3, 201-205, 1999.

WILLS, R.; McGLASSON, B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. **Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales.** Trad. de J.B. Gonzáles. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1998. 240p.

WILLS, R.H.H.; LEE, T.H.; GRAHAM, W.B.; HALL, E.G. **Postharvest an introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables.** Kensington: New South Wales University Press, 1981, 161p.

ZH. **Para consumidores, aparência é um dos principais indicativos de que um alimento é seguro.** Disponível em: <https://gauchazh.clicrbs.com.br/comportamento/noticia/2010/08/para-consumidores-aparencia-e-um-dos-principais-indicativos-de-que-um-alimento-e-seguro-3024236.html> . Acesso em: 15 ago.2017.

# CAPÍTULO 11

## PHYSIOLOGICAL QUALITY AND INCIDENCE OF *Colletotrichum lindemuthianum* ON GERMINATION AND VIGOR OF COMMON BEAN SEEDS COLLECTED AT MATO GROSSO

Data de aceite: 01/09/2020

### **Raphael Felipin-Azevedo**

Universidade do Estado de Mato Grosso  
Cáceres – Mato Grosso  
<http://lattes.cnpq.br/4478780017449638>

### **Murilo Fuentes Pelloso**

Universidade Estadual de Maringá  
Maringá – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/0926959399074057>

### **Valnery Pereira da Silva**

Universidade do Estado de Mato Grosso  
Cáceres – Mato Grosso  
<http://lattes.cnpq.br/4699841326689779>

### **Germano Manente Neto**

Centro Universitário de Várzea Grande  
Várzea Grande – Mato Grosso  
<http://lattes.cnpq.br/6324658146811425>

### **Abner Pais dos Santos**

Universidade Estadual de Maringá  
Maringá – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/7521766509143293>

### **Marco Antonio Aparecido Barelli**

Universidade do Estado de Mato Grosso  
Cáceres – Mato Grosso  
<http://lattes.cnpq.br/3692696368567512>

### **Cristiani Santos Bernini**

Universidade do Estado de Mato Grosso  
Cáceres – Mato Grosso  
<http://lattes.cnpq.br/0737899820088445>

**ABSTRACT:** Common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) is a crop of great economic and social importance for several countries, especially Brazil, however, average Brazilian productivity is low due to several factors, especially diseases, including anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) is considered one of the most severe, especially if infected seeds are used in planting, the main form of dissemination of the agent over long distances. This research aimed to evaluate possible differences in the germination and vigor of seeds of different common bean cultivars infected or not by *Colletotrichum lindemuthianum* casual agent of Anthracnose. Five common bean cultivars collected in the State of Mato Grosso (Pérola, Branquinho, Pitoco Com Rama, Pitoco Sem Rama and BRS Esplendor) were used, separated into lots of contaminated and healthy seeds. The experiment was conducted at the Seed Laboratory of the Research and Biotechnology Nucleus (Nupagri) - UEM, in a 5x2 factorial scheme (5 cultivars x 2 conditions) with 4 repetitions of 25 seeds for each cultivar in the 2 conditions (with and without anthracnose) in a germinator regulated at a constant temperature of 25° C. The counts were performed on the 5th and 9th days after installation. There was a significant difference in germination between healthy and diseased seeds for all variables analyzed, which were% germination, vigor, health and non-germinated seeds. For all analyzes, healthy seeds showed better results.

**KEYWORDS:** Anthracnose, Seeds, *Phaseolus vulgaris* L., RAS.

## QUALIDADE FISIOLÓGICA E INCIDÊNCIA DE *Colletotrichum lindemuthianum* NA GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES DE FEIJÃO COMUM COLETADAS NO MATO GROSSO

**RESUMO:** O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma cultura de grande importância econômica e social para diversos países, especialmente o Brasil, entretanto, a produtividade média brasileira é baixa devido a diversos fatores, especialmente às doenças, dentre elas a antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) é considerada uma das mais severas, principalmente se forem utilizadas sementes infectadas no plantio, principal forma de disseminação do agente a longas distâncias. A presente pesquisa teve como objetivo avaliar possíveis diferenças na germinação e vigor de sementes de diferentes cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) infectadas ou não por *Colletotrichum lindemuthianum* agente casual da Antracnose. Foram utilizadas 5 cultivares de feijão comum coletadas no Estado do Mato Grosso (Pérola, Branquinho, Pitoco Com Rama, Pitoco Sem Rama e BRS Esplendor), separadas em lotes de sementes contaminadas e sadias. O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes do Núcleo de Pesquisa e Biotecnologia (Nupagri) – UEM, em esquema fatorial 5x2 (5 cultivares x 2 condições) com 4 repetições de 25 sementes para cada uma das cultivares nas 2 condições (com e sem antracnose) em germinador regulado à temperatura constante de 25° C. As contagens foram realizadas nos 5° e 9° dias após a instalação. Houve diferença significativa na germinação entre as sementes sadias e doentes para todas as variáveis analisadas, sendo elas % de germinação, vigor, sanidade e sementes não germinadas. Para todas as análises as sementes sadias apresentaram melhores resultados.

**PALAVRAS - CHAVE:** Antracnose, Sementes, *Phaseolus vulgaris* L., RAS.

### 1 | INTRODUCTION

Common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) is a crop of great economic and social importance for several countries, especially Brazil, which is the world's largest producer and consumer of beans (PAULA JÚNIOR et al., 2008), however, productivity Brazilian average is low due to several factors, especially the diseases that interfere in the cultivation of this fabaceae (PEREIRA et al., 2004).

Among the several diseases that affect common bean culture in Brazil, the anthracnose *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. And Magnus) Lams stands out. - Scrib being considered one of the most severe, especially in regions with mild temperatures, with high relative humidity (MARINGONI e BARROS, 2002; REY et al., 2009). Anthracnose can cause losses of up to 100% in crops, especially if infected seeds are used in planting, the main form of dissemination of the agent over long distances (VIEIRA, 1988; VECHIATO et al., 2001), because it reduces grain production and quality (CHIORATO et al., 2006).

Infected seeds may be responsible for the fall in their germinative power and vigor and cause their deterioration in warehouses, reduce the stand in the field,

introduce pathogens in new areas, besides efficiently distributing initial sources of infection in the crop (MACHADO, 1988). The pathogen may also have its inoculum increased, in areas already contaminated, by consecutive planting of infected seeds (VECHIATO et al., 1997; SARTORI et al., 2004).

Despite the evident risk regarding losses caused by contaminated seeds, the presence of the pathogen in the seed does not guarantee that it will be transmitted to the plant after it has germinated, which is justified by the fact that several other factors influence this possible transmission, such as the amount of inoculum, edaphoclimatic conditions and the survival time of the pathogen in the seed (SARTORATO e RAVA, 2000; RAVA et al., 2002).

The health test carried out on seeds is of paramount importance, as it provides information on the levels of incidence of the pathogen that can be used in making decisions about the control method to be used, such as the possible condemnation of a lot of seeds (BRASIL, 2009), that is, it determines the sanitary conditions of the lot.

The physiological quality of the seed is evaluated mainly by the germination test that determines the maximum germination of the seed, when the conditions are extremely favorable (POPINIGIS, 1985). According to Krzyzanowski et al. (1993), the use of seeds of good physiological quality is a key factor in establishing the crop.

In this context, this research aimed to evaluate possible differences in the germination and vigor of seeds of different common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) infected or not by *Colletotrichum lindemuthianum* casual agent of Anthracnose.

## 2 | MATERIAL AND METHODS

The experiment was conducted at the Seed Laboratory of the Agricultural Research Center (NUPAGRI) - UEM, in the city of Maringá - PR. Initially seeds of five common bean cultivars were collected in the state of Mato Grosso, four cultivars of the carioca type and one of the black type, with samples containing healthy seeds and infected with the fungus *C. lindemuthianum*, which causes anthracnose, thus forming 10 treatments in a 5x2 factorial scheme (5 cultivars x 2 conditions) with 4 replicates each (Table 1). The seeds were stored separately to avoid contamination.

TREATMENT	CULTIVARS	CONDITION
T1	Pérola	Healthy
T2	Branquinho	Healthy
T3	Pitoco Com Rama	Healthy
T4	Pitoco Sem Rama	Healthy
T5	BRS Esplendor	Healthy
T6	Pérola	Infected
T7	Branquinho	Infected
T8	Pitoco Com Rama	Infected
T9	Pitoco Sem Rama	Infected
T10	BRS Esplendor	Infected

Table 1. List of treatments used to obtain Germination, Vigor and Health Test results.

**Germination and vigor test** - Each treatment mentioned above was submitted to a germination test with four repetitions of 25 seeds each, in a germinator regulated at a constant temperature of 25°C, using as a substrate germitest paper in the form of a roll, moistened with distilled water in the proportion of 2.5 times the dry substrate mass (BRASIL, 1992).

The vigor test was conducted together with the germination test, where the percentage of normal seedlings was determined on the fifth day after the installation of the experiment. The results were expressed as an average percentage of normal seedlings, and these values were used to determine seed vigor.

**Sanity test** - To detect the presence of fungi, as well as their proportions, 100 seeds from each sample were used, divided into four replications of 25 seeds.

For the test, the seeds were arranged in transparent plastic boxes of the “gerbox” type, previously cleaned with sodium hypochlorite solution (1%) and alcohol (70%) for the purpose of disinfection. As substrate, two sheets of filter paper previously sterilized, moistened with distilled and autoclaved water were used.

On the seventh day after the replications were installed, the seeds were counted, and the seeds on which it was possible to identify the colony or structures of the fungus *C. lindemuthianum* were considered infected.

**Statistical analysis** - The data obtained were subjected to analysis of variance and the means compared by Tukey’s test at 5% probability using the computational resources of the Genes software (CRUZ, 2013).

### 3 | RESULTS AND DISCUSSION

For the percentage of seed germination, counting performed nine days after the implementation of the experiment, there was a significant difference in

germination comparing healthy seeds with sick ones, where healthy seeds had a higher germination rate than infected seeds (Table 2). Among the healthy seeds, the Pérola variety presented a higher germination index when compared to the others, whereas for infected seeds, the branquinho variety presented a superior result.

Cultivars	Healthy	Infected
Pérola	94,00 A a	9,50 B b
Pitoco C Rama	86,75 A ab	13,00 B b
BRS Esplendor	85,00 A bc	13,50 B b
Pitoco S Rama	80,50 A bc	15,00 B b
Branquinho	78,00 A c	26,75 B a

Table 2. Results for germination percentage in count performed nine days after setting up the experiment.

Means followed by the same capital letter in the lines and lower case in the columns did not differ statistically by the tukey test at 5% significance.

The germination data are consistent with the results of Silva et al. (2011) who, studying different levels of inoculum of *C. lindemuthianum* in beans, in the cultivar Pérola, also detected higher rates of germination in treatments with lower rates of inoculation, as well as, lower germination rates as the fungus inoculation rates increased.

Sobiecki et al., (2014), evaluating different levels of anthracnose incidence in cultivars of the carioca bean group, found that germination rates decrease as the level of infestation increases, which is in line with the results found in the present study.

The germination percentage of healthy seeds is close to those found by Jauer et al. (2002) that observed in common beans, germination above 80%.

Regarding the health test, significant results were found between sick and healthy seeds, which did not differ significantly between varieties (Table 3).

Cultivars	Healthy	Infected
BRS Esplendor	0,75 B a	86,00 A a
Pitoco C Rama	1,25 B a	87,75 A a
Pitoco S Rama	1,00 B a	85,50 A a
Branquinho	0,75 B a	89,00 A a
Pérola	0,00 B a	86,00 A a

Table 3. Results for the percentage of anthracnose infestation in a count made on the seventh day after the test was set up - Health Test.

Means followed by the same capital letter in the lines and lower case in the columns did not differ statistically by the tukey test at 5% significance.

Machado and Pozza (2005) suggest a tolerance level in common bean seeds in relation to *C. lindemuthianum*, from 1.0 to 3.0%, values that are consistent with those found in the samples of healthy seed lots used in the present work.

Regarding the vigor test, there was a significant difference between healthy and sick seeds, with healthy seeds having the highest vigor rates, as shown in Table 4. Regarding the comparison between varieties, significant responses were obtained only among healthy seeds, where the Pitoco com Rama variety showed greater vigor in relation to the Branquinho variety, however, not differing from the others.

<b>Cultivars</b>	<b>Healthy</b>	<b>Infected</b>
Pitoco Com Rama	85,75 A a	10,00 B a
Pérola	79,00 A ab	5,50 B a
BRS Esplendor	78,00 A ab	12,25 B a
Pitoco Sem Rama	76,75 A ab	9,00 B a
Branquinho	69,50 A b	14,00 B a

Table 4. Results for the vigor test in counting performed five days after setting up the experiment.

Means followed by the same capital letter in the lines and lower case in the columns did not differ statistically by the tukey test at 5% significance.

Silva et al., (2011), evaluating different levels of inoculation of *C. lindemuthianum* in beans, in the cultivar Pérola, found that as the inoculation rates of *C. lindemuthianum* in bean seeds increased, the vigor of the seeds reduced, which was also found by Sobiecki et al., (2014), corroborating the results found in this work.

For the percentage of dead or non-germinated seeds, there was a significant difference between healthy and diseased seeds, with patients presenting higher numbers of dead seeds, among which the varieties Pitoco Sem Rama, BRS Esplendor and Pérola had a higher percentage of non-germinated seeds sprouted (Table 5). Among the healthy seeds there was no significant difference for the parameter in question.

<b>Cultivars</b>	<b>Healthy</b>	<b>Infected</b>
Pitoco Sem Rama	60,00 A a	3,00 B a
BRS Esplendor	56,75 A a	4,00 B a
Pérola	55,50 A a	2,00 B a
Pitoco Com Rama	46,00 A ab	1,00 B a
Branquinho	30,35 A b	5,00 B a

Table 5. Percentages of seeds not germinated or killed in counting performed nine days after the experiment was set up.

Means followed by the same capital letter in the lines and lower case in the columns did not differ statistically by the tukey test at 5% significance.

The pathogen can decrease the physiological quality of the seeds when crossing the integument, producing from a slight discoloration, to lesions in the cotyledon tissues, causing their death and consequently inducing the seed not to germinate (YERKES JUNIOR e CRISPÍN, 1955; CHAVES, 1980).

The presence of the pathogen in the seeds generally works as a source of spread of the primary inoculum, which can cause an epidemic in the initial phase of the crop, which can result in dead seeds and, consequently, less plant population and less grain production (SANTOS et al., 1996).

## 4 | CONCLUSIONS

Seeds infected with anthracnose have lower germination rates when compared to seeds without infestation, as well as less vigor and higher rates of non-germinated or dead seeds.

## REFERENCES

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV DF, 1992. 365p.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Teste de Sanidade de Sementes. In: **Regras para a Análise de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. Cap.9, p.335-340.

CHAVES, G. La antracnosis. In: SCHWARTZ, H.F.; GÁLVEZ, G.E. (Eds.). Problemas de producción del frijol: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. Cali: CIAT, 1980. p.37-53.

CHIORATO, A.F.; CARBONELL, S.A.M.; MOURA, R.R. de; ITO, M.F.; COLOMBO, C.A. Co-evolução entre raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e feijoeiro. **Bragantia**, v.65, p.381-388, 2006.

CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 35, n. 3, p.271-276; 2013.

JAUER, A.; MENEZES, N.L.; GARCIA, D. C. Tamanho de sementes na qualidade fisiológica de cultivares de feijoeiro comum. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**. Uruguaiana, v.9, n.1, p.121- 127, 2002.

KRZYŻANOWSKI, F.C.; GILIOLI, J.L.; MIRANDA, L.C. Produção de sementes nos cerrados. In: ARANTES, N.E.; SOUZA, P.I.M. **Cultura da soja nos cerrados**. Uberaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1993. p. 465-522.

MACHADO, J.C. **Patologia de sementes**. São Paulo: Gráfica Nagy, 106p., 1988.

MACHADO, J.C; POZZA, E.A. Razões e procedimentos para o estabelecimento de tolerância a patógenos em sementes. In: ZAMBOLIM, L. **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: UFV, 2005. 501p.

MARINGONI, A. C; BARROS, E. M. de. Ocorrência de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* resistentes a fungicidas benzimidazóis. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, n 2, p. 197-200, 2002.

PAULA JUNIOR, T.J.; VIEIRA, R.F.; TEIXEIRA, H.; COELHO, R.R.; CARNEIRO, J.E.S.; ANDRADE, M.J.B.; REZENDE, A. M. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central brasileira: 2007-2009**. Viçosa:EPAMIG-CTZM, 2008. 180p. – (EPAMIG. Série Documentos, 42).

PEREIRA, H.S.; SANTOS, J.B.; ABREU, A.F.B. Linhagens de feijoeiro com resistência à antracnose selecionadas quanto a características agronômicas desejáveis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.39, n.3, p.209-215, 2004.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.

RAVA, C.A. et al. **Produção de sementes de feijoeiro comum livres de *Colletotrichum lindemuthianum* em várzeas tropicais irrigadas por subirrigação**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. 16p. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 1.

REY, M.S.; LIMA, N.B.; SANTOS, J. dos; PIEROBOM, J.R. Transmissão semente-plântula de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.3, p.465-470, jul./set., 2009.

SANTOS, G.R. dos; COSTA, H.; PELÚZIO, J.M.; MIRANDA, G.V. Transporte, transmissibilidade e patogenicidade da micoflora associada às sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, vol. XLIII, nº 249, 1996.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Patologia de sementes. In: VIEIRA, E.H.N.; RAVA, C.A. (ed.). **Sementes de feijão: produção e tecnologia**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2000. p.201-218.

SARTORI, A. F; REIS, E. M. e CASA, R. T. Quantificação da transmissão de *Fusarium moniliforme* de sementes para plântulas de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n. 4, p. 456-458, 2004.

SILVA, V.N. da; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HAKAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.1609-1618, 2011.

SOBIECKI A., JALBA A., TELEAA. 2014. Comparison of curve and surface skeletonization methods for voxel shapes. **Pattern Recognition Letters** 10.1016/j.patrec.2014

VECHIATO, M. H.; CASTRO, J. L. de; ISHIMURA, I.; SABINO, J. C.; MENTEN, J. O.M. Antracnose do feijoeiro: correlação entre severidade em vagens e a incidência do patógeno nas sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 2, p.159-163, 1997.

VIEIRA, C. **Doenças e pragas do feijoeiro**. Viçosa: UFV, 1988. 231p.

YERKES Jr., W.D.; CRISPÍN, M.A. Antracnosis del frijol. **Agricultura Técnica en México**, Chapingo, v.2, p.1-5, 1955.

# CAPÍTULO 12

## FUNGOS MICORRÍZICOS NA ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS DO CULTIVO *IN VITRO* E DIMINUIÇÃO DO USO DE FERTILIZANTES: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Data de aceite: 01/09/2020

**Mariana Pereira de Oliveira**

Faculdade Maria Milza (FAMAM)

**Mariane de Jesus da Silva de Carvalho**

Faculdade Maria Milza (FAMAM)

**Honorato Pereira da Silva Neto**

Embrapa Mandioca e Fruticultura

**Vanessa de Oliveira Almeida**

UFRB

**RESUMO:** Os fungos micorrízicos são microrganismos presentes no ecossistema, apresentando-se em 36 espécies. Quando associados às plantas, ocorre uma simbiose positiva, proporcionando aos vegetais nutrientes em concentrações superiores às observadas em condições de não simbiose, independentemente da composição do solo. Esses microrganismos fazem parte da absorção e transformação de elementos primários em substâncias essenciais para crescimento e, conseqüentemente, melhores respostas na aclimatização de espécies micropropagadas. Pesquisas recentes vêm avaliando o efeito de fungos micorrízicos em determinadas espécies de plantas cultivadas *in vitro*. Dessa maneira, este estudo tem por objetivo realizar uma revisão sistemática sobre o manejo de fungos micorrízicos e seu papel como acelerador do processo de aclimatização de mudas oriundas do cultivo *in vitro*. Foram selecionadas publicações dos anos 2015 a 2020, em português e inglês, nos bancos de dados:

LILACS, PUBMED e SCIELO, com as palavras-chave: fungo micorrízico e cultivo *in vitro* com microrganismos, *mycorrhizal fungus*, *in vitro* cultivation with microorganisms. Em um total de 22 artigos encontrados, apenas 9 apresentou relação com o objetivo da pesquisa. Os resultados evidenciam que a simbiose entre plantas e fungos micorrízicos favorece o desenvolvimento das plantas em condições *ex vitro* e contribui para uma maior eficiência do processo de aclimatização, uma vez que aumentam a taxa de sobrevivência das plantas nessa importante etapa. Assim, a utilização de fungos micorrízicos no cultivo *ex vitro*, é uma estratégia biotecnológica que pode ser perfeitamente empregada em protocolos de micropropagação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Microrganismos, micropropagação, simbiose, cultivo *ex vitro*.

**ABSTRACT:** Mycorrhizal fungi are microorganisms present in the ecosystem, present in 36 species. When associated with plants, a positive symbiosis occurs, providing plants with nutrients in concentrations higher than those observed under non-symbiosis conditions, regardless of soil composition. These microorganisms are part of the absorption and transformation of primary elements into essential substances for growth and, consequently, better responses in the acclimatization of micropropagated species. Recent research has been evaluating the effect of mycorrhizal fungi in certain species of plants grown *in vitro*. Thus, this study aims to carry out a systematic review on the management of mycorrhizal fungi and its role as an accelerator of the process of acclimatization of

seedlings from *in vitro* cultivation. Publications from 2015 to 2020, in Portuguese and English, were selected from the databases: LILACS, PUBMED and SCIELO, with the keywords: *mycorrhizal fungus* and *in vitro* cultivation with microorganisms, *mycorrhizal fungus*, *in vitro* cultivation with microorganisms. In a total of 22 articles found, only 9 were related to the research objective. The results show that the symbiosis between plants and mycorrhizal fungi favors the development of plants in *ex vitro* conditions and contributes to a greater efficiency of the acclimatization process, since they increase the survival rate of the plants in this important stage. Thus, the use of mycorrhizal fungi in *ex vitro* cultivation is a biotechnological strategy that can be perfectly used in micropropagation protocols.

**KEYWORDS:** Microorganisms, micropropagation, symbiosis, *ex vitro* culture.

## INTRODUÇÃO

O ecossistema engloba desde os microrganismos a grandes seres vivos, respeitando esse equilíbrio entre fauna e flora, está a interação identificada entre os fungos micorrízicos e as plantas, principalmente as frutíferas. Havendo uma simbiose positiva a partir do momento que as plantas necessitam de organismos vivos no solo para absorver e transformar elementos essenciais ao seu crescimento, de modo mais eficiente (SIQUEIRA; MOREIRA 1996).

Em vista do potencial econômico e ecológico proporcionado pelos fungos, o seu uso no cultivo de espécies vegetais pode substituir ou reduzir a utilização de fertilizantes. Isso está relacionado ao favorecimento do desenvolvimento das plantas, a partir da interação com os fungos, sem provocar danos nocivos as mesmas, uma vez que esses microrganismos promovem a síntese de nutrientes para absorção dos mesmos pelas plantas, promovendo o crescimento de maneira satisfatória (SIQUEIRA; FRANCO, 1988).

A micorrização, cultivo associado a fungos micorrízicos, tem ganhado espaço por diminuir o estresse hídrico, aumentar o crescimento, proteção e adaptação das plantas no solo (GERDERMANN, 1975). As mudas cultivadas *in vitro* são mais sensíveis, o que dificulta a adaptação ao meio externo. Assim, o papel dos organismos micorrízicos é de melhorar a adaptação destas plantas ao meio ambiente e, conseqüentemente, promover o melhor desenvolvimento possível, aumentando a eficiência na aclimatização (WANG et al. 2011, DAN et al. 2012).

O cultivo *in vitro* é utilizado para produção em larga escala de mudas uniformes, com alta qualidade genética e fitossanitária, geralmente destinada a comercialização, bem como para preservação de uma determinada espécie, fechando todo este ciclo com o processo de aclimatização. Então, a associação com os fungos micorrízicos nesse estágio final, propõe uma otimização desse processo (BEZERRA et al.; 2019).

Diante dos aspectos abordados, o presente estudo tem como objetivo

apresentar uma revisão sistemática sobre o manejo de fungos micorrízicos e seu papel como acelerador no processo de aclimatização de mudas oriundas do cultivo *in vitro*.

## METODOLOGIA

O presente estudo caracteriza-se como uma revisão de literatura, baseada em estudos originais que objetivaram avaliar a relação simbiótica entre os fungos micorrízicos e as plantas, destacando seu papel auxiliador no crescimento e aclimatização de espécies vegetais.

A busca de dados foi realizada no período de março a abril de 2020, nos bancos de dados: LILACS, SCIELO, PUBMED. Onde foram utilizados para a realização das buscas os seguintes descritores: fungo micorrízico e cultivo *in vitro* com microrganismos, mycorrhizal fungus, *in vitro* culture with microorganisms.

Os critérios de inclusão adotados foram: estudos originais publicados a partir de 2015, em inglês e português, sendo necessário para inclusão a disponibilidade do artigo na íntegra nas bases de dados. Como critérios de exclusão: artigos que tratam exclusivamente de outros tipos de microrganismos, como bactérias, assim como, artigos que não relacionam a associação desses microrganismos com as plantas provenientes do *in vitro*.

A busca de dados resultou em 22 artigos selecionados, destes, 13 estudos foram excluídos por não se enquadrarem nos critérios de elegibilidade previamente estabelecidos. Destes, 9 estudos passaram pelo crivo da aprovação, os quais foram analisados na íntegra, pois atenderam aos critérios de inclusão e, conseqüentemente, foram inseridos ao presente estudo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos encontrados ressaltam a relação simbiótica entre os fungos micorrízicos e as plantas oriundas do cultivo *in vitro*, evidenciando os benefícios dessa interação, tanto para produtores como para o ecossistema.

De forma branda existe uma dependência saudável entre certas espécies de plantas oriundas do cultivo *in vitro* e os fungos inoculados no estágio de aclimatização, ocorrendo uma suplementação de nutrientes essenciais para o desenvolvimento das mudas, bem como uma maior disponibilidade de água, evitando com isso a desidratação da planta. Os benefícios que esses microrganismos proporcionam as plantas foram evidentes nos artigos encontrados.

As plantas que foram inoculadas com micorrízicos apresentaram maiores valores de raízes, altura e folhas, devido a simbiose, que mesmo em meio com diversos microrganismos não interferiram negativamente no seu desenvolvimento

(SANTOS, 2018). Outro estudo evidencia que apesar da interação entre nematoides, fungos e bactérias, não foi identificado perda de brotos, entretanto, podendo existir morte dos próprios microrganismos pela disputa de alimento (BEZERRA, 2019). De forma geral, a aplicação desses, não provocou nenhum dano a planta, pelo menos não foi observado nas espécies avaliadas nos estudos observados.

É de suma importância esclarecer que cada genótipo apresenta comportamento diferenciado, além disso, existem algumas espécies com menor afinidade a simbiose do que outras. Destaca-se o girassol que geneticamente não possui, pela literatura, boa associação com os fungos micorrízicos, mesmo assim, conseguem se desenvolver melhor com a inserção dos mesmos no substrato, do que, as mudas que não foram cultivadas na presença desses microrganismos (SILVA, 2015).

Por outro lado, nas espécies de tomates avaliadas por Garita et al (2019) houve uma melhor adaptação às condições *ex vitro*, pois conseguiram se adaptar ao meio ambiente em menos dias, como também, apresentaram maior crescimento. Em espécie ornamental, como a orquídea, houve um incremento significativo na germinação comparada com as que germinaram sem a ajuda dos micorrízicos, da mesma maneira que ocorreu maior adaptação na transferência para o meio *ex vitro*. As plantas conseguiram aporte de N e P, para suportar possíveis situações adversas (BEZERRA, 2019).

No estudo com o café, foram observados, desde a sua germinação até a transferência das mudas para o ambiente *ex vitro*, e igualmente, avaliar em porcentagem o quanto de N, P, K a planta armazenou (FONSECA, 2019). É importante citar que o uso excessivo desses elementos pode interferir no cultivo dos microrganismos e nas plantas. No entanto, foi observada uma significativa reserva, com 50% a mais nas mudas que foram inoculadas com microrganismos comparadas às controle (FONSECA, 2019). Esses valores representam muito para produtores de café, uma vez que diminui o estresse hídrico, aumenta a produção e o custo é reduzido, aprimorando a forma de cultivo.

Já em outra espécie, como a *Varronia leucocephala*, que tem dificuldade em enraizamento, após desenvolvimento de um protocolo de propagação, auxiliado com uso de fungos micorrízicos, ocorreu um aumento no tamanho das raízes. Esse aspecto pode ser explicado em função dos fungos apresentarem estruturas ramificadas, que fazem partes de células corticais, essas podem facilitar a transferência de nutrientes para as plantas (FERNANDES, 2019)

Os benefícios proporcionados com a utilização dos micorrízicos, além de apresentar baixo custo para produção dos microrganismos, facilita a adaptação das mudas as condições ambientais após a aclimatização, principalmente aquelas espécies que vem sendo empregadas na área terapêutica, no comércio

de ornamentais, na produção de cosméticos e na indústria alimentícia. Citado em Heitor (2016): “ nos tratamentos sem adição de fósforo, a espécie *Glomusclarum* apresentou maior porcentagem de colonização micorrízica nas raízes de calêndula (87,5%), seguida pela *Gigaspora margarita* (77,5%)”. Assim como em Gil (2015): “os valores de colonização micorrízica oscilaram entre 35,6% e 59,8%, dependendo dos níveis de nutrientes do solo”.

Entre as espécies que vem utilizando micorrízicas na germinação de sementes está o maracujá roxo e a calêndula, ambos produzidos em larga escala para suprir as demandas do mercado consumidor, o maracujá como alimento comum na América latina e a *Gigaspora margarita* como matéria prima de sabão, shampoos e cremes (GIL, 2015; HEITOR, 2016).

O solo que as mudas de calêndula são plantadas tem tendência a possuir poucos nutrientes, e as exigências em P está intimamente ligado a com a produção das diferentes espécies, pois as mesmas são dependentes desse nutriente para crescimento mais do que os micorrízicos. A função dos fungos micorrízicos é de facilitador para uma maior absorção do P. Os micélios destes fungos são determinantes na efetividade da absorção e fixação do P na planta (HEITOR, 2016).

*Sesbania virgata* é uma planta leguminosa que tem o papel de renovação de solos degradados. Tendo em vista que os microrganismos precisam do solo para se desenvolver, um estudo envolvendo essa espécie foi direcionado para conservação e proteção do crescimento dos micorrízicos. Em teoria a simbiose seria influenciada pela catequina inserida no estudo. Foi avaliado o uso dessa substância para crescimento de esporos de uma espécie de fungo, a *Gigaspora albida* associada a sementes da *Sesbania virgata*. Em conclusão, a catequina não teve relação com a proliferação de novos esporos, e sim outros componentes inseridos na semente da planta (COELHO, 2019)

Em pesquisa desenvolvida com a *Gliricidia sepium*, uma árvore que se faz uso em arborização, produção de madeira, adubação verde, reflorestamento e adaptação a solos de baixa fertilidade, houve destaque para os números de hifas encontradas nas raízes no grupo testado entre a simbiose da *Gliricidia* e uma espécie única de micorrízico. Ratificando Santos (2018): “o cultivo de *Gliricidia sepium* em copos de 500 mL pode ter favorecido a alta colonização, devido à menor profundidade e distância das raízes”.

A possibilidade do fungo em cultivo com a *Gliricidia sepium*, mesmo não disputando por nutrientes, se desenvolver sobremaneira e vir a matar a muda, não foi confirmado. Contudo, essa interação tem potencial para maior recuperação de áreas degradadas, bem como, servir de alimento para animais nativos, principalmente, na região nordestina, onde a seca se faz presente (SANTOS, 2018).

É válido destacar que o ecossistema detém uma estrutura interligada e, por

consequente interdependente, de forma direta ou indiretamente dos seres que o compõe. Dessa maneira, existem formas alternativas de cultivo e menos agressivas para o meio ambiente, e que consigam aprimorar o cultivo de diferentes espécies vegetais de forma ecologicamente e economicamente benéfica. Para isso, o homem pode dispor da utilização de fungos micorrízicos para melhorar a interação desses ecossistemas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os fungos micorrízicos têm uma ótima interação com as plantas oriundas do cultivo *in vitro*, no estágio de aclimatização, sem afetar as mesmas negativamente, oferecendo nutrientes importantes para e desenvolvimento das mudas, reduzindo as perdas durante esta importante etapa.

## REFERÊNCIAS

- BEZERRA, GABRIELLE ALVES ET AL. Cultura *in vitro* e aclimatização em estufa de *Oncidium varicosum* (Orchidaceae) com microrganismos isolados de suas raízes. *Ornam. Hortic.*, Viçosa, v. 25, n. 4, p. 407-416, dezembro de 2019. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2447-536X2019000400407&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2447-536X2019000400407&lng=en&nrm=iso)>.
- COELHO, LEILYANE CS ET AL. Exsudatos de sementes de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. estimular a fase assiótica do fungo micorrízico arbuscular *Gigaspora albida* Becker & Hall. *Hoehnea*, São Paulo, v. 46, n. 1, e272018, 2019. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2236-89062019000100201&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2236-89062019000100201&lng=en&nrm=iso)>.
- DAN, Y.; MENG, ZX; GUO, SX Efeitos de quarenta linhagens de fungos micorrízicos Orchidaceae no crescimento de protocormos e plântulas de *Dendrobium candidum* e *D. nobile*. *Revista Africana de Pesquisa em Microbiologia*, v. 6, n. 1, p. 34-39, 2012.
- FERNANDES, MÔNICA DS DA S. ET AL. Fungos micorrízicos arbusculares e auxina associados a microelementos no desenvolvimento de estacas de *Varronia leucocephala*. *Rev. bras. eng. incluir. ambiente.*, Campina Grande, v. 23, n. 3, p. 167-174, março de 2019. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-43662019000300167&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662019000300167&lng=en&nrm=iso)>.
- FONSECA, ARLEY JOSÉ ET AL. Fungo micorrízico arbuscular no crescimento e nutrição iniciais dos genótipos de *Coffea arabica* L.. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 43, e006919, 2019. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-70542019000100223&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542019000100223&lng=en&nrm=iso)>.
- GARITA, SEBASTIÁN ANDRÉS ET AL. Micorrização e enxerto melhoram o crescimento do tomate e reduzem a população de *Nacobbus aberrans*. *Rev. Ciênc. Agron.*, Fortaleza, v. 50, n. 4, p. 609-615, dezembro de 2019. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1806-66902019000400609&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-66902019000400609&lng=en&nrm=iso)>.
- GERDEMANN, I. W. Vesicular-arbuscular mycorrhizal. In: TORREY, J.G.; CLARKSON, D.T. (Ed.). *The development and function of roots*. London: Academic, 1975. p.575-591.

GIL, JOAQUÍN GUILLERMO RAMÍREZ ET AL. Germinação e crescimento de mudas de maracujá-roxo sob tratamento pré-germinativo e inoculação micorrízica1. *Pesqui. Agropecu. Trop.*, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 257-265, setembro de 2015. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1983-40632015000300004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-40632015000300004&lng=en&nrm=iso)>.

HEITOR, LETÍCIA C ET AL. Crescimento e produção de capítulos florais de calêndula em resposta à inoculação micorrízica e fósforo. *Hortic. Bras.*, Vitória da Conquista, v. 34, n. 1, p. 26-30, Mar. 2016. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-05362016000100026&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362016000100026&lng=en&nrm=iso)>.

SANTOS, TAMIRIS APARECIDA DE CARVALHO ET AL. microbial interactions in the development of the biomass of gliricidia. *Rev. Caatinga*, Mossoró, v. 31, n. 3, p. 612-621, July 2018. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1983-212520180003000612&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-212520180003000612&lng=en&nrm=iso)>.

SILVA, APOLINO JOSÉ NOGUEIRA DA ET AL. soil chemical properties and growth of sunflower (*helianthus annuus* L.) As affected by the application of organic fertilizers and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, Viçosa, v. 39, n. 1, p. 151-161, Feb. 2015. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-06832015000100151&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832015000100151&lng=en&nrm=iso)>.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. *Biotechnology do solo: fundamentos e perspectivas*. Brasília: MEC/ABEAS/ESAL/FAEPE, 1988, 236p

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. *Microbiologia do solo e sustentabilidade agrícola: enfoque em fertilidade do solo e nutrição vegetal*. In: *Reunião Brasileira em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas*, 22, 1996, Manaus. Resumos... Manaus: SBCS, 1996, p.1-42.

WANG, H. ET AL. Técnicas de isca de sementes *in situ* em *Dendrobium officinale* Kimura et Migo e *Dendrobium nobile* Lindl.: o *Dendrobium* chinês endêmico em extinção (Orchidaceae). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 27, n. 9, p. 2051-2059, 2011.

## BIODIGESTOR COMO FONTE DE MATÉRIA ORGÂNICA PARA O PLANTIO DE LEGUMINOSAS

*Data de aceite: 01/09/2020*

### **Breno Wentrick da Silva Costa**

Colégio Santa Clara  
<http://lattes.cnpq.br/4864299171028120>  
Três Rios/RJ

### **Luana Ramos Astine**

Colégio Santa Clara  
<http://lattes.cnpq.br/8871224636403899>  
Três Rios/RJ

### **Marcus Vinícius Javarini Temponi**

Colégio Santa Clara  
<http://lattes.cnpq.br/5206624117854607>  
Três Rios/RJ

### **Rosângela Marques de Lima Paschoaletto**

Colégio Santa Clara  
<http://lattes.cnpq.br/8404044158787435>  
Três Rios/RJ

### **Saulo Paschoaletto de Andrade**

Colégio Santa Clara  
<http://lattes.cnpq.br/2136512992104454>  
Três Rios/RJ

**RESUMO:** Diariamente, uma variedade de moléculas provenientes de fontes naturais e industriais, são lançados na atmosfera, como o metano. Quando este gás é liberado na atmosfera, participa do efeito estufa, colaborando, desta forma, para o aquecimento global. O gás é produzido, de forma natural, pela decomposição de matéria orgânica; digestão de animais herbívoros; metabolismo de certos tipos de bactérias; dentre outras formas. A

utilização desse gás, queimado no local ou despejado diretamente no ambiente, pode ser utilizado para a produção de energia elétrica, em usinas termoelétricas ou pequenas centrais termoelétricas, com a finalidade de redução da poluição atmosférica e otimização da matriz energética nacional. Os resíduos da biodigestão podem ser utilizados como biofertilizantes, pois possuem alta concentração de nutrientes importantes para as plantas. Os biodigestores seriam uma forma interessante de evitar o descarte dos resíduos em lixões e aterros. Resíduos tratados dessa maneira produzem o biogás, composto basicamente por dois gases de efeito estufa (GEEs): metano (CH<sub>4</sub>) e o gás carbônico (CO<sub>2</sub>). Ambos podem ser utilizados na produção de energia elétrica, térmica ou mecânica, além de, ao final do processo, ainda resultam em adubo.

Este trabalho tem como objetivo dar continuidade ao projeto anterior dessa instituição de ensino e usar a matéria orgânica produzida pelo biodigestor usando-o como fertilizante natural e acompanhar o crescimento de leguminosas que foram usadas neste trabalho (sementes de feijão) que foram estudadas em três ocasiões diferentes, separadas em duas amostras (sol e sombra). Em cada uma das duas amostras, foram plantadas as sementes e fertilizadas com NPK (fertilizante artificial) e o líquido proveniente do biodigestor e água, respectivamente, com o intuito de observar o crescimento de cada uma e mostrar que os fertilizantes orgânicos podem ter mais efeito no crescimento da planta.

**PALAVRAS - CHAVE:** Biodigestor, leguminosas, NPK.

**ABSTRACT:** Daily, a variety of molecules from natural and industrial sources are released into the atmosphere, such as methane. When this gas is released into the atmosphere, it participates in the greenhouse effect, thus contributing to global warming. The gas is produced, naturally, by the decomposition of organic matter; digestion of herbivorous animals; metabolism of certain types of bacteria; among other ways. The use of this gas, burnt on the spot or dumped directly into the environment, can be used for the production of electric energy, in thermoelectric plants or small thermoelectric plants, with the purpose of reducing atmospheric pollution and optimizing the national energy matrix. Residues from biodigestion can be used as biofertilizers, as they have a high concentration of important nutrients for plants. Biodigesters would be an interesting way to avoid the disposal of waste in dumps and landfills. Wastes treated in this way produce biogas, basically composed of two greenhouse gases (GHGs): methane (CH<sub>4</sub>) and carbon dioxide (CO<sub>2</sub>). Both can be used in the production of electrical, thermal or mechanical energy, and, at the end of the process, still result in fertilizer. This work aims to continue the previous project of this educational institution and use the organic material produced by the biodigester using it as a natural fertilizer and monitor the growth of legumes that were used in this work (bean seeds) that were studied on three occasions different, separated into two samples (sun and shade). In each of the two samples, the seeds were planted and fertilized with NPK (artificial fertilizer) and the liquid from the biodigester and water, respectively, in order to observe the growth of each one and show that organic fertilizers can have more effect in plant growth.

**KEYWORDS:** Biodigester, legumes, NPK.

## INTRODUÇÃO

Biodigestores são centrais tecnológicas que aceleram o processo de decomposição da matéria orgânica e otimizam os produtos resultantes desse processo e são a solução ideal para o tratamento de resíduos sólidos orgânicos de todos os tipos. A decomposição da matéria orgânica é um processo bioquímico realizado por milhares de bactérias que transformam a matéria orgânica em gases e biofertilizantes. Sendo bactérias seres vivos, estes precisam de condições ideais de temperatura, acidez, para se reproduzir melhor. Na presença de oxigênio temos a decomposição aeróbia e na ausência à anaeróbia (PORTAL RESÍDUOS SÓLIDOS, 2016). Neste trabalho, será apresentado como ocorrerá o desenvolvimento das sementes de uma determinada leguminosa, neste caso, o feijão. Esta leguminosa comum é uma planta anual herbácea, trepadora ou não, pertencente a família Leguminosae, sub-família Faboideae, gênero *Phaseolus*. E está classificado como *Phaseolus vulgaris* L. Estas espécies de plantas são diferenciadas das outras por terem seus grãos produzidos em vagens ricas em tecido fibroso.

Além disso, elas são de grande importância para o corpo humano, pois apresentam em sua composição carboidratos complexos, fibras e vitaminas do

complexo B, sendo, também, fontes de proteínas vegetais. São fontes de proteínas vegetais e apresenta em sua composição carboidratos complexos, fibras, vitaminas do complexo B, minerais como potássio, fósforo, magnésio, zinco, ferro, cálcio e pouca quantidade de colesterol e sódio.

Possuem fibras solúveis e insolúveis, que colaboram para um bom trabalho intestinal e contribuem para o controle dos níveis de colesterol no sangue (SÓ NUTRIÇÃO, 2016).

## OBJETIVOS

Mostrar a eficiência da matéria orgânica do biodigestor no plantio de leguminosas.

Analisar a diferença no crescimento em leguminosas plantadas na sombra e com iluminação.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram necessários os seguintes materiais para a preparação do trabalho:

- 6 Potes de plástico;
- Sementes de feijão;
- 1 Vidro de fertilizante (NPK);
- Fertilizante natural proveniente do biodigestor.
- Água

Dos seis recipientes para o plantio: dois deles sem nenhum fertilizante que será usado como controle, dois com fertilizante natural (oriundo de um biodigestor) e dois com fertilizante industrial NPK (nitrogênio, fósforo e potássio). Separados em dois trios (um exemplo de cada) e foram colocados em locais distintos, onde cada local tem uma incidência de luz diferente (sol e sombra). As seis amostras foram regadas diariamente com 100 ml de água e os quatro que tiveram a adesão de fertilizantes, foram fertilizadas na mesma periodicidade de uma vez a cada mês até o fim do tempo de observação e estudo do crescimento de todas as amostras.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como foi esperado, a amostra que foi regada com o líquido proveniente do biodigestor se desenvolveu mais que as demais amostras. Sendo seguida pela amostra regada pelo fertilizante NPK, e a amostra regada à água não desenvolveu tanto como as demais. Os nutrientes provenientes do biodigestor foram superiores

aos macronutrientes de fósforo, potássio e nitrogênio, onde o nitrogênio controla a parte verde da planta, ajudando na fotossíntese. Já o fósforo atua na floração e na maturação do fruto e o potássio contribui para o crescimento da planta. Entretanto os nutrientes oriundos do biodigestor foram mais eficazes.

Os nutrientes oriundos dos microorganismos são o carbono, nitrogênio e sais minerais. Fontes que são ricas em nitrogênio são provenientes dos dejetos de animais (inclusive seres humanos). As fontes ricas de carbono são os restos de culturas vegetais. Os sais minerais que estão presentes nos dejetos animais e resíduos vegetais são suficientes para a nutrição mineral das bactérias. As três amostras se desenvolveram, mas os nutrientes naturais do biodigestor foram superiores a todo e qualquer tipo de fertilizante artificial, como mostrado na figura abaixo.



Figura 1: A amostra da esquerda foi regada com água, a amostra central foi fertilizada com NPK e a amostra da direita foi fertilizada com o líquido natural do biodigestor.

## CONCLUSÕES

Com a fertilização de leguminosas da mesma espécie com diferentes estimulantes de crescimento, pôde-se observar que existe grande diferença em relação ao crescimento dessas. Como a água é um produto natural, ocorreu o desenvolvimento original da planta, sendo a amostra que menos se desenvolveu, pois provavelmente se deve ao fato de não ter sido usado meios que agilizem o crescimento. O fertilizante artificial (NPK) conseguiu fazer com que a leguminosa conseguisse uma maior evolução quanto a sua altura, uma vez que em sua composição existem nutrientes químicos fundamentais para a planta. A utilização do fertilizante oriundo do biodigestor permitiu o maior crescimento das leguminosas,

posto que nele existam substâncias nutritivas naturais, fornecendo maior sustento para a amostra.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos a Deus em primeiro lugar e ao Colégio Santa Clara de Três Rios por todo apoio prestado e por acreditarem no nosso potencial, aos nossos pais por nos darem todo incentivo para a realização desse projeto e a Fundação CECIERJ pela oportunidade aos talentos do nosso Brasil.

## **REFERÊNCIAS**

Disponível em: <<http://www.ecycle.com.br/component/content/article/35-atitude/1338-biodigestao-e-uma-opcao-para-o-lixo-organico-rural-e-urbano.html>>Acessado em : 25.out.2016.

Disponível em: < <http://www.portalresiduossolidos.com/biodigestores-principio-tipos-e-viabilidade-economica/>>. Acessado em: 25.out.2016.

Disponível em: < <http://www.sonutricao.com.br/conteudo/guia/leguminosas.php> >.Acessado em: 25.out.2016.

# CAPÍTULO 14

## MEDICINA VETERINÁRIA REGENERATIVA: O USO DE *SCAFFOLDS* BIOLÓGICOS COM PEIXES CARTILAGINOSOS

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 07/07/2020

### Maiara Gonçalves Rodrigues

Faculdade Alvorada Saúde  
São Paulo – SP  
<http://lattes.cnpq.br/9044015657909689>

### Estela Silva Antoniassi

Faculdade Alvorada Saúde  
São Paulo – SP  
<http://lattes.cnpq.br/8266903348124271>

### Paula Fratini

Faculdade Alvorada Saúde  
São Paulo – SP  
<http://lattes.cnpq.br/3720738690997154>

### Carlos Eduardo Malavasi Bruno

Faculdade Alvorada Saúde  
São Paulo – SP  
<http://lattes.cnpq.br/5527737503377403>

**RESUMO:** A busca por técnicas alternativas em estudos com elasmobrânquios vem sendo cada vez mais difundida no meio científico. Um *scaffold* biológico corresponde a um órgão descelularizado e com a matriz extracelular preservada permitindo sua recelularização com atributos do tecido original e respectiva substituição da função biológica comprometida. Para tal, foi realizado uma revisão de literatura referente ao tema supracitado em artigos indexados na base de dados PubMed, nos idiomas português, inglês e espanhol. O resultado textual foi dividido em duas

partes. A primeira introduz os principais conceitos sobre descelularização e recelularização e seu papel na Medicina Veterinária Regenerativa. A segunda, debate possíveis aplicações práticas com Elasmobrânquios. Por fim, compreende-se o procedimento como uma ferramenta promissora em relação à Medicina Veterinária Regenerativa e sua aplicação com esta subclasse de peixes cartilagosos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Recelularização, Anatomia Comparada, Regeneração celular.

### REGENERATIVE VETERINARY MEDICINE: THE USE OF BIOLOGICAL *SCAFFOLDING* WITH CARTILAGINOUS FISH

**ABSTRACT:** The search for alternative techniques in studies with elasmobranchs has been increasingly widespread in the scientific community. A biological *scaffold* corresponds to a decellularized organ with preserved extracellular matrix allowing its recellularization with attributes of the original tissue and respective replacement of the compromised biological function. To this end, a literature review was carried out regarding the aforementioned theme in articles indexed in the PubMed database, in Portuguese, English and Spanish. The textual result was divided into two parts. The first introduction of the main concepts on decellularization and recellularization and their role in Regenerative Veterinary Medicine. The second, discusses possible practical applications with Elasmobranchs. Finally, follow the procedure as a promising tool in relation to Regenerative Veterinary Medicine and its application with this subclass of cartilaginous fish.

**KEYWORDS:** Recellularization, Comparative Anatomy, Cell regeneration.

## 1 | INTRODUÇÃO

Lesões teciduais podem ocorrer em diversas espécies e de diversas maneiras, como por exemplo embates físicos e predações (Martins *et al.*, 2020). Para Matias (2018) a busca por métodos alternativos, tais como a substituição de tecidos danificados, permite a construção de conceitos em bioengenharia de tecidos. O autor explica que a descelularização, como método inicial, permite a remoção celular e mantém a estrutura matricial permitindo uma regeneração tecidual à posteriori. Uma vez realizada a descelularização, a matrix extracelular – MEC passa a ser concebida como *scaffold*<sup>1</sup> biológico, e portanto, discute-se o surgimento destas possibilidades na Medicina Veterinária Regenerativa.

Malavasi-Bruno (2016) descreve que no Brasil existem 127 espécies de elasmobrânquios, sendo que 32 podem ser encontradas no litoral do Estado de São Paulo. Para esta subclasse de peixes cartilagosos, o autor explica que os órgãos do sistema imunológico, por exemplo, são compostos por timo, baço, órgão de Leydig e epigonal, responsáveis pela hematopoiese, promovendo uma análise geral do estado de saúde do animal. Tal compreensão sobre anatomia comparada permite a correlação entre espécies e seus respectivos tecidos e órgãos possíveis para aplicações em Medicina Veterinária Regenerativa em decorrência de fatores taxonômicos. Para ilustrar:

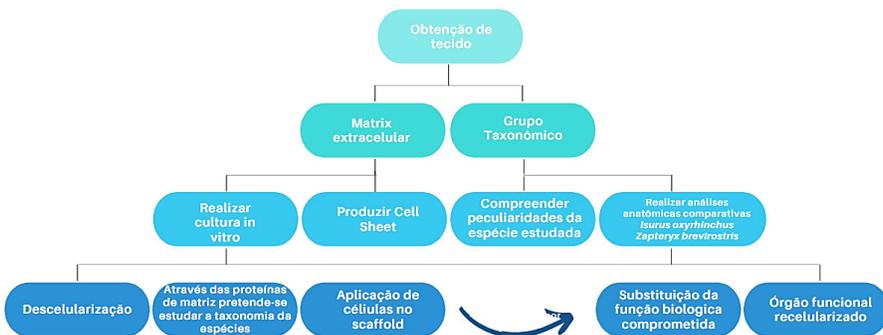


Figura 1 – Possíveis aplicações em Medicina Veterinária Regenerativa em decorrência de fatores taxonômicos

Este artigo articula os principais conceitos relacionados ao o uso de *scaffolds* biológicos com peixes cartilagosos. Desta forma, tem-se como objetivo geral

<sup>1</sup> Arcabouço natural.

compreender as possibilidades de recelularização de tecidos à luz da Medicina Veterinária em paralelo a fatores taxonômicos de Elasmobrânquios. Trata-se de uma breve revisão de literatura que utilizou como critérios de seleção, artigos indexados na base de dados PubMed, nos idiomas português, inglês e espanhol. Diante o exposto, o texto está dividido em duas partes. A primeira, responsável por introduzir conceitos e definições sobre decelularização e recelularização de tecidos e seu papel na Medicina Veterinária Regenerativa. A segunda, discute as possibilidades de aplicação em estudos com Elasmobrânquios.

### 1.1 Descelularização e recelularização: Definições gerais

O progresso e aprimoramento da bioengenharia vem ganhando espaço no meio científico em decorrência da demanda de órgãos para transplante. Um órgão descelularizado e com a matrix extracelular preservada é considerado *scaffold* biológico, uma vez que sua recelularização com características do tecido original promove a substituição da função biológica deficitária (DAMODARAN & VERMETTE, 2018; OLSSON *et al.*, 2008). A exemplo disso, o transplante de córnea é uma das únicas medidas remediativas para patologias de opacidades corneanas, principalmente por conta do desequilíbrio entre oferta e demanda em Medicina Humana Regenerativa (ISIDAN *et al.*, 2019), sem considerar ainda a diferença biológica entre doadores e pacientes que precisam de transplantes de órgãos (GILPIN & YANG, 2017).

Os *scaffolds* em comparação à outros métodos, como enxertos por exemplo, se diferenciam dada a presença de unidades moleculares, podendo apresentar para além da taxa controlada de biodegradação e até mesmo respostas imunes à inflamação, inclusive, sua nanotopografia. Outrossim, são materiais de fácil acesso e esterelização, possuindo compatibilidade com agentes químicos, aquosos e/ou fisiológicos (GILPIN & YANG, 2017; OLSSON *et al.*, 2008).

O principal desafio está na produção de *scaffolds* biológicos ou sintéticos que reproduzam o microambiente do tecido ou órgão. Portanto, o processo de descelularização deve ser padronizado e conduzido via protocolo de maneira a manter sua estrutura bioquímica e biomecânica, fenômeno que permite a adesão de células novas ao suporte, e como consequência a produção de um “tecido personalizado” (GILPIN & YANG, 2017; GUPTA, MISHRA & DHASMANA, 2018). Em suma, observam-se os seguintes processos:

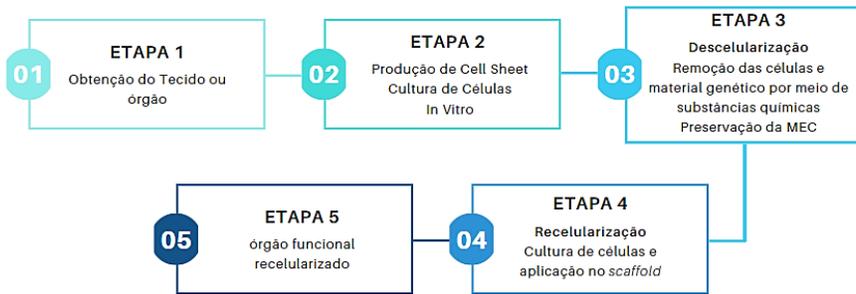


Figura 2 – Processos de Bioengenharia

Fonte: Gilpin e Yang, 2017

## 1.2 Recelularização e suas aplicações práticas com elasmobrânquios

Gilpin e Yang (2017) descrevem que as aplicações práticas convencionais de órgãos envolvem doadores. Desta forma, a implantação dos métodos de recelularização de tecidos enquanto tratamento alternativo permite um auxílio exponencial à pacientes aguardando em filas de espera. Para ilustrar, apenas nos Estados Unidos, os números ultrapassam 100.000 pessoas.

A bioengenharia, através da união das técnicas de descclularização e recelularização, ocasiona a reconstrução de tecidos ou órgãos (OLSSON *et al.*, 2008). Tais aplicações práticas podem ser direcionadas para além da Medicina Humana Regenerativa, indo ao encontro da Medicina Veterinária quando se avaliam lesões teciduais em decorrência do embate físico e predações no mundo animal enquanto problema de saúde, bem como forma de tratamento, a substituição da função biológica comprometida, ou seja, aplicações práticas para transplante (Martins *et al.*, 2020; OLSSON *et al.*, 2008).

Vale frisar que estudos sobre descclularização e recelularização de tecidos com Elasmobrânquios são escassos, tais análises podem evidenciar uma gama de perguntas ecológicas e biológicas. Este fenômeno ilustra que existem limitações quanto ao estudo de Medicina Veterinária Regenerativa com peixes, em especial os cartilaginosos. As aplicações práticas de órgãos ou tecidos recelularizados possuem diversas possibilidades em Medicina, como consequencia, diversas formas de utilização (SOMUNCU, 2020). Tais aplicações, à luz da Medicina Veterinária com Elasmobrânquios, abre preceitos para a discussão de biomateriais e biopróteses. Quando a descclularização é realizada em um coração, por exemplo, discute-se em literatura a possibilidade das válvulas cardíacas descclularizadas provenientes do modelo animal serem mais aptas a transplante do que as bioprotéticas nos modelos humanos (NASO & GANDAGLIA, 2018).

Aliando a Medicina Veterinária com a Medicina Humana, verifica-se que as válvulas cardíacas descelularizadas dos modelos animais, tais como Elasmobrânquios, podem atuar como solução para pacientes com insuficiência cardíaca terminal. Bem como, tais métodos, aperfeiçoados em modelos animais, ampliam a dimensão científica para a biofabricação de corações, sendo que estes correspondem à uma das maiores dificuldades no âmbito da Medicina Regenerativa em virtude da necessidade de imunossupressão e até mesmo rejeição do órgão. Nestes casos, existe uma opção de descelularização que diverge do uso de detergentes. Utiliza-se uma bolsa pressurizada com o objetivo de criar gradientes de pressão na válvula aórtica, mantendo-a fechada e, conseqüentemente, permitindo melhor perfusão do miocárdio (TAYLOR *et al.*, 2018).

Outra fonte de estudo, são as placentas descartadas após nascimento por conta da grande quantidade de MEC (LEONEL *et al.*, 2017). Para ilustrar, placentas caninas são consideradas fontes ricas em MEC com presença de proteínas funcionais, colágeno, fibronectina e laminina após descelularização (FRATINI *et al.*, 2018). Sob esta perspectiva cabe compreender o desenvolvimento embrionário dos Elasmobrânquios, até mesmo de órgãos linfóides em embriões, considerando também que o órgão de Leydig substituído pelo epigonal em fase adulta, promove caráter hematopoiético desde a embriogênese. O tubarão-azul por exemplo (*Prionace glauca*), é vivíparo placentário (Malavasi-Bruno, 2016).

O estabelecimento de protocolos padronizados permite a reprodução de metodologias em futuros experimentos, portanto, dentre os métodos químicos, os detergentes são largamente utilizados por conta de sua eficiência em remoção celular e conservação da MEC (MATIAS, 2018). Os surfactantes agem por meio da lisação celular, desarranjando a membrana fosfolipídica. Estes, podem ser iônicos, não iônicos e zwitteriônicos (GILPIN & YANG, 2017). É digno de nota que dentre os diversos métodos pode-se observar a presença de benefícios e malefícios em decorrência do procedimento, sendo a escolha do pesquisador pautada no tecido ou órgão, que norteará a decisão (LEONEL *et al.*, 2017).

## 2 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A alta taxa de extinção de Elasmobrânquios está intimamente relacionada ao comportamento humano autodestrutivo, portanto, reduzir tais números implicam em aumentar programas de conservação e aperfeiçoamento em Medicina Veterinária de Peixes. Esta subclasse de peixes cartilagíneos tem participação ativa enquanto elementos ecológicos, bem como econômicos. É digno de nota que os Elasmobrânquios possuem o maior índice de extinção até o momento e o carência de estudo sobre sua saúde e bem-estar tem como consequência

uma brecha no contexto da Medicina Veterinária Regenerativa. Existem estudos sobre sistemas de acasalamento, taxonomia e até mesmo aspectos demográficos, entretanto, existe uma lacuna imperativa quanto a estrutura genética, até mesmo no quesito de anatomia comparada (SANDOVAL-CASTILLO, 2019).

Por meio deste estudo foi possível compreender o procedimento de recelularização como uma ferramenta promissora em estudos em Medicina Veterinária Regenerativa com Elasmobrânquios, podendo suprir para além de lacunas científicas, cuja proposta pode-se iniciar com a construção de *scaffolds* biológicos para estes peixes cartilagineos promovendo benefícios, inclusive, para Medicina Humana como por exemplo em biopróteses. Ressalta-se ainda a importância de estudos sobre o tema supracitado para que seja possível compreender a fundo a dinâmica entre os Elasmobrânquios e a Medicina Veterinária Regenerativa.

## REFERÊNCIAS

DAMODARAN, R.G. & VERMETTE, P. Tissue and Organ Decellularization in Regenerative Medicine. *Biotechnol Prog.* 34 (6), p. 1494 – 1505, 2018.

FRATINI, P. *et al.* **Canine placenta recellularized using yolk sac cells with vascular endothelial growth factor.** *BioResearch Open Access*, 7 (1), 2018

GILPIN, A. & YANG, Y. Decellularization Strategies for Regenerative Medicine: From Processing Techniques to Applications. *Biomed Rest Int.* 2017.

GUPTA, S. K.; MISHRA, N.C. & DHASMANA, A. **Decellularization methods for scaffold fabrication.** *Methods Mol Biol.* 2018.

ISIDAN, A *et al.*. Decellularization Methods for Developing Porcine Corneal Xenografts and Future Perspectives. *Xenotransplantation.* 26 (6), 2019.

MALAVASI-BRUNO, C.E. **Desenvolvimento embrionário dos órgãos linfóides do Tubarão-azul, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758), *Elasmobranchii*, *Carchahiniformes*.** Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia. 2016.

MARTINS, A.R.; MATIAS, G.S.S.; BATISTA, V.F.; MIGLINO, M.A. & FRATINI, P. **Winstar rat dermis recellularization.** *Research in Veterinary Science*, 131, p. 222 – 231, 2020.

MATIAS, G.S.S. **Padronização dos processos de recelularização de *scaffolds* biológicos provenientes de placentas caninas.** Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia. 2018.

NASO, F. & GANDAGLIA, A. Different Approaches to Heart Valve Decellularization: A Comprehensive Overview of the Past 30 Years. *Xenotransplantation*, 25 (1), 2018.

OLSSON, D.C.; PIPPI, N.L.; TOGNOLI, G.K. & RAISER, A.G. **Bone marrow progenitor cells enriched scaffold biological behavior in bone repair.** *Cienc. Rural.* 38 (8), 2008.

SANDOVAL-CASTILLO, J. Conservation Genetics of Elasmobranchs of the Mexican Pacific Coast, Trends and Perspectives. *Adv Mar Biol*, 83, p. 115 – 157, 2019.

SOMUNCU, O.S. **Decellularization concept in regenerative medicine.** *Adv Exp Med Biol*. 2020.

TAYLOR *et al.* Decellularization of Whole Human Heart Inside a Pressurized Pouch in an Inverted Orientation. *J. Vis Exp.* (141), 2018.

# CAPÍTULO 15

## ANÁLISE MACROSCÓPICA DO CORAÇÃO DE TUBARÃO-MARTELO *SPHYRNA LEWINI* E *SPHYRNA ZYGAENA*

Data de aceite: 01/09/2020

### **Inara Pereira da Silva**

Universidade Guarulhos  
Guarulhos - SP

<http://lattes.cnpq.br/5251494308689468>

### **Gabriel Nicolau Santos Sousa**

Universidade Guarulhos  
Guarulhos - SP

<http://lattes.cnpq.br/2284894885641144>

### **Gustavo Augusto Braz Vargas**

Universidade Guarulhos  
Guarulhos - SP

<http://lattes.cnpq.br/0388591429667707>

### **Alessandra Tudisco da Silva**

Universidade Guarulhos  
Guarulhos - SP,

<http://lattes.cnpq.br/1861861105462144>

### **Daniela de Alcantara Leite dos Reis**

Universidade Guarulhos  
Guarulhos - SP

<http://lattes.cnpq.br/5700691082355195>

### **Carlos Eduardo Malavasi Bruno**

Santos - SP

<http://lattes.cnpq.br/5527737503377403>

### **Marcos Vinícius Mendes Silva**

Universidade Guarulhos  
Guarulhos - SP

<http://lattes.cnpq.br/2877732837567521>

**RESUMO:** O *Sphyrna lewini* e *S. zygaena* são popularmente conhecidos como tubarão-martelo. Encontram-se na costa brasileira, em mares tropicais e temperados. O coração dos peixes é um órgão muscular tubular, em forma de “S” que possui duas cavidades: seio venoso, considerado uma modificação das veias cardinal e hepática, átrio, ventrículo e uma dilatação pós ventrículo denominada de cone arterioso. O objetivo do trabalho é descrever a macroscopia do coração de *Sphyrna lewini* e *S. zygaena*. Fez-se incisão na vista ventral do tubarão-martelo no sentido cranio-caudal no decorrer da linha alba. O coração foi retirado, fotodocumentado, dissecado e mensurado, com um paquímetro evidenciando o comprimento, largura, formato e avaliando os aspectos dos átrios, ventrículos e cone arterial. O *S. zygaena* apresentou formato piramidal e ápice arredondado. O *S. lewini* apresentou formato mais arredondado. O coração do *S. lewini* apresentou 3,5 cm de altura, medida do ápice a base e 2,5 cm de largura, feita entre os ventrículos na vista ventral. O coração do *S. zygaena* apresentou 3,3 cm de altura, medida do ápice a base e 2,7 cm de largura. Existe uma diferença discreta entre o coração de *S. lewini* e *S. zygaena* tanto no tamanho quando no formato, não havendo aparentemente relação com o tipo de nado e hábito de vida.

**PALAVRAS-CHAVE:** Sistema circulatório, tubarão-martelo-liso, tubarão-martelo-recortado, débito cardíaco.

Parte do projeto de Iniciação Científica de Inara Pereira da Silva período de 2019 a 2020.

## MACROSCOPIC ANALYS OF HEART TO HAMMERHEAD SHARK *SPHYRNA LEWINI* E *SPHYRNA ZYGAENA*

**ABSTRACT:** *Sphyrna lewini* and *S. zygaena* are popularly known as hammerhead sharks. They are found on the Brazilian coast, in tropical and temperate seas. The heart of the fish is a tubular muscular organ, in the shape of an “S” that has two cavities: venous sinus, considered a modification of the cardinal and hepatic veins, atrium, ventricle and a post-ventricular dilation called the arterious cone. The objective of the work is to describe the macroscopy of the heart of *Sphyrna lewinii* and *S. zygaena*. An incision was made in the ventral view of the hammerhead shark in the cranio-caudal direction along the alba line. The heart was removed, photo-documented, dissected and measured, with a caliper showing the length, width, shape and evaluating the aspects of the atria, ventricles and arterial cone. *S. zygaena* had a pyramidal shape and a rounded apex. *S. lewinii* presented a more rounded shape. The heart of *S. lewinii* was 3.5 cm high, measured from the apex to the base and 2.5 cm wide, made between the ventricles in the ventral view. The heart of *S. zygaena* was 3.3 cm high, measured from the apex to the base and 2.7 cm wide. There is a slight difference between the heart of *S. lewinii* and *S. zygaena* for size and shape, apparently having no relation to the type of swimming and lifestyle.

**KEYWORDS:** Circulatory system, smooth hammerhead shark, scalloped hammerhead shark, cardiac output.

### 1 | INTRODUÇÃO

O *Sphyrna lewini* e o *S. zygaena* são duas espécies da família Sphyrnidae, ordem Carcharhiniformes pertencente aos Chondrichthyes, grupo de peixes cartilaginosos, popularmente conhecidos como tubarão-martelo. São encontrados na costa brasileira, em mares tropicais e temperados (COMPAGNO, 1984).

O *S. lewini* apresenta cabeça larga e estreita, com dentes apresentando cúspides moderadamente amplas, bordas lisas e um pouco serrilhadas. Seu tamanho máximo é de 370 a 420 cm (COMPAGNO, 1984).

Sua distribuição e habitat ocorrem em diversas regiões do globo terrestre, em oceanos de águas temperadas e subtropicais. No Brasil é encontrado no decorrer de toda costa, sendo destaques da prática pesqueira da costa sudeste e sul do país. Os adultos vivem tanto na região oceânica com até pelo menos 275 m de profundidade quanto na plataforma continental. Já os jovens e neonatos são predominantes na costa, na estação do verão (COMPAGNO, 1984).

O *S. zygaena* apresenta cabeça larga e estreita. Seus dentes apresentam cúspides muito largas, borda lisa e um pouco serrilhada. Alcançam tamanho máximo de 370 a 400 cm. Os adultos por volta de 210 a 240 cm e fêmeas adultas até pelo menos 304 cm. O tamanho ao nascimento é de 50 a 61 cm (COMPAGNO, 1984).

Encontrado em regiões costeiras ou semi-oceânicas e em águas rasas sobre

as plataformas continentais, em profundidade de no mínimo 20 m, diferentemente do *S. lewini* que atinge águas mais profundas. Provavelmente o *S. zygaena* é o tubarão-martelo mais tolerante a águas temperadas. Entretanto, sua distribuição ocorre principalmente nos tópicos, como: Golfo de Mannar, Sul da Índia e Sul de Moçambique (COMPAGNO, 1984).

O coração dos peixes é um órgão tubular, em forma de “S”, possui duas cavidades: seio venoso, que é uma modificação das veias cardinal e hepática, átrio, ventrículo e cone arterioso, considerado uma dilatação pós ventrículo (VICTOR e RAJASINGH, 1999).

A dilatação pós-ventrículo é caracterizada por uma camada muscular proveniente do miocárdio (GAMPERL e FARRELL, 2004). Possui função de bombear sangue pelo sistema circulatório (BONE e MOORE, 2008), visto que o ventrículo é o responsável pela propulsão do sangue (GAMPERL e FARRELL, 2004).

O coração dos peixes quando comparados com demais vertebrado é considerado primitivo (VICTOR e RAJASINGH, 1999). O seio venoso possui o miocárdio associado com a condução lenta do sangue, apresentando-se bem desenvolvido nos elasmobrânquios. Contudo, os teleósteos possuem tamanho reduzido quando comparado com os elasmobrânquios (MOORMAN e LAMERS, 1994).

Segundo Victor e Rajasingh (1999), em peixes cartilaginosos marinhos o ventrículo possui uma fina divisória, externamente, por onde percorre a artéria coronária. Em direção do bulbo à cauda, à direita, estes peixes possuem um lume cuja parede interna possui trabeculações anteriores, em que lembra a trabécula septo marginal observada no ventrículo do coração de mamíferos.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

Os animais foram obtidos através da pesca comercial de Guarujá, São Paulo. O material coletado foi dissecado, estudado e analisado no laboratório de Anatomia da Universidade de Guarulhos (UNG).

Após a dissecação foi retirado os corações e medidos quanto sua altura e largura e fotodocumentados. As medidas de altura e largura foram baseadas segundo Poppe et al. (2003). Logo em seguida, fez-se um corte longitudinal no coração expondo as cavidades cardíacas e fotodocumentadas para descrições macroscópicas.

## 3 | RESULTADOS

Inicialmente os corações foram mensurados com o auxílio de um paquímetro e comparados: comprimento, largura, formato e aspecto dos átrios, ventrículos e

cone arterial nas duas espécies de tubarão e em seguida dissecados.

Durante a dissecação de ambos os corações observou-se que são aparentemente semelhantes quanto ao seu cone arterial. Ambos possuem músculo papilar e cordas tendíneas. Além disso, notou-se que tais estruturas apresentavam-se mais desenvolvidas e de fácil visualização no coração do *S. lewini*. Na vista ventral, o coração do *S. lewini* apresentou ventrículo (V) com consistência mais densa e firme e com formato triangular do lado direito piramidal, com ápice pontiagudo, o átrio (A) envolve o cone arterioso (CA) e está disposto dorsal ao ventrículo onde ocorre a modificação da câmara cardíaca em cone arterioso, que se alonga cranialmente (Figura 1 A).

Na vista ventral, o coração do *S. zygaena* apresentou ventrículo (V) com consistência menos densa, e formato piramidal, com ápice arredondado e o átrio (A) envolve o cone arterioso (CA). Já na vista lateral esquerda é possível observar que é maior quando comparado com a vista lateral direita, estando localizado dorsalmente ao ventrículo, observando a modificação da câmara cardíaca para cone arterioso, que se alonga cranialmente (Figura 1 A).

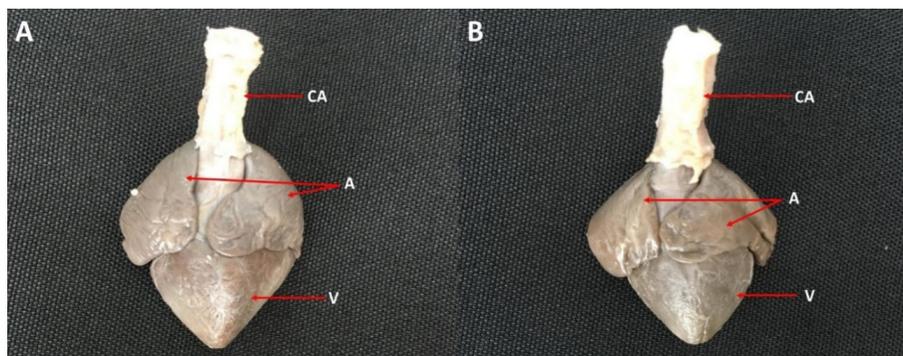


Figura 1. Vista ventral de coração do tubarão-martelo, *Sphyrna lewini* (A) e *Sphyrna zygaena* (B)

Em vista ventral, o coração do *S. lewini* apresentou o cone arterioso (CA) com sua face dorsal fazendo sintopia ao átrio (A) e o seio venoso (SV) disposto logo abaixo, apresentando uma porção pequena, dorsalmente ao ventrículo (V) (Figura 2 A).

Na vista dorsal o coração do *S. zygaena* apresentou o cone arterioso (CA) com sua face dorsal interligada ao átrio (A), podendo perceber uma diferença nas duas regiões, o átrio apresenta uma subdivisão externa sobrepondo a face lateral direita sobre a esquerda, o seio venoso (SV) está localizado ventralmente, apresentando uma porção pequena, dorsal ao ventrículo (V) (Figura 2 B).

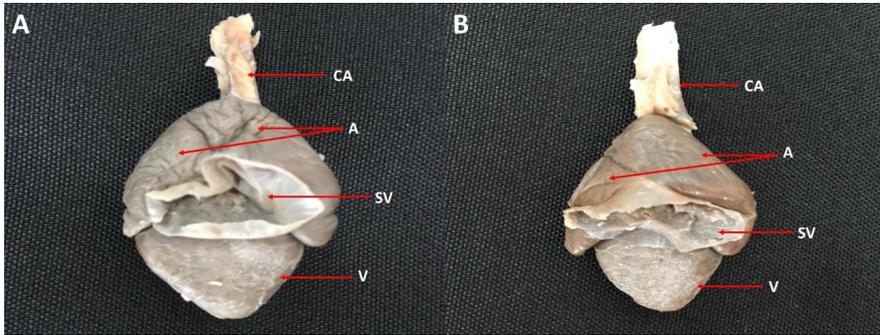


Figura 2. Vista dorsal de coração do tubarão-martelo, *Sphyrna lewini* (A) e *Sphyrna zygaena* (B)

O coração do *S. lewini* apresentou 3,5 cm de altura, medida do ápice a base e 2,5 cm de largura, feita entre os ventrículos na vista ventral (Figura 3 A). O coração do *S. zygaena* apresentou 3,3 cm de altura, medida do ápice a base e 2,7 cm de largura, feita entre os ventrículos na vista ventral (Figura 3 B)

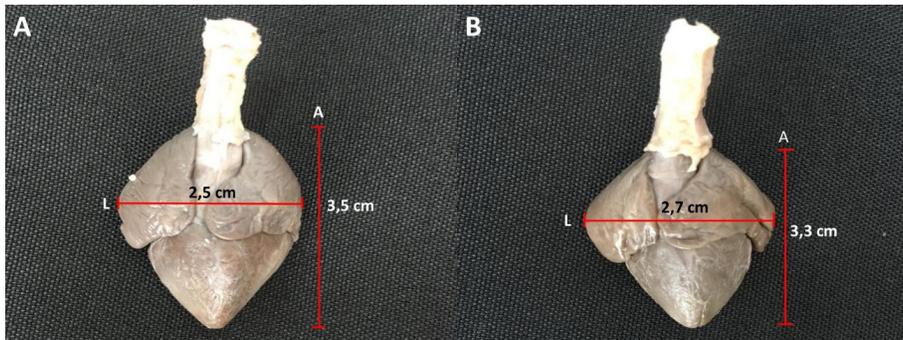


Figura 3. medidas da Altura (A) e Largura (L) do coração de tubarão-martelo, *Sphyrna lewini* (A) e *Sphyrna zygaena* (B), vista ventral

#### 4 | DISCUSSÃO

O coração do *S. lewini* apresentou-se mais rígido, desenvolvido em suas estruturas e ligeiramente maior que o *S. zygaena* podendo relacionar a diferença de profundidade vivenciada pelas espécies. Visto que os adultos de *S. lewini* vivem tanto na região oceânica com até pelo menos 275 metros de profundidade quanto na plataforma continental. Enfrentando profundidade superior que a do *S. zygaena*, encontrado em regiões costeiras ou semi-oceânica e em águas rasas sobre as plataformas continentais em profundidade de no mínimo 20 metros (COMPAGNO, 1984).

O *S. lewini* está sob fatores como pH, temperaturas mais baixas e maior pressão devido a profundidade que este se encontra. Visto que, o trabalho muscular desta espécie é maior e mais eficaz em sua natação para se adaptar a estes fatores. Esta situação pode ter colaborado para a maior densidade, tamanho e desenvolvimento de seu coração, uma vez que utiliza a anatomia e fisiologia cardíaca uma performance mais eficiente (COMPAGNO, 1984).

Em relação a profundidade atingida pelas espécies, nas ilhas de Malpelo e Cocos, nos períodos diurno e noturno, os *S. lewini* realizaram mergulhos predominantemente restritos a águas mais aquecidas durante o dia com profundidade de até 100 metros e a noite uma profundidade em torno de 728 metros, mas já foi reportado 1.000 metros atingidos pela espécie (BESSUDO, 2011). Entretanto reforça a ação do fator de profundidade sobre as características encontradas no coração.

Em estudo com o *S. lewini* fizeram mergulhos que excedem o limite de 250 m em 29 dias, compreendendo 35 ocasiões separadas. A quantidade média de tempo abaixo de 250 m por período de 12 horas, para períodos em que a profundidade máxima ultrapassou essa profundidade, foi de 35 minutos e variou de 1 a 180 minutos. A camada mínima estável de oxigênio no sul do Golfo da Califórnia é bem pronunciada entre 250 e 800 m. Nessas profundidades, os níveis de oxigênio dissolvido são consistentemente inferiores a 0,5 ml l<sup>-1</sup> (11 mM) e aproximam-se da anoxia completa perto de 600-700 m (JORGENSEN; KLIMLEY; MELO, 2009).

Em comparação, o coração do tubarão anequim possui macroscopicamente formato globuloso e o coração do tubarão agulhão-negro formato piramidal e triangular (FARRELL e JONES, 1992). A mensuração média das alturas e larguras dos ventrículos do tubarão anequim é de 5,64±0,95 cm e 15,89±2,33 cm; e do agulhão-negro de 6,87±1,65 cm e 14,67±1,90 cm. A relação altura/largura dos ventrículos dos tubarões anequins foi de 0,35±0,06; e para os agulhões-negros foi de 0,47±0,14 (p-valor = 0,09). O tubarão-anequim, *Isurus oxyrinchus*, e teleósteos marinhos de grande porte, como o agulhão-negro, *Makaira nigricans*, há semelhanças como o nado rápido (RIEDE, 2004). Estas espécies habitam em regiões com temperaturas que variam de 16 a 31 °C (FRIMODT, 1995) e vivenciam profundidades médias entre 0-200 m, chegando a mais de 400 m para o agulhão-negro (AMORIM AMORIM; PIMENTA; AMORIM, 2011) e 750 m para o tubarão-anequim (WEIGMANN, 2016).

Deste modo, podemos correlacionar com as profundidades vivenciadas pelo *S. lewini* que demonstrou apresentar o coração maior e com características semelhantes ao do tubarão anequim. Assim como, a coloração roxeada, encontrada nos corações do *S. lewini*, *S. zygaena*, *Isurus oxyrinchus* e *Makaira nigricans*, podem ser relacionados ao nado rápido com velocidade média de 35 Km/h e pode atingir velocidade máxima de 80 Km/h (EVANS; CLAIBORNE; CURRIE, 2014). Devido a necessidade de manter o melhor empenho do nado, o débito cardíaco dos tubarões

anequins é grande e garantido pela mioglobulina com a finalidade de manter o suporte constante de oxigênio para as fibras da musculatura cardíaca (SCHMIDT-NIELSEN, 2013). Este potencial também pode ser relacionado ao coração do *S. lewini* que também apresenta esta coloração no coração.

## 5 | CONCLUSÃO

Existe uma diferença discreta entre o coração de *S. lewini* e *S. zygaena* tanto para o tamanho quanto para o formato, não havendo aparentemente relação com o tipo de nado e hábito de vida.

## REFERÊNCIAS

AMORIM, A. F.; PIMENTA, E.G.; AMORIM, M.C.C. 2011. **Peixes-de-Bico do Atlântico**. Santos, Edição do Autor. 108p.

BESSUDO, S.; SOLER, G.A; KLIMLEY, P.; KETCHUM, J.; ARAUZ; HEARN, A.; GUZMÁN, A.; CALMETTES, B. **Vertical and horizontal movements of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) around Malpelo and Cocos Islands (Tropical Eastern Pacific) using satellite telemetry**. Bol Invest Mar Cost, n. 40, p. 91-106, 2011.

BONE, Q.; MOORE, R.H. 2008. **Biology of fishes**. 3ªed. Oxford: Taylor and Francis, 478p.

COMPAGNO, L.J.V. 1984. **Sharks of the world**. An annotated and illustrated catalogue of sharks species known to date. Part 2. Carcharhiniformes. FAO Fisheries Synopsis, v. 4, n. 125, p. 545-554.

EVANS, D.H.; CLAIBORNE, J.B; CURRIE, S. 2014. **The Physiology of Fishes**. CRC Marine Biology Series. 4ªed, 34 p.

FARRELL, A.P.; JONES, D.R. The heart. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D.J.; FARRELL, A.P. (eds). 1992. **Fish physiology: the cardiovascular system**, v. 12, part a., San Diego: Academic Press, p. 1–87.

FRIMODT, C. 1995. **Multilingual illustrated guide to the world's commercial warmwater fish**. Fishing News Books, Osney Mead, Oxford, England. 215 p.

GAMPERL, A.K.; FARRELL, A.P. **Cardiac plasticity in fishes: environmental influences and intraspecific differences**. Journal of Experimental Biology, v 207, n. 15, p. 2539-2550. 2004.

JORGENSEN, S.J; KLIMLEY, A.P; MUHLIA-MELO, A.F. **Scalloped hammerhead shark *Sphyrna lewini*, utilizes deep-water, hypoxic zone in the Gulf of California**. Journal of fish Biology. 2009.

MOORMAN, A.F.M.; LAMERS, W.H. 1994. **Molecular anatomy of the developing heart**. Trends in Cardiovascular Medicine, n. 4, p. 257–264.

POPPE, T.T.; JOHANSEN, R.; GUNNES, G.; TORUD, B. **Heart morphology in wild and farmed Atlantic salmon *Salmo salar* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss***. *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 57, n. 1-2, p. 103-108. 2003.

RIEDE, K. **Global register of migratory species - from global to regional scales**. Final Report of the R&D-Projekt 808 05 081. Federal Agency for Nature Conservation, Bonn, Germany. 329 p., 2004.

SCHMIDT-NIELSEN, K. 2013. **Fisiologia Animal**. Adaptação e Meio Ambiente. 5ª Edição. Editora Santos.

VICTOR, N.; RAJASINGH, R. **Evolution of the ventricles**. *Tex Heart Inst J*. v. 26, n. 3. p. 168-175.1999.

WEIGMANN, S. **Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity**. *Journal of Fish Biology* n. 88, p. 837–1037. 2016.

## HÉRNIA INGUINAL EM LÊMURE-DE-CAUDA-ANELADA (*Lemur catta*): RELATO DE CASO

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 19/06/2020

### Natália Todesco

Parque Zoológico Municipal Quinzinho de  
Barros  
Sorocaba - SP

### Lanna Torrezan

Parque Zoológico Municipal Quinzinho de  
Barros  
Sorocaba - SP

### Rode Pamela Gomes

Clínica Veterinária Vida Vet  
Ubatuba - SP

### Vanessa Lanes Ribeiro

Instituto Biopesca  
Praia Grande - SP

### Hanna Sibuya Kokubun

Centro de Reabilitação de Animais Silvestres –  
Univap  
São José dos Campos - SP

### Rodrigo Hidalgo Friciello Teixeira

Parque Zoológico Municipal Quinzinho de  
Barros  
Sorocaba - SP

### André Luiz Mota da Costa

Parque Zoológico Municipal Quinzinho de  
Barros  
Sorocaba - SP

**RESUMO:** O lêmure-de-cauda-anelada (*Lemur catta*) é uma das espécies de lêmure mais mantidas sob cuidados humanos e está classificada pela IUCN como em risco de extinção devido à perda de habitat e à caça. As hérnias podem ocorrer na região umbilical, inguinal ou escrotal. As hérnias inguinais são deslocamentos de tecidos ou órgãos através do canal inguinal, ocorrendo com maior frequência de forma unilateral. A hérnia inguinal é menos frequente que as demais, e é decorrente de um defeito no anel inguinal. O diagnóstico é obtido através da palpação e a confirmação ocorre através da redução manual da hérnia e detecção do canal inguinal. O tratamento indicado é a correção cirúrgica. O presente trabalho tem como objetivo relatar o primeiro caso de um indivíduo de *Lemur catta* diagnosticado com hérnia inguinal unilateral e o consequente tratamento cirúrgico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cirurgia, herniorrafia, prossímio.

### INGUINAL HERNIA IN A RING-TAILED LEMUR (*Lemur catta*): CASE REPORT

**ABSTRACT:** The ring-tailed lemur (*Lemur catta*) is one of the lemur species most kept under human care, and is classified as endangered by the IUCN due to habitat loss and hunting. The hernias may occur in the umbilical, inguinal and scrotal regions. The inguinal hernias are displacements of tissues and organs through the inguinal canal and often occur unilaterally. The inguinal hernias are less common than the others and are due to a defect in the inguinal ring. The diagnosis is through palpation and confirmation is through the manual reduction of the hernia to

the inguinal canal and detection of hernial ring. The indicated treatment is surgical correction. The present article reports the first case of a *Lemur catta* kept under human care diagnosed with unilateral inguinal hernia and its surgical treatment.

**KEYWORDS:** Surgery, herniorrhaphy, prossimum.

## INTRODUÇÃO

A ordem dos Primatas é dividida em duas subordens: Strepsirhine (Prossímios) e Haplorhini (Primatas do Velho e Novo Mundo). A subordem Strepsirhine é dividida em duas infraordens: a Lorisiformes que inclui os lóris, potos e galagos e a Lemuriformes, que é representada pelos lêmures. Esta infraordem é composta por cinco famílias, todas endêmicas da ilha de Madagascar, na África: Lemuridae, Indriidae, Cheirogaleidae, Lepilemuridae e Daubentoniidae. Os lêmures ocorrem em uma grande variedade de nichos ecológicos, ocupando desde florestas tropicais de altitude na costa Leste e florestas secas no Oeste, até os desertos do Sul (WILLIAMS, 2015).

O lêmure-de-cauda-anelada (*Lemur catta*) é uma das espécies de lêmure mais mantidas sob cuidados humanos, e em vida livre está classificada pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN) como em risco de extinção devido à perda de habitat, principalmente devido às queimadas para ampliação das áreas para a agropecuária, além da caça para subsistência (ANDRIAHOLINIRINA et al., 2014). Possuem hábitos diurnos, são onívoros e pesam entre 2 a 3 kg (WILLIAMS, 2015).

As hérnias são classificadas em verdadeiras e falsas. A verdadeira possui o anel herniário definido e o saco do peritônio envolvendo o conteúdo herniário, diferindo da falsa, a qual não possui o saco herniário completo. Podem ocorrer na região inguinal, umbilical e escrotal (READ, BELLENGER, 2007; SMEAK, 2007). As hérnias inguinais, menos frequentes que as demais, são deslocamentos de tecidos ou órgãos através do canal inguinal, ocorrendo com maior frequência de forma unilateral. Podem ser decorrentes de trauma ou anomalias congênitas do canal inguinal, levando os órgãos da cavidade abdominal à região subcutânea (FOSSUM, 2015). É constituída por um anel (que é o defeito na parede abdominal), o saco herniário (formado por peritônio que recobre o conteúdo da hérnia) e o conteúdo, constituído pelo órgão deslocado (READ; BELLENGER, 2007).

Em cães ocorre mais frequentemente de forma congênita, em decorrência da estenose retardada do anel inguinal, com maior incidência em machos. Podem ser de diferentes tamanhos, dependendo do conteúdo herniado, sendo reportados intestino, omento, tecido adiposo, baço, vesícula urinária e até mesmo útero gravídico como conteúdo (SMEAK, 2007). Os sinais clínicos são dor e aumento de

volume na região inguinal, variando de acordo com o órgão herniado e a presença de encarceramento, além de vômito e letargia. Alguns animais são assintomáticos. O aumento de volume pode apresentar-se mais proeminente, com consistência flutuante, no caso do envolvimento de intestinos, útero ou vesícula urinária (FOSSUM, 2015). O diagnóstico é realizado por meio de palpação cuidadosa. Uma limitação é o tamanho reduzido da hérnia, que pode não ser detectada até que ocorram complicações. A confirmação ocorre por meio da redução manual da hérnia e palpação do canal inguinal, porém a palpação pode não ser conclusiva quando se trata de hérnias encarceradas. A ultrassonografia e radiografias simples e contrastada podem ser utilizadas para auxiliar a identificar o conteúdo herniado. O tratamento indicado é a correção cirúrgica (SMEAK, 2007).

Em seres humanos a incidência de hérnias inguinais é de 75% em relação às demais hérnias, sendo mais comum em homens do que em mulheres (TEIXEIRA, et al., 2017). Em primatas não humanos, as hérnias inguinais já foram descritas em várias espécies, como o macaco-caranguejeiro (*Macaca fascicularis*) (SADOUGHI, B., et al., 2019), o sagui-de-tufos híbrido (*Callithrix sp*) (DINIZ, 2019) e o macaco-rhesus (*Macaca mulatta*) (BERG et al., 2017). Não foram encontrados relatos em Prossímios.

O presente trabalho tem como objetivo relatar a ocorrência de hérnia inguinal unilateral em um indivíduo de *Lemur catta* mantido sob cuidados humanos no Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (Sorocaba, SP, Brasil), assim como seu tratamento cirúrgico.

## RELATO DE CASO

Uma fêmea adulta de *Lemur catta*, foi observada com um aumento de volume em região inguinal direita durante inspeção à distância. Animal estava assintomático, apresentando inclusive normoquesia e normúria. O paciente foi submetido à contenção química com cetamina 10% (6 mg/kg) e midazolam 0,5% (1 mg/kg) aplicados por via intramuscular para realização de exame físico, colheita de sangue para hemograma completo, função renal e função hepática. Ao exame físico, o aumento de volume mediu aproximadamente 6,5 cm x 4,5 cm (Figura 1), apresentou consistência flutuante e grande parte do conteúdo palpado era redutível, sendo possível palpar o anel herniário, evidenciando hérnia inguinal de etiologia desconhecida. Todos os exames estavam dentro da normalidade.



Figura 1: Aumento de volume em região inguinal esquerda, medindo 6,5 cm x 4,5 cm.

Uma semana após confirmação do diagnóstico, o lêmure foi anestesiado com cetamina 10% (5 mg/kg) e midazolam 0,5% (0,7 mg/kg) aplicados por via intramuscular para realização do procedimento cirúrgico. O animal foi intubado com traqueotubo nº 3 (Figura 2) e a manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano em vaporizador universal. O animal foi posicionado em decúbito dorsal, foi realizada tricotomia ampla da região inguinal (Figura 3) seguida de antissepsia com iodo degermante. O procedimento cirúrgico foi iniciado com uma incisão na pele (Figura 4). Em seguida realizou-se a divulsão do tecido subcutâneo até exposição do saco herniário (Figura 5), que então foi incisado e em seu interior foi possível observar a vesícula urinária (Figura 6). O saco herniário foi removido, foi realizada punção para esvaziamento da vesícula urinária com agulha 25 x 7 (Figura 7), com o objetivo de facilitar a redução, e a vesícula urinária foi cuidadosamente redirecionada à cavidade abdominal (Figura 8). Foi realizado debridamento do anel herniário, seguido de sutura da musculatura em padrão “Sultan” (Figura 9). Foi realizada a síntese do tecido subcutâneo em padrão simples contínuo e da pele com sutura intradérmica em “U” contínuo (Figura 10); todos com fio monofilamentar nylon 3-0.



Figura 2: Indivíduo de *Lemur catta* intubado com traqueotubo nº 3.



Figura 3: Hérnia inguinal melhor visualizada após tricotomia pré-operatória.



Figura 4: Incisão cutânea paralela a linha alba em região inguinal.



Figura 5: Exposição de saco herniário, após divulsão do tecido subcutâneo.

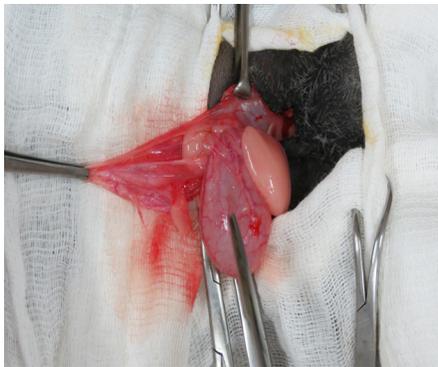


Figura 6: Abertura do saco herniário evidenciando vesícula urinária.



Figura 7: Esvaziamento da vesícula urinária para facilitar a redução, através de punção de seu conteúdo com agulha 25 x 7.

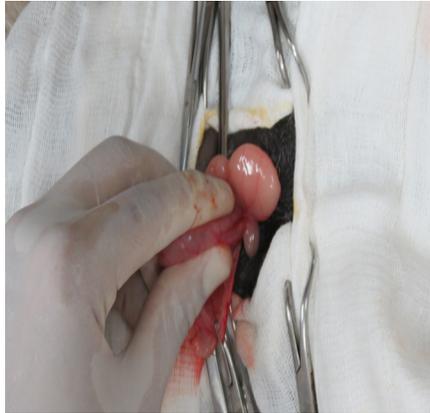


Figura 8: Redução de vesícula urinária à cavidade abdominal, após seu esvaziamento.

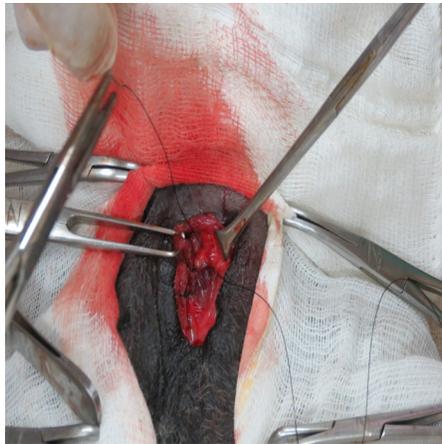


Figura 9: Sutura de musculatura em padrão "Sultan".



Figura 10: Sutura de pele intradérmica com padrão "U" contínuo, ocultando o fio cirúrgico.

O indivíduo obteve uma boa recuperação anestésica. No pós-operatório foi administrado enrofloxacino 5 mg/kg intramuscular durante sete dias, meloxicam 0,2 mg/kg intramuscular durante três dias e dipirona 25 mg/kg via oral durante cinco dias. O animal foi mantido em espaço restrito (Figura 11) durante quinze dias, de forma que não pudesse saltar ou se movimentar demais, para evitar a deiscência ou ruptura da sutura. Após este período, com excelente cicatrização, o lêmure retornou ao recinto com os demais contactantes.

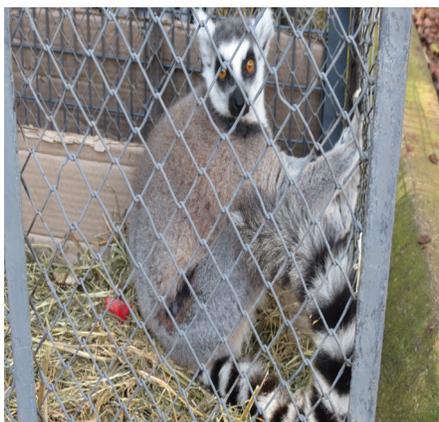


Figura 11: Indivíduo de *Lemur catta* após recuperação anestésica, mantido em espaço restrito para evitar complicações pós-operatórias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A hérnia inguinal é comum em primatas, porém não foram encontrados relatos em prossímios. O presente trabalho relatou a ocorrência de hérnia inguinal em uma fêmea adulta de lêmure-da-cauda-anelada (*Lemur catta*), com histórico de aumento de volume em região inguinal direita. Segundo Fossum (2015), a vesícula urinária quando herniada possui consistência flutuante a palpação, assim como ocorreu nesse caso.

Na espécie canina a predisposição sexual das hérnias inguinais é maior em machos (SMEAK, 2007), assim como em homens é mais frequente do que em mulheres (TEIXEIRA, et al., 2017). Neste relato a hérnia inguinal ocorreu em uma fêmea, levantando a questão para futuras pesquisas sobre a predisposição sexual em prossímios, já que este é o primeiro caso.

A recomendação cirúrgica indicada para cães e gatos foi aplicada para este lêmure. Adaptações da técnica preconizada a estes animais, como o padrão de sutura, foram necessárias devido às características biológicas e comportamentais deste prossímio. A literatura recomenda que após a remoção do saco herniário

deve-se realizar sutura de colchoeiro, simples contínuo, “Cushing” ou “Lembert”. (FOSSUM, 2015; SMEAK, 2007). Neste caso foi realizada a sutura da musculatura após debridamento do anel herniário em padrão “Sultan”, para dar maior resistência e segurança à sutura, já que a espécie em questão possui o hábito de saltar para se locomover, exercendo maior tração na musculatura envolvida. Optou-se também por utilizar a sutura cutânea em “U” contínuo intradérmico para não deixar fios de sutura expostos e chamar a atenção do paciente, pois os lêmures são muito curiosos e possuem mãos hábeis, que poderiam facilmente retirar a sutura externa.

Como recomendado por Smeak (2007), após a cirurgia, o animal foi mantido em espaço reduzido para limitar seus movimentos, a fim de evitar complicações pós-operatórias. Com a sutura intradérmica em “U” contínuo, não há a necessidade de retirar a sutura, evitando mais uma contenção física e minimizando o estresse do paciente. Durante toda a recuperação o animal não demonstrou interesse em tocar na lesão cirúrgica. A alta médica foi realizada após 15 dias, onde foi observada excelente cicatrização.

## CONCLUSÃO

A ocorrência de hérnia inguinal é frequente em animais domésticos, sendo possível encontrar inúmeros relatos em literatura especializada. A técnica utilizada foi a descrita para cães, que com pequenas adaptações se mostrou eficaz nesse lêmure. Em animais selvagens a afecção é pouco relatada, existindo relatos em primatas, porém sem relatos em prossímios. Este é o primeiro relato que se tem notícia em um prossímio, em nível mundial.

## REFERÊNCIAS

ANDRIAHOLINIRINA, N.; BADEN, A.; BLANCO, M.; et al., **Lemur catta**. The IUCN red list of threatened species, 2014. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20142.RLTS.T11496A62260437.en>. Acesso em 03 de junho de 2020.

BERG, M. R.; MACALLISTER, R.P.; MARTIN, L. D. Nonreducible inguinal hernia containing the uterus and bilateral adnexa in a rhesus macaque (*Macaca mulatta*). **American Association for Laboratory Animal Science**. I 67, n 6, p 537 - 540, 2017.

DINIZ, Y.K.R.B. **Malformações fetais em primatas não-humanos: revisão de literatura e relatos de casos**. Universidade Federal Rural da Amazônia, p 1 – 41, 2019.

FOSSUM, T.W. Cirurgia da cavidade abdominal in FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. Editora Elsevier, 4ª ed, 2015, p 356 – 385.

READ, R.A, BELLENGER, C.R. Hérnias in SLATTER, Douglas. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. Editora Manole, 3ª ed, v 1, 2007, p 529 - 531.

SADOUGHI, B., DIRHEIMER, M., REGNARD, P., WANERT, F. Surgical management of a strangulated inguinal hernia in a cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*): a case report with discussion of diagnosis, and review of literature. **Revue de Primatologie**. V 9, p 1 – 11, 2018.

SMEAK, D.D. Hérnias abdominais in SLATTER, Douglas. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. Editora Manole, 3ª ed, v 1, 2007, p 533 - 558.

TEIXEIRA, F. M. C, PIRES, F. P. A. A., LIMA, J. S. F. Estudo de revisão da cirurgia de hernioplastia inguinal: técnica de Lichtenstein versus laparoscópica. **Revista Médica de Minas Gerais**, v 27, 2017, p 44 – 51.

WILLIAMS, C.V. in MILLER, E., FOWLER, M.E. **Zoo and wild animal medicine**. Editora Elsevier, v. 8, 2015, p 318 – 329.

# CAPÍTULO 17

## ETOGRAMA DE UM GRUPO DE MACACOS BARRIGUDOS (*LAGOTHRIX LAGOTHRICHA*) VIVENDO NA FUNDAÇÃO ZOOBOTÂNICA DE BELO HORIZONTE, MG

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 05/06/2020

**Daniel Negreiros**

Centro Universitário Una  
Belo Horizonte, Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/0005745576663420>

**Gabriel Spineli Rodrigues Lopes**

Centro Universitário Una  
Belo Horizonte, Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/8825926359676390>

**Evandro Gama de Oliveira**

Centro Universitário Una  
Belo Horizonte, Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/7619647536261409>

**Kleber Felipe Alves da Silva**

Centro Universitário Una  
Belo Horizonte, Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/6040681058347707>

**Rayane Isabele Nunes Lopes**

Centro Universitário Una  
Belo Horizonte, Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/7777085369625549>

**Rafaela Dalva Rodrigues de Carvalho**

Centro Universitário Una  
Belo Horizonte, Minas Gerais  
<https://orcid.org/0000-0003-1914-7478>

**Pedro Henrique Goulart Pinheiro**

Centro Universitário Una  
Belo Horizonte, Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/9075318727968525>

**Gabriel de Oliveira Rodrigues**

Centro Universitário Una  
Belo Horizonte, Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/3161644333622204>

**Clara Luísa Silveira**

Centro Universitário Una  
Belo Horizonte, Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/9806849216135194>

**RESUMO:** Uma ferramenta útil para descrição do comportamento de dada espécie animal em dada condição é a construção de etogramas. Os etogramas nos mostram tanto o repertório comportamental da espécie como o orçamento temporal dos diferentes comportamentos. O presente estudo teve como objetivo elaborar um etograma para um grupo de sete indivíduos de macacos barrigudos *Lagothrix lagothricha cana* (Primates: Atelidae) mantidos sob os cuidados da Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte, MG. O estudo foi realizado entre setembro-novembro de 2018. Na natureza, primatas desta espécie habitam florestas primárias de terra firme na Amazônia, e apresentam hábitos arborícolas. A elaboração do etograma tomou por base duas etapas: (i) cinco horas de observações ad libitum para identificação e categorização dos principais comportamentos; e (ii) vinte horas de observação utilizando o método scan divididas igualmente entre a manhã e tarde. O grupo foi dividido em três subgrupos conforme o sexo e a idade: (1) três machos adultos; (2) três fêmeas adultas (incluindo uma mãe); e (3) único filhote (fêmea). A unidade amostral considerada foi o intervalo

de tempo de trinta minutos. Para a comparação da frequência relativa de cada comportamento entre os três grupos foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido da comparação par-a-par pelo teste de Mann-Whitney. No total, foram obtidos 2850 registros comportamentais, e as categorias de comportamento mais observadas foram descanso (28% do tempo) e locomoção (20%). Foram também observados comportamentos de cuidado parental (e.g., amamentação), brincadeira, e defesa do grupo (e.g., exibição dos dentes). O único filhote mostrou maior atividade que os adultos, incluindo os comportamentos de brincar e correr ( $P < 0,05$ ). Comportamentos sexuais foram relativamente raros. Os resultados obtidos podem ter implicações importantes tanto na elaboração de técnicas visando o bem-estar desta espécie sob os cuidados humanos como nos planos de manejo e conservação no ambiente nativo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Animais sob o cuidado humano, Atelidae., Conservação, Orçamento temporal, Primatas.

### ETHOGRAM OF A GROUP OF WOOLLY MONKEYS (*LAGOTHRIX LAGOTHRICHA*) LIVING AT THE ZOOBOTANICAL FOUNDATION OF BELO HORIZONTE, MG

**ABSTRACT:** A useful tool to describe the behavior of an animal species living under a given condition is the construction of an ethogram. Ethograms show us the behavior repertoire of a species and the time budget of different behaviors. Our goal in this study was to construct an ethogram for a group of seven woolly monkeys *Lagothrix lagothricha cana* (Primates: Atelidae) kept at Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte, MG. The study was conducted in September-November/2018. In nature, *L. lagothricha* are found in Amazonian “terra firme” primary forests and show arboreal habits. To build the ethogram, our study was divided in two stages: (1) five hours of *ad libitum* observations to identify and categorize the main behaviors; and (2) twenty hours of observation using the scan method equally partitioned between morning and afternoon. According to sex and age, the group members were divided into three subgroups: (1) three adult males; (2) three adult females (one mother); and (3) a young female daughter. Sample units considered to build the ethogram were the thirty minute intervals. In order to compare the relative frequency of each behavior among subgroups, we used the non-parametric method of Kruskal-Wallis followed by pairwise comparisons using the Mann-Whitney test. We achieved a total of 2850 behavior recordings, and the behavioral category most frequently observed was resting (28% of the time) and locomotion (20%). Other behaviors observed with some frequency include parental care (e.g. breast feeding), play, and defense (such as teeth exhibition). The only monkey cub present in the group showed greater activity than the adults, including play and run ( $P < 0,005$ ). Sexual behaviors were relatively rare. The results shown here may have important implications in the developing of strategies aimed at the well-being of woolly monkeys living under human care and strategies aimed at the management and conservation of woolly monkeys in natural reserves.

**KEYWORDS:** Animal under human care, Atelidae, Conservation, Primates, Time budge.

## 1 | INTRODUÇÃO

Um programa de conservação tem por objetivo a recuperação das populações de espécies ameaçadas visando à persistência destas populações no seu meio nativo. O primeiro passo neste sentido é analisar os estudos já realizados com a espécie, o que possibilita diagnosticar o estado de conservação da espécie e traçar os próximos passos a serem tomados (REZENDE, 2013).

O primeiro método normalmente utilizado nos programas de conservação é o manejo *in situ* das espécies nos casos em que isto é possível (REZENDE, 2013). O manejo *ex situ* pode ser uma fonte de diversidade genética para populações selvagens, através de programas de reintrodução e translocação (manejo integrado) (VALLADARES-PADUA et al., 2009). O cuidado de espécies ameaçadas em cativeiro é de importância vital na conservação da biodiversidade mundial, pois contribui para preservação da genética e possibilita a realização de pesquisas que muitas vezes não são fáceis no ambiente natural (HUTCHINS et al., 2003; MATOS-CARTAGENAS et al., 2017).

Snyder e colaboradores (1996), contudo, apontam uma série de dificuldades e problemas com as técnicas de manejo *ex situ* visando a conservação das espécies animais, e destacam que esta abordagem deve ser adotada somente em casos onde os métodos de manejo *in situ* não tenham se mostrado eficazes. O sucesso da conservação em cativeiro depende tanto dos cuidados na manutenção, quanto da capacidade de adaptação destes animais à nova condição (RUIZ-MIRANDA et al., 2003). A legislação brasileira prevê atualmente que sejam elaborados Programas de Cativeiro de Espécies Ameaçadas de acordo com a Instrução Normativa n.º 22, de 27 de março de 2012, do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (REZENDE, 2013).

De acordo com Heymann e Strier (2008), existem no mundo 657 espécies e subespécies de primatas distribuídas em 16 famílias e 71 gêneros. Grande parte destas espécies vive nas regiões tropicais do planeta e ocupam uma variedade de habitats, de savanas abertas a florestas densas. A maior riqueza de espécies se encontra nas Américas Central e do Sul, na África e na Ásia (HEYMANN & STRIER, 2008). O Brasil destaca-se como o país mais rico em espécies de primatas no mundo, com cerca de 120 espécies e subespécies (FORTES & BICCA-MARQUES, 2005).

Os primatas (ordem Primates) podem viver solitários, em grupos monogâmicos, em grupos com somente um macho adulto e várias fêmeas, ou

em grupos multi-machos e multi-fêmeas (FORTES & BICCA-MARQUES, 2005; GARBER & ESTRADA, 2009). As vantagens da vida em grupo, eleva a defesa contra predação e diminui a dificuldade para encontrar parceiros sexuais. Em contrapartida, a vida em grupo propicia o aumento da competição intraespecífica por alimento e da incidência de doenças parasitárias devido ao maior adensamento populacional (HICKMAN et al., 2004; ALCOCK, 2011).

O estudo do comportamento animal (etologia) vem sendo praticado há milhares de anos, tendo em vista que o humano caçador-coletor já precisava deste conhecimento tanto para se defender dos predadores como para caçar suas presas (ALCOCK, 2011). Os estudos etológicos podem ser utilizados para analisar o comportamento das espécies de animais, buscando entender os fatores ecológicos e evolutivos que moldaram esses comportamentos, possibilitando melhoria do bem-estar animal sob cuidado humano (PEREIRA & PITSKO, 2003; ALBUQUERQUE & CODENOTTI, 2006).

A partir de observações acerca do comportamento animal pode se elaborar um etograma, o qual descreve as características comportamentais de dada espécie, incluindo como suas atividades são distribuídas no tempo e no espaço (DA CONCEIÇÃO et al., 2008). A construção de etogramas serve a muitos propósitos visando à conservação de espécies ameaçadas, como por exemplo, a comparação do orçamento temporal ou uso do espaço de dada espécie em cativeiro com aqueles observados na natureza. Esta comparação pode revelar diferenças que, por sua vez, podem indicar formas de aplicar o enriquecimento ambiental de modo que o animal possa exibir o máximo de seu repertório comportamental possível *in situ* (LLORET, 1978; RESENDE, 2008).

O presente estudo teve como objetivo elaborar um etograma para um grupo de sete indivíduos de macacos barrigudos *Lagothrix lagothricha cana* (Primates: Atelidae) mantidos sob os cuidados da Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte, MG.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Área de Estudo

O presente estudo foi desenvolvido no Jardim Zoológico da Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte (19° 51' 19.6"S 44° 00' 19.7"W), região sudeste do Brasil, entre os meses de setembro e novembro de 2018. O clima regional predominante é o mesotérmico (Cwb na classificação Köppen) com verões chuvosos e invernos secos. A precipitação média anual é de 1546 mm e temperatura média variando entre 15,7 e 21,5 °C (ALVARES et al., 2013).

Os primatas observados encontram-se em um fosso seco de formato circular

de aproximadamente 1250 m<sup>2</sup> (Figura 1 e, f), no qual a parte central é elevada em relação à borda, de forma que a maior parte do recinto fica no mesmo nível dos visitantes. Os animais têm à sua disposição, brinquedos feitos de madeira, elásticos, redes e várias árvores da espécie *Ziziphus joazeiro* (juazeiro), *Acromia aculeata* (coco-de-espinho), e plantas das famílias Oleaceae e Poaceae (Figura 1 c). No entorno do fosso, plantas da espécie *Myrtus communis* (murta) faz o papel de “cerca viva”, que auxilia no bem-estar dos animais no recinto (C. ROBERTO, 2018, comunicação pessoal). Todas as espécies de plantas mencionadas eram regularmente consumidas pelos primatas no recinto.

## 2.2 Espécie Estudada

A espécie alvo do presente estudo - macaco-barrigudo da espécie *Lagothrix lagothericha cana* (Humboldt, 1812), primata da família Atelidae (RUIZ-GARCIA & PINEDO-CASTRO, 2010). Segundo Fooden (1963), o macaco-barrigudo é representado por duas espécies: *Lagothrix lagothericha* e *Lagothrix flavicauda*. A espécie *L. lagothericha* inclui quatro subespécies, sendo elas *L. lagothericha lugens*, *L. lagothericha poeppigii*, *L. lagothericha lagothericha* e *L. lagothericha cana* (BOTERO et al., 2014).

Primatas da espécie *L. lagothericha* apresentam dimorfismo sexual discreto como mostrado na Figura 1. O macho apresenta porte maior que a fêmea, caninos com o dobro do comprimento em relação aos dentes incisivos, já a fêmea apresenta cauda mais longa e delgada, e massa corporal mais baixa (FOODEN, 1963; DEFLER, 1995).

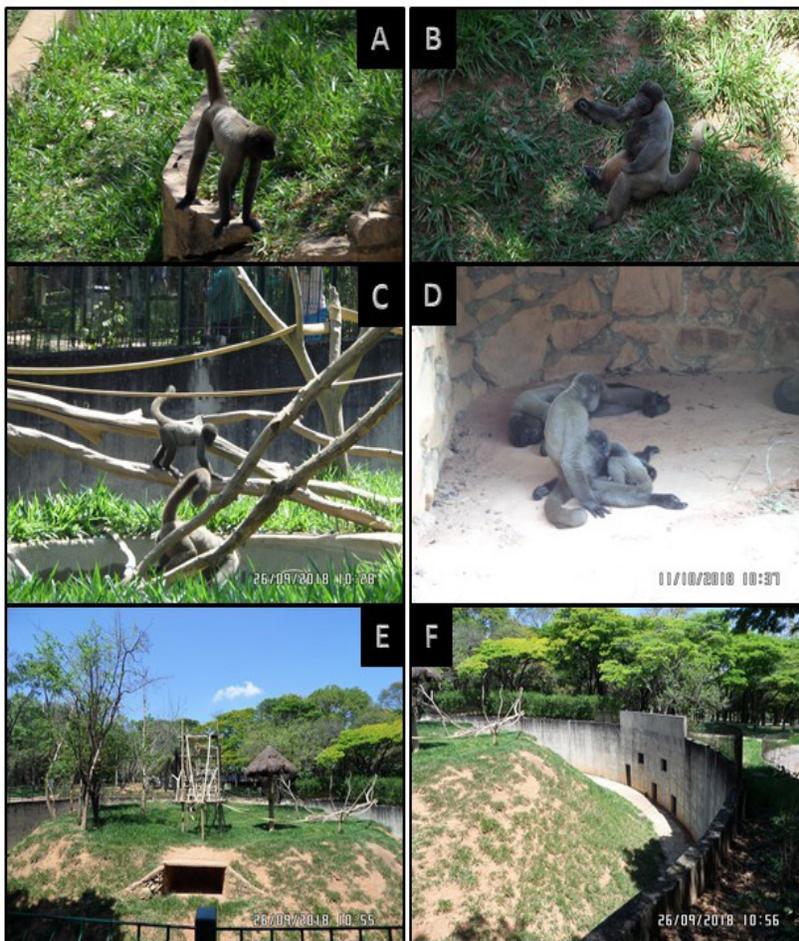


Figura 1: Fotografias mostrando os espécimes de macaco-barrigudo (*Lagothrix lagothericha*) estudados e o fosso seco onde o grupo se encontra. (a) A fêmea possui coloração acinzentada no dorso e membros posterior e anterior marrom-claro acinzentado, rabo delgado e corpo mais esguio; (b) o macho possui coloração amarelo-claro acinzentado nas regiões mais extremas dos membros inferiores até o final da cauda, além de ter o corpo mais robusto e cauda mais grossa do que a da fêmea. (c): filhote fêmea andando nos poleiros. (d): fêmea amamentando dentro da toca do recinto. (e): vista geral do recinto com enriquecimento. (f): portas de acesso ao alimento.

A espécie *L. lagothericha* na natureza habita florestas de terra firme primárias (PERES, 1996; DI FIORE, 2003), e se mostra vulnerável à caça e à fragmentação de habitat (BASTOS, 2012; ZÁRATE & STEVENSON, 2014). Sua dieta onívora que inclui uma variedade de frutos nativos (60 a 77% da dieta) resulta na dispersão de sementes grandes de muitas espécies de diversas famílias incluindo Fabaceae (Leguminosae), Moraceae, Euphorbiaceae e Myristicaceae (PERES, 1994; DEFLER & DEFLER, 1996; ROOSMALEN et al., 1996; STEVENSON et al., 1994; DI FIORE,

2003; DI FIORE, 2004; STEVENSON & ALDANA, 2008).

Os grupos podem variar de 10 a 49 indivíduos (DI FIORE, 2003) e incluem vários machos que em áreas de vida pequenas definem a hierarquia do grupo através de comportamentos agonísticos (WILLIAMS, 1967; HICKMAN et al., 2004).

### 2.3 Protocolos de Amostragem

Para a elaboração do etograma para esta família de macacos barrigudos, utilizamos o método de amostragem *ad libitum* nas observações preliminares e o método de varredura ou *scan* nas observações definitivas, que formaram a base para a construção do etograma. As observações preliminares serviram para registrar aspectos relevantes acerca do recinto e dos membros do grupo, definir as categorias comportamentais e interações sociais que seriam objeto de análise, bem como avaliar o método de amostragem mais apropriado (DEL-CLARO, 2004; FORTES & BICCA-MARQUES, 2005). Com base nestas observações e registros preliminares, elaborou-se uma tabela com a descrição comportamentais observadas, que serviu de base na construção definitiva do etograma (Tabela 1).

Comportamento	Sigla	Descrição
Locomoção	Mv	Movimentar-se dentro do recinto com ou sem destino específico; deslocar-se.
	Ces	Comportamento estereotipado: Movimentar a cabeça e o tórax de um lado para o outro.
	Mn	Manobrar-se usando o tronco dentro do recinto para girar o corpo.
	Cr	Correr. Às vezes inclui pequenos saltos livres.
	Gi	Ganhar impulso. O animal flexiona rapidamente os membros posteriores para adquirir impulso e saltar.
	Do	Descer do objeto.
	Eo	Escalar algum objeto.
	Cam	Dar cambalhota, o indivíduo quando descendo de puleiros dá cambalhotas para chegar ao chão.
Alimentação	Cm	Caçar insetos, comer sentado, comer deitado, alimentar-se.
	Ce	Comer esticado: quando o alimento de interesse é de difícil alcance, se forma uma ponte com o corpo.
	Bb	Beber água: O animal bebe água colocando as duas mãos na bica da piscina, molhando-a e levando-a a boca.
Forrageamento	Fr	Forragear: buscar por alimento.
Brincar	Bd	Brincar dependurado verticalmente.
	Bh	Brincar dependurado horizontalmente.
	Bf	Brincar com folhas
Interação Social Agonística	Df	Defesa: O primata exhibe seus dentes olhando para o oponente, podendo urinar ou evacuar no mesmo.
	Gt	Gritar: Emitem vocalizações fortes para seus oponentes eriçando os pelos.
Interação Social Afetiva	Am	Amamentar. Mãe abraça o infante ou simplesmente coloca os braços sobre ele para amamentar.
	Cad	Carregar no dorso/ventre: Carregado no meio das costas da mãe ou do macho; agarrado, o infante pode ocupar vários tipos de posições.
	Abç	Abraçar: Um indivíduo abraça ao outro, demonstrando comportamento afetivo.
Maneiras Reprodutivas	Ig	Inspecionar genitália: O indivíduo toca ou / e lambe a genitália e / ou a região pubiana própria ou de outro.
	Ch	Cheirar a genitália de outro indivíduo.
Vocalização	Vc	Vocalizar dentro do recinto; emitir som.
Cuidados Corporais	Ac	Auto-catação, procurar algo em seu corpo.
	Cç	Coçar-se; Cabeça, braços e costas são coçados com as mãos ou pés, ou o corpo é esfregado em algo.
	Reb	Receber catação; procurar algo no corpo de outro indivíduo.
	Cça	Coçar a genitália: o animal coça o ânus, a genitália ou a região pubiana.
Descanso	Se	Sentado; o animal permanece observando algo ao seu redor.
	DI	Deitado lateralmente ou deitado de frente, o animal deita-se com a barriga voltada para o solo.
	De	Dependurado pela cauda o animal fica em posição de descanso.
	Dg	Deitado sobre os galhos o animal permanece em descanso.
	Es	Espreguiçar-se.
	Fx	Flexionado: Indivíduo fica flexionado sobre galhos ou chão observando algo.
	Pq	Posição de quadrupede: animal fica em posição de quadrupede observando ao redor.
Não Visível	Nv	Animal não é visto pelo observador.

Tabela 1: Descrição dos comportamentos observados para a construção do etograma - *L. lagothrix cana*.

## 2.4 Análises Estatísticas

A unidade amostral considerada neste estudo foi o intervalo de tempo de trinta minutos. Para comparar a frequência de cada comportamento entre os grupos de machos, fêmeas e filhote, utilizamos o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido da comparação par-a-par pelo teste de Mann-Whitney. Visto que os valores das variáveis avaliadas não apresentaram distribuição normal e nem foram passíveis de normalização após transformações (QUINN & KEOUGH, 2002). Em todas as análises foi utilizado o nível de significância de 5%.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total, foram obtidos 2850 registros comportamentais. Destes, o comportamento de descanso foi o mais observado, com 28%, seguido do comportamento de locomoção (20%). Também foram frequentes as observações de brincadeiras e interações sociais afiliativas (Figura 2).

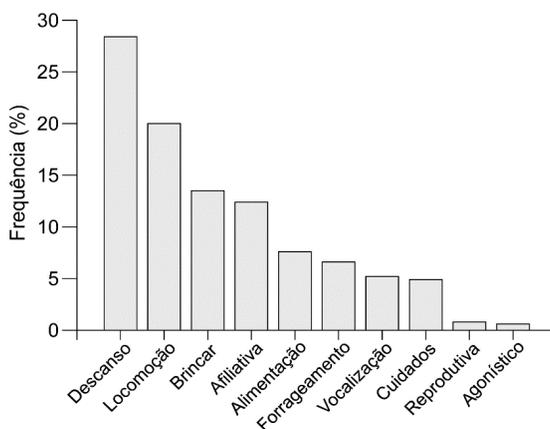


Figura 2: Porcentagem da frequência de registros das categorias gerais de comportamentos observados nos indivíduos. A porcentagem foi calculada com base no número de observações por indivíduo.

Em estudo com *L. lagothericha cana* realizado numa área preservada privada na Amazônia Central, Cartagena-Matos e colaboradores (2017) e por Bodmer e Robinson (2004) com *L. lagothericha cana* em ambiente semi-cativo na América do Sul e Central, documentaram o descanso como o comportamento mais frequente assim como em seus estudos (45% do total de observações). Por outro lado, nestes mesmos estudos o forrageamento apareceu como o segundo comportamento mais frequente (29% do total; contra 6,6% no presente estudo), seguido de locomoção

(*traveling*), com percentual do total em 23%, similar ao do presente estudo (20%) (Figura 2).

Em outro estudo com *L. lagothericha cana* em vida livre no Parque Nacional Natural Tinigua, Colômbia, Stevenson e colegas (1994), documentaram frequência de comportamentos muito diferente daquela observada no presente estudo, com os comportamentos aparecendo na seguinte ordem: locomoção (36%), alimentação (36%), descanso (24%), outras atividades (4%). De forma semelhante, Shanee e Shanee (2011) observaram, ao norte do Peru, os comportamentos de alimentação (29,8%), locomoção (29%) e descanso (26,3%) como os mais frequentes em *Oreonax flavicauda*, espécie semelhante à *L. lagothericha*. Finalmente, Di Fiore e Rodman (2001), em outro estudo com *L. lagothericha poeppigii* em vida livre no Equador, mostra que existe uma variação sazonal no uso do tempo. Neste caso, a variação sazonal na frequência dos comportamentos pareceu relacionada à variação sazonal na disponibilidade de recursos, dentre outros fatores. Em vista das diferenças marcantes do ambiente cativo comparado com o ambiente natural (e.g., a flutuação na disponibilidade de alimento), é de se esperar grande diferença no uso do tempo.

Durante a alimentação, os indivíduos foram observados se movendo em diversas posturas, como se sentar, em pé ou pendurados pela cauda ou pelos próprios membros. Estas posturas também foram documentadas no estudo de Kavanagh e Dresdale (1975) com *L. lagothericha* na Colômbia.

Foi observado o cuidado parental por parte das fêmeas, mas também por parte dos dois machos subordinados. Um destes machos foi observado carregando a filhote e brincando com ela (Figura 3 a). Porém, na maior parte dos casos, os cuidados parentais partiram da fêmea-mãe, que foi vista amamentando (Figura 3 b) e carregando a prole no dorso (Figura 3 c).

A fêmea-filhote buscou com frequência, e foi bem-sucedida em várias ocasiões, subir no dorso dos adultos. Este comportamento também foi observado, com muita frequência em outros estudos com *L. lagothericha poeppigii*, mesmo por parte de infantes mais velhos (KAVANAGH & DRESDALE, 1975; ZEWDIE, 2017).

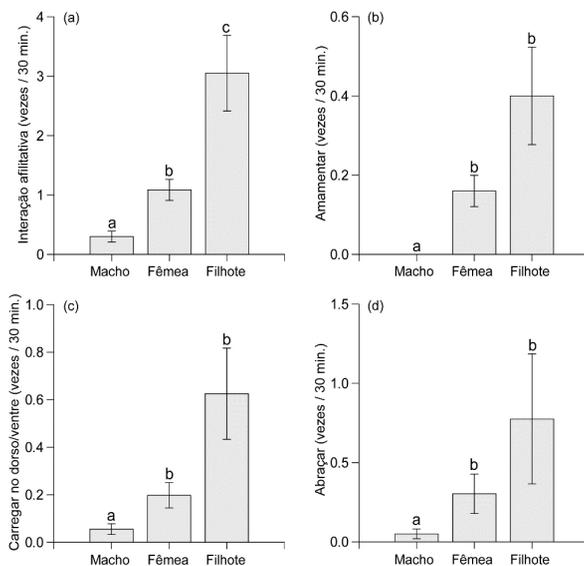


Figura 3: Frequência observada de comportamentos de interação social. (A) Interação afiliativa; (B) Amamentação; (C) Carregar no dorso ou no ventre; e (D) Abraçar. As barras correspondem à média e a linha vertical ao erro padrão (N = 40 intervalos de 30 minutos). Os valores foram calculados com base no número de observações por indivíduo. Letras distintas em cima das barras indicam diferença significativa entre os grupos ( $P < 0,05$ ) de acordo com o teste de Kruskal-Wallis.

Com frequência mãe e filhote foram observados juntos interagindo entre si por meio de brincadeiras utilizando galhos caídos no chão. Com menor frequência, a filhote também brincava desta forma com outros adultos, especialmente as fêmeas. Relatos semelhantes são encontrados em outros estudos (KAVANAGH & DRESDALE, 1975; ZEWDIE, 2017). Estas observações reforçam a ideia de o instinto maternal ser fortemente controlado por genes e hormônios (SILVA, 2016) e do cuidado maternal ser mais comum que o cuidado paternal nas espécies sociais (ALCOCK, 2011).

Em ocasiões raras, especialmente na parte da manhã em condições de céu nublado ou nos períodos mais quentes do dia e após as refeições, os indivíduos do grupo foram observados todos abrigados e dormindo. De modo geral, contudo, especialmente no turno da tarde, os indivíduos se mostraram ativos, brincando, forrageando, vocalizando, e se deslocando ao redor. Padrões de atividades semelhantes foram descritos na literatura para outras espécies de primatas (TALEBI & LEE, 2010; SHANEE & SHANEE, 2011; RÍMOLI et al., 2012).

De modo geral, foram raros os comportamentos agressivos entre os membros do bando, especialmente na parte da manhã. Em uma ocasião um macho agrediu uma fêmea. Em outra, a filhote parecia machucada, mas não foi observada qualquer

agressão. Na parte da tarde, foram mais comuns os gritos de aviso e pequenos conflitos. Em um átimo de aparente estresse provocado por um visitante humano que assobiava em direção ao grupo, um macho subordinado que gritava recebeu um tapa no rosto por parte do macho dominante. Em outra ocasião, uma das fêmeas foi observada vomitando, e um dos machos puxou sua cauda fazendo-a gritar.

Em outro momento, um visitante gritou em direção aos membros do grupo que estavam dormindo. A fêmea-mãe tomou a filhote no dorso e correu, enquanto o macho dominante se pôs à vista contra o visitante mostrando o pênis e urinando, e outra fêmea gritava bem alto mostrando seus dentes. Este foi o episódio de maior agressividade e estresse no grupo presenciado pelos observadores.

Comportamento agressivo foi também observado numa ocasião em que um dos tratadores se encontrava dentro do recinto para retirada de uma garrafa plástica (que vinha sendo manuseada por um dos machos). Neste momento, o macho maior subiu num poleiro alto do recinto e começou a urinar, gritar e evacuar sobre o tratador.

Todavia, embora tenham sido observados episódios de agressividade, os comportamentos agonísticos representaram somente 0,6% do total do tempo de observação (Figura 3). Isto indica a existência no grupo de uma hierarquia de dominância bem definida (HICKMAN et al., 2004). Nossa observação que mostra que o macho maior, dominante foi aquele que se mostrou mais agressivo e protetor do grupo diante das ameaças também sugere esta hierarquia de dominância. De forma similar, Kavanagh e Dresdale (1975) observaram poucos comportamentos agonísticos num grupo de *L. lagothericha* no norte da Colômbia.

Em comparação com os adultos de ambos os sexos, a fêmea filhote se moveu (Figura 4 a), correu (Figura 4 b) e brincou com maior frequência no recinto. A jovem fêmea se mostrou mais ativa em todas as classes de brincadeira registradas (com folhas, verticalmente e horizontalmente) (Figura 5).

Em certas ocasiões, os machos do bando foram observados balançando vigorosamente as árvores do recinto, às vezes de forma repetida, especialmente no período da tarde. Principalmente na fase de observações preliminares, alguns comportamentos estereotipados foram exibidos pela fêmea mãe, em particular. Nestes casos, a fêmea girava o pescoço e o corpo. No total, incluindo ambas as fases do estudo, este comportamento foi observado seis vezes, sempre no período da tarde (Figura 4 c).

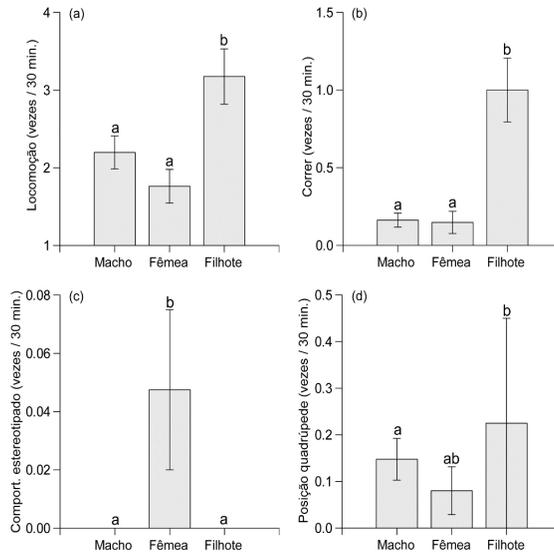


Figura 4: Frequência observada de comportamentos de locomoção (a), correr (b), comportamentos estereotipados (c), e de parar em posição quadrúpede nos indivíduos (d). As barras correspondem à média, e a linha vertical ao erro padrão (N = 40 intervalos de 30 minutos). Os valores foram calculados com base no número de observações por indivíduo. Letras distintas em cima das barras indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos de acordo com o teste de Kruskal-Wallis.

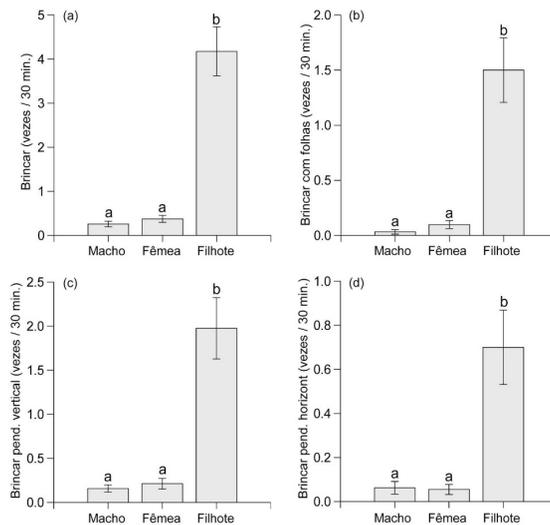


Figura 5: Frequência observada de comportamentos de brincar de modo geral (a) de brincar com folhas (b), de brincar pendurado na posição vertical (c), e de brincar pendurado na posição horizontal (d). As barras correspondem à média, e a linha vertical ao erro padrão (N = 40 intervalos de 30 minutos). Os valores foram calculados com base no número de observações por indivíduo. Letras distintas em cima das barras indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos de acordo com o teste de Kruskal-Wallis.

Os comportamentos sexuais foram observados com maior frequência entre os machos (Figura 6 a). Em várias ocasiões, foi observado um dos machos exibir o comportamento de cheirar e/ou tocar a genitália de uma das fêmeas. Outro comportamento sexual observado entre os machos foi o de se masturbar e tocar sua própria genitália. Entre as fêmeas, a fêmea jovem foi a que exibiu com maior frequência comportamentos sexuais (Figura 6 b).

Em ambas as fases de observação do presente estudo, o comportamento de cópula entre os indivíduos do grupo não foi observado. Em trabalho realizado com *L. lagotricha* em vida livre na Colômbia, NISHIMURA (2003) observou a ocorrência de cópula durante todo o ano, sendo que estas foram mais frequentes no período reprodutivo para esta espécie, que se estende de dezembro a maio.

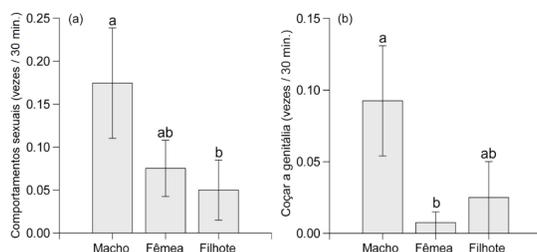


Figura 6: Frequência observada de comportamentos sexuais de modo geral (a) e de coçar a genitália (b). As barras correspondem à média, e a linha vertical ao erro padrão (N = 40 intervalos de 30 minutos). Os valores foram calculados com base no número de observações por indivíduo. Letras distintas em cima das barras indicam diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ) de acordo com o teste de Kruskal-Wallis.

## AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer a todos que nos ajudaram a realizar o trabalho de modo que a ajuda dessas pessoas foi essencial para chegarmos aos resultados obtidos. Agradecemos à Fundação de Parques Municipais e Zoobotânica de Belo Horizonte por nos permitir a elaboração deste trabalho, à Valéria e ao Humberto, pelo contato com a fundação e à Cynthia Fernandes Cipreste que nos ajudou nas preparações para montagem do etograma. Agradecemos também ao Carlos Roberto por identificar as espécies vegetais do recinto e agradecemos a todos os professores do Centro Universitário UNA que nos auxiliaram com suas opiniões e seus conhecimentos.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, V.J.; CODENOTTI, T.L. **Etograma de um grupo de bugios-pretos, *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812) (Primates, Atelidae) em um habitat fragmentado.** Revista de Etologia, v. 8, n. 2, p. 97-107, 2006.
- ALCOCK, J. **Comportamento Animal: Uma abordagem evolutiva.** Ed 9.. Porto Alegre, Rio Grande do Sul: Artmed Editora S.A., 2011.
- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; de MORAES, G.; LEONARDO, J.; SPAROVEK, G. **Köppen's climate classification map for Brazil.** Meteorologische Zeitschrift, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- BASTOS, A.N. et al. **O efeito da estrutura do habitat na abundância de populações de macaco-barrigudo (*Lagothrix cana*) no interflúvio purus-madeira, Amazônia Central.** 2012.
- BODMER, R.E.; ROBINSON, J.G. **Evaluating the sustainability of hunting in the Neotropics.** 2004.
- BOTERO, S., STEVSON, P. R., DI FIORE, A. **A primer on the phylogeography of *Lagothrix lagotricha* (sensu Fooden) in northern South America.** Elsevier. 2014.
- CARTAGENA-MATOS, B.; GASNIEL, T.; CRAVO-MOTA, M.; BEZERRA, B.M. **Activity budget and social interactions in semi-captive gray woolly monkeys (*Lagothrix lagotricha cana*) living in an ex situ conservation area in Central Amazonia.** Zoo biology, v. 36, n. 1, p. 21-29, 2017.
- DA CONCEIÇÃO, E.M.; DE ALBUQUERQUE, J.R.; DE OLIVEIRA, M.A.B. **Comportamento de um casal de macaco barrigudo (*Lagothrix lagotricha*) em vida cativa no parque dois irmãos, Recife-PE,** 2008.
- DEFLER, T.R. **The time budget of a group of wild woolly monkeys (*Lagothrix lagotricha*).** International Journal of Primatology, v. 16, n. 1, p. 107-120, 1995.
- DEFLER, T.R.; DEFLER, S.B. **Diet of a group of *Lagothrix lagotricha lagotricha* in southeastern Colombia.** International Journal of Primatology, v. 17, n. 2, p. 161-190, 1996.
- DEL-CLARO, K. **Comportamento Animal: Uma introdução à ecologia comportamental.** São Paulo: Livraria Conceito, 2004.
- DI FIORE, A. **Ranging behavior and foraging ecology of lowland woolly monkeys (*Lagothrix lagotricha poeppigii*) in Yasuní National Park, Ecuador.** American Journal of Primatology v. 59, p. 47-66, 2003.
- DI FIORE, A. **Diet and feeding ecology of woolly monkeys in a western Amazonian rain forest.** International Journal of Primatology, v. 25, n. 4, p. 767-801, 2004.
- DI FIORE, A.; RODMAN, P.S. **Time allocation patterns of lowland woolly monkeys (*Lagothrix lagotricha poeppigii*) in a neotropical terra firme forest.** International Journal of Primatology, v. 22, n. 3, p. 449-480, 2001.

FOODEN, J. **A revision of the woolly monkeys (genus *Lagothrix*)**. Journal of Mammalogy, v. 44, n. 2, p. 213-247, 1963.

FORTES, V.B.; BICCA-MARQUES, J.C. **Ecologia e comportamento de primatas: Métodos de estudo de campo**. Caderno La Salle XI, v. 2, n. 1, p. 207-218, 2005.

HEYMANN, E.W.; STRIER, K.B. **South American primates: comparative perspectives in the study of behavior, ecology, and conservation**. v. 3, New York. p. 23-24, 2008.

HICKMAN, C.P.; ROBERTS, L.S.; LARSON, A. **Princípios Integrados de Zoologia**. Ed. 11. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan. 2004.

HUTCHINS, M; SMITH, B; ALLARD, R. **In defense of zoos and aquariums: the ethical basis for keeping wild animals in captivity**. Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 223, n. 7, p. 958-66, 2003.

KAVANAGH, M.; DRESDALE, L. **Observations on the woolly monkey (*Lagothrix lagothricha*) in northern Colombia**. Primates, v. 16, n. 3, p. 285-294, 1975.

LLORET, F.B. **El araguato rojo (*Alouatta seniculus*)**. Universidad de Sevilla, 1978.

NISHIMURA, A. **Reproductive parameters of wild female *Lagothrix lagothricha***. International Journal of Primatology, v. 24, n. 4, p. 707-722, 2003.

PERES, C.A. **Diet and feeding ecology of gray woolly monkeys (*Lagothrix lagothricha cana*) in central Amazonia: comparisons with other atelines**. International Journal of Primatology, v. 15, n. 3, p. 333-372, 1994.

PERES, C.A. **Use of space, spatial group structure, and foraging group size of gray woolly monkeys (*Lagothrix lagothricha cana*) at Urucu, Brazil**. In: Adaptive radiations of Neotropical primates. Springer, Boston, MA, 1996. p. 467-488.

PITSKO, L.E. **Wild tigers in captivity: A study of the effects of the captive environment on tiger behavior**. Virginia Tech, 2003.

QUINN, G.P.; KEOUGH, M.J. **Experimental design and data analysis for biologists**. New York: Cambridge University Press, 2002.

RESENDE, L.S. **Comportamento de pequenos felinos neotropicais em cativeiro**. Dissertação (Mestrado em Biologia e Comportamento Animal) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora. 111 p., 2008.

REZENDE, G.C. **Sucesso em Programas de Conservação de Espécies da Fauna Ameaçada: A história do Programa de Conservação do Mico-Leão-Preto**. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Escola Superior de Conservação Ambiental e Sustentabilidade, Instituto de Pesquisas Ecológicas (IPÊ), Nazaré Paulista, 2013.

RÍMOLI, J.; DOS SANTOS NANTES, R.; JÚNIOR, A.E.L. **Diet and activity patterns of black howler monkeys *Alouatta caraya* (Humboldt, 1812, Primates, Atelidae) in ecotone Cerrado-Pantanal in the left bank of Aquidauana River, Mato Grosso do Sul, Brazil**. Oecologia Australis, v. 16, n. 4, p. 933-948, 2012.

ROOSMALEN, M.; BARDALES, P.M.D.P.; GARCIA, O.M.D.C. **Frutos da floresta amazônica. parte I: Myristicaceae.** Acta Amazonica, v. 25, p. 209-264, 1996.

RUIZ-GARCIA, M.; PINEDO-CASTRO, M.O. **Molecular systematics and phylogeography of the genus *Lagothrix* (Atelidae, Primates) by means of the mitochondrial COII gene.** Folia Primatologica, v.3, n. 81, p. 109-128, 2010.

RUIZ-MIRANDA, C.R.; GRATIVOL, A.D.; SABATINI, V.; OLIVEIRA, C.R.; FARIA, G.V.; MORAIS, M.M. **Etologia e conservação.** In: Del-Claro K., Prezoto F. (Eds.) **As distintas faces do comportamento animal.** Jundiaí: SBEt – Sociedade Brasileira de Etologia & Livraria Conceito. Pp. 199-210, 2003.

SHANEE, S.; SHANEE, N. **Activity budget and behavioural patterns of free-ranging yellow-tailed woolly monkeys *Oreonax flavicauda* (Mammalia: Primates), at La Esperanza, northeastern Peru.** Contributions to Zoology, v. 80, n. 4, p. 269-277, 2011.

SILVA, G.R. **A variabilidade da região promotora do gene OXTR na evolução do comportamento social de primatas.** Ed UFRGS, 2016.

SNYDER, N.F., DERRICKSON, S.R., BEISSINGER, S.R., WILEY, J.W., SMITH, T.B., TOONE, W.D., MILLER, B. 1996. **Limitations of captive breeding in endangered species recovery.** Conserv. Biol. 10, 338–348.

STEVENSON, P.R.; QUINONES M.J.; AHUMADA J.A. **Ecological strategies of woolly monkeys (*Lagothrix lagotricha*) at Tinigua National Park, Colombia.** American Journal of Primatology, v. 32, p. 123-140, 1994.

STEVENSON, P.R.; ALDANA, A.M. **Potential effects of Ateline extinction and forest fragmentation on plant diversity and composition in the Western Orinoco Basin, Colombia.** International Journal of Primatology, v. 29, n. 2, p. 365–377, 2008.

TALEBI, M.G.; LEE, P.C. **Activity patterns of *Brachyteles arachnoides* in the largest remaining fragment of Brazilian Atlantic Forest.** International Journal of Primatology, v. 31, n. 4, p. 571-583, 2010.

VALLADARES-PADUA, C.B.; MARTINS, C.S.; RUDRAN, R. **Manejo integrado de espécies ameaçadas.** In: Cullen Jr., L.; Valladares-Padua, C.B.; Rudran, R. (Orgs). Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre. 2a Ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. Pp. 633-651, 2009.

WILLIAMS, L. **Breeding Humboldt's woolly monkey *Lagothrix lagotricha* at Murrayton Woolly Monkey Sanctuary.** International Zoo Yearbook, v. 7, n. 1, p. 86-88, 1967.

ZÁRATE, D.A.; STEVENSON, P.R. **Behavioral ecology and interindividual distance of woolly monkeys (*Lagothrix lagotricha*) in a rainforest fragment in Colombia.** In: The Woolly Monkey. Springer, New York, NY, p. 227-245, 2014.

ZEWDIE, S. **Development of a Wild Infant Woolly Monkey Social interactions, time allocation and behavior of a wild *Lagothrix lagotricha poeppigii* infant and her mother.** Independent Study Project (ISP), Quito, 2017.

## LEVANTAMENTO PRELIMINAR DA AVIFAUNA NO INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS RIO VERDE

*Data de aceite:* 01/09/2020

*Data de submissão:* 05/06/2020

### **Julia de Freitas Alves**

Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde  
Rio Verde – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/1932279679682207>

### **Ely Carlos Mendes do Nascimento Júnior**

Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde  
Rio Verde – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/2073263432483555>

### **Yasmin Giovanna Santos Carvalho**

Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde  
Rio Verde – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/8155716425034272>

### **Alessandro Ribeiro de Moraes**

Universidade Federal de Goiás  
Goiânia – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/1839640009304122>

### **Luiz Carlos Souza Pereira**

Universidade de Rio Verde (FESURV)  
Rio Verde – Goiás  
<http://lattes.cnpq.br/2711496702592586>

**RESUMO:** O cerrado possui diferentes fitofisionomias, sendo possível a ocorrência de diversas aves em cada uma delas. A crescente antropização de áreas de vegetação nativa tem provocado um intenso desequilíbrio ecológico, pois resultam em fragmentação de ecossistemas e em urbanização desordenada, afetando populações vegetais e animais. Essas

transformações sucedem em um ambiente com características próprias: o ecossistema urbano, que apresenta uma diminuição na oferta de abrigo e alimentos para as populações faunísticas. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi realizar um levantamento das espécies de aves silvestres ocorrentes dentro do IF Goiano – Campus Rio Verde. Foram registradas 89 espécies, distribuídas em 39 famílias. Considerando a antropização da área e o curto período de amostragem, a quantidade de espécies registradas é relativamente alta.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ecossistema, Ecologia, Ave.

### PRELIMINARY SURVEY OF BIRD DIVERSITY IN INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS RIO VERDE

**ABSTRACT:** The Cerrado has different phytophysionomies, and diversity birds. The growing anthropization of native vegetation areas has caused an intense ecological imbalance, as they result in fragmentation of ecosystems and in disordered urbanization, affecting plant and animal populations. These transformations take place in an environment with its own characteristics: the urban ecosystem, which has a decrease in the supply of shelter and food for wildlife populations. Thus, the objective of the present study was to carry out a survey of wild bird species occurring within the IF Goiano - Campus Rio Verde. Were registered 89 species, distributed in 39 families. Considering the anthropization of the area and the short sampling period, the number of species registered is relatively high.

**KEYWORDS:** Ecosystem, Ecology, Bird.

## 1 | INTRODUÇÃO

Existem atualmente, cerca de 1901 espécies de aves catalogadas no Brasil, sendo que 837 são encontradas no Cerrado, caracterizando-o como o terceiro bioma brasileiro mais rico em número de espécies (MMA, 2015).

Este bioma é um dos mais alterados, decorrente da expansão das fronteiras agrícolas (KLINK & MACHADO, 2005). Essas alterações mudam as composições vegetais e animais, pois não permitem o retorno da composição original. (D'ANGELO NETO *et al.*, 1998; MARZLUFF & EWING, 2001).

O estado de Goiás, localizado no centro do domínio do Cerrado, sendo o segundo maior domínio brasileiro (PEREIRA & SILVA, 2009), é um forte polo agropecuário, onde habitats naturais vêm sendo substituídos por áreas de plantações e/ou pastagens (LARANJEIRAS, 2012). Essas mudanças forçam muitas espécies de aves silvestres a buscar abrigo, alimentação e local para reprodução em áreas antropizadas (FRANCHIN & MARÇAL-JÚNIOR, 2004).

Estudos com aves urbanas são de suma importância, pois o conhecimento da composição de ecossistemas alterados, assim como os urbanos, pode auxiliar no entendimento de ecossistemas mais complexos (ARGEL-DE-OLIVEIRA, 1996).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento preliminar no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, a fim de registrar a riqueza de espécies e contribuir para futuros estudos de conservação e manejo da avifauna.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde no mês de julho de 2015. Foram quatro dias de observações, que ocorreram no período matutino, entre 06:00h e 10:00h, e vespertino, entre 16:00h e 18:00h, totalizando 24 horas de esforço amostral. As aves foram amostradas pelo método de Transecto, no qual se caminha por trilhas aleatórias registrando as espécies por meio de visualização e vocalização (CULLEN, 2004). A área de estudo localiza-se na Rodovia Sul Goiana, Km 01, zona rural. Segundo Koppen, o clima desta região é do tipo tropical quente e úmido, enquadrando-se em AW, varia entre 20° C e 35°C, caracterizado por duas estações climáticas bem definidas: chuvosa, entre outubro e março, e uma pronunciada estação seca, entre abril e setembro, com precipitação média anual de 1600 mm. A vegetação original local é composta por Cerrado e manchas de Floresta Semidecidual (EITEN, 1972).

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram registradas 89 espécies distribuídas em 39 famílias (tabela 1), sendo as de maior destaque *Tyrannidae* (n=8), *Columbidae* (n=6), *Emberizidae* (n=5), *Psittacidae* (n=5) e *Thraupidae* (n=5).

Em um estudo realizado também no IFGoiano - Campus Rio Verde por NASCIMENTO JÚNIOR *et. al.* (2013), foram registradas 55 espécies distribuídas em 28 famílias. Todas as 28 famílias foram novamente registradas.

Família	Nº de registros
<i>Accipitridae</i>	3
<i>Alcedinidae</i>	2
<i>Anatidae</i>	1
<i>Apodidae</i>	1
<i>Ardeidae</i>	3
<i>Bucconidae</i>	1
<i>Cariamidae</i>	1
<i>Cathartidae</i>	1
<i>Charadriidae</i>	1
<i>Coerebidae</i>	1
<i>Columbidae</i>	6
<i>Cracidae</i>	1
<i>Cuculidae</i>	2
<i>Emberizidae</i>	5
<i>Falconidae</i>	4
<i>Fringillidae</i>	1
<i>Furnariidae</i>	2
<i>Galbulidae</i>	1
<i>Hirundinidae</i>	1
<i>Icteridae</i>	5
<i>Mimidae</i>	1
<i>Momotidae</i>	1
<i>Passerellidae</i>	1
<i>Passeridae</i>	1
<i>Picidae</i>	4
<i>Poliophtilidae</i>	1
<i>Psittacidae</i>	5
<i>Ramphastidae</i>	2
<i>Strigidae</i>	1
<i>Thamnophilidae</i>	4

<i>Thraupidae</i>	5
<i>Threskiornithidae</i>	3
<i>Tinamidae</i>	2
<i>Trochilidae</i>	2
<i>Troglodytidae</i>	1
<i>Turdidae</i>	3
<i>Tyrannidae</i>	8
<i>Tytonidae</i>	1
<i>Vireonidae</i>	1

Tabela 1: Famílias e número de registros no IFGoiano - Campus Rio Verde.

## 4 | CONCLUSÕES

Em função da constante presença humana dentro do campus e do curto período de tempo, foi registrado um número relevante de aves. Isso mostra diretamente que o ambiente possui condições propícias para a ocorrência dessas espécies.

## REFERÊNCIAS

ARGEL-DE-OLIVEIRA, M. M. **Aves Urbanas**. In: Vielliard, J. M. E.; Silva, M. L. & Silva, W. R. (Ed.). Anais do V Congresso Brasileiro de Ornitologia. Campinas, UNICAMP, p. 151-162, 1996.

CULLEN-JR., L.; RUDRAN, R. & VALLADARES-PADUA, C. **Métodos de estudo em biologia da conservação e manejo da vida silvestre**. Editora da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, p. 665, 2004.

D'ANGELO-NETO, S. N.; VENTURIN, A.T.; DE OLIVEIRA-FILHO & F.A.F., COSTA. **Avifauna de quatro fisionomias florestais de pequeno tamanho (5-8 ha) no Campus da UFLA**. Revista Brasileira Biologia, Rio de Janeiro, v. 58, n. 3, p. 463-472, 1998.

EITEN, G. **The cerrado vegetation of Brazil**. Bot. Rev.,v. 38, p. 201- 341, 1972.

FRANCHIN, A.G. & O. MARÇAL-JÚNIOR., **A riqueza da avifauna no Parque Municipal do Sabiá, zona urbana de Uberlândia (MG)**. Biotemas, Florianópolis, v. 17, n. 1, p. 179- 202, 2004.

KLINK, C.A. & MACHADO, R. **Conservation of the Brazilian Cerrado. Conservation Biology**, v. 19, p. 707-713, 2005.

LARANJEIRAS, T. O.; MOURA, N. G.; VIEIRA, L. C. G.; ANGELINI, R.; CARVALHO, A. R. **Bird communities in different phytophysognomies in the Cerrado biome**. Studies of neotropical fauna and environment, v. 1, p. 1-11, 2012.

MARZLUFF, J.M. & K. EWING. **Restoration of fragmented landscapes for the conservation of birds: a general framework and specific recommendations for urbanizing landscapes.** Restoration Ecology, Tucson, v. 9, p. 280-292, 2001.

**MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE.** Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acessado em 06 de agosto de 2015.

NASCIMENTO JÚNIOR, E. C. M. do; LOPES, W. S.; VASCONCELOS, E. da R.; ANDREANI, T. L.; LIMA, R. S. V.; BORGES, R. E.; SANTOS, L. R. de S. **Levantamento da avifauna no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.** Anais XIV SIMBIO - Simpósio de Biologia, 2013.

PEREIRA, K. D. de L.; SILVA, R. DA. **Levantamento da avifauna da área urbana de Anápolis, Goiás.** Ensaios e Ciência – Ciências Biológicas, Agrária e da Saúde, v. 8, n. 2, 2009.

# CAPÍTULO 19

## ASPECTOS DA FITOSSOCIOLOGIA DE UM FRAGMENTO DE CERRADO EM MEIO À CAATINGA DO CRISTALINO, SUL DO CEARÁ

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 01/06/2020

**Luciana da Silva Cordeiro**

Universidade Regional do Cariri  
Ceará. Brasil

**Marcos Antonio Drumond**

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
(EMBRAPA – semiárido)  
Petrolina, Pernambuco, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/1346750351605800>

**José Cícero de Moura**

PPBM-Universidade Regional do Cariri  
Ceará. Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/2321349429323616>

**Gabriel Venancio Cruz**

Universidade Regional do Cariri  
Crato –CE  
<http://lattes.cnpq.br/2537266361850576>

**Maria Amanda Nobre Lisboa**

Universidade Regional do Cariri  
Crato –CE  
<http://lattes.cnpq.br/9262877018230108>

**Maria Arlene Pessoa da Silva**

Universidade Regional do Cariri  
Ceará. Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/3836224227922749>

**Ana Cleide Alcântara Morais Mendonça**

Universidade Regional do Cariri  
Ceará. Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/0141839119774382>

**Leonardo Silvestre Gomes Rocha**

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Rio de Janeiro, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/6372263850553522>

**Marcos Aurélio Figueirêdo dos Santos**

Universidade Regional do Cariri  
Ceará. Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/8643818710205791>

**João Tavares Calixto Júnior**

LEFLORE- Universidade Regional do Cariri  
Crato –CE  
<http://lattes.cnpq.br/9600618816271612>

**RESUMO:** No Sul do Ceará, há carência de estudos de fitossociologia em fragmentos de Cerrado em meio à Caatinga do cristalino. Assim, visando contribuir para o reconhecimento e diagnóstico dessa vegetação, realizou-se levantamento da flora e estrutura da vegetação arbórea em mancha localizada em solos profundos e relevo tabular na Serra do Boqueirão (289 m Alt.), em Lavras da Mangabeira (6°72'24" S e 38°97'73" W). Em 12 parcelas de 12x30m (0,432 ha) foram inventariados todos os indivíduos com DNS  $\geq$  3cm, observando-se altura total. Para observar similaridade florística comparou-se, pelo método de Jaccard, outras 10 áreas de Cerrado em diferentes regiões do País. Foram encontradas 46 espécies distribuídas em 22 famílias, num total de 906 indivíduos, com DA=2.097,22 ind.ha<sup>-1</sup>. As famílias Fabaceae (20,31%) e Vochysiaceae (19,98%) apresentaram maior número de indivíduos. *Qualea parviflora*, *Annona leptopetala*, *Hymenaea stignocarpa*,

*Callisthene fasciculata* e *Anacardium occidentale* foram as espécies de maior IVI. O índice de Shannon ( $H'$ ) para a diversidade alfa foi 3,18, a equabilidade de Pielou ( $J'$ ) foi 0,83 e o índice de Simpson ( $C'$ ) foi 0,05. A diversidade beta entre o local estudado e outras áreas de Cerrado (central e disjuntos) foi considerada alta e a estatística apontou maior similaridade com Cerrado *sensu stricto* de tabuleiro litorâneo. Por fim, os resultados permitem caracterizar a área como relíquia vegetacional, que pela visível penetração da flora da Caatinga, aliada às modificações climáticas, ao desinteresse na preservação e aceleração do desmatamento pelo antropismo, tende a diminuir, restringindo-se à área bem menos ampla do que a que abrangeu a região no passado.

**PALAVRAS-CHAVE:** Manchas de Cerrado, Lavras da Mangabeira, Serra do Boqueirão.

## ASPECTS OF PHYTOSOCIOLOGY OF A CERRADO FRAGMENT IN THE MIDDLE OF CAATINGA DO CRISTALINO, SOUTHERN CEARÁ

**ABSTRACT:** There is a lack of studies on phytosociology of Cerrado fragments within the Caatinga biome, located on the Southern region of Ceará State, associated to the Brazilian Crystalline Shield geological formation. Thus, contributing to the diagnosis and knowledge of this plant community, a survey on the general flora and especially the structure of arboreal vegetation was made. The location studied was a vegetation spot with deep soil and tabular topography at Serra do Boqueirão (289 m elev.), Lavras da Mangabeira municipality (6°72'24" S e 38°97'73" W). Every individual with DNS  $\geq$  3cm (total height), within 12 parcels with 12x30 m (0,432 ha) of area was sampled. The floristic similarity was calculated with the Jaccard index, by comparison with ten other Brazilian Cerrado areas. Forty-six species distributed in 22 families were found, comprising a total of 906 individuals, with DA=2.097,22 ind.ha<sup>-1</sup>. The highest abundance was found within families Fabaceae (20,31% of the individuals) and Vochysiaceae (19,98%). *Qualea parviflora*, *Annona leptopetala*, *Hymenaea stignocarpa*, *Callisthene fasciculata* e *Anacardium occidentale* were the highest IVI index species. The calculated biodiversity indexes were: alpha diversity of Shannon ( $H'$ ) = 3,18; equitability of Pielou ( $J'$ ) = 0,83 and dominance of Simpson ( $C'$ ) = 0,05. A high beta diversity was found between the study site and other Cerrado areas and the statistical analysis indicated a higher similarity with the Cerrado *sensu stricto* of coastal tabular relief. The results obtained show the area as a vegetation relict, under threat due to the penetration of Caatinga species, climatic changes, insufficient conservation efforts and fast anthropic deforestation. As result, this relict area tends to shrink to a fragment much smaller than it was in the past.

**KEYWORDS:** Cerrado spots, Lavras da Mangabeira, Serra do Boqueirão.

## INTRODUÇÃO

O Cerrado brasileiro é considerado a savana com maior riqueza em biodiversidade do mundo (SILVEIRA, 2010). Com mais de 11 mil espécies de plantas nativas já catalogadas (KLINK; MACHADO, 2005). Abrange no Brasil uma área estimada em 2.036.448 quilômetros quadrado (IBGE, 2004).

A vegetação do bioma Cerrado apresenta fisionomias que englobam formações florestais, savânicas e campestres. Em sentido fisionômico, floresta representa áreas com predominância de espécies arbóreas (RIBEIRO; WALTER, 1998; TAVARES, 2017).

O solo, na maior parte, é distrófico com pH ácido e baixa concentração de cálcio e magnésio disponíveis e alta concentração de alumínio trocável (LOPES; COX, 1977; NERI et al., 2007). As propriedades do solo, profundidade, fertilidade e capacidade de drenagem, exercem frequentes influências para as diferentes fitofisionomias do Cerrado, tanto quanto, a ação humana (PIVELLO; COUTINHO, 1996; NERI et al., 2007).

O Estado do Ceará apresenta 57% do seu território coberto por tipologias consideradas florestais, uma área equivalente a 8,5 milhões de hectares, tendo a Caatinga como o seu bioma característico, no qual, representa 88% dessa cobertura vegetal. O Cerrado apesar de em menor quantidade (0,4%) também participa das áreas de cobertura florestal do estado (MMA, 2016).

Freire (2007) conceitua enclaves, como sendo as paisagens que apresentam configurações diferenciadas em relação ao seu entorno, resultante de uma dinâmica própria, oriunda de fatores naturais, sobretudo biogeográficos, ao longo do tempo geológico.

Uma das teorias para a presença do Cerrado em regiões que predominam outros biomas como: Floresta Amazônica, Caatinga (semiárido brasileiro), Mata atlântica e florestas acicufoliadas no sul do Brasil, estaria associado a ocorrência de refúgios e redutos oriundos de eventos climáticos ocorrido no Quaternário. (AB'SABER, 1963; COLE, 1986; CARNEIRO-FILHO, 1993; SANTOS et al., 2015).

Os enclaves de Cerrado ocorrentes na região sul cearense foram inicialmente identificados por Figueiredo e Fernandes (1987) e resumem-se a pequenos relevos sedimentares localizados nos municípios de: Lavras de Mangabeira, Aurora, Granjeiro, Várzea Alegre, Farias Brito, Cedro, Jucás e sobre a Chapada do Araripe (FIGUEIREDO 1997; MORO et al., 2015; NEPOMUCENO et al., 2016).

Conforme Figueiredo e Fernandes (1987), os solos nessa área são caracterizados por serem profundos (2m), vermelhos com tonalidades bem diferenciadas nos horizontes sub superficiais, bem drenados, caracterizando-se como Podzólico, que aparece ao lado de outros tipos, na região, como o Bruno não cálcico.

Para que se possam executar projetos de conservação da biodiversidade e planos de manejo sustentável é necessário que se conheça a vegetação da área de interesse, suas limitações e capacidade de resiliência (FERRAZ et al., 2013). Xavier (2009) enfoca que os estudos fitossociológicos e florísticos fazem contribuições importantes para o conhecimento das formações florestais, uma vez que promovem

um levantamento de riqueza e heterogeneidade das áreas amostradas. Para Tavares (2017), o conhecimento florístico e o fitossociológico das florestas são fundamentais para a conservação destas formações, especialmente para a conservação da biodiversidade, que é um dos maiores desafios da atualidade, devido ao elevado nível de perturbações antrópicas dos ecossistemas naturais existentes no Brasil.

Neste sentido, objetivou-se a análise dos aspectos da composição florística, diversidade e fitossociologia de um fragmento de Cerrado localizado na Serra do Boqueirão, Lavras da Mangabeira, Ceará, Nordeste do Brasil (região semiárida) constituindo-se como o primeiro trabalho a focar aspectos estruturais descritivos e de similaridade da flora da região. A relevância desta contribuição é evidente também pelo fato da crescente penetração da flora típica do semiárido brasileiro (Caatinga) nessa mancha, propiciado pela contínua degradação do relevo, resultado das modificações climáticas a que vem sendo submetida a área, e que, aliado ao desinteresse governamental na preservação, à aceleração do desmatamento pela agropecuária e construção civil e à deficiência na fiscalização ambiental, acarretam a supressão da flora de Cerrado, restringindo-se à área bem menos ampla do que a que abrangeu a região no passado.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Área de Estudo**

A Serra do Boqueirão localiza-se no município de Lavras da Mangabeira, (6°72'24" S e 38°97'73" W) (Figura 1), com altimetria variando de 282 a 401m. O município está localizado na região semiárida do Nordeste brasileiro, na microrregião homônima e na mesorregião do Centro-Sul do Ceará (IBGE,2010). A área situa-se nas proximidades da Bacia sedimentar de Lavras da Mangabeira, um conjunto de três pequenas bacias com uma área aproximada de 60,27 km<sup>2</sup>. O clima é o Tropical quente semiárido, com duas estações bem definidas (de inverno seco e verão úmido, (Aw) segundo a classificação de Köppen, apesar do caráter transitório com o clima semiárido do Nordeste do Brasil (BSh). A média de pluviosidade anual é de 908,9 mm (FUNCEME, 2019), com chuvas concentradas de janeiro a abril. A temperatura média anual é de 26.8 °C (INPE, 2019).

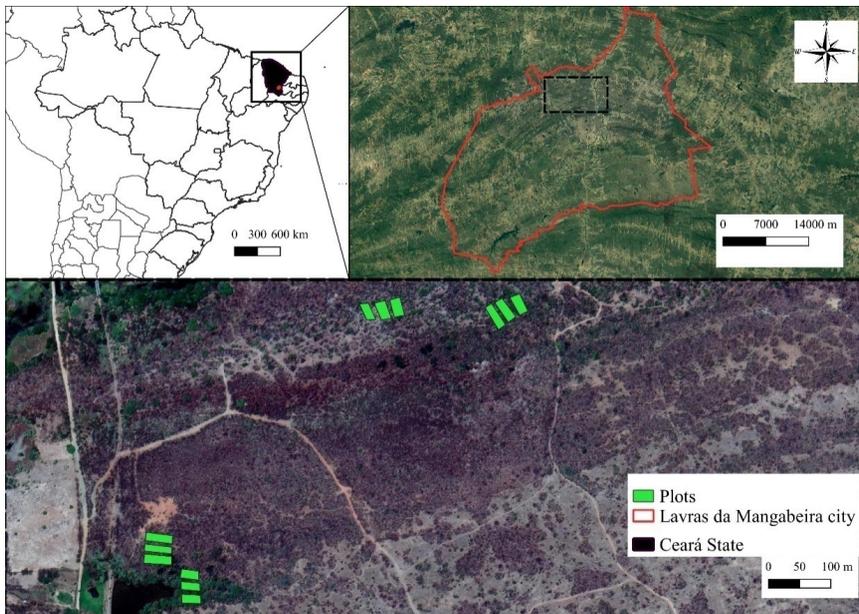


Figura 1: Localização geográfica da Serra do Boqueirão, Lavras da Mangabeira, Sul do Ceará.

A região é intensamente falhada, apresentando os lineamentos de direção Oeste-Leste, convergindo para o lineamento de Patos na Paraíba. A área em estudo situa-se entre as falhas de Várzea Alegre, Granjeiro e de Cuncas. O relevo é constituído por superfícies dissecadas em cristais estruturais com vales e interflúvios alongados. Os interflúvios já em adiantado processo de dissecação guardam estreitas superfícies horizontais, apresentando em suas vertentes, sulcos paralelos que acompanham geralmente as fraturas (FIGUEIREDO; FERNANDES, 1987).

### Suficiência amostral

Para se observar a suficiência do número de unidades amostrais, utilizou-se o procedimento REGRELRP – Regressão Linear com Resposta em Platô, do Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG versão 9.1 da Fundação Arthur Bernardes - Universidade Federal de Viçosa – UFV (SAEG, 2007), conforme adotado por Calixto Júnior e Drumond (2011), seguindo a lógica da “curva espécie/ área”.

A precisão da amostragem foi também avaliada através do cálculo do erro padrão. A abrangência dessa amostragem foi observada pelo cálculo do intervalo de confiança para os parâmetros densidade e dominância, com um limite de erro de 10

a 95 % de probabilidade, conforme Felfili e Rezende (2003).

## Coleta e tratamento de dados

Para caracterizar a vegetação de Cerrado foi conduzido inventário florestal, e pelo método das parcelas, proposto por Mueller-Dombois e ElleMBERG (1974), foram lançadas de forma sistemática (com distância de 100 m), unidades amostrais de 360 m<sup>2</sup> (12m x 30m), totalizando 12 parcelas em toda a área (0,432 ha).

Todos os indivíduos vivos com DNS (Diâmetro a 30 cm de altura do solo)  $\geq$  3 cm foram mensurados, assim como foram medidas a altura total. Para a mensuração do DNS foi utilizada suta dendrométrica e para a estimativa da altura total, vara telescópica graduada, conforme Ferraz et al. (2013). Na existência de rebroto, foi mensurado o de maior diâmetro e estando este dentro dos critérios de inclusão, o mesmo e os demais rebrotos foram incluídos, conforme sugere Rodal (1992).

A identificação do material botânico foi realizada com base em caracteres morfológicos florais e vegetativos e com a utilização de coleções botânicas, pela comparação de exsicatas coletadas com material catalogado nos Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima, da Universidade Regional do Cariri (HCDAL-URCA) e Herbário Prisco Bezerra, da Universidade Federal do Ceará (EAC-UFC), além de consulta à literatura e especialistas. As espécies foram classificadas em famílias de acordo com o sistema do Angiosperm Phylogeny Group IV (APG IV, 2016) e a grafia dos táxons foi conferida nos bancos do Missouri Botanical Garden (2011) e Flora do Brasil 2020 (2019).

## Análise fitossociológica

Para a obtenção dos parâmetros fitossociológicos utilizou-se o *software* Fitopac 2.1.2 (SHEPHERD, 2010), que possibilitou a análise de parâmetros gerais da comunidade: densidade total, área basal, alturas e diâmetros; e parâmetros relativos às espécies: densidade absoluta (DA) e relativa (DR), frequência absoluta (FA) e relativa (FR), dominância absoluta (DoA) e relativa (DoR), índice de valor de cobertura (IVC) e índice de valor de importância (IVI).

Para análise da diversidade alfa, relativo à abundância e número das espécies na comunidade, foram calculados o índice de diversidade de Shannon-Weaver ( $H'$ ), em base logarítmica neperiana e o índice de concentração de Simpson ( $C'$ ). O Índice de equitabilidade de Pielou ( $J'$ ), também foi avaliado, permitindo representar a uniformidade da distribuição dos indivíduos entre todas as espécies existentes (MAGURRAN, 1988).

## **Análise de similaridade**

Com o objetivo de identificar a similaridade florística da área estudada com outros levantamentos realizados em áreas de Cerrado (disjuntas ou Cerrado central) foi elaborada uma matriz de presença/ausência de espécies citadas em outros 10 levantamentos realizados em oito Estados brasileiros: Saporetti-Junior et al. (2003) no município de Abaeté, Minas Gerais; Silva-Neto et al. (2016), município de Dueré, Tocantins; Assunção e Felfili (2004) na APA do Paranoá, Distrito Federal; Finger e Finger (2015) na Chapada dos Guimarães e Baixada Cuiabana, Mato Grosso; Moro et al. (2011) no município de Fortaleza, Ceará; Medeiros et al. (2008), no município de Carolina, Maranhão; Oliveira et al. (2015), município de Jaborandi, oeste da Bahia; Imaña-Encinas et al. (2007) em área do EcoMuseu do Cerrado, Pirinópolis, Goiás; Costa e Araújo (2007) na Chapada do Araripe, Barbalha, Ceará e Neri et al. (2007) na Bacia do rio Jequitinhonha, Minas Gerais.

Todas as listagens tiveram sinônimas eliminadas por meio do software do índice de espécies do Royal Botanic Garden. A comparação foi feita por meio do índice de similaridade de Jaccard ( $J$ ) que expressa a semelhança entre os ambientes baseando-se no número de espécies comuns. A matriz de similaridade florística resultante foi utilizada na análise de agrupamentos pelo método de médias aritméticas não ponderadas (UPGMA) e pela geração de um dendrograma (Sneath; Sokal, 1973), utilizando-se a distância euclidiana como medida de dissimilaridade, através do software PAST v. 3.23 1999-2019 (HAMMER et al., 2001).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Suficiência amostral**

Na determinação da suficiência amostral por regressão linear com resposta em platô (Figura 2), foi considerado o número de pontos mínimos a serem amostrados e o ponto onde há a intersecção da parte linear crescente com a parte em forma de platô. Foi observado que a intersecção se deu a partir da nona parcela (com 3.240 m<sup>2</sup> de área amostrada) com 78% das espécies amostradas, e nas três últimas parcelas não houve novidade de ocorrência de espécies, considerando-se, com isto, que a amostragem realizada para a área foi considerada suficiente.

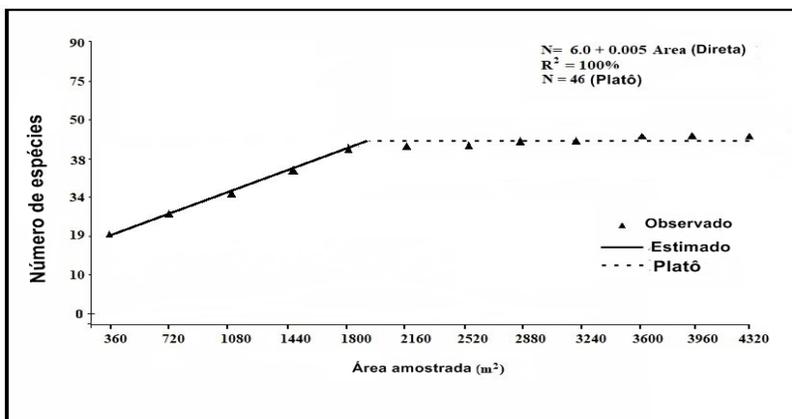


Figura 2: Representação gráfica da suficiência amostral no fragmento de Cerrado, Serra do Boqueirão, Lavras da Mangabeira, Ceará.

O inventário, que apontou 906 indivíduos arbóreos, gerou uma estimativa de densidade absoluta de  $2.097,22 \text{ ind. ha}^{-1}$  (IC =  $\pm 202,67 \text{ ind. ha}^{-1}$ ) a 95% de probabilidade e erro padrão de 6,16% e de área basal (dominância) de  $5,17 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$  (IC =  $\pm 6,93 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$ ) a 95% de probabilidade e erro padrão de 8,09%. Estes valores corroboram para que a precisão da amostragem seja considerada adequada e abrangente para a estimativa das variáveis quantitativas (FELFILLI; REZENDE, 2003).

### Composição florística e diversidade

Os indivíduos amostrados pertencem a 46 espécies e estão distribuídos em 43 gêneros e 22 famílias botânicas (Tabela 1). As famílias com maior riqueza de espécies no inventário foram: Fabaceae (11), Bignoniaceae (4), Malvaceae (4), Rubiaceae (3) e Salicaceae (3), o que corresponde a 54,3% do total de espécies amostradas. Outras quatro famílias apresentaram duas espécies e treze famílias, apenas indivíduos de uma espécie. Fabaceae detém 23,9% das espécies encontradas.

Assim como em grande parte das florestas neotropicais, nota-se a elevada riqueza da família Fabaceae (MATOS; FELFILI, 2010). Para Cordeiro (2002) o sucesso representativo das Fabaceae no Cerrado está associado à capacidade de fixação simbiótica de nitrogênio, o que lhes confere adaptação em condições de desequilíbrios.

Conforme Pereira et al. (2011), na vegetação de Cerrado *stricto sensu*, as famílias com maiores representações em riqueza de espécies são: Fabaceae, Malvaceae, Anacardiaceae, Apocynaceae e Bignoniaceae, sendo que a riqueza de

cada família é variável em cada localidade, e normalmente, a soma do número das espécies ultrapassa 50% do total por hectare, o que corrobora com os resultados deste trabalho. Mendonça et al. (2008) afirmam ser frequente a presença das famílias Vochysiaceae e Fabaceae, além de Myrtaceae nos cerrados no Brasil central.

Família	Espécie	Nome Comum	Domínio	Voucher
<b>Anacardiaceae</b>	<i>Anacardium occidentale</i> var. <i>microcarpum</i>	Cajuí	Cer	13.690
	<i>Astronium fraxinifolium</i> Schott	Gonçalo-Alves	Cer	13.691
<b>Annonaceae</b>	<i>Annona leptopetala</i> (R.E.Fr.) H.Rainer	Bananinha	Cer	13.492
<b>Apocynaceae</b>	<i>Aspidosperma cuspa</i> (Kunth) S.F.Blake	Pereiro-branco	Cer	-
	<i>Aspidosperma pyriforme</i> var. <i>molle</i> (Mart.) Müll.Arg.	Pereiro-preto	Caa	13.531
<b>Bignoniaceae</b>	<i>Cuspidaria argentea</i> (Wawra) Sandwith	Cipó-rosa	Cer	13.466
	<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	Ipê-roxo	Cer	13.541
	<i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth & Hook.f. ex S. Moore	Craibeira	Cer	13.612
	<i>Jacaranda caroba</i> (Vell.) DC.	Caroba-boca-de-sapo	Cer	13.464
<b>Bixaceae</b>	<i>Cochlospermum vitifolium</i> (Willd.) Spreng.	Pacoté	Caa	13.652
<b>Burseraceae</b>	<i>Commiphora leptophloeos</i> (Mart.) J.B.Gillett	Umburana-de-cambão	Caa	13.495
<b>Cactaceae</b>	<i>Cereus jamacaru</i> DC.	Mandacaru	Caa	-
<b>Combretaceae</b>	<i>Combretum glaucocarpum</i> Mart.	Sipaúba	Caa	13.535
	<i>Combretum leprosum</i> Mart.	Mofumbo	Caa	-
<b>Dilleniaceae</b>	<i>Curatella americana</i> L.	Lixeira	Cer	13.688
<b>Euphorbiaceae</b>	<i>Croton jacobinensis</i> Baill.	Marmeleiro	Caa	13.497
<b>Fabaceae</b>	<i>Dahlstedria araripensis</i> (Benth.)	Angelim	Cer	13.693
	<i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C.Sm.	Umburana-de-cheiro	Caa	-
	<i>Dalbergia cearenses</i> Ducke	Violete	Caa	-
	<i>Plathymenia reticulata</i> Benth.	Pau-amarelo	Cer	-
	<i>Luetzelburgia auriculata</i> (Allemão) Ducke	Pau-mocó	Caa	-
	<i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart. ex Hayne	Jatobá-de-veado	Cer	13.692
	<i>Bauhinia</i> sp.	Pata-de-vaca	Caa	-
	<i>Libidibia ferrea</i> (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz	Pau-ferro	Caa	13.651
	<i>Machaerium acutifolium</i> Vogel	Coração-de-negro	Cer	13.647
	<i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir.	Jurema-preta	Caa	13.611
	<i>Vatairea macrocarpa</i> (Benth.) Ducke	Amargoso	Cer	-

<b>Lythraceae</b>	<i>Lafoensia vandelliana</i> Cham. & Schldt. Subsp. vandelliana	Romã-brava	Cer	13.584
<b>Malpighiaceae</b>	<i>Byrsonima gardneriana</i> A. Juss.	Murici	Cer	13.493
<b>Malvaceae</b>	<i>Helicteres macropetala</i> A. St.-Hil. <i>Luehea candicans</i> Mart. & Zucc. <i>Luehea paniculata</i> Mart. & Zucc. <i>Pseudobombax marginatum</i> (A.St.-Hil., Juss. & Cambess.) A.Robyns	Saca-rolha	Cer	13.557
		Açoita-cavalo1	Cer	13.556
		Açoita-cavalo2	Cer	54.641*
		Embiratanha	Caa	-
<b>Moraceae</b>	<i>Brosimum gaudichaudii</i> Trécul	Inharé	Cer	13.689
<b>Myrtaceae</b>	<i>Psidium myrsinites</i> DC.	Araçá-bravo	Cer	13.537
<b>Olacaceae</b>	<i>Ximenia americana</i> L.	Ameixa	Caa	-
<b>Rubiaceae</b>	<i>Coutarea hexandra</i> (Jacq.) K.Schum. <i>Guettarda viburnoides</i> Cham. & Schldt. <i>Tocoyena formosa</i> (Cham. & Schldt.) K.Schum.	Quína-Quina	Cer	54.746*
		Veludo-branco	Cer	13.491
		Jenipapo	Cer	13.483
<b>Rutaceae</b>	<i>Zanthoxylum</i> sp.	Laranjinha	Cer	-
<b>Salicaceae</b>	<i>Laetia</i> sp. <i>Prockia crucis</i> P. Browne ex L. <i>Xylosma ciliatifolia</i> (Clos) Eichler	Pau-piranha	Caa	13.467
		Farinha-seca	Cer	54.741*
		Espinho-de-judeu	Cer	-
<b>Simaroubaceae</b>	<i>Simarouba amara</i> Aubl.	Pau-Paraíba	Cer	13.648
<b>Vochysiaceae</b>	<i>Qualea parviflora</i> Mart. <i>Callisthene fasciculata</i> Mart.	Pau-terra	Cer	13.463
		Carvoeiro	Cer	13.462

Tabela 1: Composição florística de um fragmento de Cerrado, Serra do Boqueirão, Lavras da Mangabeira, Nordeste do Brasil.

Onde: \*Espécies identificadas no Herbário Prisco Bezerra (EAC), Universidade Federal do Ceará – UFC. Cer = Cerrado; Caa = Caatinga.

Estudos realizados na Chapada do Araripe, no Ceará (a cerca de 50 km em linha reta ao Sul do local da amostragem) em área de Cerrado s.s. (município de Barbalha), por Costa e Araújo (2007), e por Bezerra (2018) em área de Cerradão no município de Crato, apontaram para resultados semelhantes sobre representatividade das famílias e números de táxons. Outros trabalhos realizados em áreas de Cerrado em diferentes regiões do Brasil corroboram com estes resultados: Medeiros et al. (2008), Lemos et al. (2013) e Oliveira et al., (2015) em áreas de Cerrado no Nordeste; Saporetto-Junior et al. (2003); Assunção e Felfili (2004), Matos e Felfili

(2010) e Oestreich-Filho (2014) em Cerrado central do Brasil.

Acerca do número de indivíduos, as sete famílias melhor representadas correspondem a 80,3% do total de indivíduos amostrados, estando assim distribuídos: Fabaceae (20,3%), Vochysiaceae (19,9%) Anacardiaceae (11,1%), Annonaceae (9,6%), Bignoniaceae (6,7%), Rubiaceae (6,6%) e Myrtaceae (6,1%). As demais famílias obtiveram valores abaixo de 5% em número de indivíduos. Resultados semelhantes foram obtidos por Gentry et al. (1997) e Mendonça et al. (1998), que evidenciaram ser Fabaceae e Vochysiaceae as famílias de maior representação em número de indivíduos nos Cerrados do Brasil central. Estes resultados compactuam com a tendência de poucas famílias prevalecerem sobre as demais nas fitofisionomias de Cerrado s.s. no Brasil (SAMPAIO et al., 2018).

O sucesso de Vochysiaceae pode estar fortemente associado à capacidade de acumulação de alumínio por parte de algumas das suas espécies (HARIDASAN, 2000; MEWS et al., 2011), o que também configura vantagem competitiva em solos distróficos com baixa saturação de bases trocáveis, baixa capacidade de troca catiônica, alta acidez e altas concentrações de Al no perfil, como é o caso da maioria dos solos no bioma Cerrado. Além disso, muitas espécies das referidas famílias têm estratégias reprodutivas bem adaptadas às condições climatológicas do Cerrado, apresentando dispersão das sementes no início da estação chuvosa, boa germinação e ausência de dormência nas sementes (OLIVEIRA, 2008).

A diversidade alfa, medida pelo índice de diversidade de Shannon-Weaver ( $H'$ ) foi de 3,18; a Equabilidade de Pielou ( $J'$ ) foi de 0,83 e o índice de concentração de Simpson ( $C'$ ) foi de 0,05. Esses valores sugerem alta riqueza de espécies (diversidade alfa elevada), alta uniformidade no tamanho das populações e baixa concentração de espécies. De acordo com Saporetti Jr. et al. (2003), valores de  $H'$  acima de 3,11 apontam para formações vegetais bem conservadas. Teoricamente, esse valor de  $J'$  sugere que seria necessário o incremento de apenas mais 17% de espécies para que fosse atingida a diversidade máxima da comunidade, conforme Brower et al. (1998).

Resultados mais aproximados aos deste trabalho foram apontados por Silva-Neto et al. (2016) em que valores de  $H'$  e  $J'$  foram 3,21 e 0,86, respectivamente, em área de Cerrado s.s. no Estado do Tocantins, região central do Brasil. É possível observar, neste caso, a heterogeneidade florística do componente arbóreo considerada alta, seguida de baixa dominância ecológica.

A diversidade alfa na mancha de Cerrado na Serra do Boqueirão é considerada elevada quando comparada com áreas de Caatinga do Nordeste do Brasil, nas quais os índices de Shannon variam de 1,10 a 3,09 (CALIXTO JÚNIOR; DRUMOND, 2014). Medeiros et al. (2008) aponta os valores do índice de Shannon entre 3,11 e 3,62 como sendo representativos de diversas áreas de Cerrado Central

nos Estados de Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás e no Distrito Federal.

A presença de espécies raras não é muito evidenciada, já que apenas duas (*Prockia crucis* e *Luetzelbugia auriculata*) ocorreram de forma isolada (apenas um indivíduo encontrado) e outras quatro (*Coutarea hexandra*, *Pseudobombax marginatum*, *Helicteres macropetala* e *Mimosa tenuiflora*) apresentaram dois indivíduos, apenas. Treze espécies (28,2%) são representadas por cinco ou menos indivíduos.

*P. crucis* e *H. macropetala* são citadas em levantamentos fitossociológicos no Sul do Ceará pela primeira vez neste trabalho.

Das espécies amostradas, 30 (65,2%) são típicas de ambientes de Cerrado. As demais (34,8%) são espécies características de Caatinga que já adentram ao enclave, e com essa intromissão, competem com as espécies de Cerrado, sem ainda chegar, no entanto, a mascarar a fisionomia, conforme o que foi observado por Figueiredo e Fernandes (1987). *Pseudobombax marginatum* e *Mimosa tenuiflora*, juntamente a outras 14 espécies típicas de ambientes de Caatinga correspondem a 8,6% do número de indivíduos inventariados. Dentre estas, *Aspidosperma pyrifolium* (12 espécimes), *Ximения americana* (8) e *Amburana cearensis* (6), se destacam.

Destaca-se ainda a presença de 11 indivíduos de *Curatella americana* (lixreira ou simbaíba), abundante no Cerrado central brasileiro, mas ausente em levantamentos no Cerrado s.s. da Chapada do Araripe (Costa; Araújo, 2007) ou ocorrente com baixa frequência em vegetação savânica sobre tabuleiros pré-litorâneos em Fortaleza, Ceará (Moro; Castro, Araújo, 2011). A espécie, pelo seu desempenho e potencial adaptativo, pode ser considerada colonizadora ou, mesmo, nucleadora em áreas savânicas (WINTERHALDER, 1996; REIS, 2010; CALGARO et al, 2015), e pelas adaptações ao fogo, como caule fendilhado e folhas largas, é exemplo típico de um recobrimento fisionômico maior que abrangeu essa área de forma bem mais ampla, ficando hoje apenas essa relíquia vegetacional. Conforme Figueiredo e Fernandes (1987), este fato é evidenciado pela evolução global da paisagem, notadamente no que se refere à estrutura superficial e aos solos. O intemperismo profundo, ocorrente em pleno semiárido, confirma a ocorrência de condições climáticas diferentes das atuais, que possibilitaram o desenvolvimento do perfil fitogeográfico na Serra do Boqueirão e outras áreas que se ora se apresentam sob as condições de manchas.

A ocorrência de *C. hexandra* (quina-quina), outra espécie rara e de alto valor terapêutico, faz intensificar a relevância de estudos como este, já que espécies como esta tem sido historicamente dizimadas, da mesma forma em que o fragmento em questão, que vem sendo modificado, além das modificações climáticas, por ações antrópicas como a construção civil (loteamentos), aliadas a o desinteresse na preservação e aceleração do desmatamento, ambas observadas em localidades

na Serra do Boqueirão, o que afeta a resistência e resiliência dessa comunidade vegetal em forma de relíquia.

Castro et al. (1998), advertem sobre a falta de conhecimento do patrimônio florístico do Cerrado, citando-a como um problema, que pode interferir de forma negativa na oferta de variabilidade genética para as futuras gerações, além disso, aponta que a fitodiversidade e a arquitetura compartimentada do domínio Cerrado, dificulta a extrapolação dos resultados alcançados pelos levantamentos florísticos quantitativos.

### **Análise dos parâmetros fitossociológicos**

Os valores de área basal total e densidade absoluta total foram de  $5,17 \text{ m}^2/\text{ha}^{-1}$  e  $2.097,22 \text{ ind./ha}^{-1}$ , respectivamente. Valores próximos foram encontrados por Felfili et al. (1997), que ao comparar 11 áreas nas Chapadas da Pratinha e dos Veadeiros (Cerrado central do Brasil), apontaram valores de área basal entre 5,8 e  $11,3 \text{ m}^2/\text{ha}^{-1}$ . No entanto, o valor da área basal apresentado neste trabalho diverge do encontrado por Costa e Araujo (2007) na Chapada do Araripe (Barbalha, Ceará), que foi de  $19,2 \text{ m}^2/\text{ha}^{-1}$ , apesar da convergência no valor da densidade absoluta ( $2.224 \text{ m}^2/\text{ha}^{-1}$ ). Isto se dá em face de diferenças pedológicas e de altitude, já que a Chapada do Araripe apresenta uma comunidade arbórea que configura um quadro fisionômico com aspecto de Cerradão, ocorrente em áreas com altimetria mais elevada, com cerca de 950 m, aliado a solos profundos e arenosos. Espécies como o Pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) e o Visgueiro (*Parkia platycephala* Benth), por exemplo, que apresentam altos valores de área basal quando adultos, dominando os ambientes em que se concentram, estão presentes em abundância no Cerradão da Chapada do Araripe, mas não sobrevivem sob as condições reinantes nos topos tabulares de menor altitude da Serra do Boqueirão, suportando as altas temperaturas que a circunda, com regimes pluviométricos menores.

Medeiros et al. (2008) apresentaram valor de área basal total de  $6,8 \text{ m}^2/\text{ha}^{-1}$  em trabalho realizado em área considerada como Cerrado ralo no Estado do Maranhão, Nordeste do Brasil, assemelhando-se, por este critério, ao da Serra do Boqueirão em Lavras da Mangabeira.

A densidade e a área basal em diferentes comunidades de Cerrado é bastante variada, desde 664 até 8.135 indivíduos por hectare e áreas basais desde  $4,73 \text{ m}^2/\text{ha}$  até  $42,19 \text{ m}^2/\text{ha}$  (Costa; Araújo, 2007; Moro; Castro; Araújo, 2011). Isso se deve à grande variação fisionômica do Cerrado *sensu lato*, desde ambientes florestais (cerradão) até campestres (campo limpo) (Gottsberger; Silberbauer-Gottsberger, 2006; Ribeiro; Walter, 2008). Fisionomias intermediárias (savânicas) são aquelas designadas como cerrado *sensu stricto* (Ribeiro; Walter, 2008) e a densidade e

área basal da comunidade estudada se enquadram naquela registrada para outras áreas de cerrado *sensu stricto* (Felfili et al. 2002; Fidelis; Godoy, 2003; Moro, Castro, Araújo, 2011).

As espécies com maiores índices de valor de importância (IVI) foram: *A. occidentale*, *Q. parviflora*, *H. stgnocharpa*, *C. fasciculata* e *A. leptopetala* (Tabela 2). Resultado semelhante foi obtido por Sampaio et al. (2018) em área de Cerrado *sensu stricto* na bacia do rio Parnaíba, Nordeste brasileiro, em que *Qualea parviflora* foi a espécie de maior IVI.

Vinte e duas espécies apresentaram valores de IVI menores que 3,8%, número que representa menos de 10% do valor máximo observado (38,29%), o que indica que essas espécies são pouco comuns na área estudada, sendo que 50% destas, são características de Caatinga, adentrando ao fragmento como competidoras.

Neste trabalho, *Q. parviflora* foi a espécie mais abundante, seguida de *A. leptopetala*, *H. stgnocharpa* e *C. fasciculata*. Dentre estas, nota-se duas espécies de Vochysiaceae, família de ocorrência predominante em Cerrado e inexistente nos levantamentos realizados em flora da Caatinga, entre as quatro mais representativas (em números de indivíduos) da flora amostrada. Outra espécie de grande ocorrência, o Cajuí (*Anacardium occidentale*) é apontada como das de maior IVI apenas no trabalho de Moro, Araújo e Castro (2011) em outros levantamentos de Cerrado no Nordeste, o que pode ser reflexo da escassez de descrições fitossociológicas em áreas marginais de Cerrados no Ceará ou ocorrer pela mescla de fatores ambientais como a constituição dos solos, a pluviometria e a altitude característicos da Serra do Boqueirão. No entanto, a referida espécie é considerada comum em formações savânicas (Ratter et al. 2003), principalmente na porção norte-nordeste do bioma Cerrado, onde ocorre abundantemente (CASTRO et al. 1998, OLIVEIRA-FILHO, 2006; MATOS; FELIFILI, 2010).

Espécies	N	DA	DR	FA	FR	DoA	DoR	IVC	IVI
<i>A. occidentale</i>	71	164,4	7,84	91,67	5,31	3,01	25,14	32,98	38,29
<i>Q. parviflora</i>	103	238,4	11,37	66,67	3,86	1,04	8,66	20,02	23,89
<i>H. stgnocharpa</i>	85	196,8	9,38	33,33	1,93	1,29	10,75	20,13	22,07
<i>C. fasciculata</i>	78	180,6	8,61	91,67	5,31	0,66	5,5	14,1	19,42
<i>A. leptopetala</i>	87	201,4	9,6	83,33	4,83	0,42	3,48	13,08	17,91

<i>G. virbunoides</i>	54	125	5,96	58,33	3,38	0,6	4,98	10,94	14,32
<i>P. myrsinites</i>	56	129,6	6,18	75,00	4,35	0,24	2,04	8,22	12,57
<i>A. fraxinifolium</i>	30	69,4	3,31	91,67	5,31	0,42	3,5	6,81	12,13
<i>D. cearensis</i>	19	44	2,1	91,67	5,31	0,45	3,73	5,83	11,15
<i>D. araripensis</i>	15	34,7	1,66	58,33	3,38	0,66	5,51	7,17	10,55
<i>H. impetiginosus</i>	27	62,5	2,98	83,33	4,83	0,28	2,35	5,33	10,16
<i>P. reticulata</i>	26	60,2	2,87	50,00	2,9	0,39	3,29	6,16	9,06
<i>A. cuspa</i>	29	67,1	3,2	66,67	3,86	0,1	0,8	4	7,86
<i>C. argentea</i>	19	44	2,1	83,33	4,83	0,08	0,7	2,79	7,63
<i>B. gaudichaudii</i>	20	46,3	2,21	33,33	1,93	0,39	3,29	5,49	7,43
<i>C. americana</i>	11	25,5	1,21	25,00	1,45	0,38	3,13	4,34	5,79
<i>T. aurea</i>	15	34,7	1,66	25,00	1,45	0,21	1,77	3,42	4,87
<i>A. pyriformium</i>	12	27,8	1,32	50,00	2,9	0,06	0,53	1,86	4,76
<i>B. crassifolia</i>	12	27,8	1,32	41,67	2,42	0,06	0,53	1,86	4,27
<i>L. replicata</i>	20	46,3	2,21	16,67	0,97	0,08	0,65	2,86	3,82
<i>X. americana</i>	7	16,2	0,77	41,67	2,42	0,02	0,17	0,94	3,36
<i>C. vitifolium</i>	5	11,6	0,55	33,33	1,93	0,09	0,76	1,31	3,24
<i>M. acutifolium</i>	7	16,2	0,77	16,67	0,97	0,17	1,45	2,22	3,19
<i>Zanthoxylum sp.</i>	6	13,9	0,66	33,33	1,93	0,07	0,59	1,25	3,18
<i>C. glaucocarpum</i>	5	11,6	0,55	25,00	1,45	0,12	1,04	1,59	3,04
<i>A. cearensis</i>	6	13,9	0,66	33,33	1,93	0,05	0,4	1,06	2,99
<i>C. jamacaru</i>	5	11,6	0,55	25,00	1,45	0,1	0,84	1,39	2,84
<i>J. caroba</i>	6	13,9	0,66	25,00	1,45	0,06	0,5	1,16	2,61
<i>V. macrocarpa</i>	8	18,5	0,88	16,67	0,97	0,07	0,6	1,48	2,45
<i>L. paniculata</i>	4	9,3	0,44	25,00	1,45	0,06	0,51	0,95	2,4

<i>Laetia sp.</i>	4	9,3	0,44	25,00	1,45	0,06	0,46	0,9	2,35
<i>L. candicans</i>	8	18,5	0,88	16,67	0,97	0,04	0,35	1,23	2,2
<i>C. leptopholeos</i>	3	6,9	0,33	25,00	1,45	0,04	0,29	0,63	2,08
<i>Xylosma sp.</i>	5	11,6	0,55	16,67	0,97	0,04	0,32	0,87	1,84
<i>C. jacobinensis</i>	5	11,6	0,55	16,67	0,97	0,02	0,18	0,73	1,7
<i>L. ferrea</i>	4	9,3	0,44	16,67	0,97	0,03	0,28	0,72	1,68
<i>Bauhinia sp.</i>	5	11,6	0,55	16,67	0,97	0,02	0,15	0,7	1,66
<i>C. leprosum</i>	4	9,3	0,44	16,67	0,97	0,02	0,16	0,6	1,57
<i>T. formosa</i>	4	9,3	0,44	16,67	0,97	0,01	0,11	0,55	1,52
<i>S. amara</i>	6	13,9	0,66	8,33	0,48	0,02	0,19	0,85	1,33
<i>C. hexandra</i>	2	4,6	0,22	16,67	0,97	0	0,04	0,26	1,22
<i>P. marginatum</i>	2	4,6	0,22	8,33	0,48	0,01	0,1	0,32	0,8
<i>H. macropetala</i>	2	4,6	0,22	8,33	0,48	0,01	0,06	0,28	0,77
<i>M. tenuiflora</i>	2	4,6	0,22	8,33	0,48	0	0,04	0,26	0,75
<i>L. auriculata</i>	1	2,3	0,11	8,33	0,48	0,01	0,05	0,16	0,65
<i>P. crucis</i>	1	2,3	0,11	8,33	0,48	0	0,04	0,15	0,63

Tabela 2: Parâmetros fitossociológicos do fragmento de Cerrado na Serra do Boqueirão, Lavras da Mangabeira, Nordeste do Brasil. Valores decrescentes pelo Índice de Valor de Importância (IVC), onde: N = Número de indivíduos; DA = Densidade Absoluta; FA = Frequência Absoluta; DoA = Dominância Absoluta; DR = Densidade Relativa (%); FR = Frequência Relativa (%); DoR = Dominância Relativa (%); IVC = Índice de Valor de Cobertura e IVI = Índice de Valor de Importância.

## Distribuição diamétrica e hipsométrica

Observando a distribuição dos indivíduos por classes de diâmetro, o gráfico que representa a comunidade estudada apresentou forma de “J-reverso” (exponencial negativo) estando constituído, em sua maioria, por árvores jovens, com 68,1% com diâmetros menores ou iguais a 8cm (Figura 3). O valor de diâmetro médio foi de 7,26cm. O diâmetro máximo encontrado foi de 36,3cm em um indivíduo de *A. occidentale* (espécie de maior dominância na área).

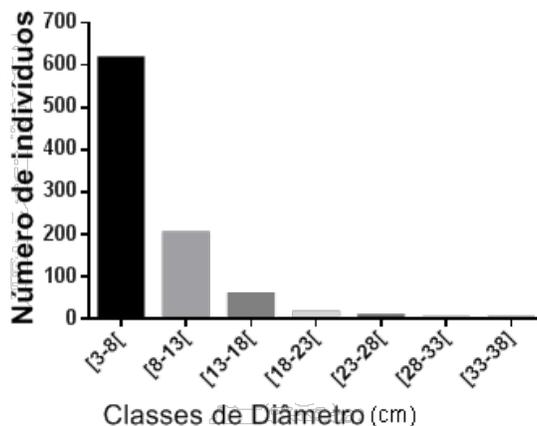


Figura 3: Distribuição dos indivíduos por classe de diâmetro em um fragmento de Cerrado em Lavras da Mangabeira, Nordeste do Brasil.

Os dados corroboram com os resultados obtidos por Assunção e Felfili (2004) em área de Cerrado *sensu stricto* no Distrito Federal, em que foi também observada a distribuição diamétrica na forma de “J-invertido”, assim como em levantamento feito por Ferreira et al. (2015) em Cerrado *sensu stricto* no Estado do Tocantins, com 75% dos indivíduos jovens de diâmetros inferiores a 12 cm. O modelo de distribuição de classes de diâmetro no padrão “J-invertido” sugere que a área é auto regenerativa (ASSUNÇÃO; FELFILI, 2004; FERREIRA et al., 2015; CERQUEIRA et al., 2017). A presença de muitos indivíduos jovens, com diâmetros inferiores a 8cm, aponta que a área estudada na Serra do Boqueirão sofreu perturbações, podendo estar em estágio de recuperação, o que reforça a necessidade de preservação. No entanto, cabe destacar, que a possibilidade de auto regeneração contrasta com a crescente intervenção antrópica a qual vem sofrendo a área, junto a fatores climáticos e edáficos que dificultam o desenvolvimento desse fragmento.

Conforme Marangon et al. (2008), através do estudo da estrutura vertical é possível analisar o estágio de desenvolvimento das formações florestais, baseando-se na distribuição dos indivíduos nos diferentes níveis de classes de altura, juntamente com os dados obtidos nas classes diamétricas.

Na distribuição em classes de altura (Figura 4), a maior concentração de indivíduos está nas classes intermediárias, o que corresponde a 68,3% do total. A classe 2 (De 5 a 7,9m de altura) representa, isoladamente, 45,3% de todos os indivíduos do levantamento. No entanto, 120 indivíduos (13%) apresentam altura superior a 11m, o que configura semelhança com estrato arbóreo de Cerradão.

Foi evidenciada semelhança entre os dados das classes de diâmetro e altura, neste estudo, com os resultados obtidos por Ferreira et al. (2015), em levantamento

realizado em Cerrado *sensu stricto* em Gurupi, Tocantins, onde a média de altura foi 7,31m. Esses dados corroboram também com os encontrados por Assunção e Felfili (2004), em estudo feito na APA do lago Paranoá, Brasília e sugerem que o fragmento de Cerrado na Serra do Boqueirão pode estar em processo de transição fitofisionômica.

A maior altura observada foi de 17m em alguns indivíduos de *D. araripensis* (angelim). A média total hipsométrica foi de 7,15m, valor esse, que se aproxima do critério de inclusão que classifica as formações florestais pertencentes ao domínio Cerrado, que é de 8 metros (Ferreira et al.,2015).

### Análise de similaridade

Conforme Magurran (1988), a diversidade beta ou diversidade entre habitats se relaciona com as diferenças na composição de espécies e suas abundâncias entre comunidades, o que reflete a dissimilaridade florística (Matos; Felfili, 2010).

Os índices de similaridade florística (matriz de Jaccard) calculados entre a área de estudo e outras dez áreas de Cerrado em diferentes regiões do Brasil estão expressos na Tabela 3 e apontam para alta heterogeneidade entre as áreas, como baixos valores de similaridade florística, o que representa alta diversidade beta entre a área em estudo e as demais analisadas.

Conforme Kent e Coker (1992), valores de índices de comparação maiores ou iguais a 0,5 apontam para alta similaridade. Com isto, afirma-se que a similaridade observada entre as áreas pelo índice de Jaccard é considerada baixa.

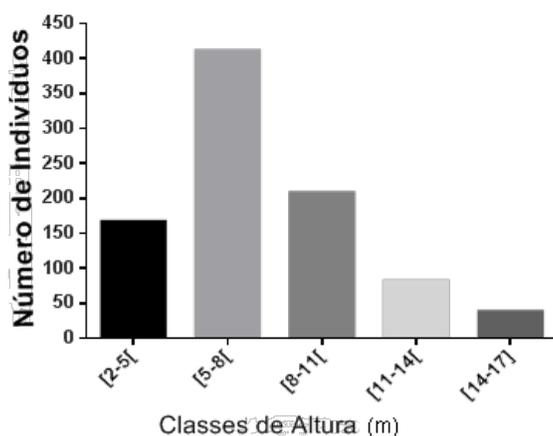


Figura 4: Distribuição dos indivíduos por classe de altura em um fragmento de Cerrado em Lavras da Mangabeira, Nordeste do Brasil.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
A	1										
B	0,0737	1									
C	0,08	0,1764	1								
D	0,0652	0,2752	0,2428	1							
E	0,1153	0,2517	0,2407	0,2177	1						
F	0,1525	0,1263	0,0961	0,0882	0,0901	1					
G	0,1408	0,1650	0,2280	0,1917	0,2407	0,1632	1				
H	0,0987	0,2549	0,3220	0,4179	0,2792	0,1206	0,2187	1			
I	0,0416	0,2127	0,2075	0,1095	0,1743	0,1333	0,1428	0,0909	1		
J	0,1296	0,0989	0,0869	0,1551	0,0961	0,0882	0,1363	0,1153	0,0101	1	
k	0,0816	0,4646	0,1728	0,3827	0,2230	0,0789	0,1728	0,3205	0,1558	0,1363	1

Tabela 3. Matriz de similaridade de Jaccard de onze áreas de Cerrado consideradas em diferentes regiões do Brasil.

Os índices de comparação entre o Cerrado da Serra do Boqueirão e outras 10 áreas variaram de 0,0416 (Cerrado s.s. em Pirinópolis, Estado de Goiás) a 0,1525 (zona urbana do município de Fortaleza, Ceará), apontando, portanto, maior similaridade com mancha de vegetação savânica em tabuleiro pré-litorâneo no Estado do Ceará, com precipitação média anual de 1.338 mm (Tabela 4). Na comparação com a outra área no Estado do Ceará, Cerrado s.s. da Chapada do Araripe, em Barbalha (há cerca de 50 Km em linha reta, do local deste estudo), observou-se a terceira maior similaridade da análise (0,1296), valor inferior ao comparado com Cerrado s.s. em Carolina, Sul do Estado do Maranhão.

A baixa similaridade florística evidenciada neste trabalho entre áreas próximas geograficamente, assim como áreas mais distantes, corrobora com a existência de padrões fitogeográficos baseados na distribuição das espécies. As diferenças observadas sugerem que as espécies das florestas tropicais se caracterizam por se distribuírem espacialmente em mosaicos e mesmo as comunidades situadas em áreas próximas apresentam-se florística e estruturalmente diferenciadas, o que corrobora com resultados de trabalhos que relatam a alta diversidade da flora das áreas tropicais, como o Cerrado brasileiro (Ferreira-Júnior et al. 2008).

Área	NE	NF	AM/ha	IPA/mm	Alt./m	CI/cm	DA m <sup>2</sup> /ha <sup>-1</sup>
A	46	22	0,43	904	289	DNS <sub>≥</sub> 3	2097
B	85	44	0,30	1.400	480	CAS <sub>≥</sub> 10	4463
C	41	21	0,20	1.500 a 1.600	329	CAP <sub>≥</sub> 15	--
D	54	30	1,00	1.400 a 1.450	1050	DNS <sub>≥</sub> 5	882
E	114	36	3,28	--	500	DNS <sub>≥</sub> 5	1740
F	37	24	1,00	1.338	16	PNS <sub>≥</sub> 9	1218
G	53	25	1,00	1.718	150	DNS <sub>≥</sub> 5	--
H	58	24	2,00	1059	918	DNS <sub>≥</sub> 5	1027
I	83	38	0,40	1.500	810	DAP <sub>≥</sub> 5	1855
J	43	28	0,08	760	900	DNS <sub>≥</sub> 3	2224
K	91	38	0,60	1059	918	CAS <sub>≥</sub> 10	6476

Tabela 4: Variáveis florístico/ambientais entre 11 áreas (A-K) de Cerrado localizadas nas regiões Nordeste, Centro-oeste e Sudeste do Brasil.

Onde: A = Serra do Boqueirão, Sul do Estado do Ceará (este trabalho); B = Saporetti-Junior et al. (2003), município de Abaeté, Estado de Minas Gerais; C = Silva-Neto et al. (2016), município de Dueré, Estado do Tocantins; D = Assunção; Felfili (2004) na APA do Paranoá, Distrito Federal; E = Finger; Finger (2015), Chapada dos Guimarães e Baixada Cuiabana, Estado do Mato Grosso; F = Moro et al. (2011) na zona urbana de Fortaleza, Ceará; G = Medeiros et al. (2008), município de Carolina, Estado do Maranhão; H = Oliveira et al. (2015), município de Jaborandi, oeste do Estado da Bahia; I = Imaña-Encinas et al. (2007) em área do EcoMuseu do Cerrado, Pirinópolis, Estado de Goiás; J = Costa; Araújo (2007), Chapada do Araripe, Barbalha, Estado do Ceará; K = Neri et al. (2007) na bacia do rio Jequitinhonha, Estado de Minas Gerais. Onde: NE = Número de espécies; NF = Número de famílias; AM = Área amostral; IPA = Índice de Pluviosidade Anual; Alt. = Altitude; CI = Critério de Inclusão e DA = Densidade absoluta total.

A análise do diagrama de distância de ligação representado na Figura 5 aponta a formação de dois grupos, dependentes da localização das áreas, constatando-se, desta forma, que houve relação entre a localização geográfica das áreas e a formação dos grupos. O primeiro grupo foi formado por áreas do Estado do Ceará (municípios de Fortaleza - F, Barbalha - J e Lavras da Mangabeira - A). O segundo grupo foi formado por áreas localizadas em outros sete Estados do País, embora, façam parte da grande formação do Cerrado central brasileiro. Este segundo grupo dividiu-se em vários sub-grupos: o primeiro representando áreas no Estado de Minas Gerais: B (Município de Abaeté) e K (Vale do Jequitinhonha), os quais apontaram a maior similaridade florística entre as áreas analisadas (0,4646). O segundo sub-grupo (com segundo maior valor de similaridade) representando as áreas D e H (Distrito Federal e Oeste do Estado da Bahia), áreas que distam cerca de 650 Km em linha reta.

A heterogeneidade observada e os baixos índices na comparação da similaridade florística são fatores a serem considerados quando da busca por meios de se conservar essa relevante e ameaçada riqueza de diversidade biológica, expressa, neste caso, como remanescente de uma área maior de Cerrado que abrangeu a região no passado e que hoje, existente sobre a vegetação de Caatinga do embasamento Cristalino, no semiárido brasileiro, em áreas de topos não tão elevados, como na Serra do Boqueirão, agoniza, diante da negligência de esforços para a sua conservação, aliado a fatores climáticos decorrentes da mudança do Planeta desde a última era glacial.

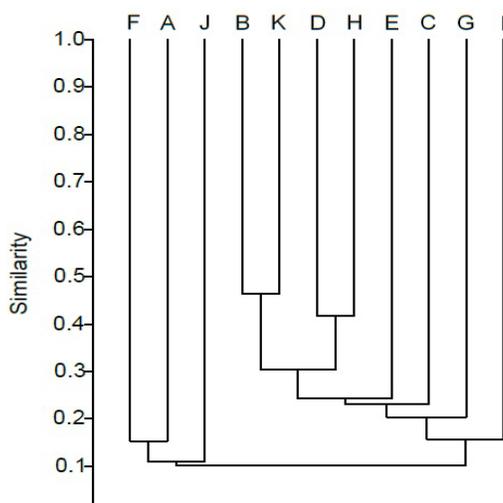


Figura 5. Dendrograma gerado a partir do índice de similaridade de Jaccard entre 11 áreas de Cerrado consideradas em oito Estados do Brasil.

## CONCLUSÕES

Os resultados da fitossociologia e diversidade florística apontam para a existência de um fragmento de Cerrado *sensu stricto* localizado em meio à Caatinga do cristalino, na região semiárida do Nordeste do Brasil, município de Lavras da Mangabeira, sendo este, o primeiro trabalho a observar a estrutura da vegetação da área.

Espécies típicas de Cerrado como *Qualea parviflora* e *Callisthene fasciculata* (ambas Vochysiaceae) e *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) apresentaram os maiores IVI no fragmento analisado, enfatizando vínculos estruturais e florísticos da área com a de savana costeira do litoral cearense, principalmente, assim como de outras áreas de Cerrado central e marginais do Brasil.

Os valores dos índices de diversidade, equabilidade e concentração sugerem alta riqueza de espécies (diversidade alfa elevada), alta uniformidade no tamanho das populações e baixa concentração de espécies. A diversidade beta é considerada alta pela heterogeneidade na comparação com outras áreas de Cerrado localizadas em outras regiões do País.

## REFERÊNCIAS

- Ab'Saber AN (1963) **Contribuição a Geomorfologia dos Cerrados**. In FERRI, M. G. (Ed) Simpósio Sobre o Cerrado. Editora: da Universidade de São Paulo.
- Ab'Saber AN (2005) **Os Domínios de Natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas**. São Paulo: Ateliê Editorial.
- Assunção SL & Filfili JM (2004) **Fitossociologia de um fragmento de cerrado sensu stricto na APA do Paranoá, DF, Brasil**. Acta.Bot. Bras 18: 903-909.
- Bezerra JS (2018) **Florística e síndromes de dispersão de uma área de Cerrado disjunto na chapada do Araripe, Nordeste do Brasil**. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional do Cariri, Crato. 66p.
- Braun Blanquet J (1950) **Sociologia vegetal**: estudio de las comunidades vegetales Buenos Aires: Acme Pp. 444
- Calgaro HF, Cambium J, Silva AM, Alves MC, Buzetti S, Moraes MA, Carvalho SL, Miranda LPM & Moraes MLT (2015) **Distribuição natural de espécies arbóreas em áreas com diferentes níveis de antropização. Atributos físicos do solo**. Cultura Agrônômica 24: 327-344.
- Calixto-Júnior JT & Drumond MA (2014) **Estudo comparativo da estrutura fitossociológica de dois fragmentos de Caatinga em níveis diferentes de conservação**. Pesquisa Florestal Brasileira, Colombo 34: 1-11.
- Carneiro-Filho A (1993). **Cerrados Amazônicos: fósseis vivos?** Algumas reflexões.Ver. Inst. Geol Pp. 144-150.
- Castro AAJF (1994). **Comparação Florístico-geográfica (Brasil) e Fitossociológica(Piauí – São Paulo) de amostras de Cerrado**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Piauí, Piauí. 520p.
- Castro AAJF, Martins FR, Fernandes AG (1998). **The woody flora of the cerrado vegetation in the state of Piauí, northeastern Brazil**. Edinburgh Journal of Botany 55: 455-472.
- Cavassan O & Martins RF (1989) **Estudos florísticos e fitossociológicos em áreas de vegetação nativa no município de Bauru, SP**. Salusvita 81:41-47.

Cerqueira CL, Lisboa GS, Stepka TF, França LCJ, Fonseca NC, Abreu YKL & SANTOS JC (2017) **Florística, Fitossociologia e Distribuição Diamétrica em um Remanescente de Cerrado *sensu stricto*, Brasil**. *Espacios* 38:13-27.

Cole MM (1989) *The Savannas*. **Biogeography and Geobotany**. Academic Press, Harcourt Brace Javanovich Publishers. London. Pp. 389-418.

Cordeiro L 2002. **Fixação de nitrogênio em leguminosas ocorrentes no cerrado**. In: Klein, A. (ed.). *Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois*. UNESP, São Paulo. Pp. 131-145.

Costa IR & Araujo FS (2007) **Organização comunitária de um enclave de cerrado *sensu stricto* no bioma Caatinga chapada do Araripe, Barbalha, Ceará**. *Revista Acta.Bot.Bras.* 21: 281-29.

Drumond MA & Calixto-Junior JT (2018) **Fitofisionomias de Caatinga: Análise estrutural de duas fitofisionomias de caatinga em diferentes estados de conservação no semiárido pernambucano**. *Novas edições acadêmicas, Beau Bassin*. Pp. 12-26.

Eiten G (1994) **Vegetação do cerrado**. In *Cerrado: caracterização, ocupação e perspectiva*. SEMATEC. Universidade Nacional do Brasília, Brasília. Pp. 17-73.

Fidelis AT & Godoy SAP (2003) **Estrutura de um Cerrado *strico sensu* na gleba Cerrado Pé-de-gigante, Santa Rita do Passa Quatro, SP**. *Acta.Bot. Bras.*17: 531-539.

Felfili JM, Nogueira PE, Silva Júnior MC, Marimon BS & Delitti WBC (2002) **Composição florística do cerrado sentido restrito no município de Água Boa, MT**. *Acta.Bot. Bras.*16: 103-112.

Felfili JM & Rezende RP (2003) **Conceitos e Métodos em Fitossociologia**. Vol. 5 Ed. UNB, Brasília. 68p.

Felfili JM, Silva Junior MC, Rezende AV, Nogueira PE, Walter BMT, Silva MA & Encinas JI (1997) **Comparação florística e fitossociológica do cerrado nas chapadas Pratinha e dos Veadeiros**. In: L. Leite & C.H. Saito (Eds.). *Contribuição ao conhecimento ecológico do cerrado*. Vol. 1 Ed. UNB, Brasília. Pp. 6-11.

Ferraz RC, Mello AA, Ferreira RA & Prada AP (2013) **Levantamento Fitossociológico em área de caatinga no monumento natural Grota do Angico, Sergipe, Brasil**. *Caatinga* 26: 89-98.

Ferreira Júnior EV, Soares TS, Costa MFF & Silva VSM (2008) **Composição, diversidade e similaridade florística de uma floresta tropical semidecídua submontana em Marcelândia – MT, Brasil**. *Revista Acta Bot. Bras.* 38:673-680.

Ferreira RQS, Camargo MO, Souza PB & Andrade VCL (2015) **Fitossociologia e estrutura diamétrica de um cerrado *sensu stricto*, Gurupi – TO**. *Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 10: 229-235.

Figueiredo MA & Fernandes A (1987) **Encraves de Cerrado no interior do Ceará**. *Ciência Agrônômica* 18: 103-106.

Finger Z & Finger FA (2015) **Fitossociologia em comunidades arbóreas remanescentes de Cerrado *Sensu stricto* no Brasil central**. *Floresta* 45:769-780.

Freire LM (2007) **Paisagens de exceção: problemas ambientais no Município de Mulungu**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza. 134p.

FUNCEME - Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (2014) **Boletim da quadra chuvosa em 2014 no estado de Ceará**. Available at <<http://www.funceme.br/index.php/comunicacao/noticias/604-chuvas-na-quadra-chuvosa-de-2014-ficaram-24-abaxio-da-m%C3%A9dia>>. Access on 18 December 2018.

FUNCEME - Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (2019) **Calendário chuvoso**. Available at ><http://www.funceme.br/><. Access on 9 March 2019.

Gentry AH, Herrera & MAC, Brybe O, Huber O, Nelson BW & Villamil CB (1997) **Regional overview: South America**. In: Heiwood VH, Davis SD. Vol. Unico Ed. Centre of plant diversity, WWF/IUCN, Cambridge.

Hammer O, Harper DAT & Ryan PD (2001). PAST: **Paleontological Statistic software package for education and data analysis**. *Paleontologia Eletronica* 4: 1-9.

Haridasan M. (2000) **Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado**. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12: 54-64.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2019) **Cidades: Lavras da mangabeira-CE**. Available at <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ce/lavras-da-mangabeira/historico>>. Access on 12 March 2019.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2018) **Biomass**. Available at <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Cartas\\_e\\_Mapas/Mapas\\_Murais/](ftp://ftp.ibge.gov.br/Cartas_e_Mapas/Mapas_Murais/)>. Access on 14 December 2018.

INPE - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (2019). **Previsão de tempo: Lavras da Mangabeira – CE**. Available at <<https://tempo.cptec.inpe.br/ce/lavras-da-mangabeira>>. Access on 24 April 2019.

Imaãna-Encinas J, Macedo LA & Elias Paula J (2007) **Florística e Fitossociologia de um trecho de floresta estacional semidecidual na área do ecomuseu do Cerrado em Pirenópolis-Goiás**. *Cerne Lavras* 13: 308-320.

Kent M, & Coker P (1992) **Vegetation Description and Analysis: A Practical Approach**. John Wileyand Sons, New York. Pp. 167-169.

Klink CA & Machado RB (2005) **A Conservação do cerrado brasileiro**. *Megadiversidade* 1: 147-155.

Köppen W & Geiger R (1928) **Klimate der Erde**. Verlag Justus Perthes, Gotha, Wall-Map 150 cm x 200 cm.

Latansio Aidar SR, Oliveira ACP, Rocha HR & Aidar MPM (2010) **Fitossociologia de um Cerrado denso em área de influência de torre de fluxo de carbono, Pé-de-Gigante, Parque Estadual de Vassununga, SP**. *Biota Neotrop.* 10: 195-207.

Lemos HL, Pinto JRR, Mews HA & Lenza E (2013) **Structure and floristic relationships between Cerradosensustrictosites on two types of substrate in northern Cerrado, Brazil**. *Biota Neotrop.* 13: 121-132.

Lima BG & Coelho MFB (2018) **Fitossociologia e estrutura de um fragmento florestal da caatinga, Ceará, Brasil**. *Ciência Florestal* 28: 809-819.

Lopes AS & Cox FRA (1977) **Survey of the fertility status of surface soils under 'cerrado' vegetation in Brazil**. *Soil Science Society of America Journal* 41:741-747.

Magurran AE (1998) **Ecological Diversity and its measurement**. Vol. 1. Ed. Princeton University Press, Princeton. Pp. 1-179.

Marangon LC, Feliciano ALP, Brandão CFLS, Alves Junior FT (2008) **Relações florísticas, estrutura diamétrica e hipsométrica de um fragmento de floresta estacional semidecidual em Viçosa (MG)**. *Floresta* 38: 699-709.

Matos MQ & Felfili JM (2010) **Florística, fitossociologia e diversidade da vegetação arbórea nas matas de galeria do Parque Nacional de Sete Cidades (PNSC), Piauí, Brasil**. *Revista Bras.24*: 483-496.

Medeiros MB, Walter BMT & Silva P (2008) **Fitossociologia do cerrado *stricto sensu* no município de Carolina, MA, Brasil**. *Cerne* 14: 1-10.

Medeiros MM, Felfili JM & Libano AM (2007) **Comparação florístico-estrutural dos estratos de regeneração e adultos em Cerrado *sensu stricto* no Brasil Central**. *Cerne* 13: 291-298.

Mendonça RC, Felfili JM, Walter BMT, Silva Júnior MC, Rezende AV, Filgueiras TS & Nogueira PEN (1998) **Flora lenhosa do bioma cerrado**. In: Sato SM, Almeida SP *Cerrado: ambiente e flora*. Vol. 1. Ed. Embrapa Cerrado, Planaltina. Pp. 289-539.

Mendonça RC, Felfili JM, Walter BMT, Silva Júnior MC, Rezende AV, Filgueiras TS, Nogueira, PE & Fagg CW (2008) **Flora Vascular do Bioma Cerrado**. In: SANO, S. M.; Almeida SP.; Ribeiro JF *Cerrado: ecologia e flora*. Vol. 2. Ed. Embrapa Cerrado, Brasília. Pp. 423-442.

Mews HA, Marimon BS, Maracahipes L, Franczak DD & Marimon Junior BH (2011) **Dinâmica da comunidade lenhosa de um CerradoTípico na região Nordeste do Estado de Mato Grosso, Brasil**. *Biota Neotropica* 11: 73-82.

MMA - Ministério do Meio ambiente (2016) **Ceará: inventário florestal nacional** : principais resultados / Ministério do Meio Ambiente. Serviço Florestal Brasileiro. Brasília.

Moro MF, Castro ASF, Araujo FS (2011) **Composição florística e estrutura de um fragmento de vegetação savânica sobre os tabuleiros pré-litorâneosna zona urbana de Fortaleza, Ceará**. *Rodriguésia* 62: 407-423.

- Mota SLL, Pereira IM, Machado ELM, Oliveira MLR, Bruzanga JS, Farnezi MMM & Meira Junior MS (2014) **Influência dos Afloramentos Rochosos sobre a Comunidade Lenhosa no Cerrado *stricto sensu***. Floresta e ambiente 21: 8-18.
- Mueller-Dombois D & Ellenberg H (1974). **Aims and methods of vegetation ecology**. John Wiley and Sons, New York. 547 p.
- Neri AV, Meira Neto JAA, Silva AF, Martins SV & Batista ML (2007) **Análise da estrutura de uma comunidade lenhosa em área de cerrado *sensu stricto* no município de Senador Modestino Gonçalves, Norte de Minas Gerais, Brasil**. Revista Árvore 31: 123-134.
- Oestreich Filho E (2014) **Fitossociologia, diversidade e similaridade entre fragmentos de cerrado *stricto sensu* sobre neossolos quartzarênicos órticos, nos municípios de Cuiabá e Chapada dos Guimarães, estado de Mato Grosso, Brasil**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá. 86p.
- Oliveira Filho AT (2006) **Catálogo das árvores nativas de Minas Gerais :mapeamento e inventário da flora nativa e dos reflorestamentos de Minas Gerais**. Vol. 1. Ed. UFLA, Lavras. Pp. 304-323.
- Oliveira CP, Francelino MR, Cysneiros VC, Andrade FC & Booth MC (2015) **Composição florística e estrutura de um Cerrado *Sensu stricto* no Oeste da Bahia**. Cerne 21: 545-552.
- Pereira BAS, Venturoli F & Carvalho FA (2011) **Florestas Estacionais no Cerrado: Uma Visão Geral**. Pesq. Agropec. Trop. 41: 446-455.
- Pinto Coelho RM (2002) **Fundamentos em ecologia**. Vol. 1 Ed. ARTMED, Porto Alegre. Pp. 1-60
- Pivello VR & Coutinho LMA (1996) **Qualitative successional model to assist in the management of Brazilian cerrados**. Forest Ecology and Management 87: 127-138.
- Ribeiro JF & Walter BMT (1998) **Fitofisionomias do bioma Cerrado: os biomas do Brasil. In: Cerrado: ambiente e flora**. Ed. Embrapa, Planaltina. Pp. 89-166.
- Rodal MJN (1992) **Fitossociologia da vegetação arbustivo-arbórea em quatro áreas de caatinga em Pernambuco**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas Campinas. 224p.
- SAEG Sistema para Análises Estatísticas (2007), **Versão 9.1**: Fundação Arthur Bernardes – UFV, Viçosa.
- Sampaio ACF, Bianchin JE, Santos PM, Ariati V & Santos LM (2018) **Fitossociologia do Cerrado *sensu stricto* na bacia do Rio Parnaíba no nordeste brasileiro**. Revista Adv. For. Sci 5: 299-307.
- Saporetti Junior AW, Meira Neto JAA & Almado RP (2003) **Fitossociologia de cerrado *sensu stricto* no município de Abaeté-MG**. Revista Árvore 27: 413-419.
- Sheperd, GJ (2010) **FITOPAC 2: manual do usuário**. Campinas: Unicamp.

Silva DFM, Castro AAF, Alencar NL & Farias RRS (2018) **Diagnóstico fitossociológico e uso da vegetação de um Cerrado ecotonal da região setentrional do Piauí**. Revista Geog. Acadêmica 12:76-92.

Silva HG, Figueiredo N & Andrade GV (2008) **Estrutura da vegetação de um cerradão e a heterogeneidade regional do Cerrado no Maranhão, Brasil**. Revista Árvore 32: 921-930.

Silva MLA (2011) **Dinâmica de Expansão e Retração de Cerrados e Caatingas no Período Quaternário: Uma Análise Segundo a Perspectiva da Teoria dos Refúgios e Redutos Florestais**. Revista Brasileira de geografia Física 4: 57-73.

Silva Neto VL, Oliveira AL, Ferreira RQS, Souza PB & Viola MB (2016) **Fitossociologia e distribuição diamétrica em uma área de Cerrado *sensu stricto*, Dueré-TO**. Revista de Ciências ambientais 10: 92-106.

Silveira EP (2010) **Florística e estrutura da vegetação de Cerrado *sensu stricto* em Terra Indígena no noroeste do estado de Mato Grosso** Florística e estrutura da vegetação de Cerrado *sensu stricto* em Terra Indígena no noroeste do estado de Mato Grosso. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá. 62p.

Tavares MEF (2007) **Estrutura fitossociológica de um fragmento de Cerrado *sensu stricto* no sul do Tocantins**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi. 59p.

Winterhalder K (1996) **Environmental degradation and rehabilitation of the landscape around Sudbury, a major mining and smelting area**. Revista Environ 4: 185-224.

Xavier KRF (2009) **Análise florística e fitossociológica em dois fragmentos de floresta serrana no município de Dona Inês, Paraíba**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba, Areia. 60p.

## SOBRE O ORGANIZADOR

**EDSON DA SILVA**- Possui graduação em Fisioterapia pela Fundação Educacional de Caratinga (2001). Obteve seu título de Mestre (2007) e o de Doutor em Biologia Celular e Estrutural pela Universidade Federal de Viçosa (2013). É especialista em Tecnologias Digitais e Inovação na Educação pelo Instituto Prominas (2020) e em Educação em Diabetes pela Universidade Paulista (2017). Realizou cursos de aperfeiçoamento em Educação em Diabetes pela ADJ Diabetes Brasil, *International Diabetes Federation* e Sociedade Brasileira de Diabetes (2018). É professor e pesquisador da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), desde 2006, lotado no Departamento de Ciências Básicas (DCB) da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FCBS). Ministra disciplinas de Anatomia Humana para diferentes cursos de graduação. No Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Ambiente atua na linha de pesquisa Educação, Saúde e Cultura. É vice-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, no qual atua nas áreas de Nutrição e Saúde Coletiva. É líder do Grupo de Estudo do Diabetes credenciado pelo CNPq no Diretório dos Grupos de Pesquisa no Brasil. Desde 2006 desenvolve ações interdisciplinares de formação em saúde mediada pela extensão universitária, entre elas várias coordenações de projetos locais, além de projetos desenvolvidos em Operações do Projeto Rondon com atuações nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil. É membro da Sociedade Brasileira de Diabetes, membro de corpos editoriais e parecerista *ad hoc* de revistas científicas nacionais e internacionais da área de ciências biológicas e da saúde. Tem experiência na área da Saúde, atuando principalmente nos seguintes temas: Anatomia Humana; Diabetes *Mellitus*; Processos Tecnológicos Digitais e Inovação na Educação em Saúde; Educação, Saúde e Cultura.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Ácido acético 37, 38, 45, 46, 106, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 116, 117

Alelopatia 67, 69, 81

Anatomia comparada 141, 142, 146

Antracnose 122, 128

Areia contaminada 1, 8

*Atelidae* 166, 167, 168, 169, 170, 179, 180, 181

Ativadores de microrganismos 92, 94

Atividade antimicrobiana 23, 24, 28, 32, 53, 54, 58, 79, 82

Atividade potenciadora de antibióticos 53, 54

Ave 182

Azul de trypan 37, 38, 40

### B

Biodigestor 136, 138, 139

Biofilme 28, 106, 110

### C

Celulose 45, 46, 49

Cepa Me49 18, 19

Conservação 106, 108, 109, 110, 112, 118, 133, 145, 157, 167, 168, 169, 180, 181, 183, 185, 189, 190, 207, 208, 209, 210

Cultivo *ex vitro* 129

### D

Diagnóstico laboratorial 83, 84, 86

### E

Ecosistema 129, 130, 131, 133, 182

Efeito citopático 12, 13, 14, 15, 18, 20

Exopolissacarídeos 45, 46, 47, 48, 49, 50

### F

Feijão 122, 128, 136, 137, 138

Fungos patogênicos 1, 9

## **G**

Germinação 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 122, 132, 133, 135, 197

## **H**

Herniorrafia 156

## **J**

Jatobá 23, 24, 25, 32, 195

## **L**

Laranja 106, 109, 110, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119

Lavras da mangabeira 187, 188, 190, 191, 194, 196, 199, 202, 203, 204, 206, 207, 210

Leguminosas 136, 138, 139, 140, 209

## **M**

Manchas de Cerrado 188

Microbiota do solo 92, 94, 103

Microdiluição 23, 24, 26, 57, 58, 62

Micropropagação 129

Microrganismos 3, 4, 7, 8, 9, 11, 31, 38, 43, 53, 63, 87, 92, 94, 95, 96, 97, 101, 103, 129, 130, 131, 132, 133, 134

Milho 92, 93, 94, 95, 97, 98, 99, 101, 102, 103, 128

Modulação 23, 24, 25, 27, 29, 30

## **N**

Neubauer 37, 38, 39, 40, 42

NPK 136, 137, 138, 139

## **P**

Perfil hepático 83, 84, 86, 89, 91

*Phaseolus vulgaris* L 121, 122, 123, 128, 137

Praguicidas 83, 84, 85, 86, 87, 90

Primatas 157, 158, 163, 164, 166, 167, 168, 169, 170, 175, 180, 181

Prossímio 156, 163, 164

## **Q**

Quitosana 106, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 116, 117, 118, 119

## R

Recelularização 141, 143, 144, 146

Regeneração celular 141

## S

Sacarose 45, 47, 49, 50

Sementes 54, 67, 69, 70, 71, 72, 74, 75, 76, 77, 80, 82, 103, 122, 127, 128, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 171, 197

Simbiose 129, 130, 131, 132, 133

Sistema circulatório 148, 150

Soja 92, 93, 94, 95, 97, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 127

*Struthanthus marginatus* 67, 68, 69, 70, 80, 81, 82

## T

*Toxoplasma gondii* 12, 13, 14, 21, 22

*Trichophyton* 1, 2, 7, 8

Tubarão-martelo-liso 148

Tubarão-martelo-recortado 148

## V

*Vitex gardneriana* 53, 54, 65

# Ciências Biológicas: Considerações e Novos Segmentos



[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)



[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)



[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)



[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

# Ciências Biológicas: Considerações e Novos Segmentos



[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)



[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)



[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)



[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)